

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
Южный Научный Центр

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES  
Southern Scientific Centre



# Кавказский Энтомологический Бюллетень

CAUCASIAN ENTOMOLOGICAL BULLETIN

Том 7. Вып. 1

Vol. 7. No. 1



Ростов-на-Дону  
2011

## Изучение таксономического статуса некоторых представителей подрода *Agrodiaetus* (Lepidoptera: Lycaenidae: *Polyommatus*) из Западной Монголии с применением маркеров мтДНК

### Study of taxonomic status of some specimens of subgenus *Agrodiaetus* (Lepidoptera: Lycaenidae: *Polyommatus*) from Western Mongolia based on mtDNA markers

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

<sup>1</sup>Институт аридных зон ЮНЦ РАН, пр. Чехова, 41, Ростов-на-Дону 344006 Россия

<sup>2</sup>Южно-Сибирский ботанический сад АлтГУ, пр. Ленина 63, Барнаул, 656049, Россия

<sup>1</sup>Institute of Arid Zones SSC RAS, Chekhov str., 41, Rostov-on-Don 344006 Russia. E-mail: dvodolazhsky@gmail.com; bvstr@yandex.ru

<sup>2</sup>South-Siberian botanical garden, Altai University, pr. Lenina 63, Barnaul, 656049, Russia. E-mail: cossus\_cossus@mail.ru

**Ключевые слова:** *P. (A.) mediator habievi*, *P. (A.) ripartii*, ген COI, Западная Монголия.

**Key words:** *P. (A.) mediator habievi*, *P. (A.) ripartii*, COI gene, Western Mongolia.

**Резюме.** С помощью изучения первичных нуклеотидных последовательностей мтДНК показана видовая подчиненность подвида *habievi* Yakovlev, 2004 виду *P. (A.) mediator* (Dantchenko, Churkin, 2003). При этом валидным сочетанием необходимо считать *Polyommatus (Agrodiaetus) mediator habievi* (Yakovlev, 2004). Определена принадлежность изученных экземпляров голубянок из Западной Монголии видам *P. (A.) mediator* и *P. (A.) ripartii* (Freyer, 1830).

**Abstract.** The specific subordination of subspecies *habievi* Yakovlev, 2004 to species *P. (A.) mediator* (Dantchenko, Churkin, 2003) was demonstrated by the use of study of primary nucleotide sequences of the mtDNA; *Polyommatus (Agrodiaetus) mediator habievi* (Yakovlev, 2004) should be considered as a valid combination. The authors recognized that the studied specimens of blue butterflies from Western Mongolia belong to species *P. (A.) mediator* и *P. (A.) ripartii* (Freyer, 1830).

Фаунистические исследования различных территорий имеют научную ценность только в случае абсолютно достоверного определения первичного материала. Одним из наиболее современных методов объективной идентификации видовой принадлежности является изучение так называемого ДНК-баркода – первичной нуклеотидной последовательности участка митохондриальной ДНК, кодирующей первую субъединицу фермента цитохромоксидазы (COI), используемой в качестве молекулярного маркера мтДНК [Hebert et al., 2003]. В этой связи, нами было проведено сравнительное изучение последовательностей гена COI нескольких экземпляров, принадлежащих подроду *Agrodiaetus* рода *Polyommatus*, отловленных при изучении лепидоптерофауны Западной Монголии. Один из этих экземпляров имеет морфологическое сходство с *P. (A.) ripartii* (Freyer, 1830), но требует уточнения видовой принадлежности. Таксономический статус двух других экземпляров вызывает особый

интерес. Морфологически экземпляры имеют незначительные различия, но могут быть отнесены к таксону *habievi* Yakovlev, 2004, исходно описанному в рамках вида *A. mediator* (Dantchenko, Churkin, 2003). Позднее [Tshikolovets et al., 2009] подвид *habievi* был переподчинен *A. damone* (Eversmann, 1841). В связи с неоднозначной трактовкой возможной таксономической подчиненности особый интерес представляет уточнение видовой принадлежности подвида *habievi* с помощью изучения молекулярного маркера мтДНК.

### Материал и методы исследования

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

**Материал:** *P. (A.) mediator habievi*: ♂, W. Mongolia, Bayan-Ulegei-aimak, middle stream of Elt-Gol riv. (Kara-Irtysh basin), 2100-2300 m., 1-5.07.2005, R. Yakovlev & D. Ryzhkov – музейный номер ILL086, accession № GenBank JF343829; ♂, W. Mongolia, Hovd-aimak, Arshantyn-Nuruu Mts., 2100 m., 11.07.2007, R. Yakovlev – музейный номер ILL087, accession № GenBank JF343830.

*P. (A.) ripartii*: ♂, W. Mongolia, Hovd-aimak, Arshantyn-Nuruu Mts., 2100 m., 11.07.2007, R. Yakovlev – музейный номер ILL088, accession № GenBank JF343831.

Обработку образцов тканей экземпляров *Agrodiaetus*, амплификацию участков гена COI митохондриальной ДНК, а также секвенирование амплифицированных фрагментов проводили аналогично процедурам, описанным ранее [Водолажский, Страдомский, 2008].

Для получения ПЦР-продуктов использовали прямой праймер (PolF 5'- TAG CGA AAA TGA CTT TTT TCT A -3'), а также обратный праймер (PolR2 5'- TTG CTC CAG CTA ATA CAG GTA A-3') для всех других образцов.

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 ME-кладограммы.

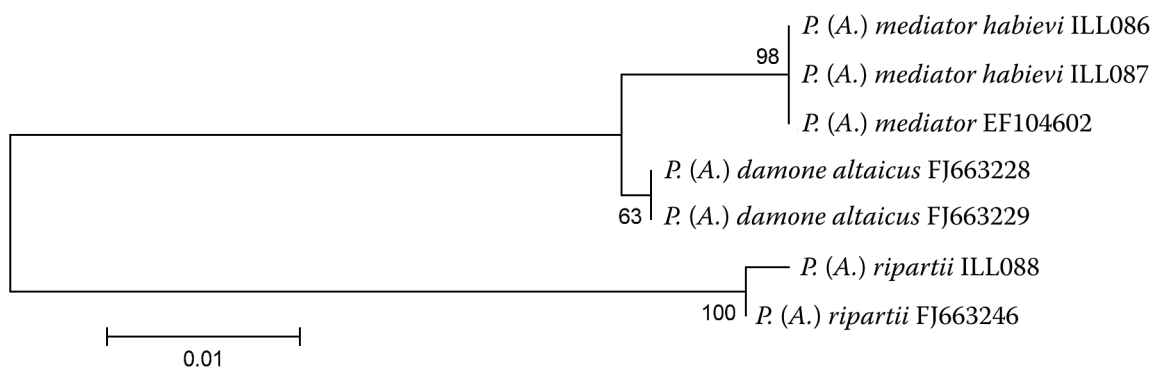


Рис. ME-кладограмма на основе применения метода минимальной эволюции при анализе различий последовательностей ДНК гена COI экземпляров *Polyommatus (Agrodiaetus)* из Западной Монголии.

Fig. ME-cladogram based on the Minimum Evolution method of analysis of distances for COI DNA sequences of *Polyommatus (Agrodiaetus)* specimens from Western Mongolia.

В качестве сравнительных данных использовались последовательности гена COI для экземпляров *P. (A.) damone altaicus* (accession №№ GenBank FJ663228, FJ663229) и *P. (A.) ripartii* (accession № GenBank FJ663246) из восточного Казахстана [Lukhtanov et al., 2009], а также *P. (A.) mediator* (accession № GenBank EF104602) [Kandul et al., 2007].

Таким образом, необходимо отметить правомерность первоначального [Yakovlev, 2004] отнесения подвида *habievi* к виду *P. (A.) mediator* и считать валидным следующее сочетание: *Polyommatus (Agrodiaetus) mediator habievi* (Yakovlev, 2004).

## Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов исследования нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК гена COI изученных образцов представлен на ME-кладограмме (Рис.) и свидетельствует об очень высоком уровне сходности (0,998) последовательностей экземпляра с музейным идентификационным номером ILL088 и *P. (A.) ripartii* (GenBank № FJ663246) из Восточного Казахстана. Эти данные позволяют однозначно констатировать принадлежность изученного экземпляра из Западной Монголии виду *P. (A.) ripartii*, подтверждая уже имеющееся определение при первом упоминании этого вида для фауны Монголии [Яковлев, 2007].

Также наши исследования показали полную идентичность последовательностей гена COI экземпляров подвида *habievi* (ILL086 и ILL087) с аналогичной последовательностью экземпляра *P. (A.) mediator* (GenBank № EF104602). При этом, экземпляры *P. (A.) damone altaicus* образовывали на кладограмме совершенно самостоятельную от *P. (A.) mediator* ветвь.

## 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. бюл. 4(1): 123–130.
- Яковлев Р.В. 2007. Новые таксоны чешуекрылых (Lepidoptera) для фауны Монголии // Эверсманния. 13–14: 86.
- 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.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 270: 313–322.
- Kandul N.P., Lukhtanov V.A., Pierce N.E. 2007. Karyotypic diversity and speciation in *Agrodiaetus* butterflies // Evolution. 61 (3): 546–559.
- 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.
- Lukhtanov V.A., Sourakov A., Zakharov E.V., Hebert P.D.N. 2009. DNA barcoding Central Asian butterflies: increasing geographical dimension does not significantly reduce the success of species identification // Molecular Ecology Resources. 9 (5): 1302–1310.
- Tshkolovets V., Yakovlev R., Balint Z. 2009. The Butterflies of Mongolia // The Butterflies of Palaearctic Asia Series. Vol. 8. 320 P.
- Yakovlev R. V. 2004. New data on taxonomy of the Mongolian Rhopalocera (Lepidoptera) // Helios. 5: 221–231.

## References

- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95–98.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*. 270: 313–322.
- Kandul N.P., Lukhtanov V.A., Pierce N.E. 2007. Karyotypic diversity and speciation in *Agrodiaetus* butterflies. *Evolution*. 61(3): 546–559.
- 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.
- Lukhtanov V.A., Sourakov A., Zakharov E.V., Hebert P.D.N. 2009. DNA barcoding Central Asian butterflies: increasing geographical dimension does not significantly reduce the success of species identification. *Molecular Ecology Resources*. 9(5): 1302–1310.
- Tshikolovets V.V., Yakovlev R.V., Balint Z. 2009. The butterflies of Mongolia. Kiev – Pardubice: Tshikolovets press. 320 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).
- Yakovlev R. V. 2004. New data on taxonomy of the Mongolian Rhopalocera (Lepidoptera). *Helios*. 5: 221–231.
- Yakovlev R.V. 2008. New taxa of Lepidoptera for Mongolian fauna. *Eversmannia*. 13–14: 86 (in Russian).