



Форма направления реферативно-библиографических сведений
о результатах научно-исследовательской, опытно-конструкторской и
технологической работы

I. Сведения о НИОКТР

Номер государственного учета НИОКТР

Дата постановки НИОКТР на учет

AAAA-A19-119040290081-3	02/04/2019
-------------------------	------------

Наименование НИОКТР

-Молекулярно-генетические и экологические механизмы видообразования и ранних этапов эволюции. Разработка подходов для оценки гомеостаза развития биологических систем (методология популяционной биологии развития)

Руководитель НИОКТР

Фамилия, Инициалы

Ученая степень

Ученое звание

Куликов А.М.	Доктор биологических наук	Не указано
--------------	---------------------------	------------

II. Сведения об отчете

Номер государственного учета отчета

Дата постановки отчета на учет

AAAA-B20-220032090140-9	20/03/2020
-------------------------	------------

Наименование отчета

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВИДООБРАЗОВАНИЯ И РАННИХ ЭТАПОВ ЭВОЛЮЦИИ. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГОМЕОСТАЗА РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ МЕТОДОЛОГИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ) по Разделам № 50 «Биология развития и эволюция живых систем», № 52 «Биоразнообразии Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 гг. (заключительный отчет)
--

Тематическая(-ие) рубрика(-и)

Индекс УДК

34.23.29; 34.23.35; 34.35.51; 34.23.33	575.16
--	--------

Коды международной классификации отраслей наук

01.00.00

Дата утверждения отчета

27/12/2019

Кол-во книг (томов)

1

Общее кол-во страниц

73

Номера книг (томов)/Кол-во страниц

1/73	2/0	3/0	4/0	5/0	6/0	7/0	8/0	9/0	10/0	11/0	12/0	13/0	14/0	15/0	16/0	17/0	18/0	19/0	20/0
------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Приложений

0

Таблиц

1

Иллюстраций

20

Библиография

132

Публикаций по результатам НИОКТР

14

Фамилия, инициалы

Должность

СНИЛС

Подпись

Руководитель организации-исполнителя

Васильев А. В.

Директор

00133521977



Место для печати

ФГАНУ «Центр информационных технологий
и систем органов исполнительной власти»
Зарегистрировано в государственном
информационном фонде неопубликованных
документов

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ИМ. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН
(ИБР РАН)

ИНДЕКС УДК 575.16

Рег. № ГЗ 0108-2019-0007

Рег. № НИОКТР АААА-А19-119040290081-3

УТВЕРЖДАЮ

Директор ИБР РАН

доктор биологических наук,
член-корреспондент РАН



А.В. Васильев

1 «27» декабря 2019 г.

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ
ВИДООБРАЗОВАНИЯ И РАННИХ ЭТАПОВ ЭВОЛЮЦИИ. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ГОМЕОСТАЗА РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ
(МЕТОДОЛОГИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ
БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ)

по Разделам № 50 «Биология развития и эволюция живых систем», № 52 «Биоразнообразие
Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на
2013-2020 гг.

(заключительный отчет)

Руководитель НИР,
заведующий лабораторией,
доктор биологических наук


подпись, дата

А.М. Куликов
25.12.2019.

Москва, 2019

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель, заведующий лабораторией,
доктор биологических наук



подпись, дата

А.М. Куликов (Введение,
раздел 4)
25.12.19

Руководитель, член-корреспондент РАН,
главный научный сотрудник



подпись, дата

В.М. Захаров (раздел 8)
26.12.19

Исполнители:

Старший научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

А.С. Богданов (раздел 1)
25.12.19

Ведущий научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

О.В. Брандлер (раздел 5)
25.12.19

Старший научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

Н.С. Мюге (раздел 2,4)
26.12.2019

Научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

Д.М. Щепетов (раздел 2)
26.12.2019

Главный научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

Я.Р. Галимов (раздел 3)
26.12.2019

Главный научный сотрудник, доктор
биологических наук



подпись, дата

И.Ю. Баклушинская
(раздел 1,3)
26.12.2019

Старший научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

С.Ю. Сорокина (раздел 4)
25.12.19

Ведущий научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

О.Е. Лазебный (раздел 5)
26.12.19

Ведущий научный сотрудник, доктор
биологических наук



подпись, дата

М.В. Мина (раздел 6)
26.12.19

Старший научный сотрудник, кандидат
биологических наук



подпись, дата

Ф.Н. Шкиль (раздел 6)
25.12.19

Ведущий научный сотрудник, доктор
биологических наук



С.С. Алексеев (раздел 7)
26.12.19

подпись, дата

Научный сотрудник, кандидат
биологических наук



И.Е. Трофимов (раздел 8)
26.12.19

подпись, дата

Нормоконтроль, ведущий научный
сотрудник, кандидат биологических наук



Е.Б. Абрамова
27.12.2019

подпись, дата

РЕФЕРАТ

Отчет 73 с., 8 ч., 20 рис., 1 табл., 132 источника, 14 публикаций по теме.

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ И ЯДЕРНЫЙ ГЕНОМЫ, NUMTS, МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ, ЗОНЫ ВТОРИЧНОГО КОНТАКТА, ИЗОЛИРУЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ, ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА, ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОНСТРУКЦИИ, КОММУНИКАТИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ, АГРЕССИВНОСТЬ, ГОМЕОСТАЗ РАЗВИТИЯ, ПРИРОДНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ, ЗДОРОВЬЕ СРЕДЫ.

Цель – анализ и уточнение таксономической принадлежности видов животных, исследование механизмов эволюционной дивергенции видов на разных уровнях организации живых систем – от молекулярного до биогеоценотического. Продолжены исследования популяционного и видового разнообразия животных, механизмов поддержания разнообразия, формирования адаптаций, генетических основ видоспецифических количественных признаков, включая поведенческие, и изолирующих барьеров между дивергирующими популяциями.

На основе анализа молекулярных маркеров и морфологических признаков реконструирован сценарий эволюционной истории голожаберных моллюсков рода *Dendronotus*.

На модели полиморфизма по Робертсоновским транслокациям у слепушонок рода *Ellobius* подтверждена гипотеза хромосомного видообразования за счет монобрахиально гомологичных транслокаций.

Значение гормональных регуляций в формировании гетерохроний при экспрессии широкого спектра количественных признаков с выраженной видоспецифической изменчивостью у костистых рыб показано на модельном виде *Danio rerio*.

На трехиглой колюшке методами NGS исследованы генетические механизмы адаптации и видообразования при многократном переходе вида из морских местообитаний в пресноводные. Показано возникновение в пресноводных популяциях кластеров дивергировавших генов с характерной изменчивостью и возможность быстрой «сборки» этих кластеров из сохраняющейся изменчивости в отдельных независимых кластерах в составе морских популяций при заселении пресноводных стадий.

На модели арктических гольцов Сибири показаны различные стратегии и разные скорости формирования презиготических репродуктивных барьеров и морфологических различий.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	7
РАЗДЕЛ 1. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ. ЗОНЫ КОНТАКТА	8
Введение	8
Методы.....	8
Результаты и обсуждение	9
Заключение.....	14
Список использованных источников.....	14
РАЗДЕЛ 2. ФИЛОГЕОГРАФИЯ, ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ РЕВИЗИИ МОДЕЛЬНЫХ ГРУПП ЖИВОТНЫХ.....	16
Введение	16
Методы.....	16
Результаты и обсуждение	16
Заключение.....	19
Список использованных источников.....	19
РАЗДЕЛ 3. ИЗУЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИИ СИСТЕМ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА В РАЗЛИЧНЫХ ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ.....	21
Введение	21
Методы.....	21
Результаты и обсуждение	22
Заключение.....	26
Список использованных источников.....	26
РАЗДЕЛ 4. ИЗОЛИРУЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ ВИДООБРАЗОВАНИИ.....	29
Введение	29
Методы.....	29
Результаты и обсуждение	31
Заключение.....	31
Список использованных источников.....	36
РАЗДЕЛ 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОММУНИКАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ.....	39
Введение	39
Подраздел 1. Влияние гена quick-to-curt на брачное поведение дрозофилы.....	39
Методы.....	39
Результаты и обсуждение	40

Подраздел 2. Формирование частотно-временных характеристик звукового сигнала на разных стадиях индивидуального развития у рыжеватого суслика.....	42
Методы.....	42
Результаты и обсуждение	40
Заключение.....	44
Список использованных источников.....	45
РАЗДЕЛ 6. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ КАНАЛОВ (НА МОДЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ).....	46
Введение	46
Материалы и методы.....	46
Результаты.....	47
Заключение.....	53
Список использованных источников.....	54
РАЗДЕЛ 7. АНАЛИЗ ЗНАЧИМОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ПРОЦЕССАХ ВИДООБРАЗОВАНИЯ. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ МЕХАНИЗМОВ ФОРМООБРАЗОВАНИЯ КАК ОСНОВЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ И РАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ.....	56
Введение	56
Материал и методы.....	56
Результаты и обсуждение	57
Заключение.....	61
Список использованных источников.....	62
РАЗДЕЛ 8. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ И ЗДОРОВЬЯ СРЕДЫ ПО БЛАГОПРИЯТНОСТИ ДЛЯ ЖИВЫХ СУЩЕСТВ. РАЗРАБОТКА ОСНОВ СОВРЕМЕННОГО МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ	65
Введение	65
Методы.....	65
Результаты и обсуждение	66
Заключение.....	69
Список использованных источников.....	65
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	71
ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ГОСЗАДАНИЯ.....	72

ВВЕДЕНИЕ

«Ничто в биологии не имеет смысла кроме как в свете эволюции» *Ф. Г. Добржанский*.

Слова Феодосия Добржанского, приведенные в эпитафии, были и остаются принципиальным обоснованием востребованности исследований механизмов эволюции. Широкий круг задач, решаемых в рамках данной темы, посвящен анализу механизмов формирования изолирующих барьеров между дивергирующими видами, формированию адаптаций к меняющимся условиям среды, изучению границ изменчивости, обеспечивающих устойчивое существование популяции и вида. Особый интерес представляют: реализации различных эволюционных сценариев дивергенции видов, формирования адаптаций и изолирующих механизмов, выявление в каждом таком случае генетических основ наблюдаемых процессов. Исследования проведены на разнообразных модельных группах организмов: моллюсках, видах дрозофил различной степени родства, осетровых и костистых рыб, грызунах, беличьих, а также выборках из популяций человека. Продолжается анализ зон гибридизации различных видов грызунов и беличьих, генетический анализ видоспецифических признаков брачного поведения, связанных с презиготическими изолирующими барьерами, филогеографические исследования и таксономические ревизии видов морских беспозвоночных. Ряд работ с применением высокопродуктивных методов геномного секвенирования посвящен исследованиям генетических основ адаптаций костистых рыб при освоении морскими формами пресноводных биотопов, а также анализу механизмов детерминации пола у слепушенок и дафний. Показаны адаптивно-значимые изменения структуры белков-шаперонов у видов двукрылых, обитающих в экстремальных условиях. На модели *Danio rerio* показано значение гормональных регуляций различных стадий онтогенеза при формировании эволюционных инноваций морфологических признаков. Продолжается разработка и практическое применение подходов биомониторинга состояния окружающей среды на экосистемном уровне, заключающихся в анализе степени нарушений билатерально-симметричных признаков ключевых видов различных экосистем. Прикладное значение исследований биоразнообразия редких и хозяйственно-ценных видов, а также влияния антропогенного воздействия на природные биоценозы, связано с созданием прогностических моделей изменения окружающей среды, с возможностью сохранения и поддержания биоразнообразия на видовом и экосистемном уровнях.

РАЗДЕЛ 1. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ. ЗОНЫ КОНТАКТА

Введение

Природные гибридные зоны и зоны вторичного контакта позволяют изучать процесс видообразования путем гибридизации в естественных условиях. Изучение процесса становления разного рода барьеров, обеспечивающих целостность генофонда вида, возможно также при постановке длительных экспериментов, которые могут воспроизводить природные условия. Активное использование молекулярно-генетических методов, разработка подходов и поиск новых маркеров является необходимым условием для успешного решения задач по анализу механизмов видообразования. В нашей работе для анализа генетических процессов в зонах гибридизации и зонах вторичного контакта, а также в эксперименте в качестве модельных объектов были использованы восточная *Ellobius tancrei* и алайская *E. alaicus* слепушонки (Mammalia, Rodentia).

Робертсоновские транслокации (Rb) являются наиболее распространенными хромосомными мутациями у млекопитающих [1]. Тенденция к слиянию акроцентрических хромосом с образованием метацентрических отмечена у насекомоядных, хищных, приматов, грызунов. Появление Rb метацентриков приводит к нарушениям нормального хода мейоза у гибридов разных хромосомных форм и, соответственно, диверсификации этих форм. Особенно значительны проблемы возникают при монобрахиальной, т.е. частичной гомологии Rb метацентриков, хромосомы у таких гибридов образуют в мейозе сложные фигуры в попытке осуществить гомологичный синапсис. Ранее считалось, что наличие монобрахиальной гомологии является абсолютным барьером и ведет к полной стерильности гибридов, потому что расхождение хромосом из мультивалентов не может быть равновесным, в результате формируются анеуплоидные гаметы и нежизнеспособные зиготы, фертильность гибридов снижается вплоть до стерильности [2]. В последнее время для разных групп показано существование форм и видов с монобрахиально гомологичными метацентриками [3, 4] Концепция мейотического драйва [5] (позволяет объяснить не равновероятное наследование Rb метацентрика и соответствующих ему акроцентриков).

Методы

Использованы современные молекулярно-генетические методы, в том числе секвенирование фрагментов ядерной и митохондриальной ДНК, микросателлитный анализ, цитогенетические методы, дифференциальные окраски хромосом, хромосомный

пейтинг. Используются различные методики для выделения ДНК, в том числе для выделения из музейных и коллекционных образцов. Для обработки полученных данных применены различные пакеты программ: LaserGene, MEGA 6.0 и Mega X, MrBayes и др.).

Результаты и обсуждение

Подраздел 1. Возникновение новых хромосомных перестроек у алайской слепушонки *Ellobius alaicus* и межвидовая гибридизация

Эволюционная история и таксономическое положение криптических видов могут быть уточнены с помощью молекулярных и цитогенетических методов. Алайская слепушонка *E. alaicus* является одним из трех родственных видов, составляющих подрод *Ellobius* Fischer, 1814, для всех этих видов характерна утрата Y-хромосомы и наличие изоморфных XX половые хромосомы как у самцов, так и у самок. *E. alaicus* оценивается МСОП как вид с дефицитом данных, поскольку их распространение, биология и генетика были известны только по первым публикациям [6, 7].

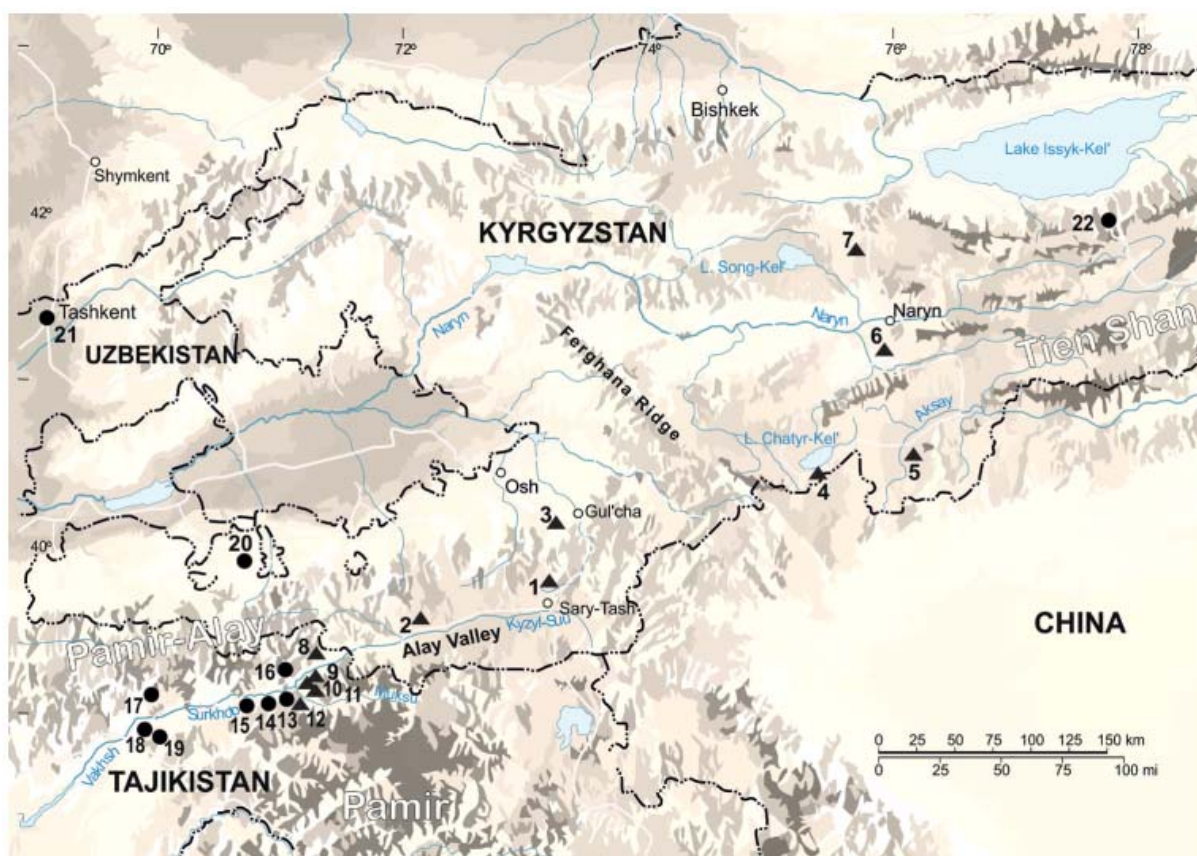


Рисунок 1.1. - Схема расположения точек отлова алайских слепушонок *E. alaicus* (треугольники), и *E. tancrei* (круги) на территории Киргизии и Таджикистана

Нами впервые выявлена специфическая кариотипическая изменчивость ($2n = 52-48$), определяющаяся различными робертсоновскими транслокациями (Rbs). Два варианта гибридов ($2n = 53$, разные Rbs) с *E. tancrei* Blasius, 1884 были обнаружены на северных

склонах Алайского хребта и в Нарынском районе Киргизии (рисунок 1.1). Мы описали резкое изменение числа хромосом от $2n = 50$ до 48 и специфическую структуру кариотипа для алайских слепушонок, обитающих на входе в Алайскую долину (Таджикистан), и обосновали их видовую принадлежность как по маркерным последовательностям митохондриальной, так и ядерной ДНК: ген *cytb*, фрагменты генов *XIST* и *Rspo1* (рисунок 1.2).

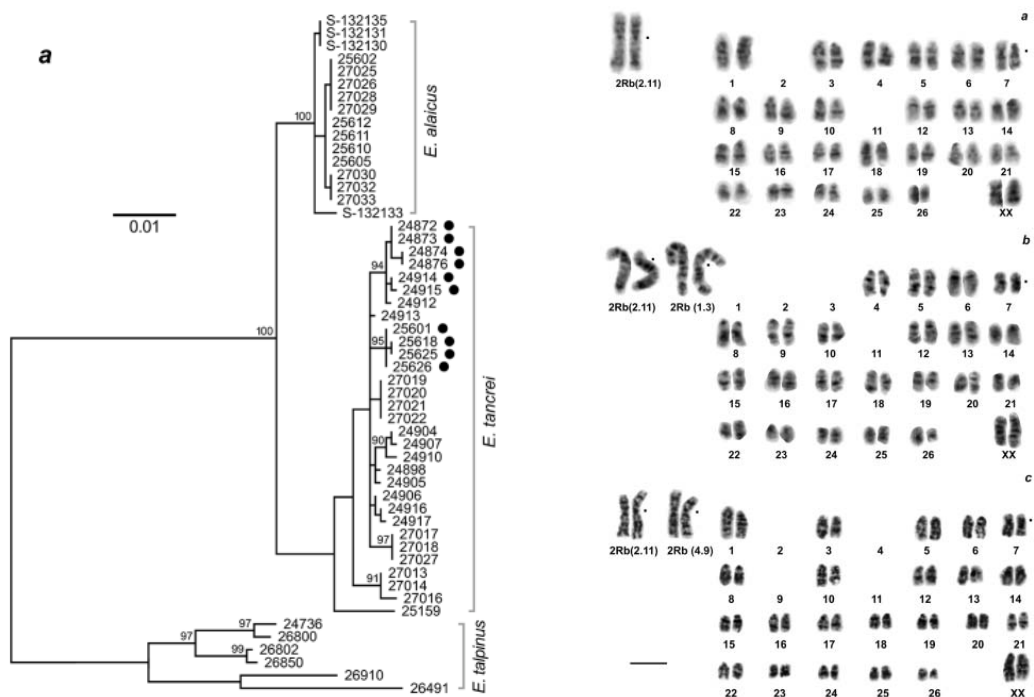


Рисунок 1.2. - а. Филогенетическая реконструкция отношений видов подрода *Ellobius* на основе полной последовательности гена *cytb* (1143 bp), 53 особи, метод Maximum Likelihood, модель Tamura-Nei. - б. Разнообразие кариотипов алайской слепушонки.

На основе новых данных следует расширить ареал *E. alaicus* от Алайской долины (юг Киргизии) до Ферганского хребта и Нарынской котловины, Тянь-Шаня на северо-востоке и до Памиро-Алая (Таджикистан) на Западе. Филогенетическая близость *E. tancrei* и *E. alaicus* поддерживается молекулярными данными, в то же время как хромосомная, так и специфичная молекулярная изменчивость, а также географическое распределение, подтверждают статус вида для *E. alaicus* [8]. Данная группа является примером неравномерности темпов изменений на хромосомном и нуклеотидном уровнях наряду с морфологическим сходством, что характерно для криптических видов.

Подраздел 3. Гибридизация в природе и формирование низкохромосомных форм у восточной слепушонки *Ellobius tancrei* в Памиро-Алае

Участие хромосомных изменений в начальных стадиях видообразования является предметом дискуссии последние десятилетия. Первое описание их хромосомной изменчивости слепушонок *Ellobius* было опубликовано почти 40 лет назад [9]. Изучение структуры G-окрашенных хромосом у большого числа особей свидетельствовало в пользу последовательных гомологичных робертсоновских транслокаций, которые изменили диплоидные числа с 54 до 30. Мы впервые использовали метод хромосомного пейнтинга, который позволяет анализировать гомологию структуры хромосом, а не сходство, как G-banding [10–14] и продемонстрировали, что хромосомные транслокации не всегда гомологичны; следовательно, кариотипы с одинаковым диплоидным числом могут нести различные комбинации метацентриков. В данной работе [15] анализ зоны так называемого "робертсоновского веера" в Памиро-Алае (рисунок 1.3) выявил, что здесь обитают, по меньшей мере, три хромосомные формы с одинаковыми $2n = 34$, $NF=56$ и различными метацентрическими хромосомами (рисунок 1.4).

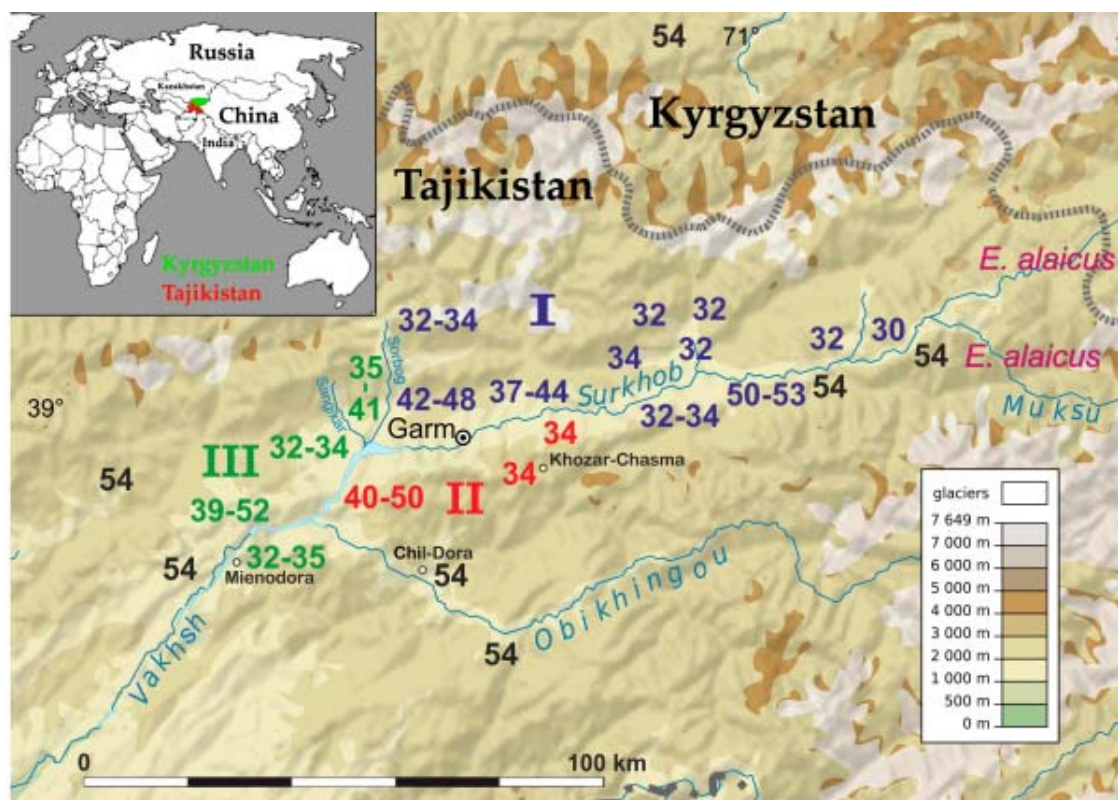


Рисунок 1.3. - Схема распространения хромосомных форм *E. tancrei* в Памиро-Алае (Таджикистан). Диплоидные номера разных форм (I, II и III) и их гибридов с 54-хромосомной формой обозначены соответственно синим, красным и зеленым цветом

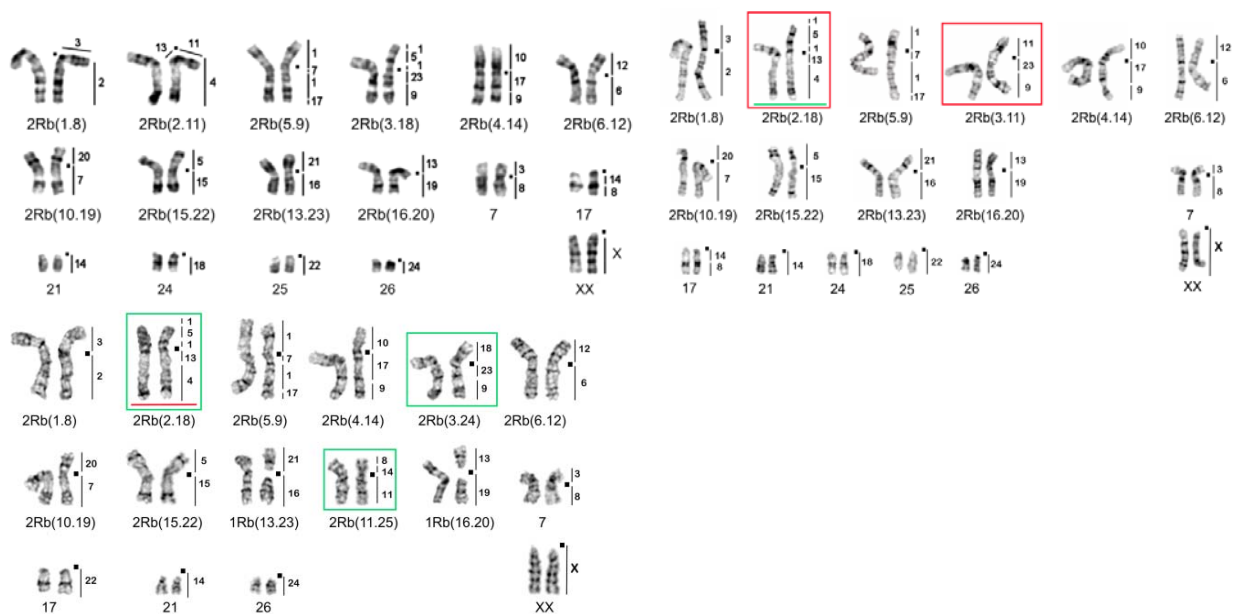


Рисунок 1.4. - Три хромосомные формы I, II, III, цветом обозначены специфические слияния

Каждая из этих форм независимо вступала в гибридизацию с исходной *E. tancrei*, $2n = 54$, образуя отдельные гибридные зоны. Хромосомные вариации слабо коррелируют с географическими барьерами. Кроме того, мы подтвердили, что появление частичной или монобрахиальной гомологии оказалось непреодолимым барьером для гибридизации в природе, в отличие от экспериментов (раздел 3). Результаты исследования подтверждают гипотезу хромосомного видообразования путем формирования монобрахиально гомологичных транслокаций.

Подраздел 3. Гибридизация и особенности наследования хромосомных перестроек робертсоновского типа в эксперименте у слепушонок *Ellobius tancrei*

Многолетнее изучение природной хромосомной изменчивости у слепушонок *Ellobius tancrei* дает основание предположить, что гибридизация и мейотический драйв могут быть теми механизмами, что ведут к образованию новых хромосомных форм и видов. Для проверки этой гипотезы мы провели инбредные скрещивания двух форм с одинаковыми $2n=50$, $NF=56$ и двумя парами Rb метацентриков, в том числе монобрахиально гомологичными. При таком скрещивании гибриды первого поколения имеют также $2n=50$, $NF=56$, но все четыре Rb метацентрика оказываются разными: Rb(9.13), Rb(2.18), Rb(5.9) и Rb(4.12). Из-за монобрахиальной гомологии у гибридов первого поколения образуются не 4 тривалента, а 2 тривалента и тетравалент [11, 14]. После 10 лет селекции, несмотря на резкое снижение плодовитости в первом поколении, мы получили 9 поколений гибридов. [16]. Начиная со второго поколения, гибриды имели кариотипы с различным числом хромосом и комбинациями Rb транслокаций,

отличающиеся от родительских (рисунок 1.5). Анализ G-окраски метафазных хромосом показал, что из четырёх Rb метацентриков, встречающихся в кариотипах особей изучаемой линии, три [Rb(9.13), Rb(2.18) и Rb(4.12)] имеют тенденцию к фиксации в ряду поколений и лишь один Rb(5.9) – явную отрицательную динамику. Наибольшее преимущество имеет мелкий метацентррик Rb(9.13). Эти данные подтверждают гипотезу о ведущей роли мейотического драйва в гомозиготизации Rb-хромосом, хотя динамика этого процесса различается для разных транслокаций. Исследование препаратов мейоза методом световой микроскопии позволило отследить, как по мере выхода Rb метацентриков в гомозиготное состояние число сложных фигур в мейозе уменьшается, при этом в процессе наблюдается большое разнообразие отклонений в мейозе (рисунок 1.5).

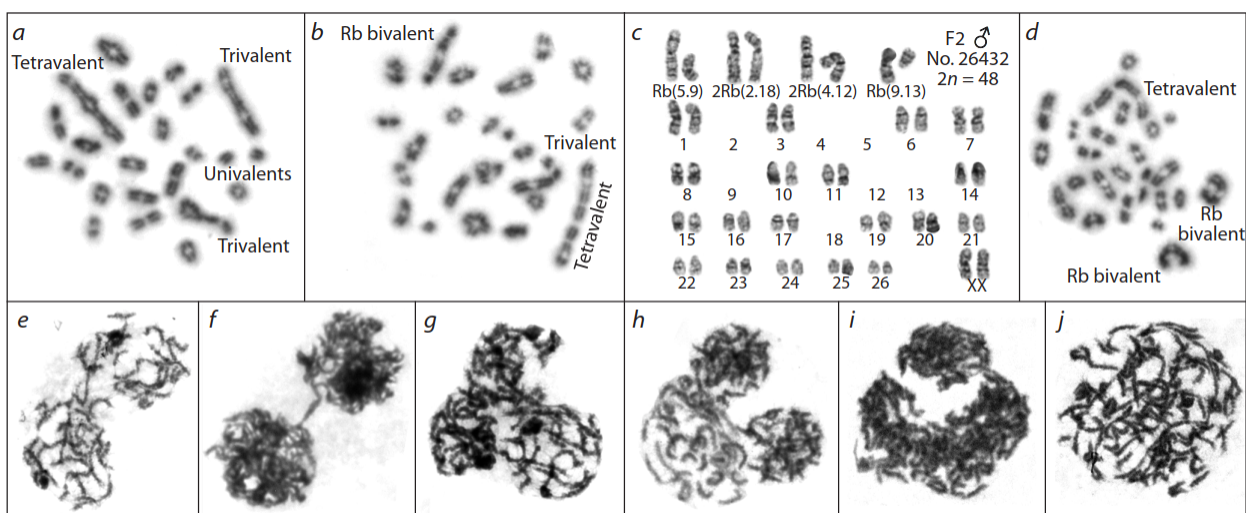


Рисунок 1.5. - Мейотические и митотические хромосомы гибридов *E. tancrei* (F1–F9). а, F1, No. 26182, $2n = 50$: 1Rb(5.9), 1Rb(2.18), 1Rb(4.12), 1Rb(9.13), диакинез; б, F2, No. 26453, $2n = 49$: 2Rb(4.12), 1Rb(5.9), 1Rb(2.18), 1Rb(9.13), диакинез; в, F2, No. 26432, $2n = 48$: 2Rb(2.18), 2Rb(4.12), 1Rb(5.9), 1Rb(9.13), кариотип и диакинез; д, нарушения мейоза; е, F2, No. 26335, $2n = 49$: 2Rb(2.18), 2Rb(9.13), 1Rb(4.12), "мостики", анафаза I; ф, F3, No. 26140, $2n = 51$: 2Rb(9.13), 1Rb(2.18), "мостики", анафаза I; г, F2, No. 26139, $2n = 50$: 2Rb(9.13), 1Rb(4.12), 1Rb(2.18); h, F3, No. 26436, $2n = 50$: 1Rb(4.12), 1Rb(5.9), 1Rb(9.13), 1Rb(2.18); и, F9, No. 26995, $2n = 50$: 2Rb(9.13); j, F9, No. 26995, $2n = 50$: 2Rb(9.13), полиплоидная клетка. Увеличение (а, б, д–j): $1000\times$.

Наиболее сложная картина мейоза наблюдается в F1, однако уже в F3 отмечены особи, гомозиготные по одной-двум транслокациям, и минимальными отклонениями от нормального ходом мейоза. Анализ формирования синаптонемного комплекса был проведен для гибридов четвертого и седьмого поколений. Показано, что несмотря на наличие гетерозигот и монобрахиально гомологичных Rb метацентриков, происходит синапсис и рекомбинация в гомологичных участках. Таким образом, некоторое количество клеток успешно проходит редукционное деление и обеспечивает наличие

сбалансированных гамет. Мы полагаем, что проведенный нами эксперимент воспроизводит процессы, происходящие в естественных условиях, и дает основания считать мейотический драйв основным механизмом, обеспечивающим диверсификацию и быструю фиксацию возникающих хромосомных форм в природе.

Заключение

Исследования, проведенные в 2019 году по изучению особенностей гибридизации в различных группах животных, носят приоритетный характер. На основе генетических маркеров, а именно, тонкой структуры хромосом, ядерной и митохондриальной ДНК показаны различные варианты интрогрессии геномов разных групп животных. Основные результаты были опубликованы в высокорейтинговых научных журналах.

Список использованных источников

1. King M. Species Evolution. The Role of Chromosome Change. Cambridge: Univ. Press, - 1993.
2. Baker R.J., Bickham J.W. Speciation by monobrachial centric fusions. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - Vol. 83. P. 8245-8248. DOI 10.1073/pnas. 83.21.8245.
3. Nunes A.C., Catalan J., Lopez J., da Graça Ramalhinho M., da Luz Mathias M., Britton-Davidian J. Fertility assessment in hybrids between monobrachially homologous Rb races of the house mouse from the island of Madeira: implications for modes of chromosomal evolution. // Heredity. - 2011. - Vol. 106. P. 348-356. DOI 10.1038/hdy.2010.74.
4. Potter S., Bragg J.G., Blom M.P., Deakin J.E., Kirkpatrick M., Eldridge M.D., Moritz C. Chromosomal speciation in the genomics era: disentangling phylogenetic evolution of Rock-wallabies. // Front. Genet. - 2017. - Vol. 8. 10. DOI 10.3389/fgene.2017.00010.
5. Sandler L., Novitski E. Meiotic drive as an evolutionary force. // Am. Nat. - 1957. - Vol. 91. P. 105-110.
6. Воронцов Н.Н., Ляпунова Е.А., Закарян Г.Г., Иванов В.Г. - 1969. Кариология и систематика рода *Ellobius* (Microtinae, Rodentia) // В сб. Мат-лы ко II Всесоюзному Совещанию по млекопитающим. Млекопитающие, эволюция, кариология, систематика, фаунистика. Новосибирск. С. 127-129.
7. Ляпунова Е.А., Воронцов Н.Н. Генетика слепушонок (*Ellobius*, Rodentia). Сообщение 1. Кариологическая характеристика четырех видов рода *Ellobius* // Генетика. - 1978. - Т. 14. С. 2012-2024.
8. Bakloushinskaya I., Lyapunova E.A., Saidov A.S., Romanenko S.A., O'Brien P.C.M., Serdyukova N.A., Ferguson-Smith M.A., Matveevsky S., Bogdanov A.S. Rapid chromosomal evolution in enigmatic mammal with XX in both sexes, the Alay mole vole *Ellobius alaicus*

- Vorontsov et al., 1969 (Mammalia, Rodentia) // *Comp. Cytogenet.* - 2019. - Vol. 13. Is. 2. P. 147-177.
9. Lyapunova E.A., Vorontsov N.N., Korobitsina K.V., Ivanitskaya E.Yu., Borisov Yu.M., Yakimenko L.V., Dovgal V.Ye. A Robertsonian fan in *Ellobius talpinus* // *Genetica.* - 1980. - Vol. 52/53. P. 239-247.
 10. Romanenko S.A., Sitnikova N.A., Serdukova N.A., et al. Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). II. The genome homology of two mole voles (genus *Ellobius*), the field vole and golden hamster revealed by comparative chromosome painting. *Chromosome Research.* - 2007. - Vol. 15. P. 891–897.
 11. Баклушинская И.Ю., Романенко С.А., Графодатский А.С. и др. Роль хромосомных перестроек в эволюции слепушонок рода *Ellobius* (Rodentia, Mammalia) // *Генетика.* - 2010. - Т. 46. № 9. С. 1143-1145.
 12. Bakloushinskaya I.Yu., Matveevsky S.N., Romanenko S.A., et al. A comparative analysis of the mole vole sibling species *Ellobius tancrei* and *E. talpinus* (Cricetidae, Rodentia) through chromosome painting and examination of synaptonemal complex structures in hybrids // *Cytogenetic and Genome Research.* - 2012. - Vol. 136. P. 199-207.
 13. Bakloushinskaya I., Romanenko S.A., Serdukova N.A., Graphodatsky A.S., Lyapunova E.A. A new form of the mole vole *Ellobius tancrei* Blasius, 1884 (Mammalia, Rodentia) with the lowest chromosome number // *Comp. Cytogenet.* - 2013. - Vol. 7. P. 163-169. DOI 10.3897/CompCytogen.v7i2.5350.
 14. Matveevsky S., Bakloushinskaya I., Tambovtseva V., Romanenko S., Kolomiets O. Analysis of meiotic chromosome structure and behavior in Robertsonian heterozygotes of *Ellobius tancrei*: a case of monobrachial homology // *Comp. Cytogenet.* - 2015. – Vol. 9. No 4. P. 691-706. DOI 10.3897/CompCytogen.v9i4.5674.
 15. Romanenko S.A, Lyapunova E.A., Saidov A.S., O'Brien P.C., Serdyukova N.A., Ferguson-Smith M.A., Graphodatsky A.S., Bakloushinskaya I. Chromosome translocations as a driver of diversification in mole voles *Ellobius* (Rodentia, Mammalia) // *Int. J. Mol. Sci.* - 2019. - Vol. 20. P. 4466.
 16. Tambovtseva V.G., Matveevsky S.N., Kashintsova A.A., Tretiakov A.V., Kolomiets O.L., Bakloushinskaya I.Yu. A meiotic mystery in experimental hybrids of the eastern mole vole (*Ellobius tancrei*, Mammalia, Rodentia) // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* - 2019. Т. 23 № 2 С. 239-243.

РАЗДЕЛ 2. ФИЛОГЕОГРАФИЯ, ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ РЕВИЗИИ МОДЕЛЬНЫХ ГРУПП ЖИВОТНЫХ

Введение

Современные молекулярно-генетические методы предоставляют инструмент, применение которого позволяет заново оценить родственные связи близких видов и реконструировать эволюционную историю для групп разного таксономического ранга. Такие задачи особенно интересны в случае гибридизации разных групп в отдаленной истории. В качестве модельных групп в исследованиях 2019 г. были выбраны представители как позвоночных (кавказские усачи рода *Barbus*), так и беспозвоночных (голожаберные моллюски рода *Dendronotus*).

Методы

Использованы современные молекулярно-генетические методы, такие как различные методики для выделения ДНК, дающие наилучший выход материала для каждого объекта, подобраны праймеры и условия полимеразной цепной реакции. использовано секвенирование фрагментов ядерной и митохондриальной ДНК. Применены различные программы для обработки и анализа полученного генетического материала, и статистические программы для конкретных задач, подбора праймеров, построения филогенетических реконструкций LaserGene, GARLI 2.0, MrBayes 3.2, MEGA 6.0, MEGA 7, RAxM, Network и др.

Результаты и обсуждение

Подраздел 1. Филогения, филогеография и гибридизация кавказских усачей рода *Barbus* (Actinopterygii, Cyprinidae)

Филогенетические отношения и филогеографию шести видов кавказских усачей рода *Barbus* s. str. исследовали с широким географическим покрытием, используя как митохондриальные, так и ядерные ДНК-маркеры (рисунок 2.1) [1].

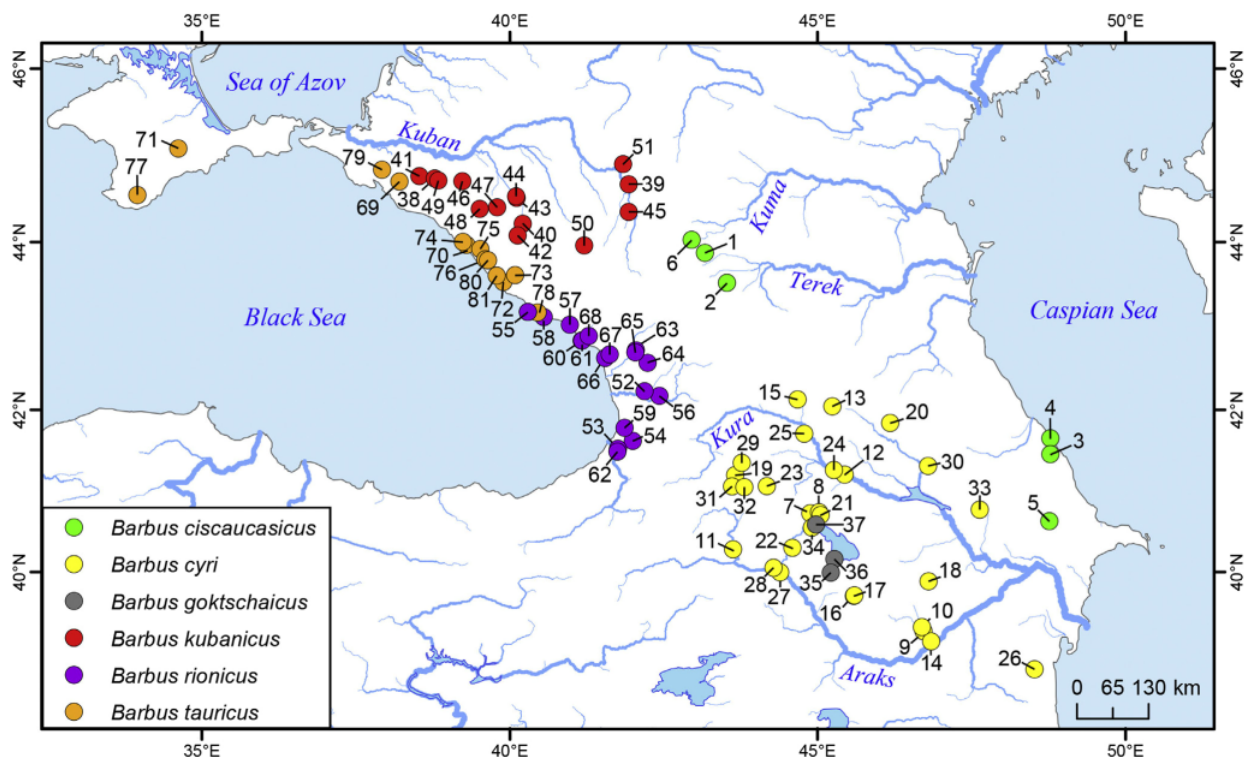


Рисунок 2.1. - Карта распространения изученных образцов семи видов барбусов

Филогенетическая реконструкция по маркерам с материнским наследованием для 27 исследованных видов включает две основных ветви — (а) западноевропейскую и (б) центрально- и восточноевропейскую (рисунок 2.2). Последняя включает две вторичные ветви: (b1) балканскую и (b2) понтокаспийскую, с 11 линиями в основном из бассейнов Черного и Каспийского морей. Группа кавказских усачей не монофилетична и подразделяется на две группы. Черноморская группа включает виды из рек, впадающих в Черное море, в том числе вновь выделенный вид *B. rionicus* и исключая *B. kubanicus*. Каспийская группа включает *B. ciscaucasicus*, *B. cyri* (включая видо *B. goktschaicus*, который может быть синонимичен *B. cyri*), *B. lacerta* из бассейна Тигра и Евфрата и *B. kubanicus* из бассейна Кубани. На генетическую структуру черноморских усачей оказали влияние периоды наступления и отступления ледников с сопутствующим опреснением Черного моря и волнами миграций и колонизации бассейна Черного моря. Выявлены случаи внутри- и межродовой гибридизации усачеподобных. В настоящем исследовании мы сообщаем о находке *B. tauricus* в бассейне Кубани, который ранее считался населенным только *B. kubanicus*. Гибриды между этими видами были выявлены как по митохондриальным, так и по ядерным маркерам. Следует отметить, что кубанская популяция *B. tauricus* филогенетически удалена от ближайших популяций этого вида; мы считаем ее реликтовой.

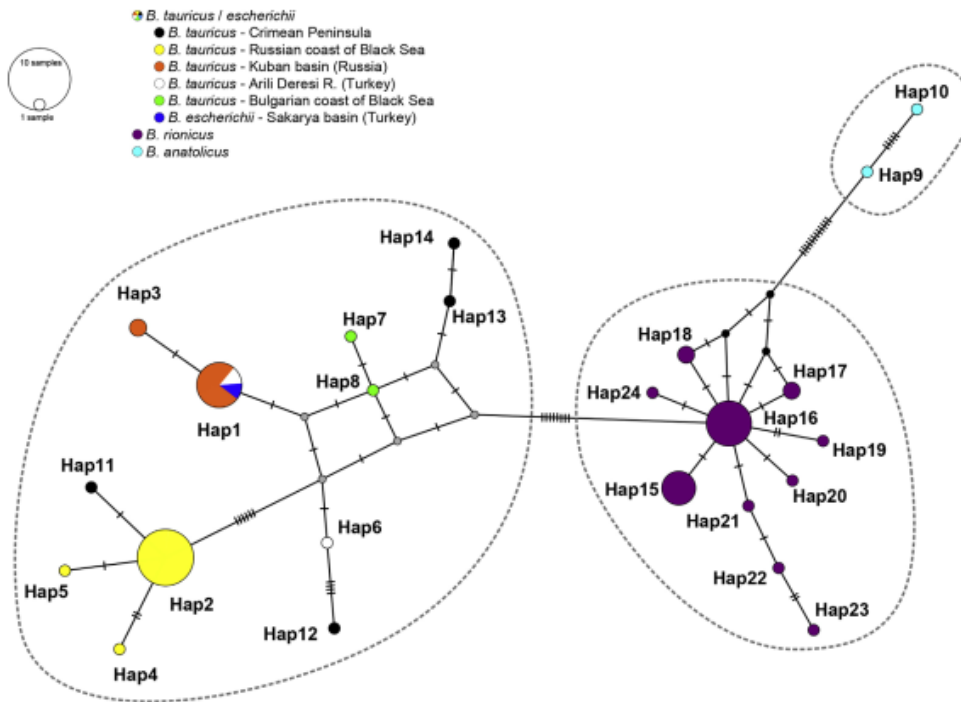


Рисунок 2.2. - Медианная сеть - реконструкция отношений черноморских барбусов *B. tauricus/escherichii/rionicus* на основе последовательности гена *cytb*

Также выявлена межродовая гибридизация между эволюционно тетраплоидным ($2n = 100$) *B. goktschaicus* и эволюционно гексаплоидным ($2n = 150$) *Capoeta sevangi* в озере Севан.

Подраздел 2. Реконструкции филогенетических отношений голожаберных моллюсков рода *Dendronotus*.

Предложен сценарий эволюционной истории голожаберных моллюсков рода *Dendronotus*, основанный на сравнительном анализе молекулярно-генетических, морфологических признаков и особенностей экологии в сочетании с данными по комплексной геологии и палеоклиматологии этого региона (рисунок 2.3).



Рисунок 2.3. - Четыре вида р. *Dendronotus*

Реконструированные филогенетические отношения, основанные на четырех молекулярных маркерах (COI, 16S, H3 и 28S), показывают сильную корреляцию с морфологией радулы, типом питания и биогеографическими данными [2].

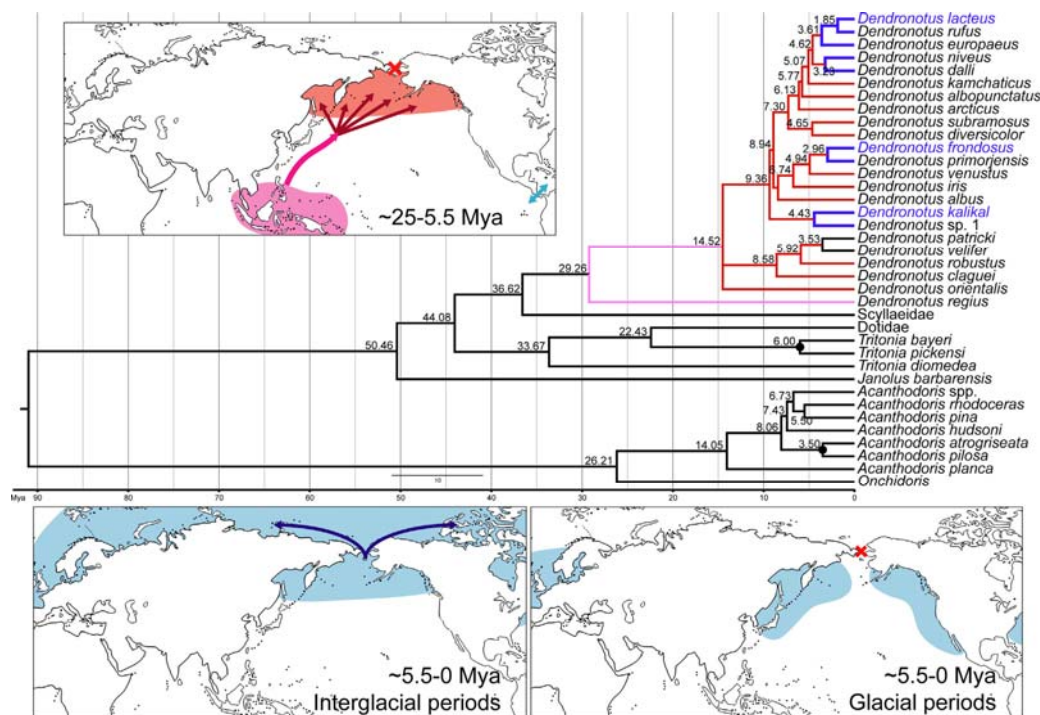


Рисунок 2.4. - Реконструкция предкового ареала по молекулярно-генетическим данным

Реконструкция предкового ареала указывает на тропическое тихоокеанское происхождение рода. Начальная миграция из тропиков и адаптивная радиация в северной части Тихого океана происходили под влиянием изменения климата в миоцене и последующего аллопатрического расхождения в результате закрытия Берингова пролива и охлаждения Северного Ледовитого океана в плиоцене-плейстоцене (рисунок 2.4).

Современные амфибореальные виды *Dendronotus*, по-видимому, заселили Атлантику сравнительно недавно.

Заключение

По результатам исследований опубликованы две статьи в ведущем тематическом международном журнале.

Список использованных источников

1. Levin B.A., Casal-Lopez M., Simonov E., Dgebuadze Y.Y., Mugue N.S., Tiunov A.V., Doadrio I. Golubtsov A. Adaptive radiation of barbs of the genus *Labeobarbus* (Cyprinidae)

- in an East African river // *Freshwater Biology*. 2019. V. 64. Is. 10. P. 1721-1736. DOI: 10.1111/fwb.13364.
2. Ekimova I., Valdes A., Chichvarkhin A., Antokhina, T., Lindsay T., Schepetov D. Diet-driven ecological radiation and allopatric speciation result in high species diversity in a temperate-cold water marine genus *Dendronotus* (Gastropoda: Nudibranchia) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. - 2019. - Vol. 141.

РАЗДЕЛ 3. ИЗУЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИИ СИСТЕМ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА В РАЗЛИЧНЫХ ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ

Введение

Генетическая система определения пола может эволюционировать из средового определения пола через промежуточное состояние, при котором в популяции сосуществуют особи с генетическим определением (обычно только один из полов) и средовым определением пола. Такие смешанные популяции известны у пресноводного ракообразного *Daphnia magna*, где генетические самки (представители не дающих самцов (NMP) клонов) сосуществуют с клонами, дающие в зависимости от условий среды как самцов, так и самок (MP клоны). Продукция самцов у MP клонов, но не у NMP клонов может быть индуцирована также ювенильным гормоном. Это делает *D. magna* удобной и редкой, в особенности у животных, моделью эволюционного перехода от средового к генетическому определению пола.

Наличие половых хромосом XX у самок и XY у самцов и гонад (яичников и семенников, соответственно) характерно для большинства млекопитающих, однако существует целый ряд видов с различными отклонениями в структуре генома (XX или X0 у самок и самцов при полной или частичной потере Y хромосомы). Половые хромосомы слепушонок *Ellobius* уникальны для млекопитающих: 5 видов имеют три типа половых хромосом: XY♂/XX♀, X0♂/X0♀ и XX♂/XX♀, последний вариант является уникальным, не описан для других видов млекопитающих. Нам принадлежит приоритет в области изучения особенностей мейоза и детерминации пола у данной группы.

Методы

Использованы современные молекулярно-генетические и цитогенетических методы для анализа первичной структуры ДНК, мейоза и гаметогенеза: секвенирование нуклеотидных последовательностей ряда генов каскада детерминации пола самцов и самок, секвенирование транскриптома (RNA-Seq), иммуноцитохимические методы с использованием антител к основным белкам синапсиса хромосом, а также метод распластанных мейоцитов для изучения синапсиса и рекомбинации хромосом в профазе мейоза I и метод спредирования мейоцитов для изучения мейоза в целом. Для анализа данных использованы современные пакеты программ MEGAX, DNASTAR, MrBayes ver. 3.2 и др.

Результаты и обсуждение

Подраздел 1. Эволюция экспрессии генов при переходе от средовой к генетической системе определения пола

Ранее нами был картирована гипотетическая мутация, определяющая NMP фенотип. Эта мутация расположена на крупном хромосомном участке с подавленной рекомбинацией. Однако конкретные гены и пути, участвующие в определении пола у NMP и MP индивидуумов, и, следовательно, разница между ними и механизм перехода от средового к генетическому определению пола, остаются неизвестными. В этой работе был выполнен анализ транскриптомов MP и NMP самок в контрольных условиях (когда оба фенотипа производят самок) и под действием гормона (когда MP самки дают мужское, а NMP самки – женское потомство).

Было обнаружено приблизительно 100 генов, дифференциально экспрессирующихся у MP и NMP клонов в контрольных условиях (без гормона) [1]. Значительная часть таких генов расположена на определяющем NMP хромосомном участке. Воздействие гормона приводило к различиям в экспрессии еще 100 (у MP) и 600 (у NMP) генов, причем для подавляющей части этих генов повышенная экспрессия наблюдалась у NMP самок (рисунок 3.1).

Таким образом, сохранение женского пола потомства при воздействии гормона у NMP самок, видимо не определяется простой мутацией «потери функции». Напротив, такой гомеостаз поддерживается активно, за счет сложных механизмов, в которых участвует большое число генов. В целом, можно предположить, что даже в том случае, когда переход к генетическому определению пола первоначально определяется единственной мутацией, дальнейшая эволюция такой системы охватывает значительные участки генома и большое число сигнальных и метаболических путей.

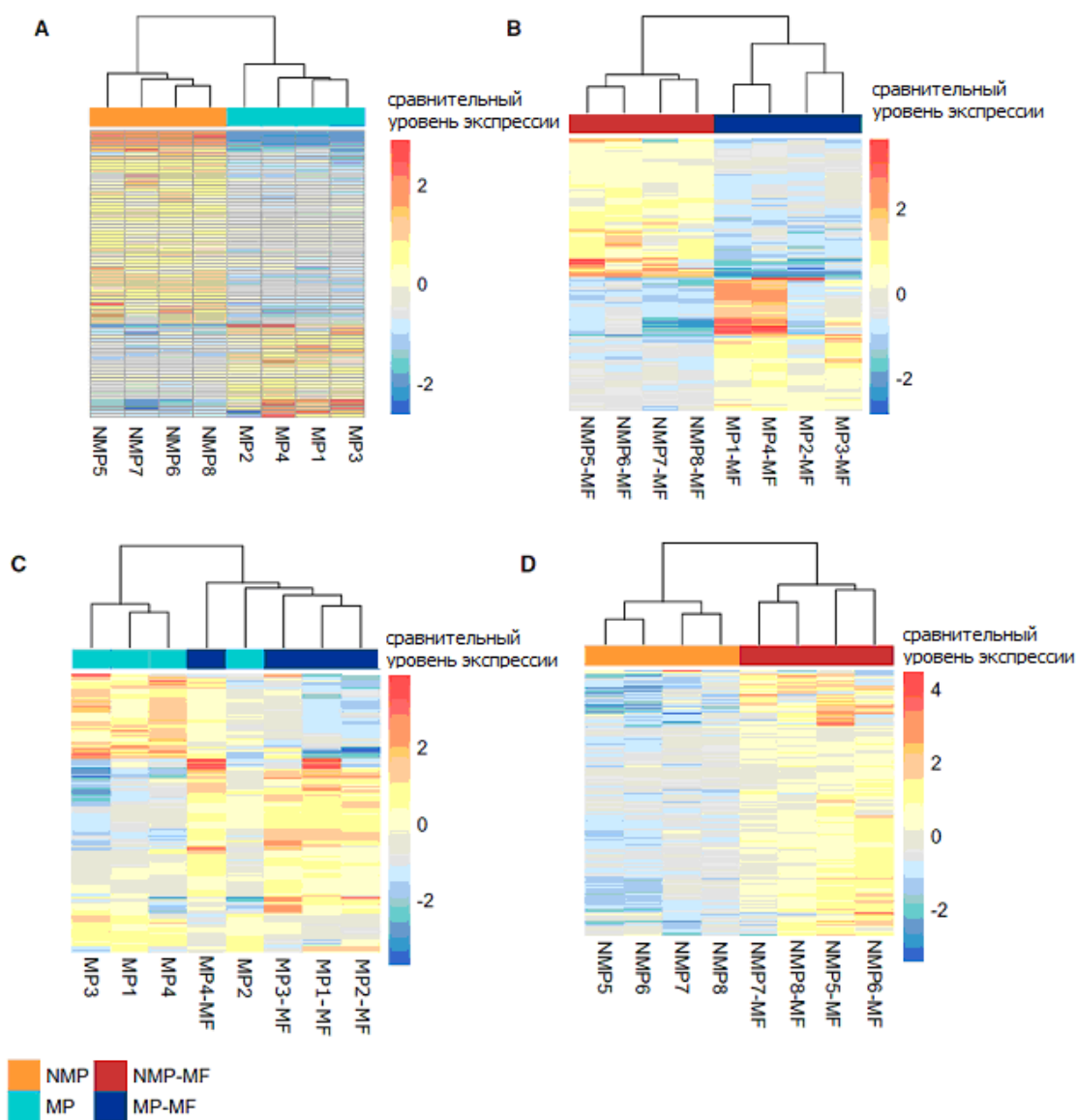


Рисунок 3.1. - Тепловые карты дифференциальной экспрессии для четырех сравнений (A) MP (дающие самцов клоны) vs. NMP (генетические самки) без гормона, (B) MP vs. NMP при воздействии гормона (C) MP без гормона vs. MP при воздействии гормона и (D) NMP без гормона vs. NMP при воздействии гормона. Каждая строка обозначает отдельный ген, каждый столбец – биологическую повторность (всего четыре MP и четыре NMP генотипа). Дендрограммы показывают результат иерархического кластерного анализа, основанного на данных дифференциальной экспрессии

Подраздел 2. Генетические особенности детерминации пола у млекопитающих, утративших Y-хромосому.

Результаты.

В обзоре [2] проанализированы современные данные о генетических особенностях детерминации пола и гаметогенеза у млекопитающих, утративших Y-хромосому и имеющих смешанную гонаду (ovotestes) в норме у самок.

Детерминация пола – это процесс с точным временным и пространственным расписанием активации и контроля экспрессии каскада генов. Эмбриональные гонады млекопитающих являются бипотенциальными, то есть представляют собой смешанную популяцию первичных половых и соматических клеток (предшественников поддерживающих и стероидогенных клеток, а также мезенхимных клеток). Процесс формирования гонад инициируется в очень небольшой группе клеток пол-специфичными транскрипционными факторами, а затем этот процесс распространяется на окружающие клетки [3, 4]. Как показали современные исследования, генетические программы развития по женскому или мужскому пути не являются абсолютно разными, напротив, множество генов вовлечены в оба пути развития. Предполагается, что закрепление мутации, обусловившей появление фактора детерминации пола (“testis determining factor”, TDF) в proto-Y хромосоме предка млекопитающих, сопровождалась нарушением рекомбинации, что привело к возникновению половых гетерохромосом и постепенному вырождению Y хромосомы [5]. Считается, что в качестве TDF у плацентарных используется транскрипционный фактор SRY (Sex-determining Region Y) [6]. Наличие продукта гена *Sry* является необходимым, но не достаточным условием для формирования семенников у подавляющего большинства изученных видов млекопитающих [7]. При отсутствии экспрессии гена *Sry* в эмбриональных гонадах особей с XX хромосомами должна быть подавлена экспрессия гена *Sox9* и активирована программа дифференцировки соматических поддерживающих клеток в гранулезные клетки, т.е. программа развития яичников [3]. В двух группах грызунов – у *Tokudaia* [8] и у слепушонок *Ellobius* [9, 10, 11] – Y-хромосома деградировала вплоть до своего исчезновения вместе с геном *Sry*. У видов слепушонок с двумя X хромосомами у самцов и самок, морфологическая идентичность половых хромосом маскирует функциональный гетероморфизм, который удается выявить только в мейозе [12, 13]. У четырех изученных видов слепушонок, включая афганскую слепушонку *E. fuscocapillus* (вид, сохранивший Y хромосому и ген *Sry*), обнаружена делеция в консервативной структуре *TESCO* (testis-specific enhancer of *Sox9* core) гена *Sox9*, которая, согласно проведенному моделированию, может вести к нарушению регуляции экспрессии этого гена [14]. Существование самцов и самок при отсутствии *Sry* и возможном нарушении экспрессии гена *Sox9* у слепушонок *Ellobius* до сих пор не получило объяснения. Анализ полного генома *E. lutescens* и *E. talpinus* [15] не дал ответа на вопрос, какой ген инициирует детерминацию пола у этих видов, но было показано, что хотя Y хромосома отсутствует, в геноме сохранились несколько генов, обычно локализованных на ней; среди них – ген *Eif2s3y*, экспрессия которого необходима и достаточна для начала сперматогенеза у мышей [16].

Данные генетического анализа позволяют восстановить эволюционную историю р. *Ellobius*. Делеция в энхансере *TESCO* гена *Sox9* является общей для всех видов слепушонок. Вторым важным событием была транслокация фрагмента или фрагментов Y-хромосомы на X, что предшествовало исчезновению Y. Как мы подчеркивали ранее [13, 17, 18], потеря Y-хромосомы происходила дважды, независимо в двух эволюционных линиях крупных (*E. lutescens*) и мелких слепушонок (*E. tancrei*, *E. talpinus* и *E. alaicus*). Судя по нашим данным, транслокации фрагментов Y также происходили независимо в этих группах и, более того, затрагивали также и *E. fuscocapillus* – единственный вид, сохранивший Y-хромосому. Удвоение X-хромосомы, вероятно, произошло уже после утраты Y-хромосомы в подроде *Ellobius* (т.е. у *E. tancrei*, *E. talpinus* и *E. alaicus*). *E. fuscocapillus*, *E. lutescens* и виды подрода *Ellobius* демонстрируют также специфические особенности мейоза.

В отличие от раннего развития самцов, когда дифференцировка семенников оказывается заметна вскоре после экспрессии гена *Sry*, у самок характерные морфологические структуры в гонадах выявляются ближе к моменту рождения, при этом на ранних стадиях развития показана экспрессия генов *Wnt4*, *Fst*. По-видимому, ключевым геном женского пути развития является ген *Rspo1*, что обусловлено его ролью в регуляции каскада *Wnt-4* [19]. Известно также, что у взрослых самок мышей возможно трансформирование яичников в семенники при блокировке гена *Foxl2* – вечная борьба самок с "внутренним" самцом [20]. Наличие гонад смешанного типа (т.н. ovotestes) или отдельных аномалий, обнаруженных у ряда групп млекопитающих, убеждает в том, что существуют разные пути развития событий при формировании гонад в раннем онтогенезе. Известны виды млекопитающих (например, у некоторых видов семейства кротовых *Talpidae*), у которых в норме, у всех самок, имеющих половые хромосомы XX и, соответственно, не имеющих гена *Sry*, формируются гонады, в которых яичник окружен тестикулярной структурой. У самцов этих видов (половые хромосомы XY, показано наличие гена *Sry*) формируются семенники, характерные для млекопитающих [21]. Предполагается, что формирование ovotestes у кротовых может быть связано с изменениями сигнального пути *Wnt-4*, ключевого для формирования женских гонад.

К настоящему времени, несмотря на очевидный прогресс в изучении генетических механизмов детерминации пола, остается неясным, насколько изменчивыми могут быть каскад генов, вовлеченных в этот процесс, и система регуляции их экспрессии. Исследование видов с различными отклонениями в структуре генома (XX или XO у самок и самцов, полная или частичная потеря Y хромосомы), а также в строении гонад (формирование гонад смешанного типа, сочетающих структуры семенников и яичников,

т.н. ovotestes), может оказаться ключевым для понимания эволюции генетических механизмов детерминации пола.

Заключение

Результаты работ за 2019 г. опубликованы в виде двух статей (одна из них в журнале Q1), а также представлены на международных конференциях.

Список использованных источников

1. Molinier C., Reisser C.M.O., Fields P.D., Ségard A., Galimov Y., Haag C.R. Evolution of gene expression during a transition from environmental to genetic sex determination // *Molecular Biology and Evolution*. 2019.– V. 36. Is. 7. P. 1551–1564. DOI: 10.1093/molbev/msz123.
2. Баклушинская И.Ю., Богданов А.С., Микаелян А.С., Тамбовцева В.Г., Матвеевский С.Н. Генетические особенности детерминации пола у млекопитающих, утративших Y-хромосому // *Журнал общей биологии*. - 2019. Т. 80. № 4. С. 243-250.
3. Wilhelm D., Palmer S., Koopman P. Sex determination and gonadal development in mammals // *Physiol. Rev.* - 2007. - Vol. 87. № 1. P. 1–28.
4. Wilhelm D., Washburn L.L., Truong V., Fellous M., Eicher E.M., Koopman P. Antagonism of the testis- and ovary-determining pathways during ovotestis development in mice // *Mech. Dev.* - 2009. - Vol. 126. № 5. P. 324–336.
5. Ohno S. *Sex Chromosomes and Sex Linked Genes*. - 1967. Heidelberg: Springer-Verlag. 202 p.
6. Sinclair A.H., Berta P., Palmer M.S., Hawkins J.R., Griffiths B.L. et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif // *Nature*. - 1990. - Vol. 346. № 6281. P. 240–244.
7. Windley S.P., Wilhelm D. Signaling pathways involved in mammalian sex determination and gonad development // *Sex. Dev.* - 2015.V. 9. № 6. P. 297–315.
8. Soullier S., Hanni C., Catzeflis F., Berta P., Laudet V. Male sex determination in the spiny rat *Tokudaia osimensis* (Rodentia: Muridae) is not Sry dependent // *Mamm. Genome*. - 1998. - Vol. 9. № 7. P. 590–592.
9. Matthey R. La formule chromosomique et le problème de la détermination sexuelle chez *Ellobius lutescens* (Rodentia-Muridae-Microtinae) // *Arch. Julius Klaus-Stift Vererb. Forsch.* - 1953. - Vol. 28. P. 65–73.

10. Just W., Rau W., Vogel W., Akhverdian M., Fredga K. et al. Absence of Sry in species of the vole *Ellobius* // *Nat. Genet.* - 1995. - Vol. 11. № 2. P. 117–118.
11. Romanenko S.A., Sitnikova N.A., Serdukova N.A., Perelman P.L., Rubtsova N.V., Bakloushinskaya I.Y. et al. Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). II. The genome homology of two mole voles (genus *Ellobius*), the field vole and golden hamster revealed by comparative chromosome painting // *Chromosome Res.* - 2007. - Vol. 15. № 7. P. 891–897.
12. Kolomiets O.L., Matveevsky S.N., Bakloushinskaya I.Y. Sexual dimorphism in prophase I of meiosis in the Northern mole vole (*Ellobius talpinus* Pallas, 1770) with isomorphic (XX) chromosomes in males and females // *Comp. Cytogenet.* - 2010. - Vol. 4. № 1. P. 55–66.
13. Matveevsky S., Bakloushinskaya I., Kolomiets O. Unique sex chromosome systems in *Ellobius*: How do male XX chromosomes recombine and undergo pachytene chromatin inactivation? // *Sci. Rep.* - 2016. - Vol. 6. doi:10.1038/srep29949
14. Bagheri-Fam S., Sreenivasan R., Bernard P., Knowler K.C., Sekido R. et al. Sox9 gene regulation and the loss of the XY/XX sex-determining mechanism in the mole vole *Ellobius lutescens* // *Chromosome Res.* - 2012. - Vol. 20. № 1. P. 191–199.
15. Mulugeta E., Wassenaar E., Sleddens-Linkels E., IJcken W.F., van, Heard E. et al. Genomes of *Ellobius* species provide insight into the evolutionary dynamics of mammalian sex chromosomes // *Genome Res.* - 2016. - Vol. 26. № 9. 1202–1210.
16. Yamauchi Y., Riel J.M., Stoytcheva Z., Ward M.A. Two Y genes can replace the entire Y chromosome for assisted reproduction in the mouse // *Science.* - 2013. doi:10.1126/science.1242544
17. Matveevsky S., Kolomiets O., Bogdanov A., Hakhverdyan M., Bakloushinskaya I. Chromosomal evolution in mole voles *Ellobius* (Cricetidae, Rodentia): Bizarre sex chromosomes, variable autosomes and meiosis // *Genes.* - 2017. - Vol. 8. № 11. P. E306.
18. Bakloushinskaya I., Matveevsky S. Unusual ways to lose a y chromosome and survive with changed autosomes: a story of mole voles *Ellobius* (Mammalia, Rodentia) // *OBM Genetics.* - 2018. - Vol.2 (3). doi:10.21926/obm.genet.1803023
19. Parma P., Radi O., Vidal V., Chaboissier M.C., Dellambra E. et al. *R-spondin1* is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy // *Nat. Genet.* - 2006. - Vol. 38. № 11. P. 1304–1309.
20. Uhlenhaut N.H., Jakob S., Anlag K., Eisenberger T., Sekido R. et al. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by *FOXL2* ablation // *Cell.* - 2009. - Vol. 139. № 6. P. 1130–1142.

21. Carmona F.D., Motokawa M., Tokita M., Tsuchiya K., Jiménez R., Sánchez-Villagra M.R.
The evolution of female mole ovotestes evidences high plasticity of mammalian gonad
development // J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol. - 2008. - Vol. 310. № 3. P. 259–266.

РАЗДЕЛ 4. ИЗОЛИРУЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ ВИДООБРАЗОВАНИИ

Введение

Молекулярно-генетические маркеры при видообразовании могут быть связаны как с накопившейся нейтральной изменчивостью с момента дивергенции видов, так и со специфическими адаптациями, позволяющими видам разойтись по разным экологическим нишам. Маркеры, связанные с адаптациями, представляют особый интерес, позволяя оценить тот самый «путь от гена к признаку», отбор по которому и позволяет видам приобретать специфические адаптации, и о котором говорил Ричард Левонтин в своей обзорной статье 2002 г. [1] «Directions in evolutionary biology»: «...the pathway through the space of genotypes from one phenotypic state to another is complex, rather like a maze with many dead ends». В отчетном году основные работы были посвящены анализу молекулярно-генетических основ адаптаций к экстремальным температурам у видов двукрылых [2] и к условиям солености воды в морских и пресноводных популяциях трехиглой колюшки [3]. В качестве ключевого фактора устойчивости к экстремальным температурам была изучена функциональная активность гена *hsp70* у экстремофильного вида *Stratiomys singularior* в сравнении с *D. melanogaster*. Адаптация предковых морских популяций трехиглой колюшки к пресной воде предполагает формирование набора «пресноводных» аллелей, образующих в геноме отдельные кластеры, или островки дивергенции. Вопрос о совпадении таких островков дивергенции и аллелей в геномах колюшек из независимо возникших пресноводных популяций связан с фундаментальными проблемами эволюционной адаптации и видообразования.

Методы

Кодирующая последовательность гена *hsp70* была амплифицирована из геномной ДНК обоих видов двукрылых, учитывая отсутствие интронов у данного гена. В качестве контрольного белка в экспериментах использовали человеческий рекомбинантный белок *Hsp70*. Для создания экспрессионного вектора была использована плазида pET-14b, экспрессия проводилась в *E. coli*. Выделение белка проводилось по описанному ранее протоколу [4]. Лизат для проведения люциферазных тестов получали из клеточной линии A549 (Коллекция клеточных культур Ин-та цитологии, Санкт-Петербург, Россия), трансфицированной лентивирусным вектором, несущим anti-HSP70 shRNA. Падение экспрессии *Hsp70* было подтверждено вестерн-блоттингом. Раствор термально денатурированной люциферазы в лизате из клеточной линии A549-HSP⁻ с добавлением креатин-фосфата, креатин-фосфокиназы и аликвоты исследуемых шаперонов *hsp70*

инкубировали при разных температурных режимах 20 минут, а так же дополнительно проводили преинкубацию в течении 30 минут. Восстановление структуры люциферазы оценивали по интенсивности флуоресценции с помощью люминометра Fluorophot Charity. Кинетику плавления исследуемых белков в растворе оценивали с помощью микрокалориметра VP-DSC (MicroCal, USA). Для сравнения кривых изменения активности флуоресценции в зависимости от условий пробоподготовки и инкубации использовали многомерный ANOVA с повторностями (Statistica software, Version 10).

Анализ молекулярно-генетических механизмов формирования адаптаций к опресненным биотопам у трехиглой колюшки проведен на материале 10 пресноводных популяций, подразделенных на две категории – старые (более 600 лет) и молодые (от 30 до 250 лет). Геномы от 8 до 24-х образцов из каждой популяции были секвенированы в общем пуле с 36-кратным покрытием. Библиотеки для секвенирования подготовлены по протоколам TruSeq с ПЦР и без применения ПЦР и секвенированы на HiSeq2000 и HiSeq4000 с парноконцевыми чтениями. Риды были обрезаны с помощью программы trimomatic version 0.27 [5], картированы на референсный геном *G. aculeatus* (база данных UCSC) с использованием программы bwa mem [6], отсортированы и отфильтрованы пакетами samtools [7] и picard (<http://broadinstitute.github.io/picard/>). SNP определены программой mpileup из пакета samtools [7]. Геномные островки, или островки дивергенции (DI) выявляли методом «скользящего окна». Учитывали все «окна» с частотой SNP более 10 SNP на 10 килобаз (кб) и фильтровали по максимальным частотам «пресноводных» аллелей не ниже 0,5. Расширение «окон» с максимальными значениями велось в обе стороны до снижения выявленных частот «пресноводных» аллелей на 30% от максимального для данного «окна». В дальнейшем полученные фрагменты для разных популяций были объединены таким образом, чтобы быть расположенными в пределах 30 кб и не пересекаться с соседними «островками». Для снижения вероятности случайного подбора маркеров в составе DI оставляли только DI, имеющие не менее одного 10-кб окна с 50 SNP, каждый из которых представлял как минимум одну популяцию. Частоту пресноводного аллеля локуса, вокруг которого осуществлялась сборка DI, определяли как среднюю для 20% окон с самыми высокими значениями пресноводных маркеров в пределах данного DI. Наконец, в финальном списке были оставлены DI, частотные значения пресноводных аллелей в которых были не ниже 50%. По полученным частотам SNP была оценена генетическая архитектура отдельных DI, проведена кластеризация популяций методом главных компонент для каждого DI. Были оценены популяционные показатели: относительный и абсолютный индексы дивергенции популяций (F_{st} и D_{xy}), индекс разнообразия (π). Скорости рекомбинации для каждого DI были оценены по

каждой популяции на основе пермутационного теста, с учетом размера популяции и полученных ранее оценок ожидаемых событий кроссинговера на 10 кб на поколение [8].

Результаты и обсуждение

Подраздел 1. Аминокислотный полиморфизм белка HSP70 определяет его устойчивость и функциональную активность как шаперона при повышенных температурах. Белки, полученные от клонированных генов *Hsp70* эвритермального вида мух-львинок *Stratiomyis singularior* демонстрируют значительно более эффективный рефолдинг в люциферазном тесте по сравнению с аналогичными белками, полученными от вида *D.melanogaster*, адаптированного к более низким температурам (рисунок 4.1).

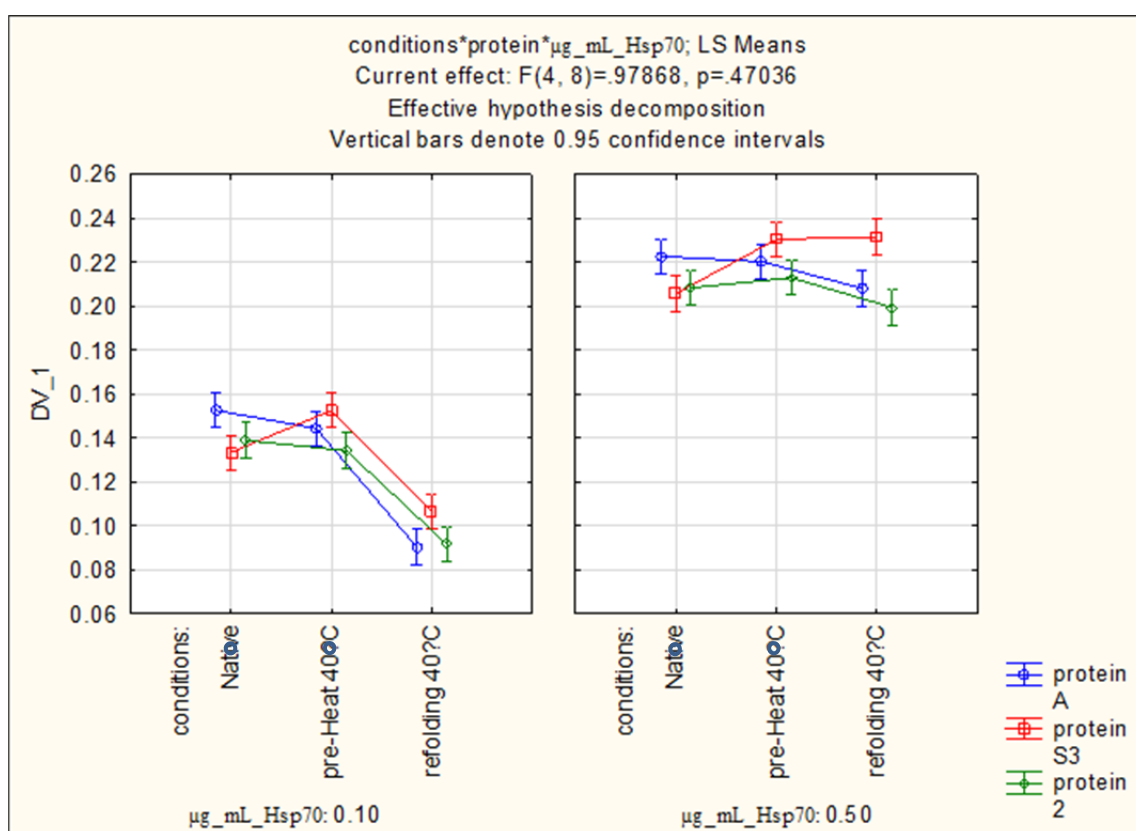


Рисунок 4.1. - Изменение эффективности рефолдинга HSP70 разного происхождения под влиянием условий пробоподготовки. По оси абсцисс – эффективность рефолдинга по данным люциферазного теста, по оси ординат – температурные условия реакции, левый график – концентрация HSP70 0,1 мг/мл, правый график – концентрация HSP70 0,5 мг/мл; вертикальные планки - доверительный интервал (0,95); наблюдаемый эффект взаимодействия «условия - белок»: $F(4, 8) = 17,359$, $p = 0.00052$. Наиболее эффективный рефолдинг белка S3 был показан при режиме подготовки образца «предварительный нагрев 40°C» и условиях реакции при 40°C. Protein A - *D.melanogaster*, Protein S3 - *S.singularior*, Protein 2 – *H. sapiens*

В большинстве исследований ранее сравнивались шапероны филогенетически очень далеких организмов (например, дрожжей и людей) [9]. В нашем исследовании мы

сравнили шапероны Hsp70 из видов двукрылых, демонстрирующих различную термотолерантность и ответ на температурный шок. Анализы реактивации люциферазы, в которых исследованные препараты Hsp70, предварительно нагретые при температуре в диапазоне от 40 до 49°C, показали, что активность *in vitro* шаперона *D. melanogaster* Hsp70 начала резко снижаться во время предварительной обработки при и выше 45° С, что намного выше, чем летальная температура для *D. melanogaster*. Характерно, что аналогичное снижение активности рефолдинга *S. singularior* Hsp70 происходит только после предварительной обработки при 47°C, температуре, при которой многие виды *Stratiomyidae* могут встречаться в природе), и неизбежно летальной для мух и личинок *D. melanogaster*. Биофизический метод определения кинетики плавления исследуемых белков в растворе показал, что обоих изученных видов Diptera два функциональных домена шаперонов Hsp70, фрагмент АТФ-азы и область связывания субстратного белка, имеют различную чувствительность к термической денатурации и образуют два различных пика, причем АТФ-азный домен стратиомид существенно сдвинут в сторону повышенных температур. Это ясно указывает, что глобальная стабильность белка может коррелировать с эволюционной адаптацией к температуре, формирующейся под действием отбора по специализированному домену. Сходным образом, Hsp70 *Plasmodium falciparum* также содержит два домена, и N-концевой / нуклеотидсвязывающий домен относительно нестабилен в изолированном состоянии, тогда как С-концевой домен функционирует как домен стабилизации [10].

Подраздел 2. Изучение популяций трехиглой колюшки из десяти пресноводных озер, возникших 500-1500 лет назад в бассейне Белого моря, с акцентом на повторяемость геномных паттернов адаптации среди озерных популяций и роль локальной скорости рекомбинации в распространении и структуре островков дивергенции, позволило выделить в геноме 65 островков дивергенции, которые группируются в 12 агрегаций. Такая кластеризация не может быть объяснена изменчивостью скорости рекомбинации. Только 21 островок из 65 присутствует во всех пресноводных популяциях, что, вероятно, объясняется их необходимостью для успешной колонизации пресноводной среды. В большинстве островков дивергенции, один и тот же набор однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) позволяет различить морские гаплотипы и пресноводные гаплотипы из всех озер; при этом пресноводные аллели могут различаться в разных популяциях.

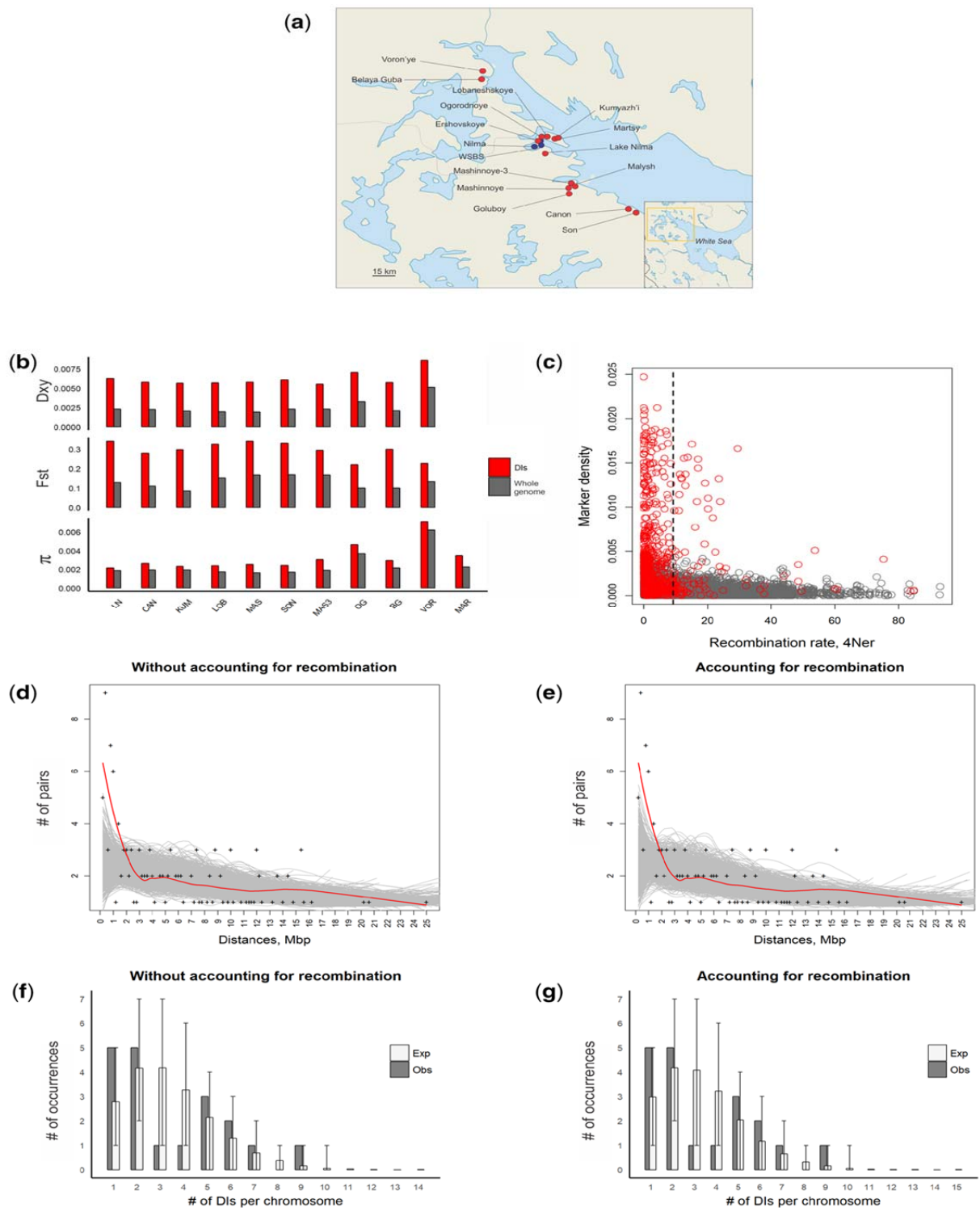


Рисунок 4.2 - Дивергенция в пресноводных популяциях. (a) Карта с указанием местоположения изученных популяций. (b) Dxy и Fst рассчитаны между одной морской и десятью старыми пресноводными популяциями; π рассчитано для тех же популяций. (c) Плотность маркерного SNP, построенная в зависимости от скорости рекомбинации в 10-КБ окнах генома. Красным цветом обозначены окна, расположенные внутри идентифицированных областей DI; темно-серым – все остальные геномные сегменты. Черная пунктирная линия – средняя скорость рекомбинации по всему геному. (d - e) Распределение расстояний между всеми парами DI, расположенными на одной хромосоме. Каждый крестик обозначает количество пар DI, попадающих в соответствующий 200-КБ фрагмент (шкала приведена в мегабазях). Линия локально оцененного сглаживания диаграммы рассеяния (диапазон = 0,5) для фактических данных

(красная) или для каждого из 1000 испытаний перестановок (серая) без (d) и с (e) учетом скорости локальной рекомбинации. (f - g) Распределение количества DI на хромосому без (f) учета скорости локальной рекомбинации и с учетом таковой (g). Ожидаемые значения рассчитываются в перестановочном тесте (n=1000)

Формирование геномных «островков дивергенции» может быть связано с множеством сцепленных мишеней отбора, сильным отбором по единственной мишени [8, 11], и / или локально сниженной частотой рекомбинации [12, 13]. Анализ молодых пресноводных популяций показал, что DI, как правило, находятся в геномных областях с низкой скоростью рекомбинации, в соответствии с предыдущими наблюдениями [14]. Вероятно, это связано с тем, что уменьшенная рекомбинация облегчает их образование [15, 16], способствуя формированию длинных DI с несколькими мишенями положительного отбора [17-20]. DI также имеют тенденцию к кластеризации вдоль хромосом, и этот эффект не может быть объяснен различиями в скорости рекомбинации (рисунок 4.2d-g). Подобные архипелаги DI ранее наблюдались у атлантической трески [21] и видов цихлид [22]. Кластеризация DI может происходить потому, что соседние DI облегчают формирование друг друга, например, из-за процесса расхождения за счет хитч-хайкинга. Этот процесс увеличивает вероятность фиксации новой полезной мутации, расположенной рядом с другой полезной мутацией [23, 24], таким образом расширяя DI или создавая архипелаг DI.

Хотя набор DI далеко не одинаков для разных популяций, часто некоторые из этих DI многократно используются пресноводными популяциями независимого происхождения. Представляется вероятным, что некоторые из DI особенно важны для адаптации, и можно ожидать, что они будут более распространенными. Широко распространенные DI обладают большей плотностью маркерных SNP, несут пресноводные аллели с более высокой частотой в пресноводных популяциях и, вероятно, имеют более длинную область ядра, разделяемую между популяциями.

Хотя среднее перекрытие маркеров SNP DI является высоким, оно ниже 0,4 для четырех из них. Это говорит о том, что несколько гаплотипов были вовлечены в адаптацию при одном DI [25]. Возможный сценарий эволюционных изменений может быть связан как с формированием полезного аллеля на разном генетическом фоне, так и с независимым отбором разных функционально сходных аллелей [26]. DI с низким перекрытием маркеров SNP обычно содержат некоторую долю общих маркеров SNP, что не позволяет отвергнуть простейшую гипотезу о сходстве полезного аллеля, участвующего в адаптации при DI, во всех популяциях. Некоторые из DI с наименьшим перекрытием маркеров SNP характеризуются частотой рекомбинации выше среднего, что

означает, что они также имеют повышенные локальные эффективные размеры популяции (N_e) [27], возможно, потому что они обладают генами, в которых разнообразие и рекомбинация полезны, такие как гены иммунного и сигнального путей [28, 29].

Поскольку большинство DI старые, это означает, что рекомбинация в DI может быть ограничена. Такое ограничение может возникнуть из-за сильного дизруптивного отбора и/или структурных изменений. Консерватизм границ DI в течение миллионов лет их развития соответствует теоретическому прогнозу о том, что DI должны накапливать геномные перестройки, которые сохраняют их длину [16]. Действительно, три из проанализированных DI находятся в пределах инверсий, которые препятствуют рекомбинации [17]. Отбор, действующий на DI, сильный: средняя частота пресноводных аллелей в ответных DI составляет 0,81. Однако в некоторых случаях мы наблюдаем, что пресноводные аллели при DI достигают только промежуточных частот. Это может быть связано с двумя причинами: отбор в пользу пресноводных аллелей в этом DI является слабым, так что у них было недостаточно времени для достижения высокой частоты; или равновесная частота аллеля <1 из-за действия балансирующего отбора. Первая причина вряд ли объясняет большинство наблюдений, потому что коэффициенты отбора для благоприятных аллелей при DI обычно очень высоки и потому что частота пресноводных аллелей в этих DI не зависит от возраста популяции [3, 30]. Балансирующий отбор даже в пределах одной среды обитания может быть эффективным из-за таких механизмов, как преимущество гетерозигот, частотно-зависимый отбор или флуктуирующий отбор. Так, действие балансирующего отбора в эволюции иммунных генов является результатом взаимоотношений хозяина и паразита [31]. Главным кандидатом на действие балансирующего отбора является DI XXI-1. Этот DI расположен в самой длинной инверсии и несет необычно высокую плотность маркерных SNP [3], что свидетельствует о его старости на уровне метапопуляции, и он был признан одним из самых старых среди всех DI [32]. Промежуточная частота пресноводного гаплотипа и независимость этой частоты от возраста популяции позволяют предположить, что этот DI мог испытать балансирующий отбор.

Заключение

Механизмы формирования адаптаций показаны на молекулярно-генетическом и популяционном уровнях. Адаптация вида к экстремальным температурным условиям, связанная с подбором специфической изменчивости шаперонов, обеспечивающей их собственную термостабильность, продемонстрирована впервые, и что особенно важно, получено доказательство отбора по конкретному гену-мишени. Вторая работа

демонстрирует широкий набор локусов, по которым идет отбор к специфическим условиям обитания в природных популяциях. Показана высокая эффективность отбора и способность быстрой «сборки» адаптированного генома на основе сохраняющейся в популяции скрытой изменчивости. Данная работа открывает перспективы изучения функциональной геномики ранних стадий формирования комплексных адаптаций.

Список использованных источников

1. Lewontin R.C. Directions in evolutionary biology// *Annu Rev Genet.* – 2002. - Vol. 36. P. 1-18. Epub 2002 Jun 11.
2. Garbuz D.G., Sverchinsky D., Davletshin A., Margulis B.A., Mitkevich V., Kulikov A.M., Evgen'ev M.B. The molecular chaperone Hsp70 from the thermotolerant Diptera species differs from the *Drosophila* paralog in its thermostability and higher refolding capacity at extreme temperatures// *Cell Stress Chaperones.* – 2019. – Vol. 24. No. 6. P. 1163-1173. doi: 10.1007/s12192-019-01038-3. Epub 2019 Oct 30.
3. Terekhanova N.V., Barmintseva A.E., Kondrashov A.S., Bazykin G.A., Mague N.S. Architecture of parallel adaptation in ten lacustrine threespine stickleback populations from the White Sea area // *Genome Biology and Evolution.* - 2019. - Vol. 11, Iss. 9. P. 2605–2618 <https://doi.org/10.1093/gbe/evz175>
4. Bobkova N.V., Evgen'ev M., Garbuz D.G., Kulikov A.M., Morozov A., Samokhin A., Velmeshev D., Medvinskaya N., Nesterova I., Pollock A., Nudler E. Exogenous Hsp70 delays senescence and improves cognitive function in aging mice// *Proc Natl Acad Sci USA* – 2015, - Vol. 112. No. 52. P. 16006–16011.
5. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data// *Bioinformatics* - 2014. - Vol. 30. No. 15. P. 2114–2120.
6. Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform// *Bioinformatics* - 2009. - Vol. 25. No. 14. P. 1754–1760.
7. Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data// *Bioinformatics* - 2011. - Vol. 27. No. 21. P. 2987–2993.
8. Feulner P.G., Chain F.J., Panchal M. et al. Genomics of divergence along a continuum of parapatric population differentiation// *PLoS Genet.* – 2015. – Vol. 11. No. 2. e1004966. doi: 10.1371/journal.pgen.1004966. eCollection 2015.
9. Schumacher R.J., Hansen W.J., Freeman B.C., Alnemri E., Litwack G., Toft D.O. Cooperative action of Hsp70, Hsp90, and DnaJ proteins in protein renaturation// *Biochemistry* – 1996. – Vol. 35. No. 47. P. 14889–14898.

10. Misra G., Ramachandran R. Hsp70-1 from *Plasmodium falciparum*: protein stability, domain analysis and chaperone activity// Biophys Chem – 2009. – Vol. 142. No. 1-3. P. 55–64.
11. Feder J.L., Gejji R., Yeaman S., Nosil P. Establishment of new mutations under divergence and genome hitchhiking// Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. – 2012. – Vol. 367. No. 1587. P. 461-474. doi: 10.1098/rstb.2011.0256.
12. Flaxman S.M., Feder J.L., Nosil P. Genetic hitchhiking and the dynamic buildup of genomic divergence during speciation with gene flow// Evolution - 2013. – Vol. 67. No. 9. P. 2577–2591.
13. Samuk K., Owens G.L., Delmore K.E. et al. Gene flow and selection interact to promote adaptive divergence in regions of low recombination// Mol Ecol. – 2017. – Vol. 26. No. 17. P. 4378-4390. doi: 10.1111/mec.14226. Epub 2017
14. Samuk K., Owens G.L., Delmore K.E., Miller S.E., Rennison D.J., Schluter D. Gene flow and selection interact to promote adaptive divergence in regions of low recombination// Mol Ecol. – 2017. – Vol. 26. No. 17. P. 4378-4390. doi: 10.1111/mec.14226.
15. Barton N.H. Genetic hitchhiking// Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. - 2000. Vol. 355, No. 1403. P. 1553–1562.
16. Yeaman S., Aeschbacher S., Bürger R. The evolution of genomic islands by increased establishment probability of linked alleles// Mol Ecol. - 2016. – Vol. 25. No. 11. P. 2542–2558.
17. Jones F.C., et al. The genomic basis of adaptive evolution in threespine sticklebacks// Nature. - 2012. – Vol. 484. No. 7392. P. 55–61.
18. Nadeau N.J., Whibley A., Jones R.T., et al. Genomic islands of divergence in hybridizing *Heliconius* butterflies identified by large-scale targeted sequencing// Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. – 2012. – Vol. 367. No. 1587. P. 343-353. doi: 10.1098/rstb.2011.0198.
19. Renaut S., Grassa C.J., Yeaman S., et al. Genomic islands of divergence are not affected by geography of speciation in sunflowers// Nat Commun. – 2013. - Vol. 4. 1827. doi: 10.1038/ncomms2833.
20. Sodeland M., Jorde P.E., Lien S., et al. "Islands of Divergence" in the Atlantic Cod Genome Represent Polymorphic Chromosomal Rearrangements// Genome Biol Evol. – 2016. – Vol. 8. No. 4. P. 1012-1022. doi: 10.1093/gbe/evw057.

21. Bradbury I.R., Hubert S., Higgins B., et al. Genomic islands of divergence and their consequences for the resolution of spatial structure in an exploited marine fish// *Evol Appl.* – 2013. – Vol. 6. No. 3. P. 450-461. doi: 10.1111/eva.12026.
22. Malinsky M., Challis R.J., Tyers A.M., et al. Genomic islands of speciation separate cichlid ecomorphs in an East African crater lake// *Science.* – 2015. – Vol. 350. No. 6267. P. 1493-1498. doi: 10.1126/science.aac9927.
23. Via S. Natural selection in action during speciation// *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2009. – Vol. 106 (1 Suppl). P. 9939–9946.
24. Feder J.L., Gejji R., Yeaman S., Nosil P. Establishment of new mutations under divergence and genome hitchhiking// *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2012. – Vol. 367. No. 1587. P. 461-474. doi: 10.1098/rstb.2011.0256.
25. Bassham S., Catchen J., Lescak E., von Hippel F.A., Cresko W.A. Repeated selection of alternatively adapted haplotypes creates sweeping genomic remodeling in stickleback// *Genetics.* - 2018. – Vol. 209. No. 3. P. 921–939.
26. Hermisson J., Pennings P.S. Soft sweeps// *Genetics.* - 2005. – Vol. 169. No. 4. P. 2335.
27. Gossmann T.I., Woolfit M., Eyre-Walker A. Quantifying the variation in the effective population size within a genome// *Genetics.* - 2011. – Vol. 189. No. 4. P. 1389–1402.
28. The International HapMap Consortium, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs// *Nature.* - 2007. Vol. 449. No. 7164. P. 851.
29. Choi K., Reinhard C., Serra H., et al. Recombination Rate Heterogeneity within *Arabidopsis* Disease Resistance Genes// *PLoS Genet.* – 2016. – Vol. 12. No. 7. e1006179. doi: 10.1371/journal.pgen.1006179. eCollection 2016 Jul.
30. Barrett R.D.H., Rogers S.M., Schluter D. Natural selection on a major armor gene in threespine stickleback// *Science.* – 2008. – Vol. 322, No. 5899. P. 255.
31. Eizaguirre C., Lenz T.L., Kalbe M., Milinski M. Rapid and adaptive evolution of MHC genes under parasite selection in experimental vertebrate populations// *Nat Commun.* – 2012. – Vol. 3. P. 621.
32. Nelson T., Cresko W. Ancient genomic variation underlies repeated ecological adaptation in young stickleback populations// *Evol Lett.* – 2018. – Vol. 2. No. 1. P. 9–21.

РАЗДЕЛ 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОММУНИКАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ.

Введение

Животные и человек осуществляют свою биологическую активность через поведенческие действия. В частности, поведенческие реакции лежат в основе формирования презиготических барьеров при дивергенции видов в условиях реализации симпатрической модели видообразования, являются мишенью полового отбора и основой любой социальной иерархии у животных с выраженным социальным поведением. Такие формы поведенческих реакций, обеспечивающих эффективность взаимодействия индивидуумов, представляют коммуникативное поведение. Анализ генетических основ соответствующих психологических реакций имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Анализ коммуникативного поведения выполнялся на двух моделях – брачного поведения дрозофил и изменчивости акустических сигналов самцов и самок разных возрастных групп в популяциях рыжеватого суслика *Spermophilus major*.

Подраздел 1. Влияние гена *quick-to-curt* на брачное поведение дрозофилы

Функциональная активность гена *quick-to-curt* понятна из его названия – влияние на скорость проведения брачного ритуала дрозофилы. Впервые мутация в гене *qtc* была обнаружена в лабораторной линии с повышенной частотой ухаживания между самцами [1]. Еще одним проявлением мутации было ускорение процесса ухаживания самцов за самками. Кроме того, есть данные об участии *qtc* в процессе узнавания самок с помощью хеморецепции [2]. Однако роль дистантных и контактных сигналов в реализации функции гена остается не выясненной. Для детальной оценки влияния этого гена на брачное поведение была получена делеция *qtc*, включающая полную последовательность гена [3] и проведена серия тестов на оценку продолжительности отдельных элементов брачного поведения у мух мутантной и контрольной линий [4].

Методы

Линии *Drosophila melanogaster*. Линия $y^1w^{1118}; pDEL-qtc$, представляющая собой встроенную конструкцию *pDEL-qtc* в линию $P\{y[+t7.7] = CaryP\}attP40$, была контролем во всех поведенческих тестах. $y^1w^{1118}; \Delta qtc/CyO$ – линия с делецией *qtc*, полученная из y^1w^{1118} ; *pDEL-qtc* с помощью оригинального метода с использованием репарации индуцированного двухцепочечного разрыва [3]. Делеция *Δqtc* является летальной и ведется в гетерозиготном состоянии, поэтому для поведенческих тестов использовали самцов и самок от скрещиваний самцов экспериментальных линий с самками линии дикого типа *OregonR*.

Поведенческие тесты. Содержание и развитие мух проводили на стандартной кормовой среде, в пробирках диаметром 25 мм, при 12-часовом световом дне и температуре $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Отбор самцов и самок проводили в течении 6-и часов после вылета из куколок, используя холод для обездвиживания. Для поведенческих тестов использовали самцов и самок пятидневного возраста, интактных и с удаленными аристами. Аристы у самок и самцов удалялись при помощи микрохирургических ножниц, за 1–2 суток до постановки экспериментов. Фиксировали три показателя: латентное время, длительность ухаживания и число копуляций. Частоту копуляций сравнивали с помощью точного критерия Фишера. Средние по латентным периодам и длительностям ухаживания сравнивали с помощью критерия Стьюдента. Для учета множественных сравнений использовался критерий Бенджамини–Хочберга [5].

Результаты и обсуждение

Удаление арист привело к снижению доли успешных копуляций как у самцов, так и у самок, у дрозофил, гетерозиготных по делеции Δqtc , и к снижению доли успешных копуляций только у самцов, гомозиготных по нормальному аллелю данного гена. При этом сравнение доли успешных копуляций у гомо- и гетерозиготных мух не дает значимых различий в доле успешных копуляций, что предполагает относительно слабый эффект мутантного аллеля на суммарную поведенческую реакцию самок. Отсутствие значимого влияния на поведение самок мутантного аллеля qtc^1 , вызванного частичной делецией кодирующей последовательности гена, отмечено Гейнсом с соавт. [1]. Результаты анализа длительности латентного периода и ритуала ухаживания представлены на рисунке 5.1. Они показали достоверное увеличение латентного периода в скрещиваниях самцов Δqtc с удаленными аристами по сравнению с гомозиготными самцами по нормальному аллелю qtc^+ с удаленными аристами и увеличение длительности всего ритуала у самцов и у самок Δqtc с удаленными аристами, как по отношению к интактным мухам, так и по отношению к гомозиготным по аллелю qtc^+ . Данные по увеличению латентного периода у самцов Δqtc с удаленными аристами предполагают снижение чувствительности к дистантным сигналам (феромонам) у таких самцов относительно как интактных самцов, так и гомозиготных по аллелю qtc^+ без арист.

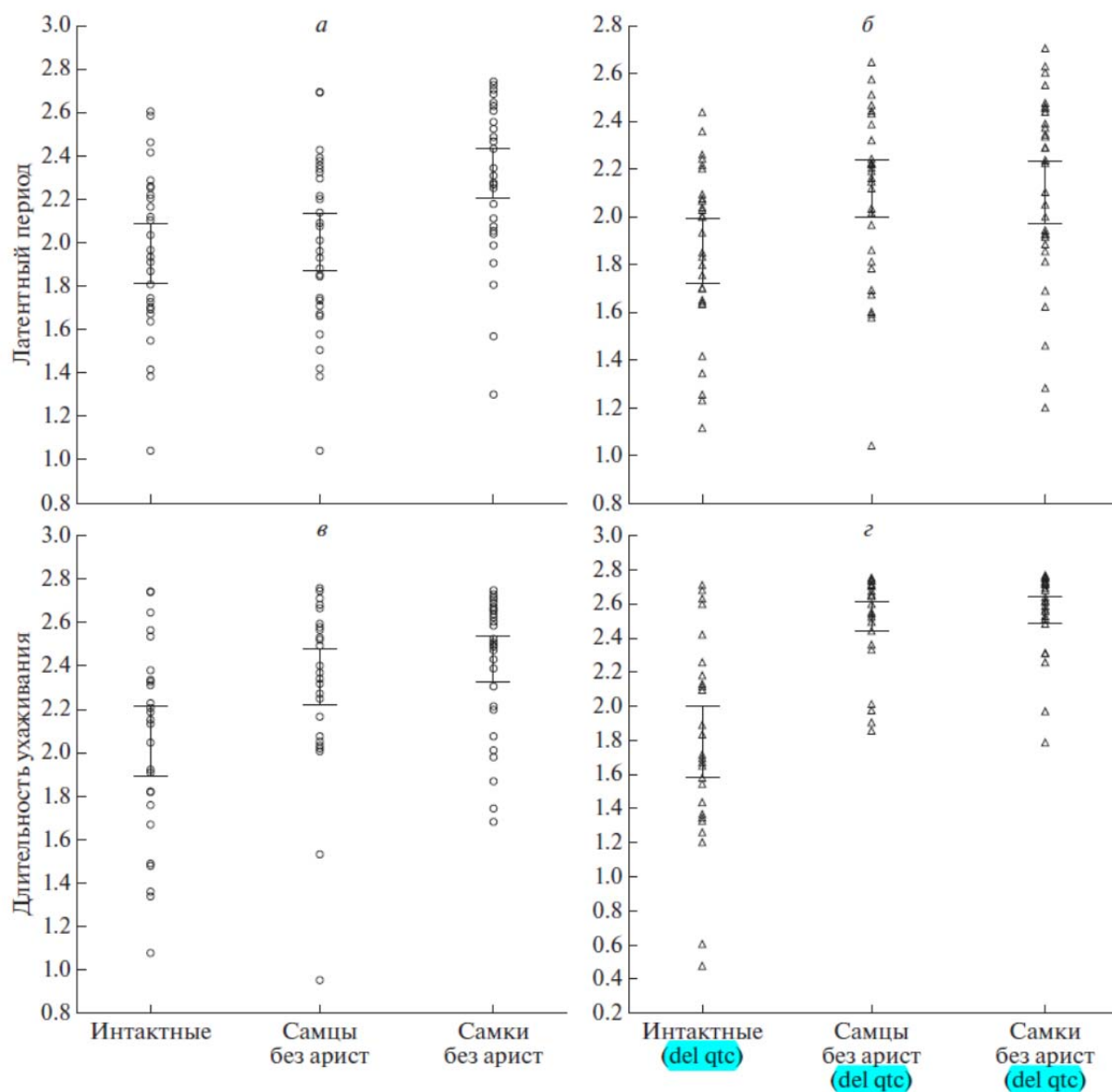


Рисунок 5.1. - Латентный период и длительность ухаживания в скрещиваниях интактных самок и самцов с удаленными аристами (самцы без арист) или интактных самцов и самок с удаленными аристами (самки без арист) по сравнению с интактными. Трансформированные данные. Вертикальные линии представляют собой 95%-ный доверительный интервал. а и в – контрольные мухи. б и г – мухи с делецией qtc

Ген qtc экспрессируется в мозге, половом тракте и обонятельных органах дрозофил [1], в том числе на антеннах, где расположена ариста. И на аристе экспрессируется ген Odorant-binding protein 56d (Obp56d). Обонятельный стимул играет ведущую роль в привлечении самца. Можно полагать, что белок qtc участвует в передаче сигнала от обонятельных рецепторов и/или его обработке в антеннальных долях и центральном отделе мозга. Если его отсутствие может компенсироваться другими белками-партнерами при наличии самого сигнала, т.е. при наличии арист, то значительное снижения уровня сигнала при удалении арист является критичным для стимуляции брачного поведения самцов. Поскольку аристы обеспечивают также восприятие акустических сигналов, самки

Δqtc и qtc^+ , лишённые арист, проявляют одинаковую задержку ответа на пение самца, и, соответственно, сходное увеличение латентного периода. При проведении самого брачного ритуала, контактная рецепция, как и акустическая стимуляция, осуществляется с обеих сторон. При этом нечувствительность к звуковым сигналам приведет во всех случаях к задержке ухаживания у самцов и самок без арист по сравнению с интактными, тогда как снижение чувствительности к контактной рецепции должно приводить к задержке ритуала только у самцов и самок Δqtc , что и наблюдается в эксперименте.

Подраздел 2. Формирование частотно-временных характеристик звукового сигнала на разных стадиях индивидуального развития у рыжеватого суслика

Звуковая коммуникация является одним из важнейших поведенческих приспособительных механизмов животных. Наиболее значимы подобные адаптации для животных, живущих в колониях, например, наземных беличьих. Ранее было показано, что формирование голосового аппарата у млекопитающих происходит на ранних этапах постнатального развития и тесно связано с половым созреванием. На основе многочисленных наблюдений и специальных исследований сформировалось широко распространенное мнение о том, что молодые животные издают более высокие звуки, чем взрослые особи [62, 63]. На этом фоне неожиданным было сообщение об отсутствии различий в тональности звукового сигнала молодых и взрослых животных у крапчатого суслика и более высокой частоте крика у взрослых животных по сравнению с молодыми у желтого суслика [64].

Такие противоречивые результаты требовали проведения дополнительных исследований на близкородственных видах. С этой целью нами было проведено изучение частотно-временных характеристик сигнала рыжеватого суслика *Spermophilus major*.

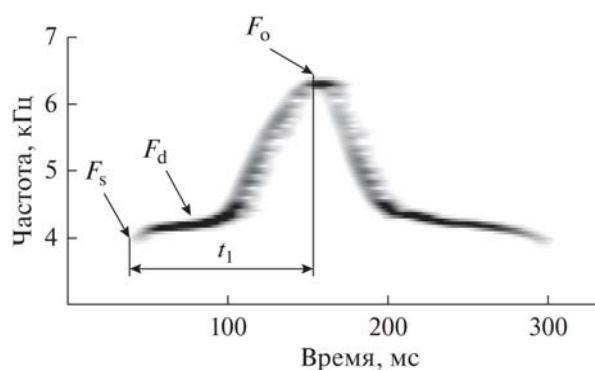


Рисунок 5.2. - Сонограмма предупреждающего об опасности звукового сигнала рыжеватого суслика. Стрелками показано положение стартовой (F_s), доминантной (F_d), максимума основной (F_o) частот и начальная длительность (t_1) сигнала

Исследованы характеристики звуковых сигналов: доминантная или пиковая (F_d) частота, основная частота в начале сигнала (стартовая частота, F_s) и максимум основной частоты (F_o), длительность от начала сигнала до достижения максимума основной частоты (начальная длительность, t_1) (рисунок 5.2) [65].

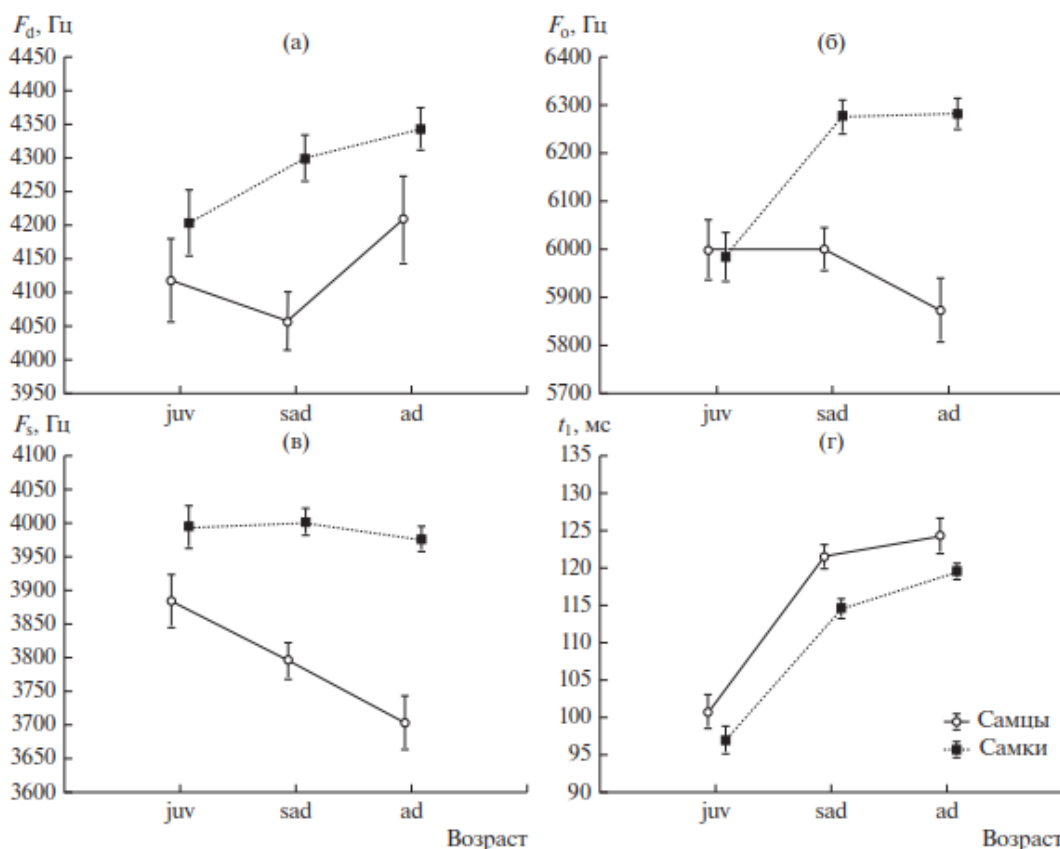


Рисунок 5.3. - Зависимость характеристик звукового предупреждающего об опасности сигнала рыжеватого суслика от пола и возраста (ANOVA): а – доминантной частоты; б – максимума основной частоты; в – стартовой частоты; г – начальной длительности; вертикальные штрихи – значения стандартной ошибки (s.e.)

Было обнаружено влияние двух факторов (пола и возраста) на показатели F_o , F_s и t_1 (рисунок 5.3). Значения максимума основной частоты (F_o) у молодых особей обоих полов совпадают, у самцов subadultus остаются на том же уровне, у самок становятся выше на 300 Гц и остаются такими у взрослых животных. У взрослых самцов это значение понижается на 150 Гц. Значимые различия начальной частоты сигнала (F_s) обнаружены у обоих полов во всех возрастных группах. При этом у самок всех возрастов эти значения находятся в одном диапазоне, а у самцов линейно снижаются. Начальная длительность сигнала у самок меньше, чем у самцов во всех возрастных группах. У обоих полов она достоверно короче у молодых особей по сравнению с полувзрослыми и взрослыми. Значения доминантной частоты (F_d) в объединенной выборке достоверно различаются у самцов и самок ($p < 0.05$), в то время как влияние возраста недостоверно ($p > 0.05$).

Диапазоны доминантной частоты у молодых самок и самцов перекрываются. У полувзрослых самцов эта характеристика становится несколько ниже, а у взрослых выше, чем у молодых, в то время как у самок она последовательно повышается.

В результате исследования обнаружено, что становление звукового сигнала в постнатальном онтогенезе у самцов и самок рыжеватого суслика значительно различается. Звуковой сигнал у самок формируется в течение первого года жизни до залегания в спячку, а у самцов он, вероятно, приобретает стабильные характеристики после первой гибернации. Формирование на основе этого феномена широкого спектра индивидуальной изменчивости издаваемых криков может играть существенную роль в коммуникации наземных беличьих.

Заключение

Путь от гена к призыву, тем более, такому сложному, как поведенческая реакция, опосредован множеством взаимодействий. Анализ функциональной активности гена *quick-to-court* [4] подтверждает скорее вспомогательную роль соответствующих сплайс-вариантов данного гена в передаче сигналов от обонятельных и, возможно, вкусовых рецепторов в мозг дрозофилы. Эффект удлинения латентного периода и брачного ритуала летального аллеля *qtc*, вызванного делецией кодирующей последовательности, является доминантным, т.к. проявляется в гетерозиготе, но слабым, реализуемым только на фоне инактивации физиологической функции аристы. Отметим, что рецессивные аллели *qtc*, полученные в работе Гейнса с соавт.[1], связанные с нарушением сплайсинга белка под влиянием инсерции Р-элемента или делеций части экзонов, производят противоположный эффект, сокращая латентный период и ускоряя брачный ритуал. Эти различия предполагают, что аллельные варианты гена *qtc* могут обладать разной эффективностью и специфичностью при проведении сигналов от хеморецепторов в мозг, изменять длительность отдельных элементов брачного ритуала и специфичность ответа на обонятельные и вкусовые стимулы и, следовательно, быть мишенью для полового отбора при видообразовании. Половой диморфизм становления звуковых сигналов в постнатальном онтогенезе у самцов и самок рыжеватого суслика подтверждает, что поведенческие реакции, связанные с коммуникационным поведением, могут формироваться под действием полового отбора.

Список использованных источников

1. Gaines P., Tompkins L., Woodard C.T., Carlson J.R. *quick-to-court*, a *Drosophila* mutant with elevated levels of sexual behavior, is defective in a predicted coiledcoil protein // *Genetics*. - 2000. - Vol.154. P. 1627–1637.
2. Houot B., Fraichard S., Greenspan R.J., Ferveur J.F. Genes involved in sex pheromone discrimination in *Drosophila melanogaster* and their background-dependent effect // *PLoS One*. - 2012. - V.7. e30799.
3. Кравчук О.И., Михайлов В.С., Савицкий М.Ю. Простой и эффективный метод получения направленных делеций в геноме дрозофилы // *Генетика*. - 2015. - Т. 51. № 11. С. 1325–1329.
4. Белкина Е.Г., Лазебный О.Е., Кравчук О.И. Влияние гена *quick-to-court* на некоторые аспекты брачного поведения у *Drosophila melanogaster*// *Генетика*, - 2020, - Т. 56, № 2, с. 1–6.
5. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *J. Roy Statist. Soc. Ser. B*. - 1995. - V. 57. No.1. P. 289–300.
6. Colvin M.A. Analysis of acoustic structure and function in ultrasounds of neonatal *Microtus* // *Behavior*. - 1973. - Vol. 44. № 3/4. P. 234–263.
7. Никольский А.А. Сравнительный анализ частоты звукового предупреждающего об опасности сигнала разных возрастных групп грызунов // *Зоол. журн.* - 2007. – Т. 86. № 4. С. 499–504.
8. Matrosova V.A., Volodin I.A., Volodina E.V. et al. Pups crying bass: vocal adaptation for avoidance of age-dependent predation risk in ground squirrels? // *Behav. Ecol. Sociobiol.* – 2007. – Vol. 62. P. 181–191.
9. Тухбатуллин А.Р., Никольский А.А. Сравнительный анализ звукового предупреждающего об опасности сигнала разных возрастных и половых групп рыжеватого суслика (*Spermophilus major pallas 1778*) // *Онтогенез*. – 2019. – Т. 50. № 4. С. 228-236.

РАЗДЕЛ 6. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ КАНАЛОВ (НА МОДЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ)

Введение

Долгое время аллопатрия, формирование новых видов в результате географической изоляции между популяциями предкового вида, считалось основным, если не единственным механизмом появления новых видов. Однако, в последние годы было получено множество свидетельств формирования новых видов без участия географической изоляции, т.е. симпатрического видообразования. Яркими примерами данного типа видообразования являются озерные пучки видов рыб - группы форм/видов, возникшие в одном озере в результате адаптивной радиации. Зачастую скорость морфологической и экологической эволюции форм в пучках видов столь велика, что к ним применяется термин «взрывное видообразование». При этом темпы накопления генетических различий между формами значительно отстают от темпов формирования морфологических и экологических различий. Данные факты указывают на ведущую роль онтогенеза при симпатрическом видообразовании. В связи с этим, изучение онтогенетических механизмов, лежащих в основе формирования симпатрических форм, стало актуальной задачей современной эволюционной биологии, над решением которой работает множество научных групп. Анализ изменчивости онтогенетических стадий в природных популяциях близкородственных видов и экспериментальное моделирование эволюционной изменчивости морфогенеза модельных видов под влиянием различных факторов, включая гормональные регуляции, представляют два основных направления, развиваемые в рамках данной тематики. Оба направления отражены в отчетных работах за 2019 г. [1, 2].

Материалы и методы

[1]. Сбор образцов видов рода *Labeobarbus* проводили из природных популяций, обитающих в озере Тана (Эфиопия). Было собрано 67 образцов разных возрастных групп *L. intermedius*, 28 образцов *L. megastoma*, 26 образцов *L. macrophthalmus*, 27 образцов *L. crassibarbus*, 30 образцов *L. brevicephalus*. Морфометрический анализ проводили с использованием пакета программ TPS [3] по фотографиям головы рыбы в латеральной проекции. Для сравнения показателей флуктуирующей асимметрии и выявления связи морфологической изменчивости со стадиями развития применяли дисперсионный анализ и метод главных компонент соответственно.

[2]. Оплодотворенная икра *Danio rerio* дикого типа (AB) была получена в результате естественного нереста лабораторных животных в аквариуме. Эмбрионы и личинки выращивались в стандартизированных условиях согласно общепринятому

протоколу (www.zebrafish.org). Гипертиреоидный статус достигался за счет добавления в воду активной формы тиреоидного гормона 3,5,3'-трийодтиронина (Т3) в концентрации 1 ng/ml. личинки фиксировались ежедневно в количестве 3-5 штук в парформальдегиде 4%, затем отмывались фосфатным буфером в течение 24 часов, затем переводились в смесь фосфатного буфера с тимолом для последующего хранения в холодильнике при +4 С. Стадии развития личинок определялись за счет измерения их стандартной длины (SL), производимого с использованием окуляр-микрометра на стереомикроскопе Olympus SZX, и согласно разработанной таблице постнатального онтогенеза данного вида [3].

Перед окрашиванием, препараты отмывались несколько раз свежим фосфатным буфером, затем переводились в смесь фосфатного буфера и тритона (5%), в которой инкубировались в течении 72 ч при 10 С. После этого препараты инкубировались в фаллоидине (phalloidin-Alexa 488 (Invitrogen, Molecular Probes, A 12379) при разведении 1:500 и красителе ТОТО (ТОТО™-3 Iodide, ThermoFisher Scientific, T3604), разведенным в пропорции 1:1000. После чего препараты отмывались и переводились в 85% фруктозу, монтировались на предметном стекле и анализировались при помощи конфокального микроскопа Leica TCS SP5 (Leica, Germany), расположенного на базе Центра коллективного пользования ИБР РАН.

Результаты и обсуждение

Молодые пучки видов, в которых процесс формообразования находится на ранних этапах, представляют собой удобную модель для изучения триггерных микроэволюционные механизмы. К таким пучкам можно отнести крупных Африканских усачей р. *Labeobarbus*, населяющих оз. Тана, расположенное на Абиссинском нагорье (Эфиопия). Этот наиболее разнообразный из известных пучков видов карповых рыб, состоящий из пятнадцати фенотипически и экологически различающихся форм (рисунок 6.1), сформировался в течение последних 15 000 лет. Ранее была выдвинута гипотеза, что основную роль в формировании морфологических различий танских усачей сыграли гетерохронии – изменения сроков и темпов онтогенеза.



Рисунок 6.1. - Морфология головы танских усачей

В настоящем проекте с использованием современных методов морфологического анализа – методов геометрической морфометрии, проведен сравнительный анализ семи экологически и морфологически различных форм усачей. Данный подход позволил количественно описать и сравнить признаки внешней морфологии изучаемых видов. В результате было показано, что основные различия связаны с формой головы. Мы также сделали сравнительный анализ формы отдельных окостенений черепа усачей и определили, какие кости черепа несут межвидовые различия. В дальнейшем, нами было проведено сравнение развития изучаемых видов с предковым онтогенезом, для чего были выстроены онтогенетические каналы, наглядно демонстрирующие сроки появления морфологических различий (рисунок 6.2).

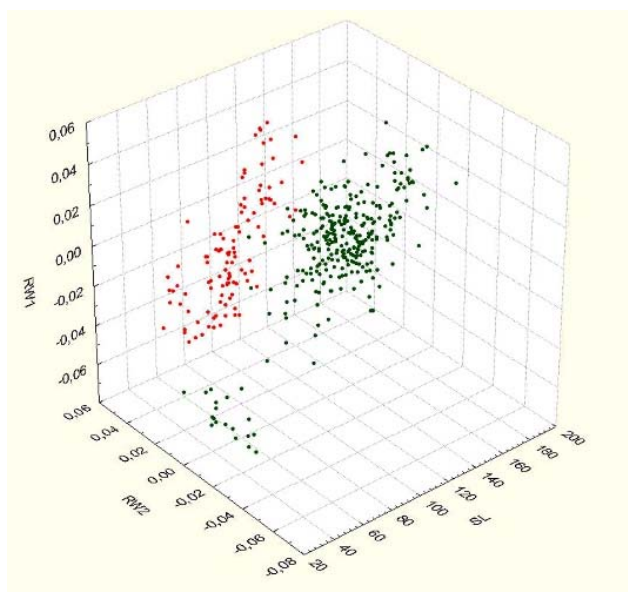


Рис. 6.2. - Онтогенетические каналы предкового вида усачей (красный) и «молодых» видов (зеленый). RW1, RW2 – 1-я и 2-я оси относительных деформаций, SL – стандартизованный показатель длины образца. Для «молодых» видов виден разрыв по

шкале RW1 для условных возрастных групп SL “40-100”, связанный с различиями в динамике накопления морфологических изменений в разных возрастных группах

Обнаруженные отклонения траекторий онтогенетических каналов молодых видов от предкового позволили установить череду гетерохроний, лежащих в основе формирования морфологических различий танских усачей. Таким образом, впервые для молодого пучка видов экспериментальным путем были получены подтверждения роли онтогенетических изменений в ходе симпатрического видообразования.

Основной причиной отклонения направления онтогенетических траекторий являются изменения активности генов, ответственных за регуляцию развития тех или иных структур в организме. Подобные изменения могут привести к нарушению генетической коадаптации и, как следствие, нарушению морфогенетического гомеостаза (стабильности развития). Снижение уровня стабильности развития выражается в незначительных ненаправленных отклонениях от билатеральной симметрии – флуктуирующей асимметрии [4]. Таким образом, уровень флуктуирующей асимметрии является мерой стресса, испытываемого развивающимся организмом в результате отклонения внутренних и внешних факторов от оптимума. Можно ожидать, что в ходе стремительного видообразования, сопровождающегося значимыми онтогенетическими изменениями, должно происходить снижение стабильности развития. Для проверки данной гипотезы мы провели оценку уровня флуктуирующей асимметрии как в природных популяциях исследуемых видов, так и в экспериментально выращенных группах. Значимых различий в показателях стабильности развития обнаружено не было. Это указывает на отсутствие стресса, вызванного внутренними факторами, в частности онтогенетическими изменениями. Учитывая, что взрывное видообразование довольно распространенное явление среди костистых рыб, которое в большинстве случаев реализуется по одним и тем же схемам, мы предполагаем, что обнаруженные онтогенетические изменения лежат в пределах нормы реакции предкового вида, и реализация любого из возможных для данного генотипа онтогенетических каналов не сопровождается снижением гомеостаза развития.

В экспериментах по моделированию эволюционной изменчивости морфогенеза у модельного вида данио-рерио показано влияние тироидных гормонов на развитие мускулатуры и осевого скелета. Полученные данные представляют большой интерес в контексте исследования эволюционно опосредованных патологий развития (Evo-Devo-Path). Гипо- и гипер-тироидоз приводит к разнообразным нарушениям развития скелета и мускулатуры, оказывающимися характерными для соответствующих стадий развития

других видов. Эффекты гормона Т3 проявляются с самых ранних стадий развития рыбок данио. Первыми признаками, которые отличали обработанную Т3 рыбу, были отклонения в поведении, изменения в структуре пигмента личинок и латеральная или дорсальная кривизна туловища. Экспериментальная рыба была более активной и тревожной по сравнению с контрольной. Эти поведенческие отклонения, вероятно, были вызваны изменениями в развивающейся нервной системе и / или уровнями метаболизма, которые, как известно, происходят в условиях гипотиреоза. Аксиальный скелет образцов, инкубированных в экзогенном Т3, часто деформировался и имел признаки сколиоза. У многих обработанных рыб был незаполненный плавательный пузырь. Эти деформации могут быть обнаружены уже в начале активного кормления, при длине хорды 3,6–3,7 мм. Были отмечены изменения мышечного фенотипа, связанные с недоразвитием мышц, нарушения в расположении грудного плавника, отсутствие тазовых плавников, нарушения формы хвостового плавника. Все дефекты были связаны с пороками развития костей и прикрепляющихся к ним мышц. На рисунке 6.3 приведен пример нарушений мышечных волокон хвостового плавника при гипертироидизме.

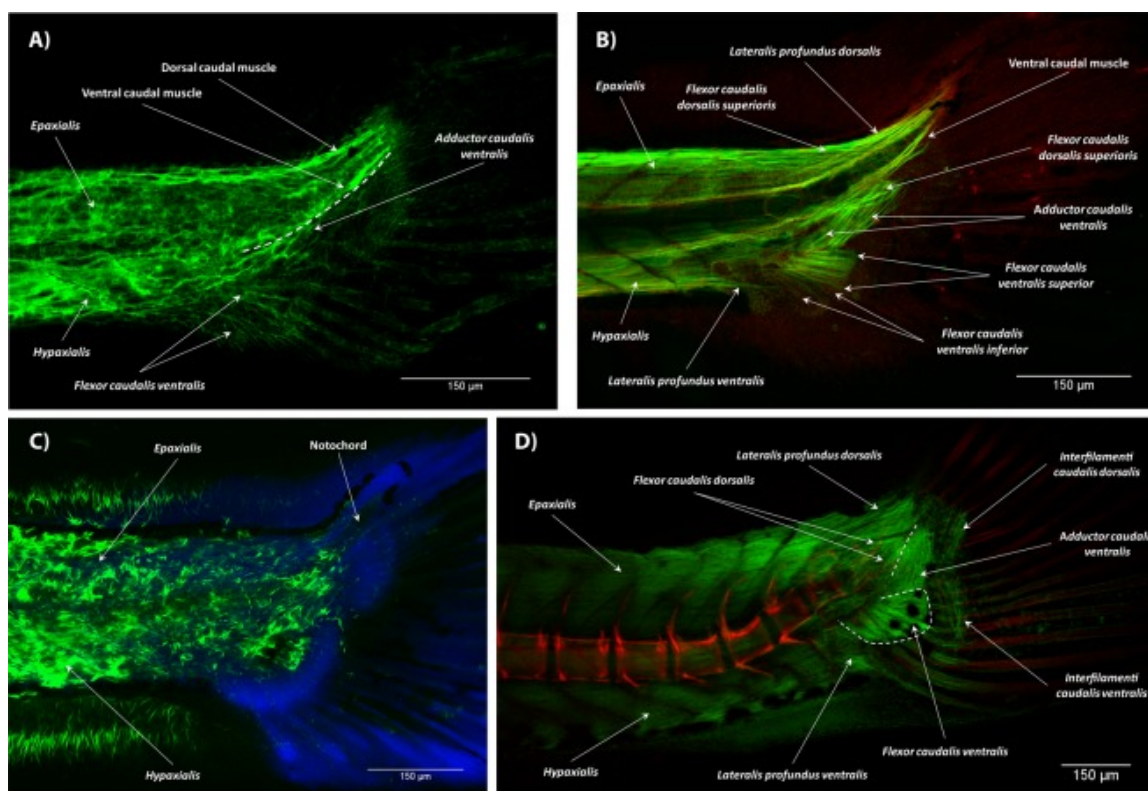


Рисунок 6.3. - Позднее развитие мускулатуры хвостового плавника у рыбок данио, обработанных Т3

Первые отчетливые дефекты мышц, наблюдаемые у рыб, обработанных Т3, были обнаружены в образцах при длине хорды 3,6 мм. Начиная с размера хорды 3,9 мм, можно было выделить два фенотипа нарушений мышц. Образцы, демонстрирующие первый

фенотип, имели значительно уменьшенное количество мышечных волокон, которые обладали увеличенными ядрами. Пример такого фенотипа показан на рисунке 6.3А. Второй фенотип имел только незначительные деформации в количестве и общей форме мышц (рисунок 6.3В). По-видимому, у образцов из первой группы были серьезные функциональные проблемы, и их массовая гибель (приблизительно 70%) через 10–11 дней после оплодотворения обеспечила наблюдаемый рост смертности. Смертность на стадии 4 мм стандартной длины малька (SL) выросла примерно до 80%. Только образцы с низкой чувствительностью к гормону и, следовательно, с легкими деформациями, пережили обработку ТЗ и были проанализированы на более поздних стадиях развития. В образцах с легкими дефектами мы идентифицировали большинство внутренних хвостовых мышц при 4,0 мм SL, в том числе сгибатель *caudalis ventralis*, верхний и нижний, *flexor caudalis dorsalis*, верхний и нижний, *adductor caudalis ventralis*, латеральный *caudalis dorsalis* и *ventralis*, а также некоторые волокна вентральной каудальной мышцы (рисунок 6.3В). В норме эти мышцы достигают такой дифференцировки на более поздних стадиях развития. В некоторых случаях ни одна мышца не может быть выделена в непрерывной сети дезорганизованных мышечных волокон (рисунок 6.3С). Искажения структуры мышц, то есть вьющиеся и организованные в сети волокна, короткие неорганизованные волокна, крупные ядра и сокращение числа, также присутствовали в поверхностном слое хвостовой мускулатуры. На 4,5 мм SL большинство рыб с серьезными дефектами погибло, и выжили только те, у кого были небольшие дефекты. При SL 4,9 мм была сформирована *interradialis caudalis*, а мышечная структура, соответствующая взрослым особям, была достигнута при 5,0 мм SL с появлением *interfilamenti caudalis dorsalis* и *ventralis* (рисунок 6.3D). На этом этапе развитие мускулатуры хвостового плавника было завершено, что также опережало картину развития у рыб, не подвергавшихся обработке ТЗ.

Детальный анализ нарушений развития мускулатуры спинного, анального, грудного и тазового плавников выявил аналогичные нарушения – опережающее развитие, нарушение структуры, неправильное прикрепление или деградацию отдельных мышц (подробно – см. в публикации [2]). Тем не менее, даже такие нарушения, как возникновение почти полной бифуркации хвостового плавника в дорсальные и вентральные доли и / или атрофия кончика хорды, не влияли на специфическое прикрепление мышц, когда присутствовали сами участки прикрепления. В спинном и анальном плавниках у рыбок данио, обработанных ТЗ, в некоторых случаях отмечен чрезмерный рост мышц, сопровождающийся неправильным прикреплением или отсутствием такового у отдельных фасций.

Отмеченные пороки развития были результатом ускоренного морфогенеза скелетных структур и их раннего оссификации, что также наблюдалось в наших экспериментах. Аналогичные эффекты развития и пороки развития были зарегистрированы для немышечных систем у данио и африканских барбусов в предыдущих исследованиях [5]. Фактически, ускоренное развитие и дифференциация являются известными эффектами гормонов щитовидной железы в целом. Они были подтверждены, например, у различных видов рыб [6-10], аксолотлей [7] и рептилий [11]. Та же самая тенденция ускоренного развития отмечена для мускулатуры. Первые мышечные волокна, растущие на вентральной стороне хвостового плавника, наблюдались уже при размере хорды 3,7 мм; эти мышечные волокна стали отчетливо видны при размере хорды 3,8 мм. При нормальном развитии вырастание сгибателей хвостовой вены и отводящего хвостовой вены происходит обычно при размере хорды 4,4 мм [12]. Аналогичное ускоренное развитие при гипертиреозе характеризовало мускулатуру всех остальных плавников, приводя к нарушениям и деградациии некоторых типов мышц. Одновременно с общим ускоренным развитием и дифференциацией структур, наблюдалось значительное влияние Т3 на темпы роста. В отличие от популяции рыбок данио, наблюдавшейся в экспериментах, проведенных Брауном [7], наши образцы стали меньше в размерах: это может быть частично объяснено искривлением позвоночника и тяжелым сколиозом у некоторых из наших обработанных рыб. На самом деле, влияние гормонов щитовидной железы на рост остается неясным. Известно, что Т3 действует бимодально, то есть он может усиливать анаболический или катаболический метаболизм в зависимости от дозировки [13]. Сообщалось, что замедление роста наблюдается у разных видов лосося [8], [14] и бурых форелей [15], но многочисленные авторы сообщают об ускорении роста у различных рыб и рептилий, например, тилапии [16], карпа [17] и др.

Действие тироидных гормонов чрезвычайно плеiotропно и при этом зависит от огромного количества внешних и внутренних факторов. Было показано, что возраст, пол, питание, состояние здоровья, физиологическое состояние животного и диета [18], а также содержание в неволе [19] и многочисленные факторы окружающей среды влияют на активность оси гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа (НРТ). Сложность ответа также определяется дозой и природой (синтетической или органической, Т3 или Т4) гормона. Экспрессия всех генов, вовлеченных в прямое взаимодействие с молекулой Т3, может быть изменена через другие возможные пути (например, кортизол, гормон роста, мелатонин и различные гормоны стресса). Также было показано, что некоторые регуляторные области в геноме могут быть значительно реконструированы с помощью Т3, и, следовательно, экспрессия соседних не-Т3-регулируемых генов также может быть

изменена [20]. Недавние исследования сообщают о дифференциальной экспрессии более 10 транскрипционных факторов (и, следовательно, всех их нижестоящих генов) у рыб с добавлением экзогенного Т3 [21]. Системные нарушения онтогенеза у данио при гипертиреозе оказались сходными с наблюдаемыми у человека: ускоренное развитие скелетных элементов и результирующая остановка роста в более раннем возрасте, многочисленные деформации, включая сколиоз, слияние хрящей / костей и риск переломов. Другим важным симптомом гипертиреоза у людей является мышечная атрофия, приводящая к слабости проксимальных мышц, потере мышечной массы и последующей саркопении [22-24]. Дегградация миофибрилл, наблюдаемая у изученных рыбок данио, обработанных Т3, полностью подтверждает мнение о том, что миофибриллярное содержание мышц часто снижается при гипертиреозе. Такая атрофия может быть результатом неправильной реорганизации метаболизма личинки во взрослый организм. Участие гормонов щитовидной железы в анаболическом и катаболическом путях также предполагает, что нарушения баланса между этими двумя процессами могут стимулировать чрезмерный рост мышц, такой как тот, который наблюдается в спинном и анальном плавниках у рыбок данио, обработанных Т3.

Заключение

Онтогенетические эффекты гормональных регуляций оказываются мощным инструментом эволюционных инноваций. Пластичность действия этих регуляций, огромная изменчивость их эффектов и разнообразие внешних и внутренних факторов, меняющих интенсивность гормональных воздействий, делает данную систему мощным инструментом формирования новых морфологических признаков, первично апробируемых и закрепляющихся, очевидно, на эпигенетическом уровне.

Анализ влияния гипо- и гипертиреозидизма в разных тканях и на разных этапах развития позволяет прогнозировать последствия таких нарушений при онтогенезе человека. Параллель между патологическим развитием у рыбок данио и человека, двумя филогенетически очень удаленными клдами, еще больше подтверждает идею, лежащую в основе нового направления Evo-Devo-Path, или эволюционной патологии развития. Даже отдаленные филогенетически виды имеют сходные паттерны развития, из-за крайне ограниченного характера эволюционных инноваций. Полученные данные могут быть использованы в будущих исследованиях и помочь в понимании гипертиреоза человека, будучи одним из первых подробных исследований того, как мышечная анатомия влияет на аномальное развитие гипертиреоза.

Список использованных источников

1. Shkil F.N., Lazebny O.E., Trofimov I.E., Kapitanova D.V. Adaptive Radiation and Developmental Homeostasis of the Lake Tana Large African Barbs g. Labeobarbus (Cyprinidae; Teleostei) // J. Morphol. - 2019. - Vol. 280. S217. WOS:000470768500661.
2. Shkil F., Siomava N., Voronezhskaya E., Diogo R. Effects of hyperthyroidism in the development of the appendicular skeleton and muscles of zebrafish, with notes on evolutionary developmental pathology (Evo-Devo-Path) // Scientific Reports. - 2019. - Vol. 9. No. 1. P. 5413. DOI: 10.1038/s41598-019-41912-9.
3. Rohlf F.J. The tps series of software// Hystrix It. J. Mamm. – 2015. – Vol. 26. No. 1. P. 9–12. DOI: <https://doi.org/10.4404/hystrix-26.1-11264>
4. Gangestad S.W., Thornhill R., Yeo R.A. Facial attractiveness, developmental stability, and fluctuating asymmetry// Ethology and Sociobiology. – 1994. – Vol. 15, Iss. 2. P. 73-85.
5. Shkil F.N., Kapitanova D.V., Borisov V.B., Abdissa B., Smirnov S.V. Thyroid hormone in skeletal development of cyprinids: effects and morphological consequences: Thyroid hormone in skeletal development// J. Appl. Ichthyol. – 2012. Vol. 28. P. 398–405.
6. Reddy P.K., Lam T.J. Effect of thyroid hormones on morphogenesis and growth of larvae and fry of telescopic-eye black goldfish, *Carassius auratus*// Aquaculture. – 1992. – Vol. 107. Iss. 4, P. 383-394.
7. Brown D.D. The role of thyroid hormone in zebrafish and axolotl development// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. -Vol. 94. P. 13011–13016.
8. Dales S., Hoar W.S. Effects of thyroxina and thiourea on the early development of Chum salmon (*Oncorhynchus keta*)// Can. J. Zool. -1954. – Vol. 32. P. 244–251.
9. Grobstein C., Bellamy A.W. Some effects of feeding thyroid to immature fishes (*Platyepocilus*)// Proc. SOC. Exp. Biol. Med. -1939. – Vol. 41, Iss. 2. P. 363.
10. Iakovleva I.V. The independence of the activity of the thyroid gland from the thyrotropic function of the hypophysis in the post-embryonic development of acipenserines// Dokl. Akad. Nauk. Uzb. SSR. – 1949. - Vol. 60. P. 281–284.
11. Gardner Lynn W. Structure and functions of the thyroid gland in reptiles// Am. Midl. Nat. – 1960. - Vol. 64, No. 2 P. 309-326.
12. Siomava N., Shkil F., Voronezhskaya E., Diogo R. Development of zebrafish paired and median fin musculature: basis for comparative, developmental, and

- macroevolutionary studies// Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8. No. 1. 14187. doi: 10.1038/s41598-018-32567-z.
13. Leatherland J. Reflections on the thyroidology of fishes: from molecules to humankind// Guelph Ichthyol. Rev., Guelph., Ontario, Canada – 1994. No. 2. 67 p.
 14. Roche G.L., Leblond C.P. Effect of thyroid preparations and iodide on Salmonidae// Endocrinology. – 1952. – Vol. 51. P. 524–545.
 15. Woodhead A.D. Effects of thyroid drugs on the larvae of the Brown trout, *Salmo trutta*// J. Zool. – 2009. – Vol. 149. P. 394–413.
 16. Lam T.J. Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus* Ruppell// Aquaculture. – 1980. – Vol. 21. P. 287–291.
 17. Lam T.J., Sharma R. Effects of salinity and thyroxine on larval survival, growth and development in the carp, *Cyprinus carpio*// Aquaculture. – 1985. – Vol. 44. P. 201–212.
 18. Peter M.C.S. The role of thyroid hormones in stress response of fish// Gen. Comp. Endocrinol. – 2011. – Vol. 172. P. 198–210.
 19. Licht P., Breitenbach G.L., Congdon J.D. Seasonal cycles in testicular activity, gonadotropin, and thyroxine in the painted turtle, *Chrysemys picta*, under natural conditions// Gen. Comp. Endocrinol. – 1985. – Vol. 59. P. 130–139.
 20. Grøntved L., Waterfall J.J., Kim D.W., et al. Transcriptional activation by the thyroid hormone receptor through ligand-dependent receptor recruitment and chromatin remodelling. Nat Commun. – 2015. – Vol. 6. 7048. doi: 10.1038/ncomms8048.
 21. Rastorguev S.M., Nedoluzhko A.V., Levina M.A., et al. Pleiotropic effect of thyroid hormones on gene expression in fish as exemplified from the blue bream *Ballerus ballerus* (Cyprinidae): Results of transcriptomic analysis// Dokl Biochem Biophys. – 2016. – Vol. 467. No. 1. P. 124–127. doi: 10.1134/S1607672916020137.
 22. Kravets I. Hyperthyroidism: diagnosis and treatment// Am Fam Physician. – 2016. – Vol. 93. No. 5. P. 363–370.
 23. Trivalle C., Doucet J., Chassagne P., et al. Differences in the signs and symptoms of hyperthyroidism in older and younger patients// J. Am. Geriatr. Soc. – 1996. Vol. 44. P. 50–53.
 24. Riis A.L., Jørgensen J.O., Gjedde S., et al. Whole body and forearm substrate metabolism in hyperthyroidism: evidence of increased basal muscle protein breakdown// Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 288. No. 6. P. E1067–E1073.

РАЗДЕЛ 7. АНАЛИЗ ЗНАЧИМОСТИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ПРОЦЕССАХ ВИДООБРАЗОВАНИЯ. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ МЕХАНИЗМОВ ФОРМООБРАЗОВАНИЯ КАК ОСНОВЫ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ И РАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ

Введение

Изучение видо- и формообразования является одной из главных задач эволюционной биологии и проводится с использованием разных подходов и методов – экологических, морфологических, генетических, онтогенетических. Использование последних имеет важное значение, поскольку изменения фенотипов в процессе формообразования происходят за счёт изменения индивидуальных онтогенезов особей [1].

Традиционными объектами исследований формо- и видообразования являются внутривидовые формы полиморфных видов, близкие виды и видовые комплексы, в том числе близкородственные формы/виды, совместно обитающие на ограниченных участках – такие, как озёрные «пучки» форм/видов у рыб [2, 3]. Последние представляют особый интерес, т.к. позволяют исследовать такие важные аспекты видообразования, как соотношение аллопатрического и симпатрического модусов видообразования, механизмы формирования репродуктивной изоляции между формами и гибридизация.

Нами изучение механизмов формообразования проводится на примере арктического гольца *Salvelinus alpinus* (L.), одного из наиболее изменчивых видов рыб и позвоночных животных в целом [4], отличающегося высоким полиморфизмом. На своём обширном циркумполярном ареале он представлен многочисленными внутривидовыми формами, имеющими разную степень фенотипических и генетических различий [5, 6]. Характерной особенностью арктического гольца является существование во многих озёрах «пучков» симпатрических форм [7, 8]. В России один из основных центров активного формообразования у арктического гольца находится в горных районах северного Забайкалья [9], где нами в течение ряда лет проводятся исследования внутривидовой диверсификации у этих рыб. В 2019 г. было продолжено изучение механизмов формирования репродуктивной изоляции между симпатрическими формами, гибридизации, раннего онтогенеза разных форм и их гибридов, путей происхождения симпатрических форм и родственных отношений географических популяций.

Материал и методы

Материал собран в ходе трех экспедиций в северное Забайкалье (апрель, июль-сентябрь, ноябрь 2019 г.), также использованы сборы предыдущих лет и лабораторная молодь гольцов, выращенная из икры, полученной в 2015-2019 гг. В поле на основании контрольных обловов определяли места и сроки нереста; с использованием автономных

регистраторов температуры, GPS-навигатора, дночерпателя, планктонной сети определяли лимнические параметры озер, характеристики нерестовых биотопов (глубина, температурные режимы, нерестовые субстраты и т.д.) и брали гидробиологические пробы. Отслеживали сезонную динамику созревания производителей, их распределение в озёрах в разные сезоны. У рыб по стандартным методикам [10] определяли ряд репродуктивных показателей, проводили биологический и морфометрический анализы, анализ питания [11], определяли возраст [12], брали образцы тканей для генетического анализа, который включал изучение изменчивости 8 микросателлитных локусов. Для изучения онтогенеза икру текучих самок гольца осеменяли спермой текучих самцов «сухим» способом и доставляли в Москву, где инкубировали при разных температурных режимах в помещенных в аквариумы плавучих садках; личинок и молодь подращивали в пластиковых кюветах и в аквариумах. По мере роста часть личинок и молоди фиксировали 4% формалином, затем окрашивали костные структуры ализарином, просветляли раствором щелочи и помещали в глицерин, затем определяли транзитивные состояния разных скелетных элементов [13, 14]. При обработке данных использовали программы STATISTICA v. 12.0, FISAT II v. 1.2.2, STRUCTURE, v.2.3.2.1 и др.

Результаты и обсуждение

Обобщены данные о разнообразии репродуктивных стратегий аллопатрических, папратрических и симпатрических форм арктического гольца из 10 озёр Забайкалья [15]. Показано, что время нереста, его продолжительность, расположение нерестилиц, их глубина, нерестовые субстраты, температура, при которой происходят нерест и развитие икры, значительно различаются в разных озёрах и у разных внутриозёрных форм (таблица 7.1). Это приводит к формированию репродуктивной изоляции между симпатрическими формами, степень которой варьирует между озёрами.

Продемонстрирована связь степени репродуктивной изоляции, оцениваемой различиями в сроках нереста, с морфологической и генетической дивергенцией форм (рисунок 7.1).

Таблица 7.1 - Особенности размножения арктических гольцов из озёр Забайкалья

Озеро	Форма гольца	Сроки нереста	Глубина нерестилиц, м	Нерестовый субстрат	Температура воды во время нереста, °С	Температура воды во время развития икры, °С ⁴⁾
1. Бол. Намаракит	карл.	X-XII	<20?	камни	-	-
	мелк.	X	<20?	камни	-	-
2. Леприндокан	мелк.	(IX ³)X-XII	2.5-(20 ³)	ил	(5 ³)1-3	(5 ³)→1→3
	крупн.	X,XI	2.5-?	ил	1-3	1→3

3. Гольцовое	карл.	IX	7-20	камни	6-8	8→1.5
	мелк. ¹⁾	IX	7-20?	камни	6-8	8→1.5
4. Даватчан	карл.	VI-VII	15-45	ил	4-6	4→7→2.5
	мелк.	XI	2-6	камни	1-3	1-3
5. Бол. Леприндо	карл.	VII-X	25-58	ил	5-6 ²⁾	5→7→2.5
6. Мал. Леприндо	карл.	I-VII	25-55	ил	2-3 ²⁾	2→7
	крупн. ¹⁾	IX	10-15	камни	7-8	8→1.5
7. Кирялта-3	мелк.	III,IV	7-10	камни	3-3.5	3→8
		XI	2-10	камни	2.5-3	2.5-3
8. Кирялта-4	мелк.	XI, XII	2-10	камни	2-2.5	2-3
	крупн.	X?, XI	2-10	камни	3-3.5	2-3
9. Токко	карл.	VII, VIII	10-25	камни	5-6.5	7→3
	мелк.	VII, VIII XI?	- -	камни?	5-6.5? -	7→3? -
10. Камканда	карл.	IX	2-10	камни	7-8	8→2.5
	мелк.	XI-XII	2-10	камни	2.5-3	2.5-3

Примечание: ¹⁾ исчезнувшая форма; ²⁾ на пике нереста; ³⁾ в отдельные годы; ⁴⁾ стрелками указано направление изменения температуры во время развития икры; карл. – карликовая форма, мелк. – мелкая, крупн. – крупная.

Опубликованы результаты изучения размножения гольцов в системах озёр Леприндо [16] и Кирялта [17]. Показано, что в озёрах Бол. и Мал. Леприндо парапатрические карликовые формы размножаются в глубоководной зоне, но имеют разные сроки нереста (соответственно, с летним и зимне-весенним пиками). Ранее обитавшие в этих озёрах гольцы крупной формы нерестились осенью в прибрежной зоне Мал. Леприндо осенью. Таким образом, между всеми тремя формами существовала высокая степень репродуктивной изоляции. Напротив, в оз. Кирялта-4 сроки (осень) и места (прибрежная зона) нереста перекрываются, и возможна гибридизация. В оз. Кирялта-3 существуют две субпопуляции мелкой формы – осенне- и весенне-нерестующая.

Проведены полевые работы по изучению репродуктивных взаимоотношений карликовой и мелкой форм в оз. Токко. Ранее нами были установлены сроки и места нереста численно доминирующей карликовой формы (конец июля – август, каменистые участки подводного берегового склона), однако точные сроки нереста мелкой формы из-за её крайней малочисленности установить не удалось. На основе поимки единичных самок со зрелыми гонадами в конце октября предполагалось, что он происходит в ноябре, на 3 месяца позже, чем у карликовой формы, и это обуславливает строгую репродуктивную изоляцию между ними. В 2019 г. проведены три экспедиции на оз. Токко для выяснения сроков нереста мелкой формы. В результате её ноябрьский нерест получил подтверждение, а также было обнаружено, что некоторые мелкие гольцы нерестятся летом в одни сроки и в одних местах с карликовой формой. Возможно, в оз. Токко, как в оз. Кирялта-3, существуют две субпопуляции мелкой формы с разными сроками нереста (июль-август и ноябрь). Соответственно, в оз. Токко презиготическая репродуктивная

изоляция между мелкой и карликовой формами не столь строга, как представлялось ранее, они имеют возможность скрещиваться и обмениваться генами.

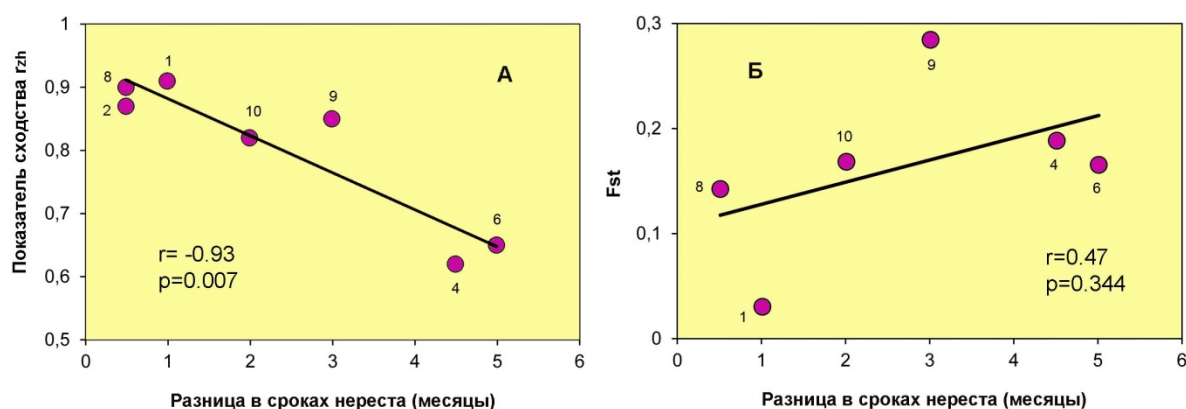


Рисунок 7.1. - Корреляция между разницей в сроках нереста (число месяцев между нерестовыми пиками) симпатрических пар форм арктического гольца *Salvelinus alpinus* (L.) из разных озёр Забайкалья и их морфологическими (А) и генетическими (Б) различиями. А – показатель сходства Животовского, 10 счётных признаков; Б – Fst, 8 микросателлитных локусов. Номера озёр как в табл. 1

Продолжено изучение в экспериментальных условиях раннего развития симпатрических, парапатрических и аллопатрических форм арктических гольцов из разных озёр Забайкалья и их гибридов, полученных в результате искусственных скрещиваний 2017-2018 гг. - гольцов карликовой формы из озёр Бол. Леприндо, Камканда, Даватчан, Токко, мелкой формы из озер Кирылта-3 (весенне- и осенненерестующие субпопуляции) и Кирылта-4 (скрещивания внутри форм); гибридов карликовой и мелкой форм из оз. Камканда, мелкой и крупной форм из оз. Кирылта-4 (скрещивания между симпатрическими формами), гибридов мелкой формы из оз. Кирылта-3 и из оз. Кирылта-4 (скрещивания между парапатрическими формами), гибридов карликовой формы из озёр Даватчан и Токко, Бол. Леприндо и Токко (скрещивания между аллопатрическими формами). Для получения дополнительного материала в 2019 г. проведены реципрокные скрещивания карликовых гольцов из озёр Бол. Леприндо и Токко, при этом впервые удалось получить гибридов между самками из первого озера и самцами из второго. Опубликованы первые результаты [18] – описание особенностей раннего онтогенеза карликовой глубоководной формы из озера Большое Леприндо. Показано, что она имеет крайне низкий темп роста и остеогенеза и очень протяженный этап личиночного развития (до 2 лет). Первые окостенения (зачатки *dentale*, *maxillare*, *praemaxillare*, *anguloarticulare*, *parasphenoideum*, жаберных и плавниковых лучей) появляются в возрасте более месяца после вылупления, заполнение воздухом плавательного пузыря и начало внешнего

питания происходит через два месяца, первые зачатки тел позвонков и первые жаберные тычинки появляются в возрасте 3-4 мес.; к концу первого года личинки имеют слабо дифференцированные vomer, dentale, anguloarticulare, praeoperculum, frontale и parasphenoideum, operculum, малое число жаберных тычинок, длину 2.5-3 см. У двухгодовиков появляется чешуя, завершается развитие позвоночника, наступает мальковый период развития. Видимо, в этом возрасте в природе происходит подъём в пелагиаль. Эта стратегия развития резко отличается от таковой у карликовых гольцов оз. Даватчан, которые относительно быстро растут, отличаются ранним началом остеогенеза (первые кости закладываются на 7-е сутки после вылупления), быстро приобретают осевой скелет, воздух в плавательном пузыре и переходят в пелагиаль.

В одном из труднодоступных районов бассейна Витима обнаружены две новые реликтовые популяции забайкальской группировки арктического гольца. Это мономорфные популяции, представленные только крупной формой. Они населяют два небольших горных озера, расположенных недалеко друг от друга в верховьях одного притока, имеют общее происхождение и относительно молодой возраст. Вопреки ожиданиям, между гольцами из этих озёр найдены очень крупные морфологические различия - в частности, они различаются с хиатусом по одному из наиболее важных диагностических признаков - числу жаберных тычинок (рисунок 7.2). Дивергенция этих популяций может рассматриваться как пример быстрого аллопатрического формообразования.

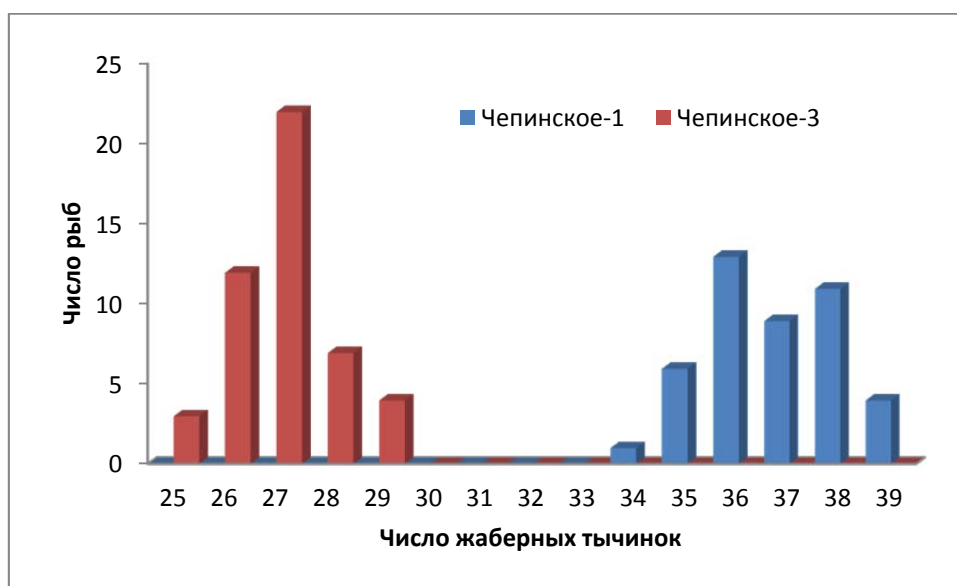


Рисунок 7.2. - Дивергенция по числу жаберных тычинок между арктическими гольцами из озёр Чепинское-1 и Чепинское-3 (бас. Витима, северное Забайкалье)

На основе анализа изменчивости микросателлитных локусов проведена оценка степени естественной гибридизации между симпатричными карликовой и мелкой формами арктического гольца из оз. Камканда. Как установлено нами ранее, в этом озере между формами существуют весьма чёткие морфологические различия; промежуточные особи редки. Карликовая форма нерестится в сентябре, а мелкая – в ноябре-декабре. Тем не менее, отдельные самцы мелкой формы созревают уже в сентябре, присутствуют на нерестилищах карликовой формы и могут скрещиваться с карликовыми самками. Полученные данные показывают, что степень гибридизации выше, чем можно было ожидать исходя из различий в сроках нереста и морфологической обособленности форм. Из более чем 400 проанализированных особей двух форм из сборов разных лет по результатам программы STRUCTURE у 14% значения параметра генетического смешивания Q лежат в интервале, соответствующем «зоне гибридов» F1, F2 и бэкроссов, определённого для гибридов арктического гольца и близкого вида - мальмы *S. malma* [19], который мы приняли и для гольцов из оз. Камканда. В настоящее время для уточнения доли естественных гибридов двух форм планируется микросателлитный анализ реперной выборки выращенных в лаборатории гибридов F1.

Заключение

В отчётном году проводились исследования формообразования у арктического гольца, включавшие изучение раннего онтогенеза внутривидовых форм, их гибридизации, механизмов презиготической изоляции между симпатрическими формами. Обобщены данные о разнообразии репродуктивных стратегий форм гольца из 10 озёр Забайкалья. Показаны значительные различия времени, мест и особенностей нереста в разных озёрах и у разных внутриозёрных форм, что приводит к формированию репродуктивной изоляции между ними. Продемонстрирована связь различий в сроках нереста с морфологической и генетической дивергенцией симпатрических форм. Завершены исследования размножения форм гольцов в системах озёр Леприндо и Кирылта, продемонстрирована разная степень репродуктивной изоляции между ними. Изучено размножение гольцов в оз. Токко, получены свидетельства существования в нём двух группировок мелкой формы с разными сроками нереста, у одной из которых они перекрываются со сроками нереста карликовой формы. На основе микросателлитного анализа проведена оценка степени естественной гибридизации между формами гольца из оз. Камканда; она оказалась выше, чем можно было ожидать исходя из различий в сроках нереста и морфологической обособленности форм. Исследованы особенности раннего онтогенеза карликовой из оз. Бол. Леприндо и

показано, что она имеет крайне низкий темп роста и остеогенеза и очень протяженный этап личиночного развития. Проведены реципрокные скрещивания аллопатрических карликовых гольцов из озёр Бол. Леприндо и Токко. Обнаружены две новые реликтовые популяции арктического гольца с крупными морфологическими различиями, свидетельствующими о продвинутой стадии аллопатрического формообразования.

Запланированные на 2019 г. работы проведены в полном объеме, достоверность результатов не вызывает сомнений. В дальнейшем планируется продолжить изучение закономерностей становления фенотипического разнообразия комплекса форм арктических гольцов Забайкалья с использованием морфо-экологических, генетических и онтогенетических методов.

Список использованных источников

1. Minelli A. The Development of Animal Form: Ontogeny, Morphology, and Evolution. Cambridge University Press. – 2003.
2. Echelle. A.A., Kornfield I. (eds) Evolution of fish species flocks. University. of Maine at Orono, Orono. - 1984.
3. Голубцов А.С. «Пучки видов» рыб в реках и озерах: симпатрическая дивергенция в фаунистически обедненных рыбных сообществах как особый модус эволюции//Актуальные проблемы современной ихтиологии. Сборник Статей. М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2010. - С. 96-123.
4. Klemetsen A. The most variable vertebrate on Earth//J. Ichthyology. - 2013. - Vol. 53. No. 10. P. 781-791.
5. Johnson L. Arctic charr // E.K.Balon (ed). Charrs: salmonid fishes of the genus *Salvelinus*. Perspectives in vertebrate science 1. Dr. W. Junk Publishers. - 1980. - The Hague. P. 15-98.
6. Савваитова К.А. Арктические гольцы (структура популяционных систем, перспективы хозяйственного использования). М.: Агропромиздат. – 1989. - 223 с.
7. Klemetsen A., Amundsen P.-A., Dempson J.B., Jonsson B., Jonsson N., O'Connell M.F., Mortensen E. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L., and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories//Ecol. Freshw. Fish. - 2003. - Vol. 12. P. 1-59.
8. Doenz C.J., Krähenbühl A.K., Walker J., Seehausen O., Brodersen J. Ecological opportunity shapes a large Arctic charr species radiation//Proc. R. Soc. B 286: 20191992. – 2019. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.1992>

9. Алексеев С.С. Распространение, разнообразие и диверсификация арктических гольцов *Salvelinus alpinus* complex (Salmoniformes, Salmonidae) Сибири. Дисс...докт. биол. наук. – Москва. – 2016. - 439 с.
10. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. - М.: Пищ. пром-сть. - 1966. - 324 с.
11. Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях. - М.: Наука. - 1974. - 254 с.
12. Baker T. T., Timmons L. S. Precision of ages estimated from five bony structures of Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from the Wood River system, Alaska//Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 1991. – Vol. 48. P. 1007-1014.
13. Пичугин М.Ю., Развитие элементов скелета в эмбрионально-личиночный период у карликовой и мелкой симпатрических форм *Salvelinus alpinus* complex из оз. Даватчан (Забайкалье)//Вопр. ихтиологии. - 2009. - Т. 49. N 6. С. 763–780.
14. Пичугин М.Ю. Особенности роста и развития скелета ранней молодежи северной мальмы *Salvelinus malma malma* из рек Западной Камчатки в связи с температурным режимом нерестилищ//Вопр. ихтиологии. – 2015 - Т. 55. N 4. С. 435–452.
15. Алексеев С.С., Пичугин М.Ю, Самусенок В.П., Гордеева Н.В., Юрьев А.Л., Хлыстов В.С., Матвеев А.Н. Разнообразие сроков и гидрологических условий размножения аллопатрических и симпатрических форм арктического гольца *Salvelinus alpinus* complex из озёр Забайкалья//Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения : труды междунар. научной конф. / ФГБОУ ВО «ИГУ». – Иркутск : Изд-во ИГУ. – 2019. - С. 9-12.
16. Алексеев С.С., Пичугин М.Ю, Гордеева Н.В., Самусенок В.П., Юрьев А.Л., Хлыстов В.С., Матвеев А.Н. Репродуктивные стратегии и происхождение парапатрических и симпатрических форм арктического гольца *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) в системе озёр Большое и Малое Леприндо (северное Забайкалье)//Вопр. ихтиологии. – 2019. - Т. 59. N 4. С. 430-447.
17. Alekseyev S.S., Pichugin M.Yu., Samusenok V.P., Gordeeva N.V., Yur'ev A.L., Khlystov V.S., Matveev A.N. Reproductive strategies of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) forms in Kiryalta lakes, Transbaikalia, Russia//Hydrobiologia. – 2019. - Vol. 840. P. 113-136.
18. Пичугин М.Ю, Алексеев С.С. Особенности раннего онтогенеза эндемичной карликовой глубоководной формы арктического гольца *Salvelinus alpinus* complex (Salmonidae) озера Большое Леприндо (Забайкалье) в

экспериментальных условиях//Современные проблемы биологии, экологии и почвоведения : труды междунар. научной конф. / ФГБОУ ВО «ИГУ». – Иркутск : Изд-во ИГУ. – 2019. - С. 68-71.

19. May-McNally S.L., Quinn T.P. Taylor, E.B. Low levels of hybridization between sympatric Arctic char (*Salvelinus alpinus*) and Dolly Varden char (*Salvelinus malma*) highlights their genetic distinctiveness and ecological segregation//Ecol. Evol. – 2015. - Vol. 5. P. 3031–3045.

РАЗДЕЛ 8. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ И ЗДОРОВЬЯ СРЕДЫ ПО БЛАГОПРИЯТНОСТИ ДЛЯ ЖИВЫХ СУЩЕСТВ. РАЗРАБОТКА ОСНОВ СОВРЕМЕННОГО МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Введение

Мониторинг состояния природных популяций различных видов вызывает значительный практический и теоретический интерес. Актуальность таких исследований нарастает по мере увеличения антропогенного воздействия и последствий изменения климата. Такие исследования позволяют оценить популяционную динамику и эволюционные преобразования конкретных видов и одновременно дают важную информацию о последствиях анализируемого воздействия для биоты и, в конечном счете, для характеристики качества или здоровья среды.

Перспективный путь решения этой задачи – оценка состояния популяций по уровню гомеостаза развития организма. Это предполагает использование различных подходов, один из которых – исследование стабильности развития организма в природных популяциях – может быть рекомендован для рекогносцировочной оценки ситуации. В настоящее время имеется достаточное теоретическое обоснование и практическое подтверждение как в ходе лабораторных экспериментов, так и при исследовании природных популяций возможности использования данного подхода для мониторинга состояния природных популяций [1-5]. Рост числа таких исследований предполагает рассмотрение возможности сопоставления получаемых данных, определения степени выявляемых отклонений от условной нормы и стабильности получаемых оценок во времени.

Цель работы – оценка модельного вида березы повислой *Betula pendula* в различных регионах, как в естественных условиях, так и при разных видах антропогенного воздействия.

Методы

Оценка стабильности развития проводилась в различных районах (на материале, собранном в 2018 году). Для оценки стабильности исследуемых показателей для двух районов был использован материал, собранных в течение ряда лет.

Оценка воздействия промышленных предприятий проводилась в Республике Хакасия (работа проведена совместно с Государственным природным биосферным заповедником «Саяно-Шушенский»). Был использован материал, собранный в течение четырех лет в окрестностях Саянского алюминиевого завода (зона воздействия) и на

расстоянии 100 км от предприятия, на территории Саяно-Шушенского биосферного заповедника (условный контроль). Другой район исследования - Белгородская область (совместно с Губкинским филиалом Белгородского государственного технологического университета им. В.Г. Шухова). Был использован материал, собранный в течение пяти лет в окрестностях Лебединского горно-обогатительного комбината (зона воздействия) и на расстоянии 22 км от предприятия, в окрестностях с. Мелавое (условный контроль).

Оценка комплексного антропогенного воздействия проводилась на урбанизированных территориях. На территории города Йошкар-Ола (совместно с Марийским государственным университетом) материал был собран в градиенте нарастания степени воздействия в четырех точках: 1 – лесопарк «Сосновая роща» (условный контроль); 2 – микрорайон, зона слабого воздействия; 3 – парк, зона умеренного загрязнения; 4 – окрестности фармацевтического завода, зона основного воздействия. На территории города Якутска (совместно с Институтом биологических проблем криолитозоны СО РАН) материал был собран в градиенте нарастания степени воздействия в четырех точках: 1 – рекреационная зона, условный контроль; 2–4 – три зоны слабого, умеренного и интенсивного антропогенного воздействия соответственно при главном источнике загрязнения – автотранспорт. На территории города Москвы материал был собран в четырех точках: 1 – парк «Нескучный сад», условный контроль; 2 – сквер на ул. Зелинского; 3 – в 30 м от Ленинского просп.; 4 – в непосредственной близости к автомагистрали, Ленинский просп., зона основного воздействия.

Материал (по 10 листьев с 10 деревьев) в каждой точке собирался в июле. Стабильность развития оценивалась по величине флуктуирующей асимметрии пяти промеров листа. Сравнение проводилось по интегральному показателю – среднее относительное различие между сторонами на признак [4]. В изменчивости этих признаков не обнаружено свидетельств наличия направленной асимметрии и антисимметрии, что позволяет рассматривать асимметрию как флуктуирующую.

Результаты и обсуждение

При сравнении двух точек в Хакасии оказалось, что показатель флуктуирующей асимметрии существенно ($p < 0,01$) выше в зоне воздействия, по сравнению с условным контролем, причем в каждой точке значение этого показателя практически не меняется в течение всего периода исследования (зона воздействия: 2015 г.: $0,056 \pm 0,002$; 2016 г.: $0,057 \pm 0,002$; 2017 г.: $0,056 \pm 0,002$; 2018 г.: $0,055 \pm 0,002$; условный контроль: 2015 г.: $0,034 \pm 0,002$; 2016 г.: $0,035 \pm 0,002$; 2017 г.: $0,033 \pm 0,002$; 2018 г.: $0,032 \pm 0,002$). Такая же ситуация была выявлена и при сравнении двух точек в Белгородской обл. Высокое

значение показателя в зоне воздействия ($p < 0,01$), как и относительно низкое значение в условном контроле сохранялось на протяжении периода исследования (зона воздействия: 2006 г.: $0,052 \pm 0,001$; 2008 г.: $0,054 \pm 0,001$; 2010 г.: $0,055 \pm 0,001$; 2011 г.: $0,052 \pm 0,001$; 2012 г.: $0,051 \pm 0,084$; условный контроль: 2006 г.: $0,042 \pm 0,001$; 2008 г.: $0,044 \pm 0,001$; 2010 г.: $0,044 \pm 0,001$; 2011 г.: $0,044 \pm 0,005$; 2012 г.: $0,043 \pm 0,004$).

Значения показателя в градиенте нарастания степени антропогенной нагрузки в Йошкар-Оле возрастают от зоны условного контроля в направлении к зоне основного воздействия (точка 1: $0,036 \pm 0,001$; точка 2: $0,039 \pm 0,001$; точка 3: $0,046 \pm 0,002$; точка 4: $0,050 \pm 0,001$) при значительных различиях ($p < 0,01$) между значениями в точках 1 и 4. При сравнении точек в градиенте нарастания степени антропогенной нагрузки в Якутске также был обнаружен рост значений этого показателя от зоны условного контроля в направлении к зоне основного воздействия (точка 1: $0,044 \pm 0,003$; точка 2: $0,045 \pm 0,002$; точка 3: $0,048 \pm 0,002$; точка 4: $0,052 \pm 0,002$) при существенных различиях ($p < 0,01$) между значениями в точках 1 и 4. В Москве также наблюдается рост значений показателя от точек 3 и 4 (условный контроль), имеющих сходные значения, к точке 1, зоне максимального воздействия ($p < 0,01$) (точка 1: $0,047 \pm 0,002$; точка 2: $0,048 \pm 0,001$; точка 3: $0,053 \pm 0,001$; точка 4: $0,056 \pm 0,001$).

Исходя из представлений о стабильности развития естественно ожидать, что низкий уровень флуктуирующей асимметрии, как проявление онтогенетического шума будет наблюдаться при относительно оптимальных условиях [6-8]. В данном исследовании к ним, видимо, можно отнести условно контрольные точки первых двух сравнений. Это местообитания, не подверженные каким-либо явным неблагоприятным воздействиям, прежде всего, на особо охраняемых природных территориях (ООПТ): Саяно-Шушенского заповедника и Йошкар-Олы. Значение показателя в точке, принятой в качестве условного контроля в Белгородской обл., несколько выше, что, видимо, связано с определенным уровнем фонового антропогенного воздействия. Это отмечалось и ранее для районов центральной части европейской территории как зоны активного сельскохозяйственного и промышленного производства. Сходное значение показателя наблюдается и в точке условного контроля в Якутске вследствие эколого-географических особенностей территории и фонового уровня загрязнения. Минимальные значения среди исследованных точек в Москве оказываются еще выше, видимо, вследствие высокого уровня комплексного антропогенного воздействия в условиях мегаполиса.

Флуктуирующая асимметрия возрастает по мере роста антропогенного воздействия, что отмечается как в Йошкар-Оле и Якутске, так и в Москве. Максимальных значений она достигает в местах наибольшего неблагоприятного воздействия. В данном случае к ним

относятся точки в окрестностях крупных промышленных предприятий (это территории в окрестностях Саянского алюминиевого завода, Лебединского горно-обогатительного комбината) и в непосредственной близости к автомагистрали в условиях мегаполиса. В условиях менее серьезного воздействия на территории Йошкар-Олы высокое значение показателя отмечено лишь вблизи предприятия, что соответствует известной картине загрязнения. Йошкар-Ола по уровню загрязнения выглядит как достаточно благополучный город на фоне многих других городов России. В Якутске высокое значение показателя наблюдается в центре города в результате загрязнения от автотранспорта (вследствие природно-климатических особенностей и антропогенного воздействия экологическая ситуация в городе оценивается как неблагополучная).

При сравнении полученных данных по предложенной ранее пятибалльной шкале оценки изменения состояния организма от условной нормы по величине интегрального показателя стабильности развития [4,9] выявленная ситуация выглядит следующим образом. На уровне первого балла (при значении показателя $< 0,040$), который может быть представлен как условно нормальное состояние, находятся значения, полученные для растений из местообитаний в естественных условиях или при минимальном уровне антропогенного воздействия. При росте степени неблагоприятного воздействия величина показателя соответствует 2–4 баллам по мере нарастания отклонения от условно нормального состояния (диапазон значений 0,040–0,044 – второй балл; 0,045–0,049 – третий балл; 0,050–0,054 – четвертый балл). На уровне пятого балла (при значении показателя $> 0,054$), соответствующего критическому состоянию, находятся точки, подверженные наиболее сильному неблагоприятному воздействию.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о нарастании степени нарушения стабильности развития по мере роста неблагоприятного воздействия от условно нормального состояния до критического. При этом в местообитаниях при сходной степени отклонения условий от нормы, наблюдается сходная реакция растений несмотря на значительную пространственную удаленность. В данном случае это различные местообитания в европейской части России и в Сибири. В естественных условиях ситуация соответствует условно нормальному состоянию, при всё большем отклонении от него по мере роста степени неблагоприятного воздействия, вплоть до критического состояния. Важно отметить интегральность и не специфичность выявляемого ответа в виде снижения стабильности развития в ответ на различные неблагоприятные воздействия (в данном случае это разные виды промышленного производства и комплексное антропогенное воздействие в урбанизированной среде).

Полученные результаты вполне согласуются с общими представлениями о возможной картине внутривидовых различий по стабильности развития, согласно которой достаточно высокий уровень стабильности развития (относительно низкая величина флуктуирующей асимметрии) наблюдается во многих популяциях вида при относительно оптимальных условиях, при нарушении стабильности развития в неблагоприятных условиях, на экологической периферии ареала вида. В современных условиях все нарастающего антропогенного воздействия и изменения климата все большее число популяций вида оказывается в условиях неблагоприятного воздействия. Это относится и к возможным изменениям исследуемого показателя во времени, он остается примерно на том же уровне в неизменных условиях и обнаруживает соответствующие изменения при усилении или ослаблении определенных неблагоприятных воздействий. Представленные здесь результаты служат подтверждением этого положения.

В данном случае была проведена оценка состояния лишь одного модельного вида при использовании показателя стабильности развития, но так как во многих исследованиях было показано, что такие изменения обычно хорошо согласуются и с картиной изменения других показателей гомеостаза развития в отношении разных видов [9], полученные данные могут быть использованы для ориентировочной оценки качества среды на исследуемых территориях.

Заключение

Исследована стабильность развития (по показателям флуктуирующей асимметрии промеров листа) в популяциях березы повислой *Betula pendula* из разных частей ареала при разных антропогенных воздействиях (промышленные предприятия и урбанизированная среда). Показано нарастание степени нарушения стабильности развития по мере роста неблагоприятного воздействия (от условно нормального состояния до критического). В местообитаниях при сходной степени отклонения условий от нормы обнаружена сходная реакция растений, несмотря на значительную пространственную удаленность. Отмечены интегральность и не специфичность выявляемого ответа в виде изменения уровня стабильности развития при различных неблагоприятных воздействиях.

Список использованных источников

1. Захаров В.М. Асимметрия животных: популяционно-феногенетический подход. М.: Наука, - 1987. 216 с.
2. Leary P.F., Allendorf F.M. Fluctuating asymmetry as a measure of stress in conservation biology// Trends Ecol. – 1989. - Vol. 4. P. 214–217.

3. Palmer A.R., Strobeck C., Chippindale A.K. Bilateral variation and the evolutionary origin macroscopic asymmetries // *Developmental instability: Its origins and evolutionary implications*. Dordrecht; Boston; London: Kluwer Acad. Publ., - 1994. P. 203–220.
4. Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Кряжева Н.Г., Чистякова Е.К., Чубинишвили А.Т. *Здоровье среды: методика оценки*. М.: Центр экологической политики России, - 2000. 68 с.
5. Graham J.H., Raz S., Hel-Or H., Nevo E. Fluctuating asymmetry: methods, theory, and applications // *Symmetry*. - 2010. - Vol. 2. No. 2. P. 466–540; <https://doi.org/10.3390/sym2020466>
6. Турмухаметова Н.В., Шивцова И.В. Морфологический подход к оценке состояния среды по асимметрии листа *Betula pendula* Roth и *Fragaria vesca* L. // *Лес. вестн.* – 2007. No. 5. С. 140–143.
7. Zakharov V.M., Trofimov I.E. Morphogenetic approach to estimation of health of environment: Study of developmental stability // *Russ. J. Develop. Biol.* - 2017. – Vol. 48. No. 6. P. 369–378. DOI: 10.1134/S1062360417060066.
8. Шадрина Е.Г., Вольперт Я.Л. Опыт применения показателей флуктуирующей асимметрии растений и животных для оценки качества среды в наземных экосистемах: результаты 20-летних исследований природных и антропогенно трансформированных территорий // *Онтогенез*. - 2018. - Т. 49. № 1. С. 27–40.
9. Zakharov V.M., Krysanov E.Yu., Pronin A.V., Trofimov I.E. Study of developmental homeostasis in natural populations. Health of environment concept: Methodology and practice of estimation // *Russ. J. Develop. Biol.* - 2017. - Vol. 48. № 6. P. 355–368. DOI: 10.1134/S1062360417060054

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Продолжаются исследования популяционного и видового разнообразия животных, механизмов поддержания разнообразия, формирования адаптаций, генетических основ видоспецифических количественных признаков, включая поведенческие, и изолирующих барьеров между дивергирующими популяциями. На модели полиморфизма по Робертсоновским транслокациям у слепушонок рода *Ellobius* подтверждена гипотеза хромосомного видообразования за счет монобрахиально гомологичных транслокаций. Исследование механизмов генетической детерминации пола у дафний показало различные стратегии определения женского пола с вовлечением большого числа вторичных генов, в зависимости от генотипа, определяющего чувствительность к мужским половым гормонам. Значение гормональных регуляций в формировании гетерохроний при экспрессии широкого спектра количественных признаков с выраженной видоспецифической изменчивостью у костистых рыб, показано на видах рода *Labeobarbus*. В экспериментах по изучению роли гормональных регуляций морфогенеза модельного вида *Danio rerio* показана гомология формирования онтогенетических нарушений у филогенетически удаленных видов, данио и человека. Результаты этой работы ложатся в основу развития нового направления Evo-Devo-Path, или эволюционной патологии развития. На трехглазой колюшке методами NGS исследованы генетические механизмы адаптации и видообразования при многократном переходе вида из морских в пресноводные местообитания. Показано возникновение кластеров дивергировавших генов, поддержание совокупности кластеров с характерной изменчивостью в пресноводных популяциях и возможность быстрой «сборки» этих кластеров из сохраняющейся изменчивости в отдельных независимых кластерах в составе морских популяций при заселении пресноводных стадий. Анализ структурной изменчивости гена *Hsp70* у двукрылых впервые показал механизм формирования адаптаций к экстремальным температурам за счет повышения термостабильности шаперона, участвующего в поддержании функциональной активности белков клетки в условиях стресса. В работах, посвященных генетическим основам коммуникативного поведения, был детализирован механизм влияния гена *qtc* на эффективность брачного ритуала дрозофилы, обоснована его роль, как потенциальной мишени для полового отбора, найдены новые гены – кандидаты, ассоциированные с реализацией агрессивного поведения у человека. Различные сценарии симпатрического и аллопатрического видообразования изучались на родственных видах рыб (арктические гольцы рода *Salvelinus*), голожаберных моллюсков рода *Dendronotus*, слепушонок рода *Ellobius*.

ОТЧЕТНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ГОСЗАДАНИЯ

1. **Alekseyev S.S.**, Pichugin M.Y., Gordeeva N.V., (...), Khlystov V.S., Matveev A.N. Reproductive Strategies and the Origin of Parapatric and Sympatric Forms of Arctic Charr *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) in the System of Lakes Bol'shoe Leprindo and Maloe Leprindo (Northern Transbaikalia) // *Journal of Ichthyology*. - 2019. - Vol. 59(4). – P. 527-544. DOI: 10.1134/S0032945219040015. (WoS, Scopus) – Q нет.
2. **Alekseyev S.S.**, Pichugin M.Y., Samusenok V.P., Gordeeva N.V., Yur'ev A.L., Khlystov V.S., Matveev A.N. Reproductive strategies of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) forms in Kiryalta lakes, Transbaikalia, Russia // *Hydrobiologia*. - 2019. - Vol. 840. Is. 1. Специальный выпуск: SI P. 113-136. DOI: 10.1007/s10750-019-3894-y. (WoS, Scopus) – Q1
3. ***Bakloushinskaya I., Lyapunova E.A., Saidov A.S., Romanenko S.A., O'Brien P.C.M., Serdyukova N.A., Ferguson-Smith M.A., Matveevsky S., Bogdanov A.S.** Rapid chromosomal evolution in enigmatic mammal with XX in both sexes, the Alay mole vole *Ellobiusalaicus Vorontsov et al., 1969* (Mammalia, Rodentia) // *Comp. Cytogenet.* – 2019. – Vol. 13. – Is. 2. – P. 147-177. DOI: 10.3897/Comp Cytogen.v13i2.34224. (WoS, Scopus). – Q3–Q4.
4. **Bakloushinskaya I.Y., Bogdanov A.S., Mikaelyan A.S., Tambovtseva V.G., Matveevsky S.N.** Genetic mechanisms of sex determination in mammals lacking a Y chromosome // *Zhurnal obshchei biologii*. - 2019. - Vol. 80. Is. 4. – P. 243-250. DOI: 10.1134/S0044459619040031. (WoS, Scopus) – Q4
5. **Brandler O.V., Tukhbatullin A.R., Nikofskii A.A.** Comparative Analysis of the Alarm Call in Different Age and Sexual Groups of the Russet Ground Squirrel (*Spermophilus major* Pallas 1778) // *Russian Journal of Developmental Biology*. - 2019. - Vol. 50. – Is. 4. – P. 173- 179. DOI: 10.1134/S1062360419040027. (WoS, Scopus) – Q4
6. Ekimova I., Valdes A., Chichvarkhin A., (...), Lindsay T., **Schepetov D.** Diet-driven ecological radiation and allopatric speciation result in high species diversity in a temperate-cold water marine genus *Dendronotus* (Gastropoda: Nudibranchia) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2019. – Vol. 141. – Art. no. 106609. DOI: 10.1016/j.ympev.2019.1066. (WoS, Scopus). – Q1
7. Garbuz D.G., Sverchinsky D., Davletshin A., Margulis B.A., Mitkevich V., **Kulikov A.M., Evgen'ev M.B.** The molecular chaperone Hsp70 from the thermotolerant Diptera species differs from the *Drosophila* paralog in its thermostability and higher refolding capacity at

- extreme temperatures // *Cell Stress & Chaperones*. – 2019. – V. 24. – N 6. – P. 1163-1173. DOI: 10.1007/s12192-019-01038-3. (WoS, Scopus) – Q3.
8. Levin B.A., Casal-Lopez M., Simonov E., Dgebuadze Y.Y., **Mugue N.S.**, Tiunov A.V., Doadrio I. Golubtsov A. Adaptive radiation of barbs of the genus *Labeobarbus* (Cyprinidae) in an East African river // *Freshwater Biology*. – 2019. - V. 64. Is. 10. - P. 1721-1736. DOI: 10.1111/fwb.13364. (WoS, Scopus) – Q1-Q2.
 9. Molinier C., Reisser C.M.O., Fields P.D., Ségard A., **Galimov Y.**, Haag C.R. Evolution of gene expression during a transition from environmental to genetic sex determination // *Molecular Biology and Evolution*. - 2019. – V. 36. – Is. 7. – P. 1551–1564. DOI: 10.1093/molbev/msz123. (WoS, Scopus) – Q1.
 10. Prazdnikov D.V., **Shkil F.N.** Experimental evidence of the role of heterochrony in evolution of the Mesoamerican cichlids pigment patterns // *Evolution & Development*. – V. 21. – Is. 1. – P. 3-15. DOI: 10.1111/ede.12272. (WoS, Scopus) – Q3.
 11. Romanenko S.A., **Lyapunova E.A.**, Saidov A.S., O'Brien P.C., Serdyukova N.A., Ferguson-Smith M.A., Graphodatsky A.S., **Bakloushinskaya I.** Chromosome translocations as a driver of diversification in mole voles *Ellobius* (Rodentia, Mammalia) // *Int. J. Mol. Sci.* - 2019. - Vol. 20. – P. 4466. DOI: 10.3390/ijms20184466. (WoS, Scopus) – Q2.
 12. **Shkil F.**, Siomava N., **Voronezhskaya E.**, Diogo R. Effects of hyperthyroidism in the development of the appendicular skeleton and muscles of zebrafish, with notes on evolutionary developmental pathology (Evo-Devo-Path) // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9(1). – P. 5413. DOI: 10.1038/s41598-019-41912-9. (WoS, Scopus) – Q1.
 13. **Shkil F.N.**, **Lazebny O.E.**, **Trofimov I.E.**, **Kapitanova D.V.** Adaptive Radiation and Developmental Homeostasis of the Lake Tana Large African Barbs g. *Labeobarbus* (Cyprinidae; Teleostei) // *J. Morphol.* – 2019. – Vol. 280. – S217. WOS:000470768500661. (WoS, Scopus) – Q2.
 14. **Terekhanova N.V.**, **Barmintseva A.E.**, Kondrashov A.S., Bazykin G.A., **Mugue N.S.** Architecture of parallel adaptation in ten lacustrine threespine stickleback populations from the Seaarea // *Genome Biology and Evolution*. – 2019. – Vol. 11(9). – P. 2605-2618. DOI: 10.1093/gbe/evz175/ (WoS, Scopus) – Q1.

Отчет утвержден на заседании Ученого совета 27 декабря 2019 г., протокол № 14.