

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ЗООЛОГИИ И ГИДРОЭКОЛОГИИ**

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЭКОЛОГИИ И ЭВОЛЮЦИИ им. А.Н. СЕВЕРЦОВА**

**АМЕРИКАНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ АРМЕНИИ ФОНД
(ЦЕНТР ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ им. АКОПЯНА)**

МАТЕРИАЛЫ

**МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ПРОБЛЕМЫ ОХРАНЫ ФАУНЫ КАВКАЗА – 2»**

23-26 сентября 2014 года, Ереван, Армения

**NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF REPUBLIC OF ARMENIA
SCIENTIFIC CENTER OF ZOOLOGY AND HYDROECOLOGY**

**RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES
A.N. SEVERTSOV INSTITUTE OF ECOLOGY AND EVOLUTION**

**AMERICAN UNIVERSITY OF ARMENIA FOUNDATION
(ACOPIAN CENTER FOR THE ENVIRONMENT)**

PROCEEDINGS

**OF THE INTERNATIONAL CONFERENCE
«BIOLOGICAL DIVERSITY AND CONSERVATION PROBLEMS OF THE FAUNA OF THE CAUCASUS – 2»**

September 23-26, 2014, Yerevan, Armenia

**ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ԿԵՆԴՐԱՆԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՀԻՂՐՈՒԿՆԵՐՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏԱԿԱՆ ԿԵՆՏՐՈՆ**

**ՌՈՒՍԱՍՏԱՆԻ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Ա.Ն. ՍԵՎԵՐՏՈՎԻ ԱՆՎԱՆ ԷԿՈԼՈԳԻԱՅԻ ԵՎ ԷՎՈԼՅՈՒՑԻԱՅԻ ՊՐՈԲԼԵՄՆԵՐԻ
ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ**

**ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԱՄԵՐԻԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ ՀԻՄՆԱԴՐԱՄ
(ՀԱԿՈՔՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ՇՐՋԱԿԱ ՄԻՋԱՎԱՅՐԻ ԿԵՆՏՐՈՆ)**

**«ԿՈՎԿԱՍԻ ՖԱՈՒՆԱՅԻ ԿԵՆՍԱԲԱԶՄԱԶԱՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՊԱՀՊԱՆՈՒԹՅԱՆ
ՀԻՄՆԱԽՆԴԻՐՆԵՐԸ – 2» ՄԻՋԱԶԳԱՅԻՆ ԳԻՏԱԺՈՂՈՎԻ
ՆՅՈՒԹԵՐ**

23-26 սեպտեմբերի 2014 թ., Երևան, Հայաստան

Гусаков, 2003: 26; Яблоков-Хнзорян, 1967: 48 (как *Systemocerus caraboides*); Maes, 1992: 14 (как *Platycerus primigenius*); Baraud, 1993: 57 (как *Platycerus caraboides*); Bartolozzi, Spercher-Uebersax, 2006: 67 (как *Platycerus caraboides*).

Распространение на Кавказе видов группы *P. caraboides* подробно обсуждается в работе А.А. Гусакова (2003), который в число паратипов *P. vicinus* включил экземпляры из окр. с. Киранц (Иджеванский р-н Армении). После выхода в свет этой работы *P. vicinus* найден также у г. Дилижан и у с. Тегут вместе с *A. ulanowskii* (см. выше).

Род *Dorcus* MacLeay, 1819

Dorcus parallelipipedus Linnaeus, 1758

Яблоков-Хнзорян, 1967: 46; Baraud, 1993: 53; Bartolozzi, Spercher-Uebersax, 2006: 72.

Распространен во всех лесах Армении.

Dorcus peyronis Reiche & Saulcy, 1856

Reitter, 1892: 8; Медведев, 1952: 43; Яблоков-Хнзорян, 1967: 46 (как *D. peyroni*); Maes, 1992: 94; Baraud, 1993: 53; Bartolozzi, Spercher-Uebersax, 2006: 72.

Достоверно известен по двум находкам: Armenia, Yeghegnadzor, Areni-Noravank, 25.VII.1995, leg. Aghababyan K.; Armenia, Ararat prov., 2 km N Surenavan, lamp trap, 12-13.VII.2007, leg. Kalashian M.

Литература

- Гусаков А.А. 2003. Новые виды пластинчатоусых жуков (Coleoptera: Scarabaeoidea: Lucanidae, Scarabaeidae) Палеарктической фауны // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. 108 (4): 26-30.
- Медведев С.И. 1952. Личинки пластинчатоусых жуков. Определители по фауне СССР. Т. 47. М.-Л.: изд-во АН СССР. 342 с.
- Яблоков-Хнзорян С.М. 1967. Пластинчатоусые. Фауна Армянской ССР. Насекомые жесткокрылые. Ереван. Т. 6. 225 с.
- Baraud J. 1993. Les coleopteres Lucanoidea de l'Europe et du nord de l'Afrique // Bull. mens. Soc. Linn. Lyon. 62 (2): 42-64.
- Bartolozzi L., Spercher-Uebersax E. 2006. Lucanidae: // In: I. Lobl, A. Smetana (ed.). Catalogue of Palearctic Coleoptera. Vol. 3. Stenstrup: Apollo Books: 25-26; 63-77
- Maes J.-M. 1992. Lista de los Lucanidae (Coleoptera) del mundo // Revista Nicaraguense de Entomologia, 22: 1-121.
- Reitter E. 1892. Bestimmungs-Tabelle der Lucaniden und coprophagen Lamellicornen des palaeartischen Faunengebietes // Verh. Naturf. Ver. Brunn. 30: 140-262.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КРУПНЫХ КОШАЧЬИХ ЕВРАЗИИ, НАХОДЯЩИХСЯ ПОД УГРОЗОЙ ИСЧЕЗНОВЕНИЯ

Сорокин П.А.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Ленинский проспект, 33,
E-mail: sorokin-p@yandex.ru*

**USING MOLECULAR METHODS FOR ESTIMATING GENETIC DIVERSITY OF RARE LARGE CAT OF
EURASIA**

Sorokin P.A.

A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Leninsky ave. 33, 119071, Moscow, Russia

Abstract

Non-invasive molecular-genetic techniques may be important tools to evaluate the different population characteristics of North-Persian and Amur leopards, Snow leopard and Amur tiger. Sequence and microsatellite analysis are common and highly effective methods of working with non-invasive samples such as: faeces, hairs, urine, bone remains. Estimation of the genetic polymorphism and creation of the databases on listed species can effectively solve various scientific and protective tasks.

Такие виды, как амурский тигр (*Panthera tigris altaica* Temminck, 1844), переднеазиатский леопард (*Panthera pardus ciscaucasicus* Satunin, 1914) и дальневосточный леопард (*Panthera pardus orientalis* Schreber, 1857), ирбис (*Panthera uncia uncia* Schreber, 1775), имеют огромное значение для истории человеческой культуры, являются символами сохранения биоразнообразия на всей территории Евразии. По причине невысокой численности, разрушения и фрагментации мест обитаний, ценности для восточной медицины эти кошки особенно сильно подвержены воздействию деятельности человека. Поэтому одной из основных задач, стоящей перед зоологами, является адекватная оценка состояния популяций данных видов неинвазивными методами. Хорошим инструментом для этого являются молекулярно-генетические технологии, позволяющие работать с ДНК, выделенной преимущественно из экскрементов, волос, костей, мочи. Анализ полиморфизма ДНК может помочь при исследовании генетического разнообразия, численности, размеров и структуры ареала диких животных. С помощью данных методов возможно определение видов, идентификация индивидуумов, выявление родственных отношений внутри семейных групп животных (Rozhnov et al., 2009; Rozhnov et al., 2011a).

Для решения большей части упомянутых выше задач чаще всего используют секвенирование и микросателлитный анализ ДНК. Определение последовательности ДНК ряда митохондриальных генов может идентифицировать виды, подвиды, популяции. Так, например, данный подход оказался эффективным при определении подвидовой принадлежности переднеазиатских леопардов из диких популяций российской части Кавказа, Закавказья (Азербайджан, Армения), Ирана, Туркмении и Афганистана. По гену ND5 мтДНК, который используется у леопардов для подвидовой идентификации (Uphirkina et al., 2001), рассматриваемые особи очень близки (отличие составляет 1, 2 нуклеотида от характерного гаплотипа sax 2 переднеазиатского подвида леопарда). У животных из Армении встречены гаплотипы af1 (образцы из коллекции Института зоологии НЦЗГ НАН Республики Армения) и az2 из природы. Наличие у всех исследованных леопардов одной группы гаплотипов (az2, ir2, af1) и близость между собой проанализированных локусов ядерной ДНК может свидетельствовать о принадлежности этих животных к одному подвиду (Rozhnov et al., 2011b; Сорокин и др., 2011).

Для более детального анализа популяционно-генетической структуры необходимо использовать микросателлитные маркеры, которые демонстрируют высокую степень изменчивости внутри популяций и могут использоваться для индивидуальной идентификации. Так как поиск полиморфных микросателлитных локусов для не модельных организмов – это длительный и сложный процесс, можно использовать уже имеющиеся в литературе локусы для видов того же семейства. Альтернативой этому для совсем не изученных животных может быть полногеномное секвенирование методами NGS и поиск программными способами микросателлитных фрагментов ДНК в полученной последовательности генома (Abdelkrim et al., 2009). Микросателлитные фрагменты ДНК длиной от 100 до 200 п.н. хорошо сохраняются в биологическом материале, используемом при неинвазивных исследованиях редких видов. Благодаря высокой изменчивости и передаче из поколения в поколение по мужской и женской

линии, микросателлитная ДНК позволяет с очень высокой вероятностью отличать разных животных и выяснять их родственные отношения внутри группировок. Следует подчеркнуть, что для детального изучения популяционной структуры и разработки эффективных мер охраны крупных млекопитающих нужны данные о частотах исследованных микросателлитных аллелей для каждого из локусов в популяции. Собранный нами база данных по 11 микросателлитам для животных из природных популяций, зоопарков и музейных экземпляров из России, Армении, Азербайджана, Ирана и Туркмении позволила выявить набор характерных аллелей определенных локусов с целью подвидовой идентификации животных с неизвестным происхождением для использования в программах реинтродукции (Rozhnov et al., 2011b). Также используя микросателлитный анализ по 12 локусам, нам удалось идентифицировать 23 дальневосточных леопарда в Юго-Западном Приморье и составить базу данных по генетическим профилям индивидуально определенных животных (Rozhnov et al., 2013). Исследования, проведенные на амурском тигре в Хабаровском крае и Приморье по 9 микросателлитным локусам, позволили идентифицировать 90 животных. По нашим данным, группировка тигров из Юго-Западного Приморья оказалась генетически изолированной от животных из Сихотэ-Алинской популяции. Вероятно, это следствие воздействия антропогенного барьера вдоль реки Раздольной, мешающего свободной миграции животных. Генетический полиморфизм этих двух группировок амурского тигра существенно выше, чем у других угрожаемых видов кошачьих, таких, как дальневосточный леопард (Uphirkina et al., 2003; Rozhnov et al., 2013) и персидский лев (Driscoll et al., 2001), и сравним с бенгальским тигром (Bhagavatula, Singh, 2006). Похожий уровень гетерозиготности по микросателлитным локусам отмечен у разных популяций африканского льва (Antunes et al., 2008) и североамериканских популяций пум (Ernest et al., 2003).

Использование неинвазивных методов работы с ДНК, выделенной, например, из экскрементов в малочисленных популяциях, состоящих из близких родственников, в значительной степени ограничено из-за возможной ошибки анализа. Это возникновение ложных или утрата существующих аллелей из-за деградации ДНК, загрязнение чужой ДНК, ошибки при работе ферментов в ПЦР и др. Чтобы уменьшить вероятность ошибок и увеличить эффективность анализа при работе с таким биологическим материалом, как экскременты, моча и музейные образцы, желательны следующие подходы: 1) Использование экскрементов не более, чем двухдневной давности и немедленная консервация в 96 % спирте, либо хранение образцов в замороженном или полностью сухом виде в силикагеле; 2) Применение специальных методик выделения, позволяющих избавиться от различных ингибиторов; 3) Анализ микросателлитных локусов с наибольшим значением индекса полиморфизма (PIC), вычисление вероятности идентичности для неродственных (Phw) и родственных животных (Psib) для оценки точности индивидуальной идентификации (Waits et al., 2001); 4) Анализ обобщенных данных по нескольким повторным независимо полученным данным.

Автор признателен В.В. Рожнову, А.Ю. Красненко, К.К. Тарасян, В.С. Лукаревскому, С.В. Найдено, Х.А. Эрнандес-Бланко, С.В. Лукаревскому за всестороннюю помощь в работе.

Исследование проведено при поддержке Русского Географического Общества и грантов Президента Российской Федерации № МК-2553.2012.4 и МК-4313.2014.4.

Литература

Сорокин П.А., Рожнов В.В., Лукаревский В.С. 2011. Генетическая близость популяций переднеазиатского леопарда (*Panthera pardus* L., 1758) Кавказского экорегиона (анализ

- митохондриальной и ядерной ДНК) // В кн.: Материалы Международной научной конференции “Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа” (26-29 сентября 2011 года, Ереван, Армения). Ереван. Асогик: 285-287.
- Abdelkrim J., Robertson B.C., Stanton J.L., and Gemmell N.J. 2009. Fast, cost-effective development of species-specific microsatellite markers by genomic sequencing // *BioTechniques*. 46: 185-192.
- Antunes A., Troyer J.L., Roelke M.E., et al. 2008. The evolutionary dynamics of the Lion *Panthera leo* revealed by host and viral population genomics // *PLoS Genetics*. 4: 1-11.
- Bhagavatula J., Singh L. 2006. Genotyping faecal samples of Bengal tiger *Panthera tigris tigris* for population estimation: A pilot study // *BMC Genetics*. 7: 1-12.
- Driscoll C.A., Menotti-Raymond M., Nelson G., Goldstein D., O'Brien S.J. 2002. Genomic microsatellites as evolutionary chronometers: a test in wild cats. // *Genome Research*. 12: 414-423.
- Ernest H.B., Boyce W.M., Bleich V.C., May B., Stiver S.J., Torres S.G. 2003. Genetic structure of mountain lion (*Puma concolor*) populations in California // *Conservation Genetics*. 4: 353-366.
- Rozhnov V.V., Sorokin P.A., Naidenko S.V., Lukarevskiy V.S., Hernandez-Blanco J.A., Litvinov M.N., Kotlyar A.K., Yudin V.G. 2009. Noninvasive individual identification of the Amur tiger (*Panthera tigris altaica*) by molecular-genetic methods // *Doklady Biological Sciences*. 429: 518-522.
- Rozhnov V.V., Sorokin P.A., Lukarevskiy V.S., Naidenko S.V., Hernandez-Blanco J.A., Lukarevskiy S.V. 2013. Individual identification of Amur leopards (*Panthera pardus orientalis*) using molecular-genetic methods and the population size estimation // *Biology Bulletin*. 40 (2): 124-129.
- Rozhnov V.V., Zvychainaya E.Yu., Kuksin A.N., Poyarkov A.D. 2011. Noninvasive molecular genetic analysis in studying the ecology of the snow leopard: problems and prospects // *Russian Journal of Ecology*. 42(6): 439-444.
- Rozhnov V.V., Lukarevskiy V.S., Sorokin P.A. 2011. Application of molecular genetic characteristics for reintroduction of the leopard (*Panthera pardus* L., 1758) in the Caucasus // *Doklady Biological Sciences*. 437: 97-102.
- Uphyrkina O., O'Brien J. 2003. Applying molecular genetic tools to the conservation and action plan for the critically endangered Far Eastern leopard (*Panthera pardus orientalis*) // *C. R. Biologies*. 326: 93-97.
- Uphyrkina O., Jonson W.E., Quigley H., Miquelle D., Marker L., Bush M., O'Brien S.J. 2001. Phylogenetics, genome diversity and origin of modern leopard, *Panthera pardus* // *Molecular Ecology*. 10: 2617-2633.
- Waits L., Luikart G., Taberlet P. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines // *Molecular Ecology*. 10: 249-256.

BIODIVERSITY OF AMPHIBIANS OF NORTH-EAST ARMENIA (LORI PROVINCE) AND PROPOSED CONSERVATION MEASURES

Stepanyan I.E.¹, Pipoyan S.Kh.², Gabrielyan I.G.³, Kalashian M.Yu.¹

¹Scientific Center of Zoology and Hydroecology NAS RA, P. Sevak 7, 0014, Yerevan, Armenia, E-mail: stepanyanil@yahoo.com, ²Armenian State Pedagogical University after Kh. Abovyan, Tigran Mets 17, 0010, Yerevan, Armenia, E-mail: s.pipoyan@gmail.com, ³Institute of Botany of NAS RA, str. Acharyan 1, 0063, Yerevan, Armenia, E-mail: ivangabrielyan@yahoo.com

БИОРАЗНООБРАЗИЕ АМФИБИЙ СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ АРМЕНИИ (ЛОРИ МАРЗ) И ПРЕДЛАГАЕМЫЕ МЕРЫ ИХ ОХРАНЫ

Степанян И.Э.¹, Пипоян С.Х.², Габриелян И.Г.³, Калашян М.Ю.¹

¹Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА, Армения, 0014 Ереван, П. Севака 7, ²Армянский Государственный Педагогический Университет им Х. Абовяна, Армения, 0010, Ереван, Т. Мес, 17, ³Институт Ботаники НАН РА, Армения, Ереван, 0063, ул. Ачаряна 1