

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ИМ. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН  
(ИБР РАН)

УДК 575.16

Рег. № ГЗ 0108-2018-0007

Рег. № НИОКТР АААА-А18-118041690137-1

УТВЕРЖДАЮ  
Директор ИБР РАН  
д-р биол. наук, чл.-корр. РАН  
А.В. Васильев  
«27» декабря 2018 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,  
главный научн. сотр.,  
д-р биол. наук

  
\_\_\_\_\_

А.М. Куликов  
26.12.2018

подпись, дата

Руководитель НИР,  
главный научн. сотр.,  
д-р биол. наук, проф.  
чл.-корр. РАН

  
\_\_\_\_\_

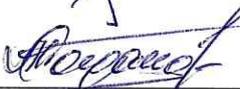
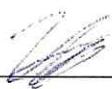
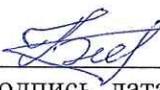
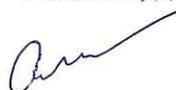
В.М. Захаров

25.12.2018

подпись, дата

Москва 2018

## СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

<p>Руководитель, зав. лабораторией, доктор биологических наук,</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>А.М. Куликов (Введение, раздел 4) 26.12.2018</p>
<p>Руководитель, член-корреспондент РАН</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>В.М. Захаров (раздел 8) 25.12.2018</p>
<p>Исполнители: Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>А.С. Богданов (раздел 1) 24.12.2018</p>
<p>Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>О.В. Брандлер (раздел 1, 2) 25.12.2018</p>
<p>Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>Н.С. Мюге (раздел 2) 26.12.2018</p>
<p>Младший научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>Д.М. Щепетов (раздел 2) 25.12.2018</p>
<p>Главный научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>Я.Р. Галимов (раздел 3) 25.12.2018</p>
<p>Научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>А.В. Блехман (раздел 3) 25.12.2018</p>
<p>Ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>И.Ю. Баклушинская (раздел 3) 24.12.2018</p>
<p>Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>С.Ю. Сорокина (раздел 4) 26.12.2018</p>
<p>Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>О.Е. Лазебный (раздел 5) 26.12.2018</p>
<p>Ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук</p>	 <hr style="width: 100%;"/> <p>подпись, дата</p>	<p>М.В. Мина (раздел 6) 25.12.2018</p>

Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук

  
\_\_\_\_\_

Ф.Н. Шкиль (раздел 6)

26.12.2018

подпись, дата

Ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук

  
\_\_\_\_\_

С.С. Алексеев (раздел 7)

26.12.2018

подпись, дата

Научный сотрудник, кандидат биологических наук

  
\_\_\_\_\_

И.Е. Трофимов (раздел 8)

25.12.2018

подпись, дата

Нормоконтроль, ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук

  
\_\_\_\_\_

Е.Б. Абрамова

26.12.2018

подпись, дата

## РЕФЕРАТ

Отчет 107 с., 8 ч., 25 рис., 5 табл., 202 источника, 25 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 – исследование механизмов эволюционной дивергенции видов на разных уровнях организации живых систем – от молекулярного до биогеоценотического. Исследования проводятся на широком спектре видов по генетическим и морфологическим признакам, с анализом соответствия скорости эволюции разных признаков, их происхождению и роли в формировании изолирующих барьеров при дивергенции. Результаты анализа комплекса видов наземных беличьих показывают высокий уровень генетической обособленности родственных видов сурков *Marmota sibirica* и *M. baibacina* и сусликов *Spermophilus alaschanicus* и *S. pallidicauda*. Основным фактором, способствующим гибридизации этих видов, является заселение субоптимальных биотопов. Расширен ареал *Ellobius alaicus*, ранее считавшегося эндемиком Киргизии, показано присутствие вида в Таджикистане. Показаны примеры несоответствия филогенетических отношений и темпов генетической эволюции в группе западнопалеарктических лесных мышей (род *Sylvaemus*) и у домовых мышей (*Mus*): у желтогорлой мыши замедлены темпы эволюции митохондриального гена *cyt b*, у памирской формы малой лесной мыши ускорены темпы изменений митохондриального гена *COI*, у подвидов домового мыши – ядерного гена *BRCA1*. На основании впервые полученных данных о синапсисе хромосом в профазе мейоза I у разнохромосомных форм слепышей *Nannospalax ehrenbergi* высказана гипотеза о ведущей роли изменений половых хромосом при диверсификации форм. Результаты изучения *Aroniphis* из вод побережья Западной Африки с использованием и сопоставлением морфологических и молекулярных данных дают основание полагать, что видовое разнообразие рода гораздо выше, чем предполагалось ранее и требует дальнейшего изучения. Анализ транскриптомов у дафнии *D. magna* показал принципиальное сходство полспецифичной экспрессии у партеногенетических и половых поколений. На модели *Danio rerio* показано происхождение заднего пояса конечностей высших позвоночных от непарных брюшных плавников.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

РЕФЕРАТ.....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	8
РАЗДЕЛ 1. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВНУТРИ- И МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ. ЗОНЫ КОНТАКТА .....	9
Введение .....	9
Методы.....	9
Результаты и обсуждение .....	9
Подраздел 1. Сравнение зон вторичного контакта двух пар видов сурков и сусликов.....	9
Подраздел 2. Сохранение видовой специфичности и собственного независимого генома <i>S. major</i> .....	12
Подраздел 3. Анализ гибридизации европейской и азиатской рас малой лесной мышы <i>Sylvaemus uralensis</i> .....	13
Подраздел 4. Гибридизация и особенности закрепления хромосомных перестроек робертсоновского типа в природе у слепушонок видов-двойников <i>Ellobius</i> <i>tancrei</i> и <i>E. alaicus</i> .....	16
Заключение.....	17
Список использованных источников.....	17
РАЗДЕЛ 2. ФИЛОГЕОГРАФИЯ, ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ РЕВИЗИИ МОДЕЛЬНЫХ ГРУПП ЖИВОТНЫХ.....	20
Введение .....	20
Методы.....	21
Результаты и обсуждение .....	21
Подраздел 1. Филогеография <i>Daphnia magna</i> Straus (Crustacea: Cladocera).....	21
Подраздел 2. Таксономическая ревизия рода <i>Onuphis</i> (Onuphidae, Polychaeta).....	23
Подраздел 3. Анализ генетической структуры популяций мух <i>Lucilia sericata</i> .....	26
Подраздел 4. Примеры несоответствия филогенетических отношений и темпов генетической эволюции в группе западнопалеарктических лесных мышей (род <i>Sylvaemus</i> ) и домовых мышей ( <i>Mus</i> ).....	27
Подраздел 5. Филогеография бледнохвостого суслика ( <i>S. pallidicauda</i> ).....	33
Подраздел 6. Изменения половых хромосом у разнохромосомных форм слепышей <i>Nannospalax ehrenbergi</i> как драйвер диверсификации.....	35
Подраздел 7. Особенности распространения эндосимбиотических бактерией <i>Spiroplasma</i> у божьей коровки <i>Harmonia axyridis</i> .....	36
Заключение.....	36
Список использованных источников.....	37
РАЗДЕЛ 3. ИЗУЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИИ СИСТЕМ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА В РАЗЛИЧНЫХ ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ.....	42
Введение .....	42
Методы.....	42

Результаты и обсуждение .....	43
Подраздел 1. Общие закономерности пол-специфичной экспрессии генов у <i>Daphnia</i> , рода со средовым определением пола .....	43
Подраздел 2. Эволюция половых хромосом и некоторых генов, связанных с детерминацией пола, у слепушонок рода <i>Ellobius</i> . .....	44
Заключение.....	45
Список использованных источников.....	45
РАЗДЕЛ 4. ИЗОЛИРУЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРИ ВИДООБРАЗОВАНИИ.....	47
Введение .....	47
Методы.....	48
Результаты и обсуждение .....	49
Заключение.....	52
Список использованных источников.....	53
РАЗДЕЛ 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОММУНИКАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ.....	55
Введение .....	55
Подраздел 1. Генетические основы агрессивности у человека в зависимости от социокультурных характеристик общества .....	55
Методы.....	57
Результаты .....	59
Обсуждение .....	62
Подраздел 2. Брачное поведение дрозофилы и презиготическая изоляция .....	65
Методы.....	66
Результаты и обсуждение .....	68
Заключение.....	70
Список использованных источников.....	70
РАЗДЕЛ 6. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ РАЗВИТИЯ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ КАНАЛОВ (НА МОДЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТАХ).....	78
Введение .....	78
Материалы и методы .....	78
Результаты .....	79
Заключение.....	80
Список использованных источников.....	81
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.....	81
Введение .....	81

Материал и методы.....	82
Результаты и обсуждение .....	83
Заключение.....	88
Список использованных источников.....	88
<b>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 .....</b>	<b>91</b>
Введение .....	91
Методы.....	94
Результаты и обсуждение .....	96
Заключение.....	98
Список использованных источников.....	99
<b>ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>102</b>
<b>ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ГОСЗАДАНИЯ .....</b>	<b>104</b>
*отчетные публикации .....	104

## ВВЕДЕНИЕ

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

До настоящего времени остается нерешенным ряд проблем эволюционной генетики, связанных с оценкой темпов и механизмов накопления эволюционной изменчивости, особенностями формирования изолирующих барьеров при аллопатрическом и симпатрическом сценариях видообразования, ведущих механизмах формирования изолирующих барьеров и их генетических основах.

В рамках данной темы выполняются исследования, цель которых - анализ механизмов видообразования, устойчивости вида и сопряженности эволюции генетических (ядерная и митохондриальная ДНК, структура кариотипа), морфологических, и физиологических признаков. Используются модельные группы организмов: ракообразные, моллюски, виды дрозофил различной степени родства, осетровые и костистые рыбы, различные виды хищных птиц, грызунов, а также, для исследований эволюции агрессивности, выборки из различных популяций человека. Продолжено многолетнее изучение зон гибридизации различных видов грызунов, генетический анализ межвидовых гибридов и видоспецифических признаков, связанных с презиготическими изолирующими барьерами, филогеографические исследования и таксономические ревизии модельных групп животных. Часть исследований посвящены изучению применимости молекулярных маркеров митохондриального происхождения для оценки эволюционных событий прошлого, и применению высокопродуктивных молекулярно-генетических методов исследования сложных количественных признаков. Ряд исследований посвящен разработке подходов для биомониторинга на экосистемном уровне, заключающихся в разработке алгоритмов анализа различных признаков ключевых видов различных экосистем, усредненные оценки по которым могут свидетельствовать о состоянии экосистемы. Актуальность фундаментальных исследований механизмов эволюции не ограничивается исключительно теоретическими знаниями о темпах и характере формирования эволюционных новшеств. Прикладное значение этих исследований связано с созданием прогностических моделей изменения окружающей среды и собственно человеческого общества, с возможностью мониторинга ценных и угрожаемых видов растений и животных, сохранением и поддержанием биоразнообразия на видовом и экосистемном уровнях.

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

### Введение

Анализ природных гибридных зон позволяет изучить на природном материале процесс формирования прекопулятивных (поведенческих) и посткопулятивных (генетических) механизмов изоляции. Если ранее гибридизация рассматривалась как случайное нарушение изолирующих барьеров, то в современных публикациях все чаще обсуждается роль гибридизации как одного из возможных механизмов видообразования. Изучение процесса становления разного рода барьеров, обеспечивающих целостность генофонда вида, невозможно без оценки роли гибридизации. Одной из причин недооценки масштабов гибридизации было недостаточное использование молекулярно-генетических методов. Разработка подходов и поиск новых маркеров является актуальной задачей наряду с расширением выборки объектов исследования. В нашей работе для анализа генетических процессов в зонах гибридизации и зонах вторичного контакта в качестве модельных объектов были использованы следующие виды грызунов: серый сурок (*Marmota baibacina*) и тарбаган (*M. sibirica*); алашаньский (*Spermophilus alaschanicus*) и бледнохвостый (*S. pallidicauda*) суслики; большой суслик *S. major*, малая лесная мышь *Sylvaemus uralensis* (гибридизация европейской и азиатской рас в природе); восточная *Ellobius tancrei* и алайская *E. alaicus* слепушонки.

### Методы

Применены современные молекулярно-генетические методы, в том числе секвенирование фрагментов ядерной и митохондриальной ДНК рестриктный анализ, микросателлитный анализ, цитогенетические методы, такие как метод флуоресцентной гибридизации *in situ*, дифференциальные окраски хромосом. 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, Exonerate, GeneMarker (version 1.2), Polysat, SPAGeDi (Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity), GenAlex, MrBayes и др.).

### Результаты и обсуждение

#### Подраздел 1. Сравнение зон вторичного контакта двух пар видов сурков и сусликов

Исследованы зоны вторичных контактов двух пар видов сурков серого или алтайского (*Marmota baibacina*) и монгольского или тарбагана (*M. sibirica*) и сусликов

алашаньского (*Spermophilus alaschanicus*) и бледнохвостого (*S. pallidicauda*) в Монголии, у которых ранее была обнаружена гибридизация [1], [2].

Были исследованы 58 сурков из зоны совместного обитания тарбагана и серого сурка в долине р. Улагчин-Гол в Монгольском Алтае и 38 сусликов (6 алашаньских ( $2n = 38$ ), 31 бледнохвостый ( $2n = 34$ ) и 1 гибридный ( $2n = 36$ )). Весь собранный материал был передан на хранение в объединенную Коллекцию тканей диких животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных исследований ИБР РАН.

Для генетического типирования в качестве молекулярных маркеров использовали фрагменты яДНК: ген *HOXB*, интрон 13 гена *BCR* (*i13BCR*), интрон 8 гена *SmcY* (*i8SmcY*), локализованный на Y-хромосоме; и фрагменты мтДНК: ген цитохрома *b* (*Cytb*) для сурков и контрольный регион (*CR*) для сусликов.

**Гибридизация у сурков.** Результаты молекулярно-генетического типирования сурков представлены в Таблица 1.1. Значительная доля зверьков с гибридным геномом (38%) предполагает фертильность межвидовых гибридов, интенсивное возвратное скрещивание гибридов и указывает на значительную длительность этого процесса на исследуемой территории. Наши данные подтверждают предположение о наличии конкурентных отношений между этими видами в зоне симпатрии и о вытеснении серого сурка тарбаганом [3]. Следствием преобладания в смешанной популяции представителей *M. sibirica* является преобладание доли гаплотипов “sibirica” в гибридных геномах в пределах всей исследованной выборки. Анализ пространственного распределения генотипированных особей позволяет предположить, что формирование семейных групп смешанного видового состава происходит на участках с крупнокаменистыми осыпями, а не у подножия склонов, как предполагалось ранее [1], [4]. Доля гибридных особей на таких участках значительно выше (76%), чем в совокупной выборке. По мере удаления от этих очагов гибридизации частота выявления гибридов резко снижается. Нетерпимое отношение сурков к вторжению на семейный участок чужаков и отселение взрослеющих сурков с родительского участка в субоптимальные местообитания, к которым относятся крупнокаменистые осыпи, и низкий уровень миграции внутри колонии могут обуславливать формирование гетероспецифических репродуктивных пар на субоптимальных участках и ограничивать распространение гибридных особей вне зоны гибридизации.

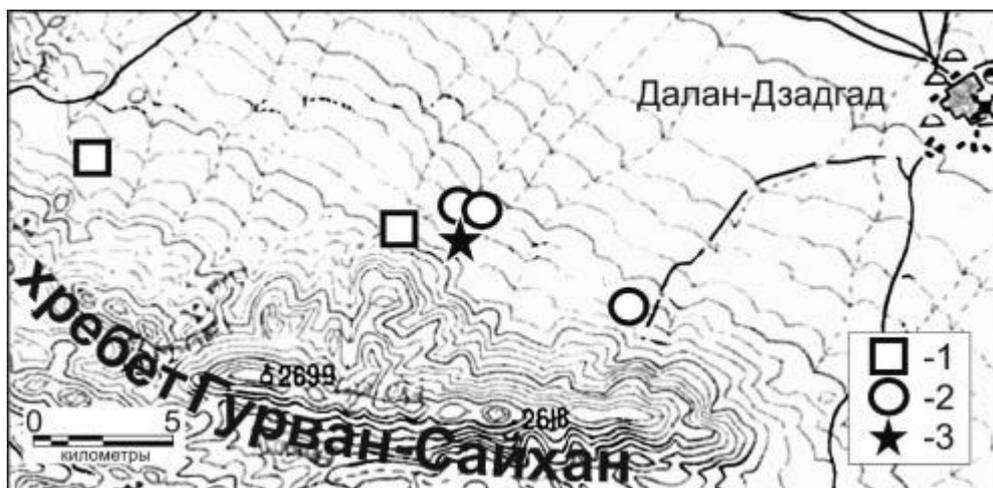
**Гибридизация у сусликов.** Видовую принадлежность отловленных сусликов определяли по экстерьерным признакам и числу хромосом в кариотипе. Молекулярно-генетическое типирование всех особей полностью совпало с видовым определением. Суслики, для которых предполагалось гибридное происхождение по данным RAPD-PCR

[5], по нашим данным однозначно диагностируются как *S. pallidicauda*. Единственный межвидовой гибрид ( $2n = 36$ ) [2], является гибридом F1, поскольку имеет аллель *i8SmcY*, идентичный найденному у *S. alaschanicus*, митотип CR, гомологичный *S. pallidicauda*, и гетерозиготные аутосомные маркеры. В результате анализа пространственного распределения мест отлова сусликов (Рисунок 1.1) мы определили территорию, где мог происходить контакт исследуемых видов. Бледнохвостый суслик, предпочитающий равнинные опустыненные низкотравные степи, может подниматься по пологому шлейфу хр. Гурван-Сайхан до подножия крутых склонов (до 1900 м и более над у. м.). В этих местах выровненные участки, перемежаются складками рельефа, по которым алашаньский суслик, заселяющий фрагментированные горные долины на высотах от 2000 м над у. м. может спускаться и вступать в контакт с бледнохвостым сусликом. В связи с субоптимальностью данного рельефа для обоих видов их популяции здесь малочисленны, что может приводить к спариванию особей разных видов. Наши данные не подтвердили существование обширной зоны гибридизации *S. alaschanicus* и *S. pallidicauda*, определенное в работе [5]. По нашему мнению, несмотря на имеющиеся предпосылки, гибридизация между изучаемыми видами случается крайне редко. Это согласуется с тем, что данные виды сусликов далеки эволюционно [6] и значительно различаются по фенотипическим и генетическим признакам.

**Таблица 1.1. Результаты генотипирования сурков по маркерам мтДНК и яДНК в смешанной популяции *M. sibirica* и *M. baibacina* в Монгольском Алтае**

Диагноз	Вся выборка		Крупнокаменистые осыпи	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
sibirica	30	51,72%	3	14,29%
baibacina	6	10,34%	2	9,52%
F1*	6	10,34%	5	23,81%
гибрид**	16	27,59%	11	52,38%
Всего	58	100,00%	21	100,00%

\*особи, имеющие гаплотипы *cytb* и *SmcY* разных видов и все аутосомные маркеры в гетерозиготном состоянии; \*\*особи, несущие маркеры обоих видов в разных пропорциях, но не являющиеся гибридами первого поколения; *n* – число животных в выборке.



**Рисунок 1.1 - Пространственное распределение точек отлова алашаньского и бледнохвостого сусликов в зоне их контакта в северных предгорьях хр. Гурван-Сайхан.**

Точки отлова: 1 – *S. alaschanicus*; 2 – *S. pallidicauda*; 3 – гибрида F1.

Таким образом, мы показали, что в изученных зонах вторичных контактов наземных беличьих Монголии основным фактором, способствующим гибридизации, является заселение субоптимальных биотопов. В качестве механизмов поддержания видовой самостоятельности существенную роль играют экологические и поведенческие особенности контактирующих видов. Полученные результаты дополняют представление о роли гибридизации в эволюции наземных беличьих Палеарктики [7].

## **Подраздел 2. Сохранение видовой специфичности и собственного независимого генома *S. major***

В зонах вторичного контакта близких видов и нередко наблюдается интенсивная интрогрессия генов одного вида в геном другого. Зоны вторичного контакта рыжеватого суслика (*Spermophilus major* Pallas, 1778) с 5 близкими видами: малым (*S. pygmaeus*), крапчатым (*S. suslicus*), желтым (*S. fulvus*), краснощеким (*S. erythrogegens*) и короткохвостым (*S. brevicauda*) сусликами на западной, южной и восточной границах его ареала являются ярким примером такого случая. *S. major* образует жизнеспособные и плодовитые гибриды со всеми видами. Как показали проведенные ранее в популяциях из зон контактов генетические исследования, эта гибридизация сопровождается интенсивной интрогрессией митохондриальных генов контактирующих видов в геном *S. major* [8], [9]. В данной ситуации возникает вопрос о сохранении видовой специфичности и существовании собственного независимого генома *S. major*. Несмотря на размытость видовых границ, рыжеватый суслик имеет ряд специфических экологических и морфофизиологических особенностей, характеризующих его как самостоятельный вид.

В 2018 г. продолжено исследование генетических и географических особенностей собственного митохондриального генома рыжеватого суслика и уровня его отличий от митотипов граничащих с ним видов по ряду видоспецифических для этой группы маркеров. Был собран материал из южной и западной частей ареала вида. В итоге материал для исследования составил образцы тканей 195 особей *S. major*, собранные с большей части ареала данного вида в 2016 — 2018 годах (Республика Татарстан, Башкортостан, Удмуртия, Курганская, Оренбургская, Свердловская, Челябинская область, Западно-Казахстанская и Актыбинская области Казахстана). Также были использованы образцы из коллекции Пензенского университета и "Объединенной коллекции тканей диких животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных исследований", поддерживаемой в ИБР РАН. Для сравнительного анализа использовались образцы *S. brevicauda*, *S. fulvus*, *S. erythrogegens* и *S. pygmaeus* из коллекции ИБР РАН. Всего в исследование включено 284 особи *S. major* и 104 особи других видов. Дополнительно использованы последовательности маркеров митохондриальной ДНК *S. suslicus*, *S. pygmaeus* и *S. fulvus* из GenBank NCBI.

В настоящее время нами выбраны в качестве молекулярных маркеров мтДНК полноразмерные последовательности контрольного региона (получены данные для 252 образцов) и *cytb* (35), а также маркеров яДНК – фрагменты генов *i8 SmcY* (100), *i13 BCR* (34) и *i5 HoxB* (5).

Полученные предварительные результаты свидетельствуют о достоверности отличий контрольного региона и *cytb* мтДНК *S. major* от всех пяти граничащих с ним видов. Уровень различий разных видов и *S. major* разный. Наибольшие различия обнаружены между *S. major* и *S. pygmaeus*, наименьшие между *S. major* и *S. brevicauda* [10]. Распределение митотипов контрольного региона мтДНК на филогенетическом дереве и уровень генетических дистанций свидетельствуют о дифференциации форм *major* и *brevicauda* на уровне подвидов. При этом, особи *S. brevicauda* из зоны контакта с *S. major* имеют однотипные с ним митотипы. Объяснение данного факта требует исследования маркеров яДНК. Предварительный анализ последовательностей гена *i8 SmcY*, локализованного на Y хромосоме, не показал различий *S. major* и *S. brevicauda*. Однако по имеющемуся ограниченному количеству последовательностей ядерного гена *i5 HoxB* форма *brevicauda* имеет замены, вследствие чего данная форма располагается между *S. major* и *S. erythrogegens*. Исследование будет продолжено в 2019 г.

### **Подраздел 3. Анализ гибридизации европейской и азиатской рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis***

Проведено исследование размеров, границ, структуры гибридной зоны европейской

и азиатской рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* на юге Омской обл. с помощью анализа прицентромерного гетерохроматина хромосом и размера ядерного генома. Эти признаки позволяют надёжно различать родительские формы и гибриды [11]. Согласно полученным результатам, гибридная зона азиатской расы и восточно-европейской хромосомной формы европейской расы *S. uralensis* в настоящее время практически целиком находится в пределах Нововаршавского района. Все малые лесные мыши из окрестностей железнодорожной станции Новоуральский и из пунктов, расположенных к северу от неё, имели в кариотипе не менее 28 крупных прицентромерных С-блоков и были определены как особи восточно-европейской хромосомной формы. У малых лесных мышей, отловленных в 6 км к востоку от пос. Большегривское и железнодорожной станции Иртышское, крупных прицентромерных С-блоков в кариотипе не обнаружено, поэтому эти экземпляры отнесены нами к азиатской расе. Гибридная зона занимает территорию между пунктом 3 (окрестности станции Любовка, 119-й км железной дороги) и станцией Иртышское; на этом участке у малых лесных мышей наблюдается постепенное уменьшение числа хромосом с крупными прицентромерными С-блоками в направлении с северо-запада к юго-востоку, то есть от восточно-европейской хромосомной формы к азиатской расе (Рисунок 1.2). Полный и постепенный спектр изменчивости значений признака в гибридной зоне – от свойственных одной родительской форме до типичных для другой – говорит о том, что возвратные скрещивания особей каждой из них с гибридами первого поколения F1 и бэкрессами следующих поколений оказались успешными примерно в одинаковой степени, и кроме того, образование гибридной зоны не было связано со случайной интродукцией животных. Условный “центр” гибридной зоны, где обитают особи, близкие по цитогенетическим характеристикам к гибридам первого поколения, занимает очень ограниченную территорию (в пределах 136–137 километров по железной дороге Омск-Иртышское).

При анализе вариации размера ядерного генома получены аналогичные результаты. Положение краевых “чистых” популяций обеих родительских форм и условного “центра” гибридной зоны в этом случае диагностируется точно так же, как и по гетерохроматину.



**Рисунок. 1.2 - Схема, демонстрирующая распространение и генетические характеристики малых лесных мышей восточно-европейской хромосомной формы, азиатской расы и гибридных популяций на юге Омской обл. вблизи железной дороги Омск-Иртышское-Карасук**

Цифрами обозначены номера локалитета. В прямоугольных скобках указаны диапазон изменчивости числа хромосом с крупными прицентромерными С-блоками и их среднее количество в выборке, в округлых скобках – усреднённые величины размера ядерного генома (относительно содержания ДНК в ядрах клеток самки морской свинки) у самок и самцов. Серой пунктирной линией отмечено местонахождение условного “центра” гибридной зоны, а серым курсивом выделены средние значения обоих генетических признаков, рассчитанные для гибридов F1.

На основании значительных различий по гетерохроматину и митохондриальной ДНК европейская и азиатская расы малой лесной мыши рассматривались некоторыми авторами [12] в качестве отдельных видов – *S. uralensis* s. str. и *S. tokmak* соответственно. Однако существование между европейской и азиатской расами естественной гибридной зоны, способность к успешному скрещиванию как родительских форм, так и к возвратному скрещиванию гибридов F1 с обеими родительскими формами, отсутствие каких-либо видимых нарушений в репродуктивной системе всех исследованных гибридов не согласуются с мнением о видовом статусе этих внутривидовых форм. Относительно небольшая территория, занимаемая гибридной зоной, и её очень узкий “центр”, по-видимому, обусловлены тем, что контакт восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы в степных ландшафтах юга Омской области жёстко лимитирован

экологическими факторами и происходит только по ограниченным “каналам” (по сети лесополос и, возможно, зарослям поймы Иртыша) при участии малого числа особей. Таким образом, степи, по-видимому, играли изолирующую роль для популяционных группировок *S. uralensis* и были одной из причин формирования рас, контакт которых стал возможным лишь в последнее время благодаря хозяйственной деятельности человека (развитию путей сообщения, мелиоративным мероприятиям, созданию сети лесополос).

#### Подраздел 4. Гибридизация и особенности закрепления хромосомных перестроек робертсоновского типа в природе у слепушонок видов-двойников *Ellobius tancrei* и *E. alaicus*

Три вида подрода *Ellobius* (обыкновенная слепушонка *E. talpinus*, восточная *E. tancrei* и алайская *E. alaicus*) являются видами-двойниками, надежная диагностика которых возможна лишь по кариотипу; у *E. talpinus* и *E. tancrei* выявлены также различия по нуклеотидным последовательностям фрагментов митохондриальной и ядерной ДНК [13], [14], [15].

Проанализирована изменчивость нуклеотидной последовательности фрагмента гена *cytb* мт ДНК 750 п.н. для выборки из 37 особей слепушонок, 16 локалитетов (Рисунок 1.3).



Рисунок 1.3 - Схема расположения точек отлова слепушонок в зоне контакта *E. alaicus* (треугольники), и *E. tancrei* (круги) на территории Киргизии и Таджикистана.

Как на правом, так и на левом берегу р. Сурхоб возможны зоны контакта алайской и восточной слепушонок, поскольку отсутствуют значительные географические барьеры. Как мы показали ранее, на правом берегу р. Сурхоб, на территории к западу от пос. Шилбили обитает *E. tancrei* [16]. Этот же вид обнаружен на левом берегу р. Сурхоб в районе пос. Утол-Поён и далее на запад. Анализ полученных нами данных по структуре кариотипа и изменчивости гена *cytb* не выявил следов гибридизации между алайской и

восточной слепушонками. Вполне вероятно, что гибридизация носит спорадический характер, и для ее обнаружения необходимо исследовать более массовый материал. Ранее в эксперименте нами были получены межвидовые гибриды нескольких поколений, что свидетельствует о возможности гибридизации и в природе [17].

Анализ хромосомных наборов и изменчивости нуклеотидной последовательности фрагмента гена *cytb* мтДНК трех видов слепушонок рода *Ellobius* позволяет сделать заключение о присутствии на территории Республики Таджикистан вида алайская слепушонка *Ellobius alaicus* (Rodentia, Cricetidae) в долинах рек Кызыл-Су и Муксу (Памиро-Алай) [18].

### Заключение

Исследования, проведенные в 2018 году по изучению особенностей гибридизации в различных группах животных, носят приоритетный характер. На основе генетических маркеров яДНК и мтДНК показаны различия в типах зон гибридизации, от широких зон и значительной интрогрессии признаков до спорадических случаев либо полного отсутствия признаков гибридизации у близких видов. Все результаты являются новыми, полученными впервые для изучаемых нами групп. Основные результаты были опубликованы в рецензируемых научных журналах.

### Список использованных источников

1. Смирин Ю.М., Формозов Н.А., Бибииков Д.И. Мягмаржав Д. Характеристика поселений двух видов сурков (*Marmota*, Rodentia, Sciuridae) в зоне их контакта на Монгольском Алтае//Зоологический журнал. - 1985. - Т. 64. - N 12. - С. 1873 - 1885.
2. Кораблев В.П., Цвирка М.В., Челомина Г.Н., Ляпунова Е.А. Гибридизация между бледнохвостым (*Spermophilus pallidicauda* Satunin, 1903) и алашаньским (*S. alaschanicus* Buchner, 1888) сусликами в Монголии//Бюллетень. МОИП. Отдел биол. - 2006. - Т. 111. – N 5. - С. 26-29.
3. Брандлер О.В., Никольский А.А., Колесников В.В. Пространственное распределение серого сурка и тарбагана (*Marmota*, Sciuridae, Rodentia) в зоне симпатрии в Монгольском Алтае: биоакустический анализ//Известия РАН. Серия биологическая. - 2010. - N - С. 380 - 384.
4. Rogovin K.A. Habitat use by two species of Mongolian marmots (*Marmota sibirica* and *M. baibacina*) in a zone of sympatry//Acta Theriologica. - 1992. - Vol. 37. No. 4. - P. 345 - 350.
5. Цвирка М.В., Челомина Г.Н., Кораблев В.П. Генетические свидетельства гибридизации между бледнохвостым *Spermophilus pallidicauda* Satunin, 1903 и

алашанским *S. alaschanicus* Buchner, 1888 сусликами в Монголии//Генетика. - 2006. - Т. 42. - N 4. - С. 530 - 537.

6. Капустина С.Ю., Брандлер О.В., Адъяа Я. Филогения рода *Spermophilus* и положение алашанского суслика (*Spermophilus alaschanicus* Büchner, 1888) на филогенетическом древе палеарктических «короткохвостых» сусликов//Молекулярная биология. - 2015. - Т. 49. – N 3. - С. 442 - 448.

7. Kapustina S.Yu., Lyapunova E.A., Adiya Ya., Brandler O.V. Features of Interspecific Contacts and Hybridization of Ground Squirrels (Marmotinae, Sciuridae, Rodentia) in Mongolia//Doklady Biochemistry and Biophysics. - 2018. - Vol. 482. N 1. P. 275 - 278. DOI 10.1134/S1607672918050125.

8. Ермаков О.А., Сурин В.Л., Титов С.В., Тагиев А.Ф., Лукьяненко А.В., Формозов Н.А. Изучение гибридизации четырех видов сусликов (*Spermophilus*: Rodentia, Sciuridae) молекулярно-генетическими методами//Генетика. – 2002. - Т. 38. - С. 950 - 964.

9. Титов С.В., Ермаков О.А., Сурин В.Л., Формозов Н.А., Касаткин М.В., Шилова С.А., Шмыров А.А. Молекулярно-генетическая и биоакустическая диагностика больших и желтых сусликов из совместного поселения//Бюл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. биол. - 2005. - Т. 110. - N 4. - С. 72 - 77.

10. Tukhbatullin A.R., Kapustina S.Yu., Ermakov O.A., Titov S.V., Brandler O.V. Assessment of species specificity of the mitochondrial genome of Russet Squirrel *Spermophilus major* Pallas, 1778//Molecular Phylogenetics: Contributions to the 5th Moscow International Conference "Molecular Phylogenetics and Biodiversity Biobanking" (Moscow, Russia, August 25-28, 2018) / Eds. A. Troitsky and L. Rusin. – Moscow: TORUS PRESS, 2018. - P. 121 - 122.

11. Богданов А.С., Розанов Ю.М. Изучение гибридной зоны европейской и азиатской рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* на юге Омской области//Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий. Нижний Новгород: Мининский университет, - 2018. - С. 4 - 12. (РИНЦ)

12. Челомина Г.Н., Атопкин Д.М. Молекулярно-генетические свидетельства глубокого филогенетического разрыва между европейской и азиатской расами малой лесной мыши по данным изменчивости гена цитохрома *b* мтДНК//Молекулярная биология. - 2010. - Т. 44. – N 5. - С. 792 - 803.

13. Ляпунова Е.А. Воронцов Н.Н. Генетика слепушонок (*Ellobius*, Rodentia). Сообщение I. Кариологическая характеристика четырех видов рода *Ellobius*//Генетика. - 1978. - Т. 14. - С. 2012 - 2024.

14. Богданов А.С., Лебедев В.С., Зыков А.Е., Баклушинская И.Ю. Изменчивость гена цитохрома *b* и прилежащего участка гена *tRNA-Thr* митохондриальной ДНК у

обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus* (Mammalia, Rodentia)//Генетика. - 2015. - Т. 51. – N 12. - С. 1433 - 1438.

15. Matveevsky S, Bakloushinskaya I, Kolomiets O. Unique sex chromosome systems in *Ellobius*: How do male XX chromosomes recombine and undergo pachytene chromatin inactivation?//Scientific Reports. - 2016. - Vol. 6. 29949. DOI: 10.1038/srep29949

16. Bakloushinskaya I, Romanenko S., Serdukova N., Graphodatsky A., Lyapunova E. A new form of the mole vole *Ellobius tancrei* Blasius, 1884 (Mammalia, Rodentia) with the lowest chromosome number//Comparative Cytogenetics. - 2013. - Vol. 7, No 2. - P. 163 - 169.

17. Ляпунова Е.А., Баклушинская И.Ю., Коломиец О.Л., Мазурова Т.Ф. Анализ плодовитости гибридов разнохромосомных форм слепушонок надвида *Ellobius tancrei*, отличающихся по одной паре робертсоновских метацентриков. ДАН СССР. - 1990. - Т. 310. - N 3. - С. 721 - 723.

18. Саидов А.С., Баклушинская И.Ю., Матвеевский С.Н., Саидов К.Х., Набиев Л.С., Муродов С.Т., Ляпунова Е.А., Богданов А.С. Диагностика, распространение и молекулярно-генетическая изменчивость алайской слепушонки *Ellobius alaicus* – нового вида фауны Республики Таджикистан//Доклады Академии Наук Республики Таджикистан. - 2018. - Т. 61. - N 6. - С. 588 - 593.

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

### Введение

Одной из наиболее актуальных фундаментальных проблем современной биологии является ответ на вопрос, как происходит накопление генетических различий в процессе становления и диверсификации видов и внутривидовых форм – постепенно (в соответствии с концепцией градуализма) или неравномерно, скачкообразно (в соответствии с концепцией пунктуализма или прерывистого равновесия). Выявление случаев резкого ускорения темпов генетической эволюции вносит серьёзные ограничения в использование методики «молекулярных часов», особенно для близких видов и внутривидовых форм. Действительно, у далёких видов, история которых насчитывает миллионы лет, неоднократное чередование периодов замедления и ускорения генетических изменений может быть аппроксимировано простой линейной зависимостью с небольшой ошибкой. Близкие виды и внутривидовые формы существовали на существенно более коротком временном промежутке; если фаза «скачка» составляла значительную его долю, возможны серьёзные ошибки при попытках экстраполировать данные по далёким видам на внутривидовые формы, это приведёт к переоценке уровня их генетических различий и таксономического статуса. При этом использование калибровочных точек малоэффективно, поскольку палеонтологические датировки, как правило, доступны только для далёких видов, которые можно диагностировать по морфологическим признакам. Для выявления неравномерных изменений какого-либо генетического признака нами проанализированы филогенетические отношения между видами и внутривидовыми формами у мышиных грызунов по ряду молекулярно-генетических маркеров.

Современные методы и подходы позволяют на качественно новом уровне описать распространение видов и внутривидовых форм, провести популяционно-генетический анализ, что нередко оказывается основой для таксономических ревизий групп различного ранга. В качестве групп, интересных для такого рода исследований нами были выбраны млекопитающие (Rodentia: Sciuridae, Muridae), а также различные группы беспозвоночных животных: ракообразных и моллюсков. Использование различных объектов позволяет более адекватно оценивать используемые маркеры, сравнительный анализ полученных результатов позволяет оценить валидность филогенетических реконструкций, основанных на выбранных генетических признаках. Целью данного исследования было построение

филогенетических реконструкций на основе анализа различных признаков для выявления закономерностей эволюции исследуемых групп животных и, при необходимости, проведения таксономических ревизий.

### Методы

Использован широкий спектр современных молекулярно-генетических методов, таких как секвенирование полных геномов (RNA next-generation sequencing), высокопроизводительное секвенирование на приборе Illumina HiSeq с низким покрытием для получения полного митохондриального генома, секвенирование по Сэнгеру фрагментов ядерной и митохондриальной ДНК, а также различные цитогенетические методики. Использованы различные методики для выделения ДНК, дающие наилучший выход материала для каждого объекта, подобраны праймеры и условия полимеразной цепной реакции. Применены различные программы для обработки и анализа полученного генетического материала, включая анализ полных геномов, и различные статистические программы для конкретных задач, SNP-анализа, подбора праймеров, построения филогенетических реконструкций LaserGene, GARLI 2.0, MrBayes 3.2, MEGA 6.0, MEGA X, GeneMarker (version 1.2), OrthoMCL pipeline v.2.0, Polysat, Network, для разделения видов рода *Aponuphis* использован метод Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) [1], для оценки структуры популяций *Lucilia sericata* использовалась программа STRUCTURE 2.0. Эффективная численность популяций оценивалась в программе NeEstimator software [2] и др.

### Результаты и обсуждение

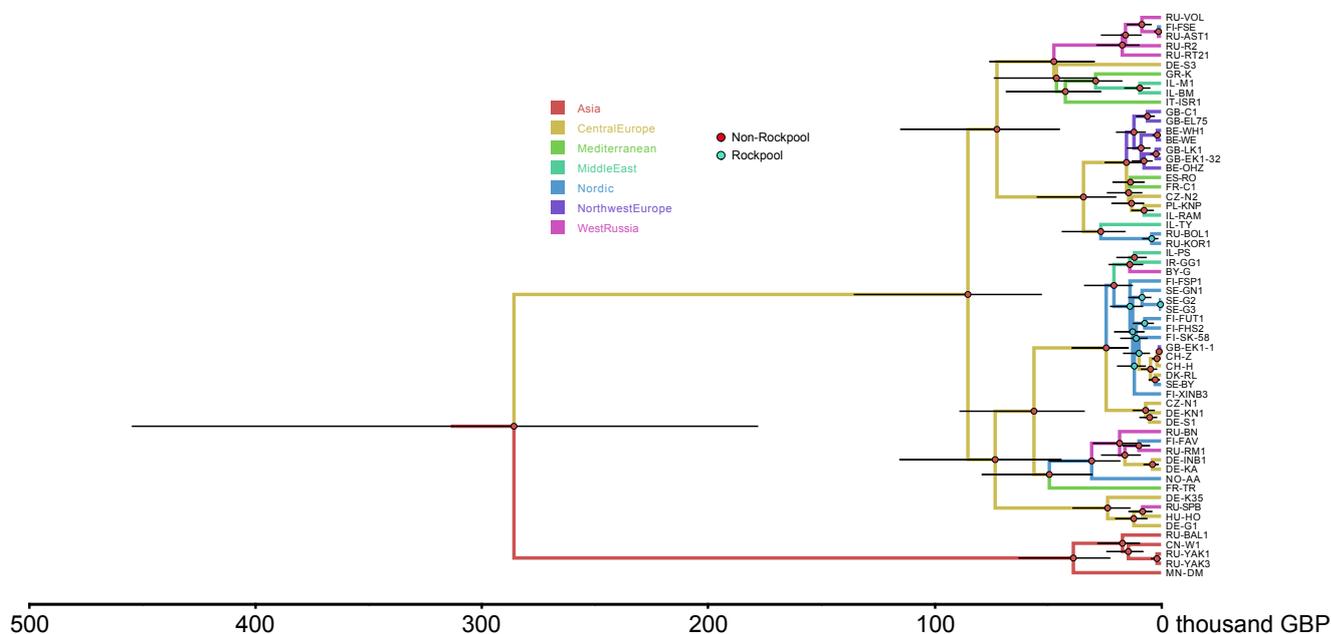
#### Подраздел 1. Филогеография *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera)

**Анализ на основе данных по изменчивости полного митохондриального генома**

Филогеография планктонного ракообразного *D. magna* реконструирована на материале из 60 популяций на всем ареале вида в Евразии (Восточная и Западная Сибирь, Монголия, Китай, Центральная Европа, Европейская часть России, Средиземноморье и Ближний Восток) [3] (Рисунок 2.1). В данной работе, в отличие от исследований, основанных на 1-2 генах, использовался полный митохондриальный геном *D. magna*, было взято по 1 индивидуальному геному из популяции. Кроме того, был собран митохондриальный геном близкого вида *D. similis*, использованный в качестве аутгруппы. Данные были получены с помощью высокопроизводительного секвенирования на приборе Illumina HiSeq с низким покрытием. Низкое покрытие приводит к тому, что многокопийный митохондриальный геном лучше представлен в общем пуле прочтений.

Были решены следующие задачи: реконструирована филогения с оценкой времени дивергенции (с применением экспериментальных измерений скорости мутирования у данного вида), а также определено соотношение синонимичных и несинонимичных мутаций в кодирующих генах.

При реконструкции филогении в пределах вида было выделено две дивергентных клады: европейская и восточноазиатская, со временем дивергенции около 300 тыс. лет. Реконструкция филогеографии в пределах европейской ветви указывает на значительно более позднюю дивергенцию, а также на сравнительно недавнее расселение из рефугиума, расположенного предположительно на Ближнем Востоке. Время расселения соответствует окончанию последнего ледникового периода (10-25 тыс. лет). Данные по восточноазиатской кладе предполагают отсутствие “бутылочных горлышек” в этой части ареала *Daphnia magna*.



**Рисунок 2.1 - Филогенетическая реконструкция генотипов *D. magna***  
 Регион и тип местообитаний включены в анализ качестве характеристик [3].

Сравнение накопления синонимичных и несинонимичных мутаций в различных кладах указало на значительно большую скорость накопления несинонимичных мутаций в популяциях, населяющих скальные лужи на севере европейской части ареала. В этих популяциях, за счет низкой эффективной численности, снижена эффективность очищающего отбора.

По цветам ветвей видна сравнительно слабая географическая кластеризация в пределах евразийской клады, и сильный географический сигнал, разделяющий ее с восточноазиатской кладой. Популяции скальных луж относятся в основном к европейской

кладе В, хотя две таких популяции (RU-BOL1 и RU-KOR1, острова Белого моря) представлены в кладе А.

### Филогеография *Daphnia magna* в Северной Евразии: доказательства глубокого долготного разделения митохондриальных линий

Филогеография *D. magna* была реконструирована по фрагменту митохондриального гена (COI) на материале 145 образцов из 67 популяций Северной Евразии [4]. Анализ продемонстрировал глубокое разделение Восточно-Сибирской и Европейской суперклад, с контактной зоной, проходящей в районе Алтая и Новосибирской области (Рисунок 2.2). Оценочное время разделения суперклад составило более 2 млн. лет.

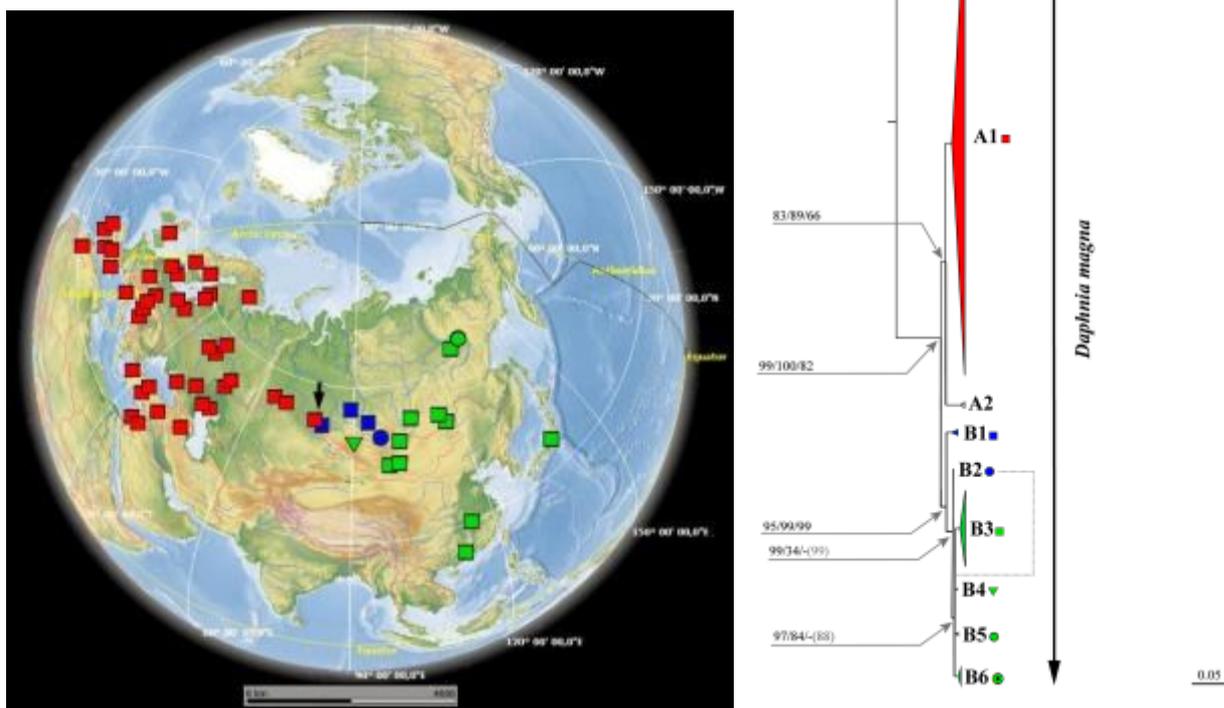


Рисунок 2.2 - Схема распространения в Евразии основных клад гаплотипов *COI* *Daphnia magna* и ML дерево по гену *COI*. Цветом выделены линии, имеющие долготное распределение [4].

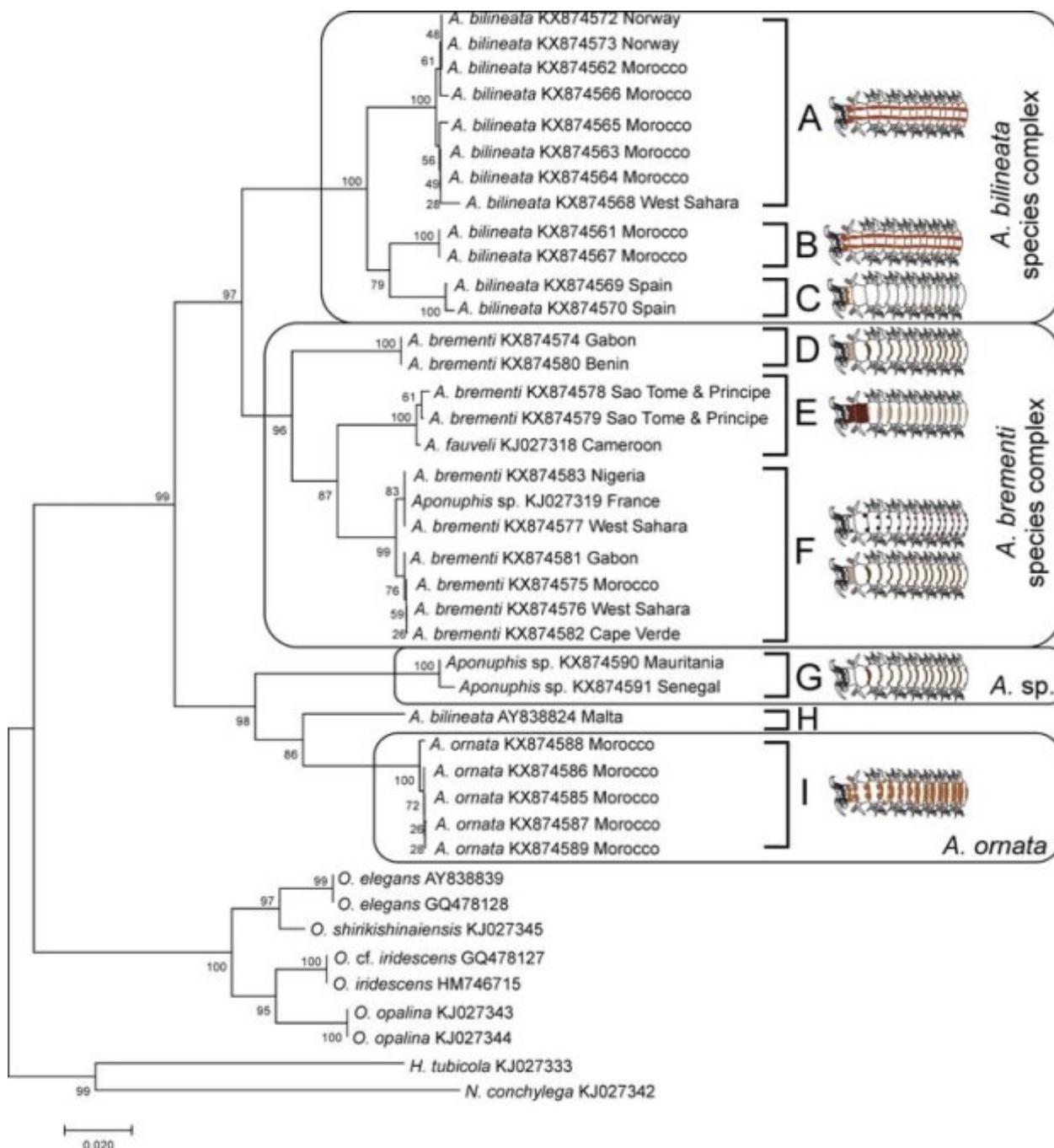
### Подраздел 2. Таксономическая ревизия рода *Onuphis* (*Onuphidae*, *Polychaeta*)

*Onuphis* Kucheruk, 1978 близок к хорошо изученному *Onuphis* Audouin et Milne Edwards, 1833, типовому для семейства, однако изучен гораздо менее тщательно.

Представители обоих родов живут на мягких грунтах в незакрепленных трубках и являются важными видами-индикаторами состояния бентосных сообществ. При этом, в отличие от *Onuphis*, имеющего всесветное распространение и богатого видами, *Aponuphis* включает около десяти видов из вод Северной Атлантики и восточного побережья Австралии [5], [6], [7]. Генетические исследования этого рода многощетинковых червей крайне скудны - один экземпляр *Aponuphis bilineata* использовался в построении филогении *Eunicida* [8], еще два использованы при ревизии *Onuphidae* [9], показавшей монофилию и филогенетическую близость родов *Onuphis* и *Aponuphis*.

Целью настоящего исследования являлось изучение *Aponuphis* из вод побережья Западной Африки с использованием и сопоставлением морфологических и молекулярных данных. Особый акцент сделан на соотнесение сходств цветовых морф с реальной кластеризацией особей.

Девяносто один экземпляр из рода *Aponuphis*, собранный на 27 станциях из восточной Атлантики, преимущественно с шельфа Западной Африки от Марокко до Анголы, а также из Северного и Средиземного морей, был исследован методами световой и сканирующей электронной микроскопии. Получены последовательности участка гена 16S рДНК для 29 экземпляров из рода *Aponuphis*. На основе анализа последовательностей в исследованном материале обнаружены два видовых комплекса (комплекс видов *A. bilineata* и комплекс видов *A. brementi*), а также вид *A. ornata* и потенциально новый для науки вид *Aponuphis sp.* (Рисунок 2.3) [10]. Анализ соответствия цветовых морф генетическим видам показал, что, наряду с тремя типовыми морфами, характерными для трех вышеперечисленных видов, имеется большое число экземпляров с неявной окраской в виде тонких поперечных дорзальных полосок или точек. Данные экземпляры встречаются как у нового, ранее неизвестного вида *Aponuphis sp.*, так и в рамках видовых комплексов *A. bilineata* и *A. brementi*. Исключение составил *A. ornata* с характерным подковообразным рисунком на передних сегментах, все исследованные экземпляры которого обладали схожим паттерном.

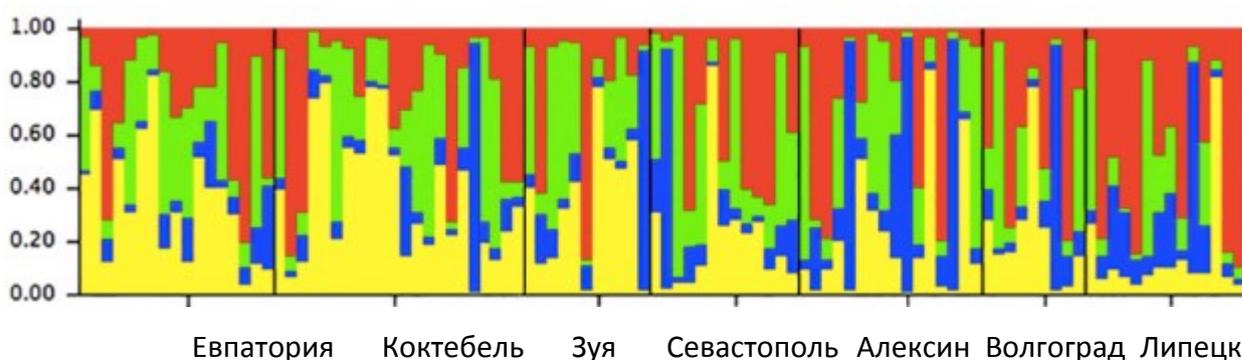


**Рисунок 2.3 - Филогенетическое дерево, построенное методом ближайшего соседа на основе последовательностей гена 16S рДНК для видов *Aponuphis*. Значения в узлах дерева отображают поддержку бутстреп.**

Фауна полихет, в целом, и онуфид, в частности из вод западного побережья Африки изучена категорически недостаточно, многие группы описаны в начале двадцатого века [11], [12]. При этом, на протяжении многих лет для определения видовой принадлежности использовали диагнозы животных из европейских вод. Наши результаты дают серьезное основание полагать, что разнообразие *Aponuphis* гораздо выше, чем предполагалось ранее и требует дальнейшего пристального изучения.

### Подраздел 3. Анализ генетической структуры популяций мух *Lucilia sericata*.

*Lucilia sericata* Meigen, 1826 - широко распространенный, многочисленный и имеющий высокое ветеринарное и медицинское значение, а также широко используемый в криминалистике вид. При этом, структуры популяций мух семейства Calliphoridae разительно отличаются друг от друга. Некоторые виды панмиктичны на территориях, покрывающих целые континенты, как у *Phormia regina* Meigen, 1826 в США [13], [14]. В других случаях популяции строго подразделены, как у *Lucilia cuprina* Wiedemann, 1830 в Австралии [15]. Бывают и мозаичные случаи - *Cochliomyia hominivorax* Coquerel, 1858 на Карибских островах имеет четко выраженные популяции даже в пределах отдельных островов [16], [17], и в то же время панмиктичны на территории Уругвая [18], [19]. Для восточноевропейской *Lucilia sericata* данных о популяционной структуре не известно.



**Рисунок 2.4 - Моделирование популяционной структуры на основе данных по микросателлитным локусам в программе STRUCTURE.**

Вертикальные столбцы отражают вероятность принадлежности отдельного образца к одному из четырех кластеров, обозначенных разными цветами; внизу указаны локалитеты отлова мух.

Анализ данных по изменчивости восьми микросателлитных локусов для мух из семи локалитетов на территории восточной Европы указывает на панмиксию *L. sericata*, подразделение на субпопуляции полностью отсутствует (Рисунок. 2.4) [20]. Кроме того, оценка эффективной численности этой популяции бесконечно высока, что говорит о крайне высокой скорости потока генов внутри неё.

Впервые полученные нами данные по части ареала вида в Восточной Европе наряду с данными по панмиксии на территории Северной Америки [13] позволяют говорить о стабильности популяционной структуры вида. Этот вывод имеет большое прикладное значение, поскольку, позволяет экстраполировать криминалистические и ветеринарные наработки, полученные для любых частей ареала этого вида, на весь ареал.

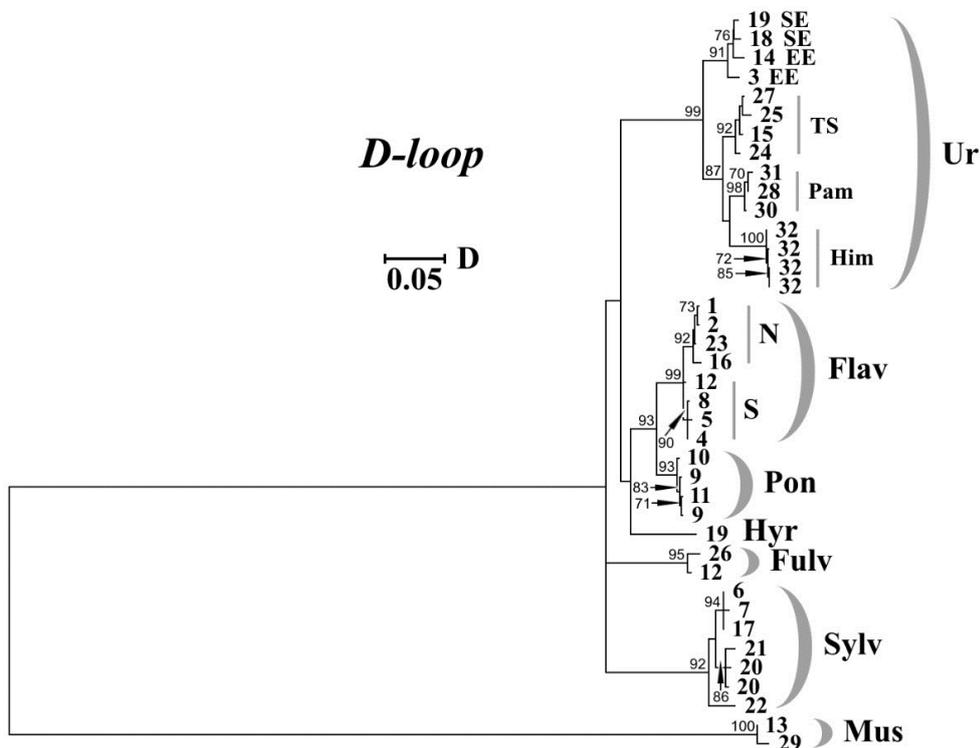
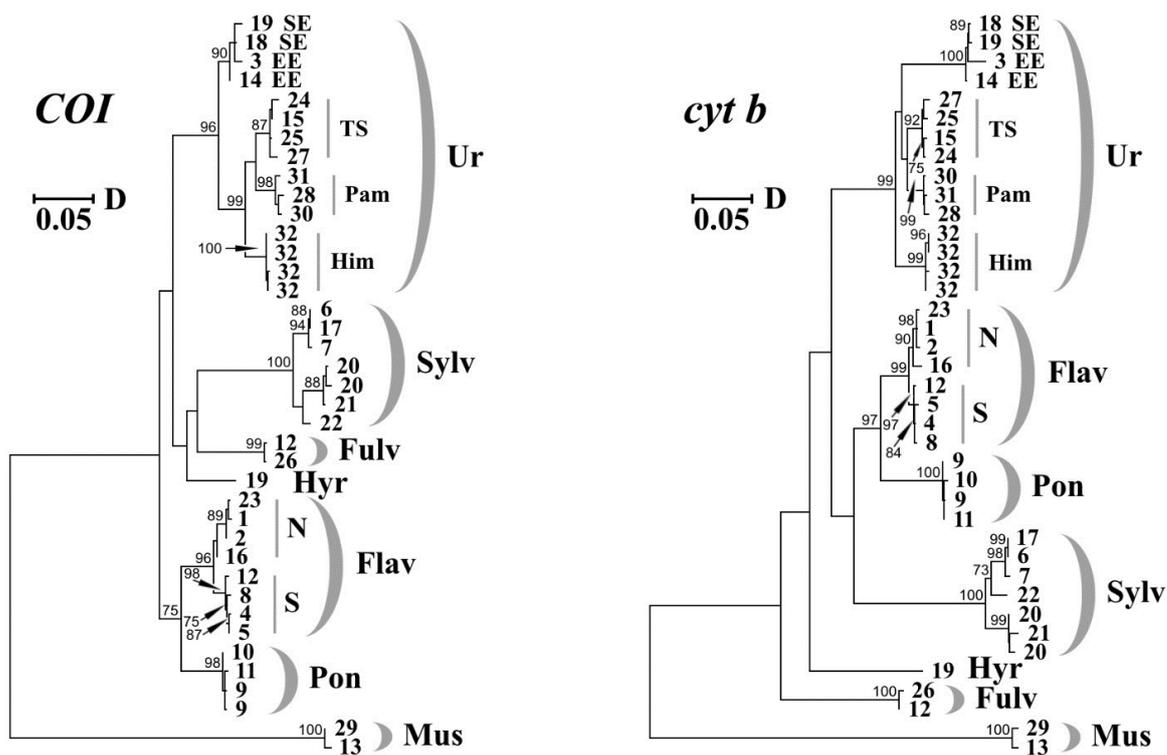
#### Подраздел 4. Примеры несоответствия филогенетических отношений и темпов генетической эволюции в группе западнопалеарктических лесных мышей (род *Sylvaemus*) и домовых мышей (*Mus*).

Вид желтогорлая мышь *Sylvaemus flavicollis* представлен двумя генетически близкими парapatричными формами (северной и южной), отличающимися по митохондриальной ДНК, а малая лесная мышь *S. uralensis* – европейской и азиатской расами [21], [22], [23], [24], [25], [26], [27]. Европейская раса малой лесной мыши, в свою очередь, включает восточно-европейскую и южно-европейскую хромосомные формы, слабо отличающиеся по содержанию прицентромерного гетерохроматина в кариотипе, а азиатская раса представлена тьянь-шаньской, памирской и гималайской формами, уровень различий между которыми по митохондриальной ДНК приближается к межвидовому. С целью уточнения масштабов дифференциации и филогенетических связей внутривидовых форм малой лесной и желтогорлой мышей мы выполнили их сравнение друг с другом и с прочими видами рода *Sylvaemus* по одному ядерному гену (экзону 11 гена *BRCAL*, 2304 п.н.) и по нескольким митохондриальным генам – полному гену цитохрома *b* (*cyt b*, 1144 п.н.), начальному участку гена первой субъединицы цитохромоксидазы (*COI*, «Barcode region», 654 п.н.) и полному контрольному региону (*D-loop*, 936 п.н. с учётом делеций и вставок).

Для видов *Sylvaemus* показаны существенные различия в топологии древ, построенных по разным митохондриальным генам (Рисунок 2.5). В отношении внутривидовых группировок *S. uralensis* и *S. flavicollis* филогенетические реконструкции оказались более близкими, но очевидно заметное расхождение в соотношении значений генетических дистанций у разных видов и внутривидовых форм лесных мышей по трём изученным генам. Так, по гену *COI* наиболее удалёнными являются европейская раса и памирская форма *S. uralensis* несмотря на то, что обособление последней, судя по дендрограмме, произошло позже гималайской формы. Таким образом, у памирской формы ген *COI*, по-видимому, эволюционировал ускоренными темпами, что подтверждает сравнение этой же выборки лесных мышей по двум другим митохондриальным генам: по гену *cyt b* и контрольному региону наиболее удалёнными оказались европейская раса и гималайская форма. Уровень различий северной и южной форм *S. flavicollis* по наиболее быстро эволюционирующему у прочих видов лесных мышей гену *cyt b* ( $D=0.016$ ) едва превышает дистанцию по самому мало изменчивому контрольному региону ( $D=0.014$ ) и заметно ниже, чем по *COI* ( $D=0.022$ ). Таким образом, полученные данные согласуются с высказанной ранее гипотезой об ускоренном темпе эволюции *COI* у памирской формы *S. uralensis* и замедленном – гена *cyt b* у желтогорлой

мышь [25], [26]. Возможно, снижение скорости изменений гена *cytb* у *S. flavicollis* обусловлено произошедшими у его предковой формы специфическими заменами, «канализировавшими» дальнейшую эволюцию.

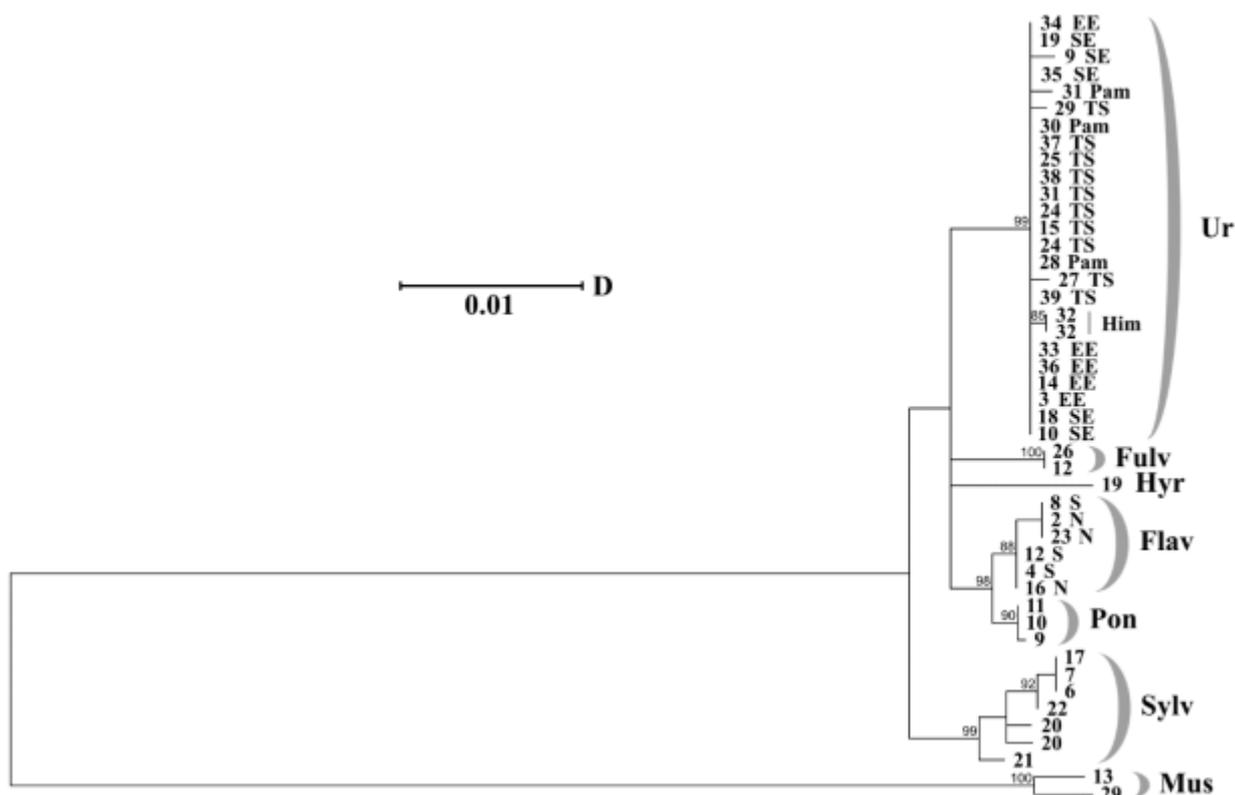
Несмотря на то, что значения генетических дистанций между внутривидовыми формами лесных мышей варьируют от умеренных (у *S. flavicollis*) до достаточно высоких (у *S. uralensis*), отчётливых различий между северной и южной формами желтогорлой мыши и даже между расами малой лесной мыши по фрагменту экзона 11 ядерного гена *BRCA1* не наблюдается (Рисунок 2.6). Однако, у обыкновенной лесной мыши *S. sylvaticus* по гену *BRCA1* прослеживается популяционная дифференциация, сопоставимая по уровню с различиями между видами *S. flavicollis* и *S. ponticus*. Ещё более удалёнными по гену *BRCA1* оказались домовые мыши из Ямало-Ненецкого АО России и Таджикистана, соответственно относящиеся к подвидам *Mus musculus musculus* и *M. m. wagneri*, которые не дифференцированы друг от друга полностью по контрольному региону и гену *cytb* мтДНК [28], [29], [30] и в настоящее время рассматриваются как синонимичные [31]. Предпринятый нами анализ изменчивости гена *BRCA1* (2331 п.н.) на расширенном материале подтвердил существенные отличия большинства подвидов *M. musculus* друг от друга, включая *M. m. musculus* и *M. m. wagneri* (Рисунок 2.7). Последние два подвида отличаются восемью фиксированными заменами (шестью транзициями и двумя трансверсиями), и ещё по двум транзициям сортировка гаплотипов по группам ясно прослеживается, но не является полной. Этот результат не только не подтверждает синонимичность *M. m. musculus* и *M. m. wagneri*, но и указывает на бóльшую близость последнего к *M. m. domesticus*. Помимо «чистых» особей того или другого подвида, в ряде случаев по гену *BRCA1* удалось идентифицировать гибридов, гетерозиготных одновременно по ряду фиксированных замен и/или трёхнуклеотидной делеции/вставке, которая отделяет *M. m. domesticus* от *M. m. musculus* и *M. m. wagneri*. Как правило, гибридные особи были выявлены в зонах контакта подвидов и вблизи от них (*M. m. musculus*–*M. m. domesticus*, *M. m. wagneri*–*M. m. domesticus* в Закавказье, *M. m. musculus*–*M. m. wagneri* на юге Западной Сибири и в Прикаспии), но иногда отмечалось проникновение на очень далёкое расстояние особей с гаплотипами того или иного подвида от территории его естественного распространения: например, мыши с гаплотипом *wagneri* были обнаружены в Белоруссии и в Московской области, особи с гаплотипом *domesticus* – в г. Ишим Тюменской области, с гаплотипом *musculus* – около озера Зайсан (рис. 8); вероятнее всего, это обусловлено их случайным завозом с транспортом.



**Рисунок 2.5 - ML-дендрограммы, построенные при сравнении нуклеотидных последовательностей генов *COI* (654 п.н.), *cyt b* (1144 п.н.) и *D-loop* (936 п.н. с учётом делеций и вставок) лесных и домашних мышей.**

В узлах ветвления дендрограмм указаны значения бутстреп-индекса, превышающие 70% (1000 репликаций), справа от ветвей – номера пунктов отлова. Ur – *Sylvaemus uralensis* (EE – восточно-европейская, SE – южно-европейская хромосомные формы европейской расы,

TS – тьянь-шаньская, Pam – памирская, Him – гималайская формы азиатской расы), Flav – *S. flavicollis* (N – северная форма, S – южная форма), Pon – *S. ponticus*, Hyr – *S. hyrcanicus*, Fulv – *S. fulvipectus*, Sylv – *S. sylvaticus*, Mus – *Mus musculus*. Пункты отлова: 1 – Московская обл., окр. г. Подольск; 2 – г. Чебоксары; 3 – Рязанская обл., Сараевский р-н; 4 – Пензенская обл., Белинский р-н. Белгородская обл.: 5 – Губкинский р-н; 6 – Борисовский р-н. Ростовская обл.: 7 – г. Ростов-на-Дону; 8 – Цимлянский р-н. Краснодарский край: 9 – окр. г. Хоста; 10 – окр. пос. Красная Поляна. 11 – Дагестан, Каякентский р-н; 12 – Юго-Восточный Крым; 13 – Ямало-Ненецкий АО, г. Лабытнанги; 14 – Омская обл., Тюкалинский р-н; 15 – окраина г. Горно-Алтайск; 16 – Белоруссия, Минская обл., 17 – Украина, окр. г. Киев; 18 – Армения, окр. пос. Лермонтово; 19 – Южный Азербайджан, Талыш; 20 – Бельгия, Ardennes; 21 – Франция, Восточные Пиренеи; 22 – Италия, о. Сицилия. Казахстан: 23 – Западно-Казахстанская обл., Теректинский р-н; 24 – хр. Джунгарский Алатау; 25 – хр. Заилийский Алатау. Туркменистан: 26 – хр. Копетдаг; 27 – хр. Кугитанг. Таджикистан: 28 – окр. пос. Ходжа Оби Гарм; 29 – окр. пос. Оби Гарм; 30 – Раштский р-н; 31 – Джиргитальский р-н. 32 – Непал, провинция Мустанг.



**Рисунок 2.6 - ML-дендрограмма, построенная при сравнении нуклеотидных последовательностей фрагмента экзона 11 гена *BRCA1* (2304 п.н.) отдельных особей лесных и домашних мышей.**

В узлах ветвления дендрограмм указаны значения бутстреп-индекса, превышающие 70% (1000 репликаций), справа от ветвей – номера пунктов отлова. Сокращения, обозначения и нумерация локалитетов (с 1-го по 32-ой) соответствуют таковым на предыдущем рисунке. 33 – окр. г. Кострома; 34 – Саратовская обл., Озинский р-н; 35 – Кабардино-Балкария, окраина г. Нальчик; 36 – Оренбургская обл., Кувандыкский р-н. Казахстан: 37 – Восточно-Казахстанская обл., Жарминский р-н; 38 – Южно-Казахстанская обл., Сайрамский р-н. 39 – Узбекистан, Ташкентская обл.

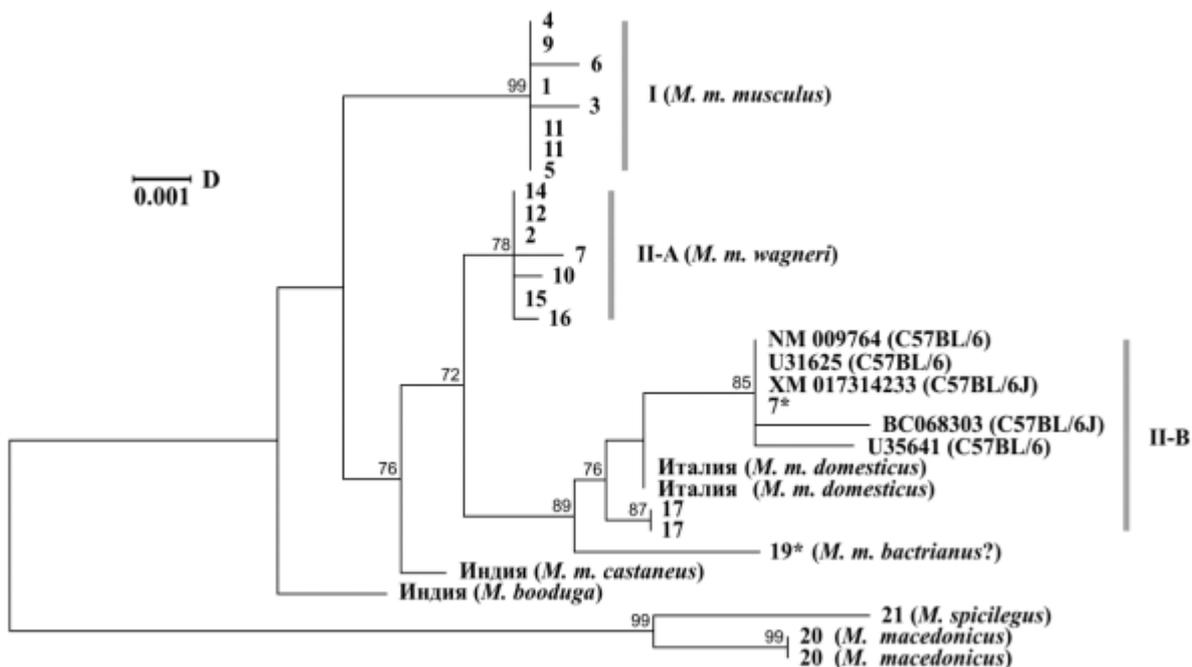
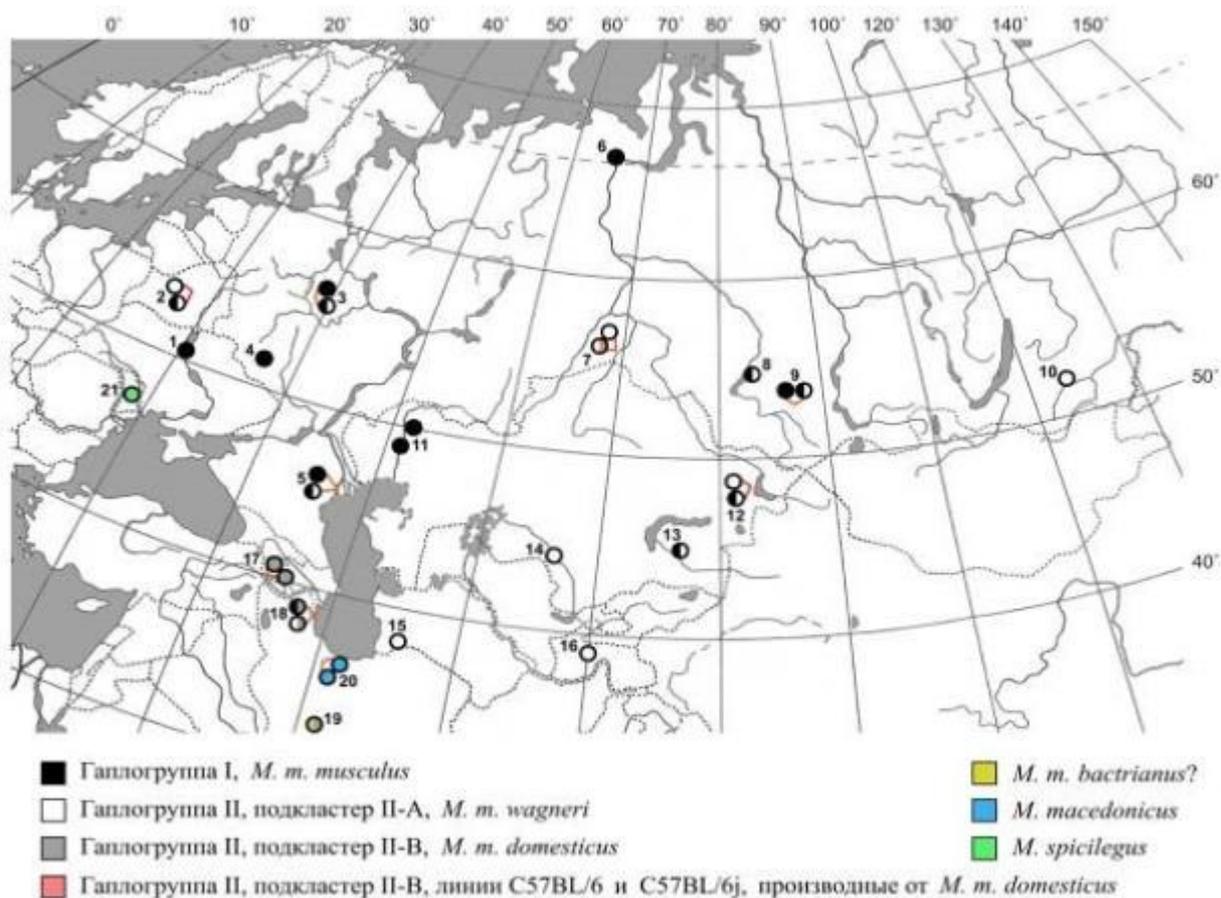


Рисунок 2.7 - ML-дендрограмма, построенная при сравнении по фрагменту 11-го экзона гена *BRCA1* (2331 п.н.) отдельных экземпляров *M. musculus*, *M. booduga*, *M. spicilegus*, *M. macedonicus* из естественных популяций, а также лабораторных мышей линий C57BL/6 и C57BL/6j (данные из GenBank), производных от *M. m. domesticus*. В узлах ветвления дендрограммы указаны значения бутстреп-индекса, превышающие 70% (1000 репликаций), а справа от ветвей – пункт отлова мышей или номер GenBank. Большинство пунктов отлова карте (Рисунок 2.8).



**Рисунок 2.8 - Распространение гаплотипов гена *BRCA1* в естественных популяциях домашних мышей, двуцветные значки обозначают гетерозиготных (гибридных) мышей с разными гаплотипами гена *BRCA1*.**

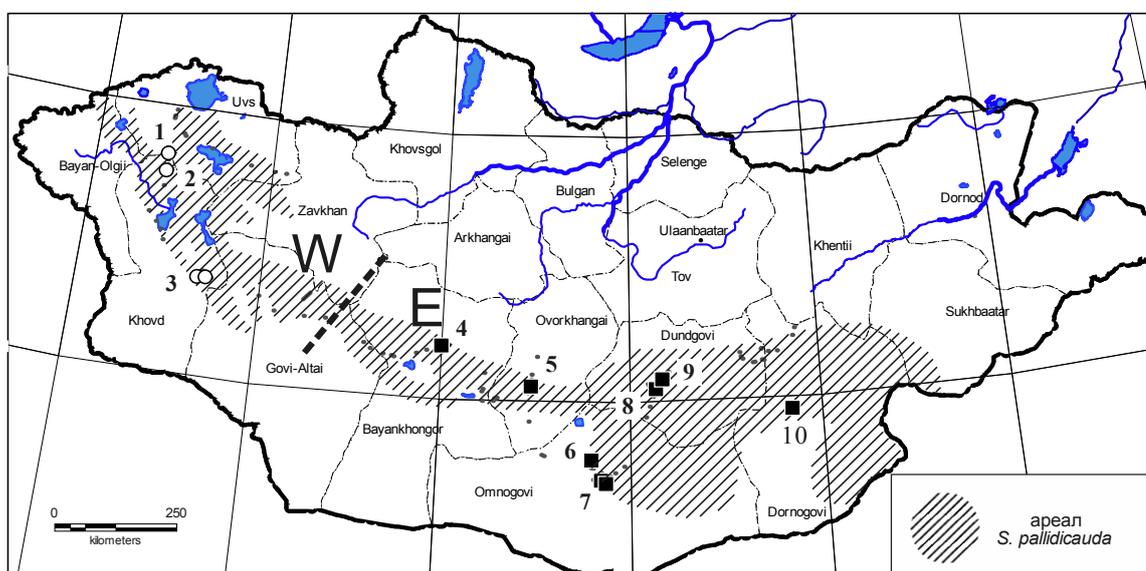
Пункты отлова: 1. Украина, окр. г. Киев. 2. Белоруссия, Минская обл., Воложинский р-н, окр. пос. Саковщина и Калдыки. Россия: 3. Московская обл., окр. пос. Ивановское; 4. окр. г. Курск, пос. Заповедный; 5. 45 км к югу от г. Астрахань, дельта р. Волга; 6. Тюменская обл., Ямало-Ненецкий АО, г. Лабытнанги; 7. Тюменская обл., г. Ишим; 8. окр. г. Новосибирск, район Академгородка; 9. Алтайский край, Солтонский р-н, пос. Солтон; 10. г. Чита. Казахстан: 11. Западно-Казахстанская обл., пойма р. Есенанкаты; зимовка Шауеш; 12. Восточно-Казахстанская обл., Тарбагатайский р-н, прибрежные районы оз. Зайсан, 13. Алматинская обл., окр. пос. Баканас; 14. Кызылординская обл., левый берег р. Сырдарья в окр. пос. Тартогай. 15. Туркменистан, Балканский велаят, Копетдаг. 16. Таджикистан, окраина пос. Оби Гарм. 17. Армения, г. Ереван. 18. Азербайджан, Ленкоранская низменность, окр. пос. Алексеевка. Иран: 19. остан Бахтиария, Kohne Pist; 20. остан Казвин, пос. Фейз-Абад. 21. Молдавия, г. Крикова.

Таким образом, у ряда видов и внутривидовых форм мышинных грызунов наблюдается несовпадение скоростей эволюции генетических признаков; этот результат в большей степени соответствует гипотезе прерывистого равновесия. Разные виды и внутривидовые формы различаются по признакам, испытывающих ускоренные или замедленные изменения: так, у желтогорлой мыши замедлены темпы эволюции митохондриального гена *cyt b*, у памирской формы малой лесной мыши ускорены темпы изменений митохондриального гена *COI*, у подвидов домашней мыши – ядерного гена

*BRCA1*. Неравномерность темпов изменений того или иного гена в разных филогенетических линиях лесных мышей указывает на необходимость применения комплексного анализа нескольких генетических маркеров при определении масштабов дифференциации и филогенетических связей видов и внутривидовых форм, в первую очередь, близких.

### Подраздел 5. Филогеография бледнохвостого суслика (*S. pallidicauda*)

Для филогеографического анализа бледнохвостого суслика *S. pallidicauda* исследованы нуклеотидные последовательности контрольного региона (CR) мтДНК 59 особей из 10 популяций (Рисунок 2.9) и выборочно последовательности *cytb*, а также маркеры яДНК – *HOX*, *i13BCR*, *SmcY*, *BRCA1*. Весь исследованный материал вошел в фонд Объединенной коллекции тканей диких животных для фундаментальных, прикладных и природоохранных исследований ИБР РАН.

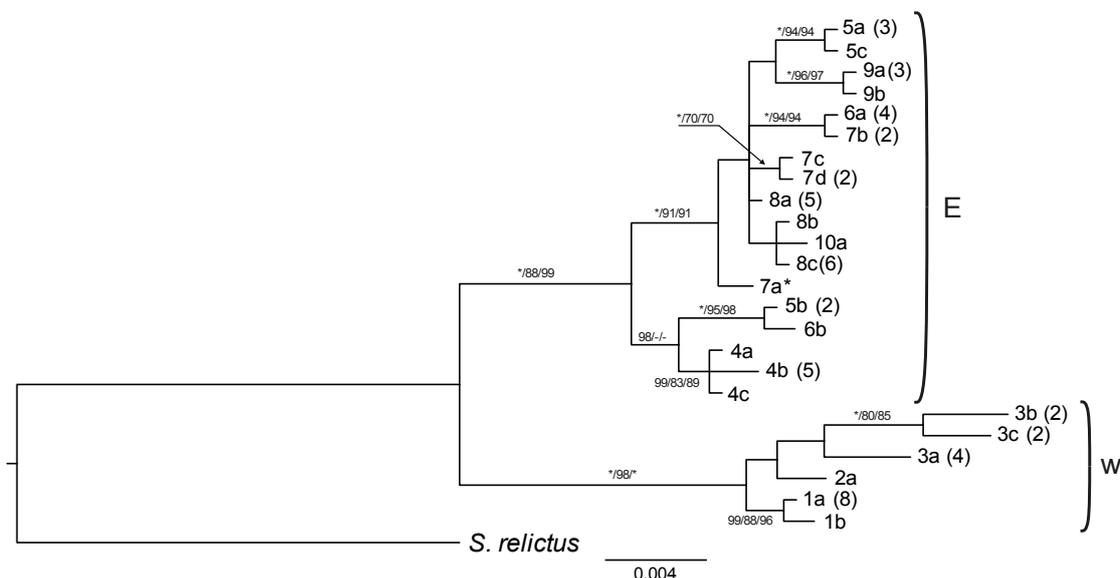


**Рисунок 2.9 - Филогеографическая структура ареала *S. pallidicauda* и места отлова животных.**

1-10 – номера исследованных популяций; кружками отмечены популяции, относящиеся к западной группе, квадратами - восточной.

Всего было обнаружено 24 гаплотипа CR. На филогенетическом древе, основанном на анализе изменчивости CR (Рисунок 2.10) совокупная выборка бледнохвостых сусликов распадается на две клады, названные нами восточная (E) и западная (W), в соответствии с географическим расположением. Генетические различия между ними заключаются в 20 уникальных нуклеотидных заменах, а генетическая дистанция составляет  $d_p = 0.03 \pm 0.005$ . Значения изменчивости в пределах каждой клады на порядок ниже и различаются незначительно. Средние внутригрупповые дистанции составляют: W  $\Delta d_p = 0.007 \pm 0.002$ , E  $\Delta d_p = 0.008 \pm 0.001$ . Результаты анализа

изменчивости гена *cytb* не противоречат данным по *CR*. Выборка *S. pallidicauda* также распадается на два хорошо поддержанных кластера, по составу соответствующим группам W и E, дивергенция между которыми составляет  $d_p=0.008\pm 0.002$ , что соответствует 4-м заменам. Внутривидовой изменчивости по всем маркерам яДНК выявлено не было.



**Рисунок 2.10 - Филогенетическое древо гаплотипов контрольного региона мтДНК бледнохвостого суслика, рассчитанное методом mrBayes.**

В обозначениях гаплотипов арабские цифры указывают на номера популяций, в скобках указано число особей, имеющих данный гаплотип. Цифрами около узлов обозначены обратные вероятности mrBayes/ индексы бутстрепа ML/NJ (значения статистических поддержек менее 50% для ML и NJ не указаны). Звездочкой отмечены поддержки 100%.

Внутривидовая генетическая изменчивость *S. pallidicauda* характеризуется четкой географической локализацией гаплотипов и генетической дискретностью отдельных популяций. Достаточно глубокая дивергенция между Западной (кластер W) и Восточной (кластер E) группами популяций свидетельствует о длительном периоде дизъюнкции единого ныне ареала. Наличие сравнительно малого числа значительно отличающихся друг от друга гаплотипов в группе W свидетельствует о более длительной фрагментации западной части ареала в прошлом, сопровождавшейся снижением численности популяций (эффект «бутылочного горлышка») в отличие от восточной части (группа E).

Выявленная нами дифференциация позволяет говорить о неоднородности *S. pallidicauda* как вида в целом и создает предпосылку для обсуждения таксономического статуса выделенных групп популяций. Принимая во внимания в целом низкий уровень генетических видовых различий в подроде *Colobotis* [32], генетические дистанции между восточной и западной формами могут интерпретироваться на уровне подвидовых.

## **Подраздел 6. Изменения половых хромосом у разнохромосомных форм слепышей *Nannospalax ehrenbergi* как драйвер диверсификации.**

Слепыши *Nannospalax ehrenbergi* (Nehring, 1898) демонстрируют высокую вариабельность аутосом [33], [34]. Известно 19 хромосомных форм [35], четыре из которых обитают в Израиле:  $2n = 52$ ,  $2n = 54$ ,  $2n = 58$  и  $2n = 60$ , образуя ряд гибридных зон. Как формы, так и гибридные зоны описывались ранее на основании анализа аутосомного набора. У *N. ehrenbergi* X-хромосома является субметацентрической средней длины с небольшим блоком почти центромерного гетерохроматина. Y-хромосома - мелкий акроцентрик, имеет большой перицентромерный блок гетерохроматина [36]. Нами впервые изучено поведение половых хромосом двух хромосомных форм *N. ehrenbergi* в профазе мейоза I с помощью электронной микроскопии и иммуноцитохимического анализа, а также нескольких гибридов. Неожиданно, сходные по морфологии половые хромосомы 52-и 60-хромосомных форм слепышей показали отличающиеся синаптические и рекомбинационные паттерны из-за различного расположения центромер на Y-хромосомах. Выявлено отсутствие рекомбинации у 60-хромосомной формы, асимметричный синапсис и кратковременное нарушение синаптической ко-ориентации теломерных областей X и Y хромосом. На основе различий в расположении центромеры предложены возможные сценарии реорганизации Y-хромосомы. Одним из вариантов является изменение положения центромеры вследствие инверсии. Наличие большого блока C-гетерохроматина в Y-хромосоме 60-хромосомной формы может свидетельствовать об этом событии, но инверсия должна была вызвать изменения в G-окраске, однако Y-хромосома этих двух хромосомных форм имеет сходную G-исчерченность [37]. Возможно также, что центромера в Y-хромосоме 60-хромосомной формы могла появиться *de novo* с последующей инактивацией старой центромеры, но в таких случаях, как правило, вблизи нецентромеры не успевает накопиться C-гетерохроматин [38], тогда как в Y-хромосоме 60-хромосомной формы есть большой гетерохроматиновый блок. По-видимому, наиболее вероятным сценарием является реорганизация предковой Y-хромосомы посредством центромерной транспозиции, при этом не меняется G-исчерченность и сохраняется гетерохроматин.

Полученные результаты, в сочетании с предыдущими цитогенетическими исследованиями, позволяют предположить, что наиболее вероятно разделение формы израильских слепышей на два больших кластера: “ $2n=52/2n=54$ ” и “ $2n=58/2n=60$ ”, что подкрепляется анализом изменчивости мтДНК [39], [40]. Скорее всего, каждому кластеру соответствует видовой статус, а подкластеру соответствуют уровень хромосомной формы. Статус вида был обоснован ранее для каждой хромосомной форме израильских слепышей

(см. [36]), хотя не все исследователи признают такое разделение. Наши исследования структуры и поведения половых хромосом в мейозе подтверждают глубокую диверсификацию *N. ehrenbergi* и позволяют предположить, что изменения структуры половых хромосом могли играть ведущую роль при диверсификации форм [41].

#### **Подраздел 7. Особенности распространения эндосимбиотических бактерий *Spiroplasma* у божьей коровки *Harmonia axyridis*.**

Изучена изменчивость 16S rRNA gene и ribosomal internal transcribed spacer (ITS1) у *Spiroplasma*, внутриклеточного симбионта божьих коровок *Harmonia axyridis*, для выборок жуков из Киото (Япония), Владивостока, Залива Троица, Новосибирска и Горно-Алтайска [42, 43]. Доля жуков, инфицированных спироплазмой в различных популяциях *H. axyridis*, варьирует от 2% до 49%. Показано, что подавляющее большинство жуков инфицировано двумя и более линиями *Spiroplasma*. С помощью количественной ПЦР измеряли плотность спироплазмы у жуков с различным инфекционным статусом. Обилие спироплазмы в образцах с одной инфекцией на порядок ниже, чем в образцах с несколькими инфекциями. В данном исследовании мы показали корреляцию двух параметров — типа инфекции (моно - или множественная инфекция) и плотность эндосимбионта. Молекулярные механизмы генетического контроля плотности спироплазмы, а также биологические последствия одиночных и множественных инфекций остаются неясными. Можно предположить, что увеличение плотности спироплазмы у жуков, инфицированных несколькими штаммами, может повысить устойчивость инфекции, снижая вероятность спонтанной потери спироплазмы, что объясняет широкое распространение множественной инфекции у *H. axyridis*. Возможно, что штаммы спироплазмы могут взаимодействовать по принципу комплементарности. Полученные данные могут служить основой для дальнейшего экспериментального исследования генетического контроля плотности спироплазмы у *H. axyridis*.

#### **Заключение**

Получены новые данные, позволяющие обосновать выбор маркерных генов для филогеографических описаний и анализа филогенетических связей в разных группах беспозвоночных и позвоночных животных. Показана разная скорость изменений признаков как ядерной, так и митохондриальной ДНК, различия по морфологическим признакам, что осложняет таксономическую интерпретацию. Результаты работ за 2018 г. опубликованы в виде статей (в том числе в журналах Q1), а также представлены на международных конференциях.

### Список использованных источников

1. Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation//Molecular Ecology. - 2012. - Vol. 21, No. 8. P. 1864 - 1877.
2. Do C., Waples R.S., Peel D., Macbeth G.M., Tillett B.J. & Ovenden J.R. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size ( $N_e$ ) from genetic data//Mol. Ecol. Resources. - 2014 - Vol. 14. P. 209 - 214.
3. Fields P.D., Obbard D.J., McTaggart S.J., Galimov Y., Little T.J., Ebert D. Mitogenome phylogeographic analysis of a planktonic crustacean//Molecular Phylogenetics and Evolution. - 2018. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.06.028
4. Bekker E.I., Karabanov D.P., Galimov Y.R, Haag C.R., Neretina T.V., Kotov A.A. Phylogeography of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) in Northern Eurasia: Evidence for a deep longitudinal split between mitochondrial lineage//PLOS One. - 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0194045.
5. Paxton H. Generic revision and relationships of the family Onuphidae (Annelida: Polychaeta)//Records of the Australian Museum. - 1986. - Vol. 38, No 1. P. 1 - 74.
6. Paxton H. Three new species of Aponuphis (Annelida: Onuphidae) from eastern Australia//Zootaxa. - 2017. - Vol. 4344. P. 246 - 260.
7. Arias A., Paxton H. Onuphis and Aponuphis (Annelida: Onuphidae) from southwestern Europe, with the description of a new species//Zootaxa. - 2015. - Vol. 3949, No. 3. P. 345 - 369.
8. Struck T.H., Purschke G., Halanych K. M. Phylogeny of Eunicida (Annelida) and exploring data congruence using a partition addition bootstrap alteration (PABA) approach//Systematic Biology. - 2006. - Vol. 55, No. 1. P. 1 - 20.
9. Budaeva N., Schepetov D., Zanol J., Neretina T., Willassen E. When molecules support morphology: Phylogenetic reconstruction of the family Onuphidae (Eunicida, Annelida) based on 16S rDNA and 18S rDNA//Molecular phylogenetics and evolution. - 2016. – Vol. 94. P. 791 - 801.
10. Borisova P.B., Schepetov D.M., Budaeva N.E. Aponuphis kucheruk, 1978 (Annelida: Onuphidae) from western African waters//Invertebrate Zoology. - 2018. - Vol. 15, No. 1. P. 19 - 41. DOI: 10.15298/invertzool.15.1.02.
11. Augener H. Polychaeta//Beitrag zur Kenntnis der Meeresfauna Westafrikas. - 1918. - Vol. 2. No. 2. P. 67 - 625.
12. Fauvel P. Annélides Polychètes nouvelles du Maroc//Bulletin de la Société Zoologique de France. - 1928. - Vol. 53. P. 9 – 13.

13. Picard C.J., Wells J.D. Survey of the genetic diversity of *Phormia regina* Meigen (Diptera: Calliphoridae) using amplified fragment length polymorphisms (AFLP)//J. Med. Entomol. - 2009. - Vol. 46. P. 664 - 670.
14. Jordaens K., Sonet G., Braet Y., De Meyer M., Backeljau T., Goovaerts F., Bourguignon L., Desmyter S. DNA barcoding and the differentiation between North American and West European *Phormia regina* (Diptera, Calliphoridae, Chrysomyinae)//ZooKeys. - 2013. - Vol. 365. P. 149 - 174.
15. Clarke G.M. & McKenzie J.A. Genetic architecture and adaptation: Quantitative analysis of sheep and refuse tip populations of the Australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*//Austral. J. Biol. Sci. - 1987. - Vol. 40. P. 47 - 56.
16. Torres T.T., B Rondani R.P.V, Garcia J.E., Azeredo-Espin A.M.L. Isolation and characterization of microsatellite markers in the new world screw-worm *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae)//Mol. Ecol. Notes. - 2004. - Vol. 4. P. 182 - 184.
17. Torres T.T., Azeredo-Espin A.M.L. Population genetics of New World screwworm from the Caribbean: Insights from microsatellite data//Med. Vet. Entomol. (Suppl. 1). - 2009. - Vol. 23. - P. 23 - 31.
18. Lyra M.L., Fresia P., Gama S., Christina J., Klaczko L.B., Azeredo-Espin A.M.L. Analysis of mitochondrial DNA variability and genetic structure in populations of New World screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) from Uruguay//J. Med. Entomol. - 2005. - Vol. 42. P. 589 - 595.
19. Torres T.T., Lyra M.L., Fresia P., Azeredo-Espin A.M.L. Assessing genetic variation in New World screwworm *Cochliomyia hominivorax* populations from Uruguay. In Vreysen M.J.B., Robinson A.S. & Hendrichs J. (eds): Area-Wide Control of Insect Pests: From Research to Field Implementation. - 2007. Springer, Dordrecht. P. 183 - 191.
20. Diakova A.V., Schepetov D.M., Oyun N.Y., Shatalkin A.I., Galinskaya T. Vol. - 2018. Assessing genetic and morphological variation in populations of Eastern European *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae)//European Journal of Entomology. - 2018. - Vol. 115. No. 1. P. 192 - 197.
21. Богданов А.С. Хромосомная дифференциация популяций малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* в восточной части ареала вида//Зоологический журнал. - 2001. - Т. 80. - N 3. - С. 331 - 342.
22. Богданов А.С. Аллозимная изменчивость малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) и оценка уровня дивергенции хромосомных форм этого вида//Генетика. - 2004. - Т. - 40. - N 8. - С. 1099 - 1112.

23. Богданов А.С., Розанов Ю.М. Изменчивость размера ядерного генома у малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae)//Генетика. - 2005. - Т. 41. - N 10. - С. 1369 - 1376.
24. Богданов А.С., Атопкин Д.М., Челомина Г.Н. Анализ генетической изменчивости и дифференциации малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) методом RAPD-PCR//Известия РАН. Серия биол. - 2009. - N 3. - С. 276 - 292.
25. Богданов А.С., Стахеев В.В., Зыков А.Е., Якименко В.В., Малькова М.Г. Анализ генетической изменчивости и дифференциации лесных мышей рода *Sylvaemus* по результатам секвенирования фрагмента гена первой субъединицы цитохромоксидазы//Генетика. - 2012. - Т. 48. - N 2. - С. 211 - 224.
26. Богданов А.С., Стахеев В.В., Зыков А.Е., Окулова Н.М., Миронова Т.А., Ковальская Ю.М., Бидашко Ф.Г. Внутривидовая дифференциация желтогорлой мыши *Sylvaemus flavicollis* в восточной части ареала: результаты исследования изменчивости фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы//Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий. Материалы III Международной научной конференции. Нижний Новгород: Нижегородский государственный педагогический университет им. К. Минина, - 2014. - С. 258 - 264.
27. Челомина Г.Н., Атопкин Д.М., Богданов А.С. Филогенетические связи видов и внутривидовых форм лесных мышей рода *Sylvaemus* по данным частичного секвенирования гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК//Доклады Академии наук. - 2007. - Т. 416. - N 2. - С. 282 - 285.
28. Suzuki H., Nunome M., Kinoshita G. et al. Evolutionary and dispersal history of Eurasian house mice *Mus musculus* clarified by more extensive geographic sampling of mitochondrial DNA//Heredity. - 2013. - Vol. 111. P. 375 - 390.
29. Спиридонова Л.Н. Интрогрессия маркеров ядерной и митохондриальной ДНК *Mus musculus musculus* в аборигенные популяции мышей Средней Азии (*M. m. wagneri*) и юга Сибири (*M. m. gansuensis*)//Молекулярная биология. - 2014. - Т. 48. - N 1. - С. 89 - 98.
30. Мальцев А.Н., Стахеев В.В., Богданов А.С. и др. Филогенетические взаимоотношения внутривидовых форм домового мыши *Mus musculus*: анализ изменчивости контрольного региона (D-петли) митохондриальной ДНК//ДАН. - 2015. - Т. 465. - N 3. - С. 380 - 383.
31. Carleton MD, Musser GG. Order Rodentia. In: Mammal species of the world (D.E. Wilson and D.M. Reeder, eds.). - 2005. - Vol. 2. P. 745 - 752.

32. Капустина С.Ю., Брандлер О.В., Адъяа Я. Филогения рода *Spermophilus* и положение алашаньского суслика (*Spermophilus alashanicus* Büchner, 1888) на филогенетическом древе палеарктических «короткохвостых» сусликов//Молекулярная биология. - 2015. - Т. 49. - N 3. - С. 442 - 448.
33. Wahrman J., Goitein R., Nevo E. Mole rat *Spalax*: evolutionary significance of chromosome variation//Science. - 1969. - Vol. 164. P. 82 - 84. doi: 10.1126/science.164.3875.82
34. Wahrman J., Richler C., Gamperl R., Nevo E. Revisiting *Spalax*: Mitotic and meiotic chromosome variability//Israel Journal of Zoology. - 1985. - Vol. 33. P. 15 - 38. doi: 10.1080/00212210.1984.10688553
35. Arslan A., Kryštufek B., Matur F., Zima, J. Review of chromosome races in blind mole rats (*Spalax* and *Nannospalax*)//Folia Zoologica. - 2016. - Vol. 65. P. 249 - 301. doi: 10.25225/fozo.v65.i4.a1.2016
36. Noevo E., Ivanitskaya E., Beiles A. Adaptive radiation of blind subterranean mole rats: naming and revisiting the four sibling species of the *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel: *Spalax galili* (2n= 52), *S. golani* (2n= 54), *S. carmeli* (2n= 58) and *S. judaei* (2n= 60). Backhuys Publishers, Leiden. - 2001. - P. 190.
37. Ivanitskaya E., Belyayev A., Nevo E. Heterochromatin differentiation shows the pathways of karyotypic evolution in Israeli mole rats (*Spalax*, Spalacidae, Rodentia)//Cytogenetic and Genome Research. - 2005. - Vol. 111. - P. 159 - 165. doi: 10.1159/000086386
38. Warburton P.E. Chromosomal dynamics of human neocentromere formation//Chromosome Research. - 2004. - Vol. 2. P. 617 - 626. doi: 10.1023/B:CHRO.0000036585.44138.4b
39. Noevo E., Honeycutt R.L., Yonekawa H., Nelson K., Hanzawa N. Mitochondrial DNA polymorphisms in subterranean mole-rats of the *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel, and its peripheral isolates//Molecular biology and evolution. - 1993. - Vol. 10. P. 590 - 604. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040026
40. Noevo E., Beiles A., Spradling T. Molecular evolution of cytochrome b of subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies, in Israel//Journal of molecular evolution. - 1999. - Vol. 49. P. 215 - 226. doi: 10.1007/PL00006544
41. Matveevsky S., Ivanitskaya E., Spangenberg V., Bakloushinskaya I., Kolomiets O. Reorganization of the Y chromosomes enhances divergence in Israeli mole rats *Nannospalax ehrenbergi* (Spalacidae, Rodentia): comparative analysis of meiotic and mitotic chromosomes//Genes. - 2018. - Vol. 9. P. 272. doi:10.3390/genes9060272

42. Goryacheva I., Blekhman A., Andrianov B., Romanov D., Zakharov I. *Spiroplasma* infection in *Harmonia axyridis* – diversity and multiple infection//PLOS ONE. – 2018, - Vol. 13. No. 5. e0198190. doi:10.1371/journal.pone.0198190

43 Андрианов Б.В., Блехман А.В., Горячева И.А., Захаров-Гезехус И.А., Романов Д.А. Азиатская божья коровка HARMONIA AXYRIDIS: глобальная инвазия. Монография / Под редакцией чл.-корр. РАН М.А. Захарова-Гезехуса – М.: Товарищество научных изданий КМК. - 2018. – 143 с. ISBN 978-5-907099-51-7. Andrianov B., Blekhman F., Goryacheva I., Zakharov-Gezekhus I., Romanov D. Asian ladybird HARMONIA AXYRIDIS: global invasion / М.: КМК Scientific Press Ltd. – 2018. – 143 p. ISBN 978-5-907099-51-7

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

### Введение

Проблема детерминации пола у дафний (*Daphnia magna*), модельного вида, имеющего партеногенетические клоны, остается нерешенной. Ранее нами была обнаружена смешанная система определения пола, распространенная в природных популяциях *Daphnia* и представляющая собой промежуточное состояние между средовым определением пола у гермафродитных генотипов и генетической системой хромосомного определения пола. С помощью скрещиваний генотипов из различных популяций и молекулярного картирования нами предпринята попытка показать, что в различных, географически и эволюционно удаленных популяциях *D. magna* генетическая компонента определения пола связана с одной и той же областью генома, которая, возможно, представляет собой зарождающуюся половую хромосому

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 слепушонка *Ellobius* уникальны для млекопитающих: 5 видов имеют три типа половых хромосом: XY♂/XX♀, X0♂/X0♀ и XX♂/XX♀, последний вариант не описан для других видов млекопитающих. Нам принадлежит приоритет в области изучения особенностей мейоза и детерминации пола у данной группы. Целью исследований 2018 года была попытка реконструкции эволюции половых хромосом в роде *Ellobius*.

### Методы

Использованы современные молекулярно-генетические и цитогенетические 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. Общие закономерности пол-специфичной экспрессии генов у *Daphnia*, рода со средовым определением пола

Экспрессию генов у самцов и самок *Daphnia magna*, имеющих один и тот же генотип, сравнивали с помощью секвенирования транскриптома (RNA-Seq), выделенного из целого животного [1]. Сравнения были проведены для трех генотипов (пара самец-самка для каждого генотипа) *D. magna*, учитывались только различия, имеющиеся в случае всех трех генотипах. Полученные данные сравнивали с ранее опубликованными для других видов того же рода, *D. pulex* и *D. longispina* (со временем межвидовой дивергенции >50 млн. лет).

Анализ показал, что 8384 из 26646 аннотированных генов *D. magna* демонстрируют более чем 2-кратные различия в экспрессии у самцов и самок. Сравнение с данными для других видов *Daphnia* позволило выделить 675 генов, обладающих дифференциальной экспрессией у всех трех видов. Результаты функционального анализа этой выборки (распределение по категориям GO) проиллюстрированы на Рисунок 3.1.

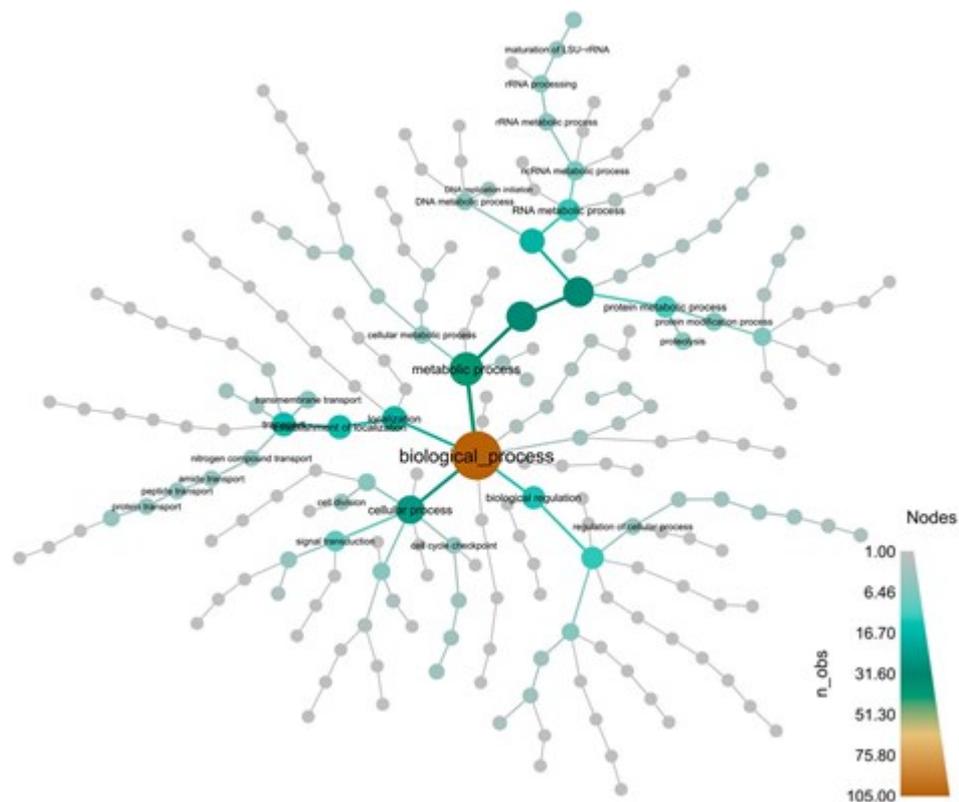


Рисунок 3.1 - Состав и иерархическая организация категорий GO 675 генов, для которых получена дифференциальная экспрессия.

Полученные данные показывают, что доля генов, дифференциально экспрессируемых у видов со средовым определением пола, примерно соответствует таковой у видов с генетическим определением.

## Подраздел 2. Эволюция половых хромосом и некоторых генов, связанных с детерминацией пола, у слепушонок рода *Ellobius*.

Основываясь на данных по изменчивости ряда генов каскада определения пола и сперматогенеза, а также особенностей морфологии половых хромосом, мы уточнили схему эволюции половых хромосом в пределах рода *Ellobius* (Рисунок 3.2) [2]. Вероятно, делеция 14 п.н. в структуре консервативного сегмента TESCO одного из энхансеров гена SOX9, произошла у общего для всех видов слепушонок предка. Затем два подрода эволюционировали независимо, в результате в подроде *Ellobius* X хромосома с транслоцированным небольшим фрагментом Y была дублицирована, тогда как в подроде *Bramus*, вероятно, транслокации фрагментов Y на X происходили независимо у обоих видов. При этом у самцов всех видов (вне зависимости от системы половых хромосом) на половых хромосомах в мейозе формируется половое тельце, характерное для всех млекопитающих.

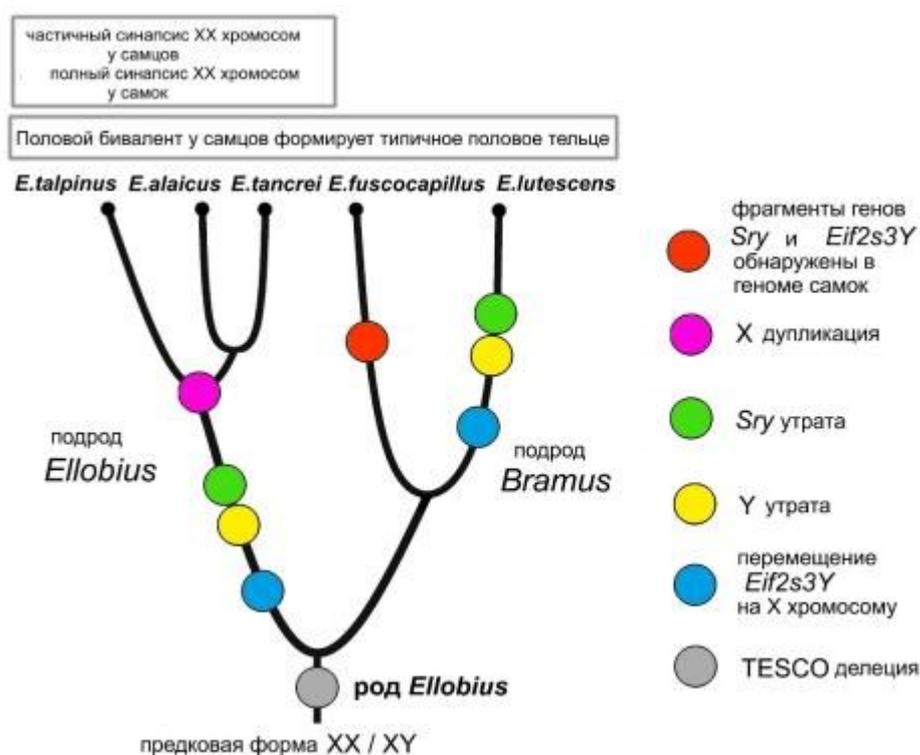


Рисунок 3.2 - Эволюция половых хромосом в роде слепушонок *Ellobius*.

Реконструкция основана на данных по изменчивости генов каскада детерминации пола и сперматогенеза, а также особенностях поведения половых хромосом в профазе I мейоза.

Продолжено изучение генов каскада детерминации пола у модельной группы млекопитающих, утративших Y хромосому (слепушонки рода *Ellobius*). Впервые получены данные для всех пяти видов рода слепушонок *Ellobius* по изменчивости нуклеотидных последовательностей предположительно экзонных фрагментов генов, участвующих в детерминации пола млекопитающих на разных стадиях развития или имеющих различия по уровню экспрессии у самцов и самок, а именно: *R-spondin1*, *Foxl2*, *XIST*. Для короткого фрагмента гена *XIST* (*X-inactive specific transcript*), у слепушонок ранее была показана межвидовая изменчивость [3], коррелирующая с системой половых хромосом. Нами обнаружена высокая структурная гетерогенность изученного фрагмента *XIST* в особенности у *E. lutescens*, имеющего X0 у самцов и самок. Известно, что данный ген, имеет сложную структуру [4], [5] инициирует инактивацию второй X хромосомы у самок млекопитающих путем формирования сложного белкового комплекса инактивации, причем происходит это на самых ранних стадиях развития [6]. Два других изученных нами гена также обнаруживают межвидовую изменчивость у слепушонок. Планируется расширить выборку и увеличить размер фрагментов генов, что поможет обосновать межвидовые различия и их связь с эволюцией системы половых хромосом у слепушонок.

### Заключение

Получены новые данные, позволяющие обосновать выбор генов для дальнейшего изучения генов, участвующих в генетическом определении пола у ракообразных рода *Daphnia* и млекопитающих, утративших Y хромосому рода *Ellobius*.

Результаты работ за 2018 г. опубликованы в виде двух статей (в том числе одна в журнале Q1), а также представлены на международных конференциях.

### Список использованных источников

1. Molinier C., Reisser C. M., Fields P., Ségard A., Galimov Y., Haag C. R. Identification of general patterns of sex-biased expression in *Daphnia*, a genus with environmental sex determination//G3: Genes, Genomes, Genetics. - 2018. - Vol. 8. No. 5. - P. 1523 - 1533.
2. 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. No. 3. DOI:10.21926/obm.genet.1803023
3. Just W., Baumstark A. Suess A., Graphodatsky A., Rens W., Schafer N., Bakloushinskaya I., Hameister H., Vogel W. *Ellobius lutescens*: sex determination and sex chromosome//Sexual Development. - 2007. - Vol. 1. P. 211 - 221.

4. Brockdorff N. Local tandem repeat expansion in Xist RNA as a model for the functionalisation of ncRNA//Non-coding RNA. - 2018. - Vol. 4. No. 4. P. 28. doi:10.3390/ncrna4040028

5, Noesterova T.B., Slobodyanyuk S.Y., Elisaphenko E.A., Shevchenko A.I., Johnston C., Pavlova M.E., Rogozin I.B., Kolesnikov N.N., Brockdorff N., Zakian S.M. Characterization of the genomic Xist locus in rodents reveals conservation of overall gene structure and tandem repeats but rapid evolution of unique sequence//Genome Research. - 2001. - Vol. 11. P. 833 - 849.

6. Shevchenko A.I., Grigor'eva E.V., Medvedev S.P., Zakharova I.S., Dementyeva E.V., Elisaphenko E.A., Malakhova A.A., Pavlova S.V., Zakian S.M. Impact of Xist RNA on chromatin modifications and transcriptional silencing maintenance at different stages of imprinted X chromosome inactivation in vole *Microtus levis*//Chromosoma. - 2018. - Vol. 127. No. 1. P. 129 - 139.

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

### Введение

Проблема несогласованности филогенетических реконструкций группы родственных видов, полученных по различным последовательностям генома, в том числе ядерного и митохондриального геномов, связана не только с различиями в скорости накопления замен в различных локусах, но и с заимствованиями гетероспецифичных фрагментов и элементов генома в случае горизонтального переноса. Вопросы, как часто происходят такие заимствования, какова вероятность их закрепления в новом геноме в зависимости от степени дивергенции вида-донора, по каким критериям можно выявить вырождающуюся со временем гетероспецифическую изменчивость, являются принципиальными для реконструкции более точной картины эволюции органического мира в целом и человека в частности.

Целью исследования являлся анализ эволюционных механизмов, приводящих к несогласованности филогенетических реконструкций по различным молекулярно-генетическим маркерам, оценка частоты этих событий в эволюционной истории родственных видов, и оценка молекулярно-генетических маркеров с позиции надежной филогенетической реконструкции.

Виды дрозофил группы *virilis* – одна из хорошо изученных моделей видообразования и микроэволюции. Общепринятая филогения группы *virilis* основана на мультилокусном анализе изменчивости шести ядерных генов (*Adh*, *fused*, *Gpdh*, *NonA*, *CG9631* и *CG7219*) и двух митохондриальных 12S и 16S генов рРНК [1]. Сравнительный анализ изменчивости локусов нерекombинирующих последовательностей Y-хромосомы и митохондриального генома позволяет выявить несогласованные изменения топологии филогенетических реконструкций отдельных локусов, определить специфическую предковую изменчивость, связанную с нарушением топологии и оценить предполагаемый отрезок эволюционного времени горизонтального переноса локуса в составе изучаемой части генома [2].

Оценивая видоспецифические родословные, необходимо опираться на контрольные характеристики генов, маркирующих видовую специфичность, замена которых маловероятна в эволюционной истории данной родословной. На роль таких последовательностей подходят адаптивно значимые гены, и единственной проблемой является неопределенность их состава в каждом конкретном случае. Некоторые семейства консервативных генов на рекомбинирующих последовательностях аутосом могут сохранять высокую видовую специфичность, являясь «основой» для стабильного

существования вида на протяжении всей его эволюционной истории. Устойчивость к стрессу и стабильность развития в специфичных для вида условиях обеспечивает система белков теплового шока (*Hsp*) [3], представленная семью основными семействами консервативных белков с функцией шаперонов и молекулярной массой от 20 до 110 кДа. Регуляция экспрессии этой системы находится в сложной зависимости от совокупности внешних и внутренних факторов, специфичных для вида, и в значительной степени определяет приспособленность особи в заданных условиях. Анализ особенностей эволюции таких генетических систем, являющихся «контрольными» для точных филогенетических оценок, представляется важной задачей. В качестве модели выбрана система индуцибельных генов *Hsp70*, анализ построен на сравнении механизмов регуляции экспрессии генов *Hsp70* у видов, кардинально различающихся по условиям существования и устойчивости к температурному стрессу: *D. melanogaster* и *Stratiomys singularior* [4].

### Методы

Использованы линии мух из «Генетической коллекции линий насекомых и клеточных культур насекомых» ИОГен РАН (<http://vigg.ru/index.php?id=337>) и «Коллекции генетических линий дрозофил» ИБР РАН им. Н.К. Кольцова (<http://idbras.comcor.ru/collection/Drosophila.pdf>), а так же трансгенных *D.melanogaster* с химерными генами *Hsp70*, представленными кодирующей последовательностью *D.melanogaster* или *S.singularior* и последовательности промотера, 5'UTR и 3'UTR альтернативного происхождения.

Эксперименты с оценкой жизнеспособности анализируемых аллелей *Hsp70* проводили при 25°C и 29°C, мух содержали на стандартной кормовой среде, выживаемость и продолжительность жизни оценивали при обоих температурных режимах. Для контроля базальной термотолерантности мух держали при 38,5, 39 или 39,5°C в течение 30 мин. Для измерения индуцибельной термотолерантности мух предварительно нагревали при 35 ° C в течение 30 мин и после этого подвергали воздействию более высоких температур (HS).

Для оценки топологии филогенетического дерева, построенного по нерекombинирующим локусам, использовали последовательности BOLD фрагмента митохондриального гена *cox1* и фрагмента гена динеина Y-хромосомы.

Выделение ДНК и РНК проводили с использованием стандартного фенол-хлороформного метода, кДНК получали из 1 мкг суммарной РНК, обработанной ДНКазой 1, секвенирование последовательностей проводили на приборе ABI PRISM® 7500

(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Уровень экспрессии *Hsp70* определяли с помощью количественной ПЦР в реальном времени, для нормализации данных использовали оценки экспрессии *rp49* и *efla*. Относительные уровни экспрессии были рассчитаны с использованием метода  $2^{-\Delta Ct}$ . Для проведения иммуоблоттинга *Hsp70* использовали набор для экстракции белка ReadyPrep (Total) (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), моноклональные антитела 7FB и вторичные антитела, связанные с пероксидазой.

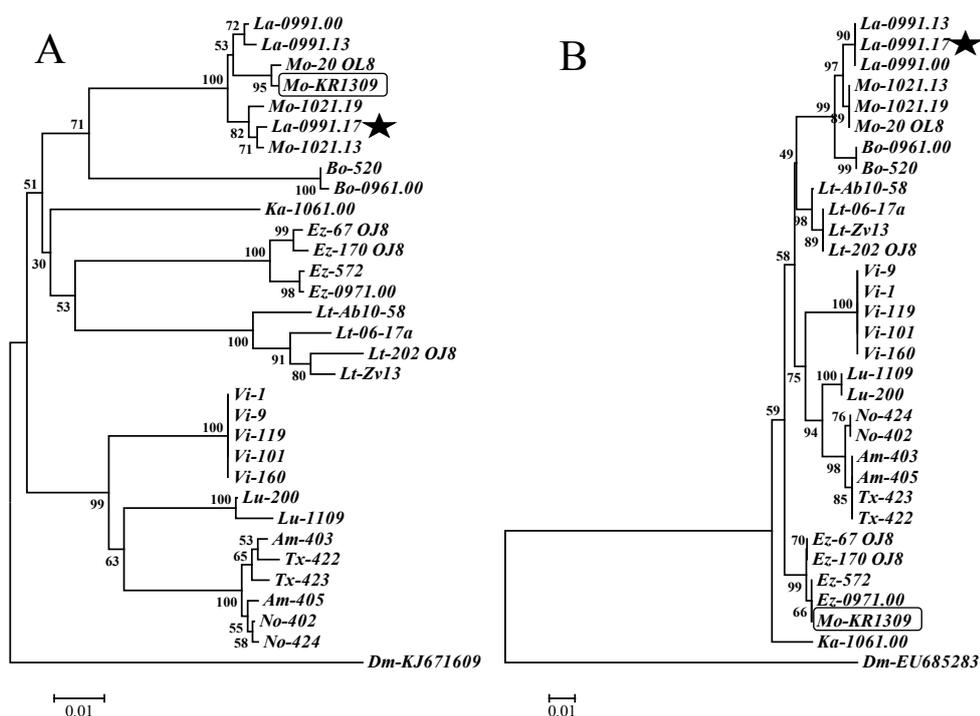
Анализ хроматограмм проводили с помощью программы ChromasPro 13.3 (Technelysium, Australia), выравнивание последовательностей – с помощью программы MEGA 7.0. [5]. Для построения медианной сети гаплотипов использовалась программа PopArt [6]. Эксперименты по термотолерантности были проанализированы с использованием теста V2 ( $\chi^2$  с поправкой на размер образца) и метода Бенджамини и Хохберга с учетом множественных сравнений [7]. Для определения значимости различий между кривыми выживаемости тестируемых линий применяли логранговый критерий. Для сравнения уровней мРНК между исследуемыми группами использовали ANOVA и критерий HSD Тьюки (Statistica 10, StatSoft, Inc. 2011).

### Результаты и обсуждение

Оценка эволюционных последствий интрогрессии гетероспецифичных последовательностей генома в результате межвидовых скрещиваний проведена совместно с лабораторией генетики насекомых ИОГЕН РАН (Зав. лаб. Горячева И.И.). Сравнение филогенетических реконструкций 11 видов дрозофил группы *virilis* по маркерным генам Y-хромосомы и митохондриальной ДНК позволяет сделать два основных вывода. Первый – изменчивость BOLD фрагмента митохондриального гена *cox1* в два раза больше, чем изменчивость гена динеина, что согласуется с общепринятыми представлениями об ускоренном темпе накопления замен в митохондриальном геноме. Второй – топология родословных в субфиладе *montana*, полученных по последовательностям динеина и *cox1*, существенно различаются (Рисунок 4.1).

Для двух линий видов *D.lacicola* и *D.montana* показана интрогрессия и последующее замещение митохондриальной ДНК и Y-хромосомы гетероспецифичными последовательностями от видов *D.montana* и *D.ezoana*, соответственно. Митохондриальный гаплотип линии *D. montana* KR1309 (Камчатка) кластеризуется с митохондриальными гаплотипами других линий *D. montana* и *D. lacicola*. При этом гаплотип по динеину линии KR1309 отличается от гаплотипов других линий *D. montana* и кластеризуется с четырьмя линиями *D. ezoana*. Совпадение гаплотипов динеина линий *D. montana* KR1309 и *D. ezoana* 0971.00 из Японии, географически близко расположенной к

Камчатке, подтверждает возможность межвидовой гибридизации самок *D. montana* с самцами *D. ezoana* в природе. Второй линией, имеющей гибридное происхождение, является *D. lacicola* 0991.17 из Северной Америки (на Рисунке 4.1 выделена звездочкой). Сравнение двух филогений позволяет сделать вывод о происхождении этой линии от скрещивания самки *D. montana* с самцом *D. lacicola*. НАМТ-последовательности, интегрированные в ядерный геном до момента интрогрессии чужеродной mt-ДНК, сохраняют изменчивость «собственной», вытесненной mt-ДНК и являются подтверждением интрогрессии.



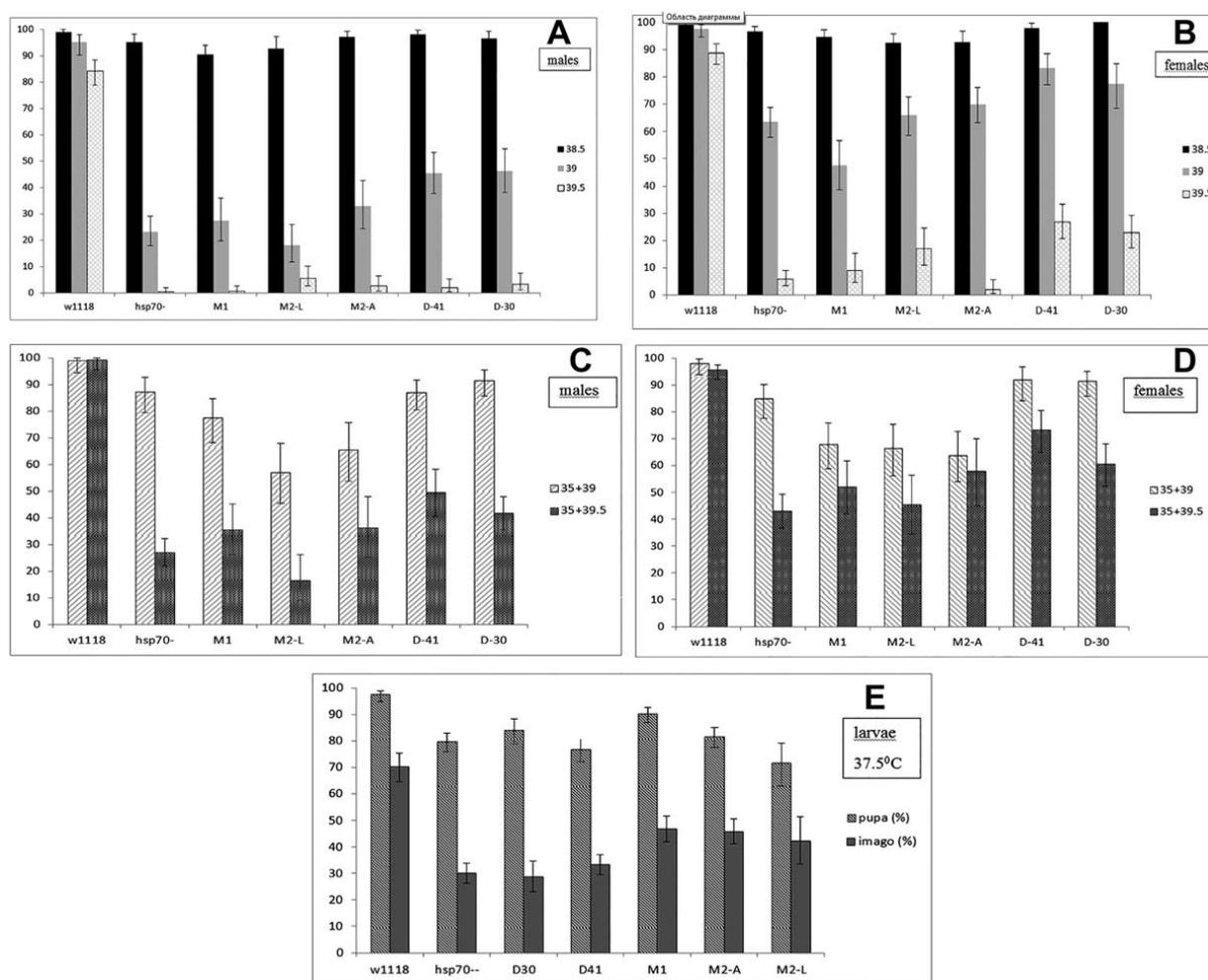
**Рисунок 4.1 - Филогенетические реконструкции 11 видов дрозофил группы *virilis* по последовательностям генов *coxI* (А) и динеин (В).**

Звездочкой помечено положение вида *D. lacicola*, обведено рамкой – вида *D. montana*.

Интересно, что оба случая интрогрессии, показанные для изосамковых линий, полученных из природных популяций, свидетельствуют о, как минимум, нейтральном эффекте гетероспецифических последовательностей митохондриальной ДНК и Y-хромосомы, не приводящем к быстрому вытеснению нового генотипа из популяции.

Исследования адаптивной значимости и молекулярно-генетических механизмах действия консервативного шаперона HSP70 проведены совместно с Лабораторией молекулярных механизмов биологической адаптации ИМБ РАН (Зав. лаб. Евгеньев М.Б.). Были получены трансгенные линии *D. melanogaster* с одной копией конспецифичного гена *hsp70* и с одной копией *hsp70 S. singularior* под промотором *D. melanogaster*, и линии с

кодирующей последовательностью *hsp70 S.singularior*, таким же промотором и 3'UTR последовательностями от обоих видов. В качестве положительного и отрицательного контролей были использованы линии *D.melanogaster* с нормальным набором копий *hsp70* и полной делецией генов *hsp70*. Несмотря на то, что вид *S.singularior* значительно лучше адаптирован к экстремальным температурам, трансгенные линии с гетероспецифическим геном всегда показывали более низкую выживаемость имаго при температурном стрессе (Рисунок 4.2) и при развитии при нормальной и повышенной температурах, по сравнению с линиями, несущими одну копию конспецифичного гена. Это свидетельствует об адаптивной значимости именно конспецифичного гена. Отметим также, что присутствие *hsp70 S.singularior* резко снизило жизнеспособность самок при нормальной температуре, что свидетельствует о негативном влиянии «чужого» белка *hsp70* на приспособленность.



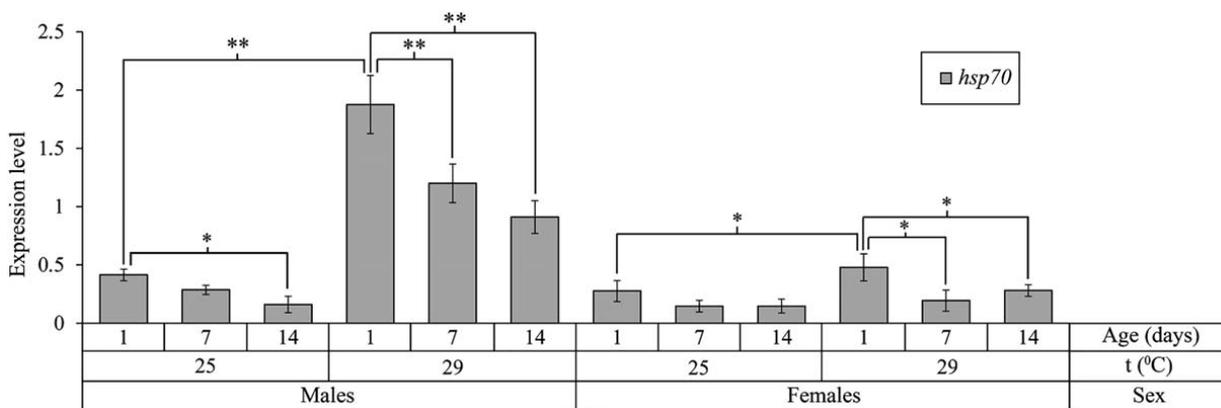
**Рисунок 4.2** - Термотолерантность трансгенных линий на имагинальной (A – D) и личиночной (E) стадиях.

(A, B) Базальная термотолерантность самцов и самок соответственно; (C, D) индуцированная термотолерантность у самцов и самок; на оси Y указана доля выживших особей на соответствующей стадии развития в % для линий, приведенных на оси X. Линии: w1118, контрольная линия с нормальным набором копий *hsp70*; hsp70-, линия с

полной делецией *hsp70*; D30, D41, трансгенные линии с одной копией гена *hsp70* *D.melanogaster*; M1, M2-A, M2-L, трансгенные линии с одной копией *hsp70* *S.singularior* под промотором *D.melanogaster*; (E) Термотолерантность личинок при 37,5°C: pupa (%), процент окукливания по отношению к личинкам, обработанным тепловым шоком (HS); imago (%), процент невылупившихся мух относительно личинок, обработанных HS. 95% доверительные интервалы для каждого образца показаны в виде планок погрешностей.

Уровень экспрессии *hsp70* после температурного шока также был значительно повышен в линиях с конспецифичными промотором и 3'UTR последовательностью. Следовательно, специфические сигнальные факторы, регулирующие экспрессионную активность *hsp70* (транскрипционные факторы и микроРНК), вне зависимости от происхождения кодирующей последовательности, эффективно регулировали экспрессию только при наличии соответствующих конспецифичных некодирующих структурных элементов гена. Картина несколько менялась при анализе выживаемости личинок *D.melanogaster* с гетероспецифической кодирующей последовательностью (Рисунок 4.2 E) – их выживаемость значимо увеличилась и превосходила выживаемость личинок с одной копией собственного гена. Этот результат свидетельствует о наличии эволюционно-консервативных мишеней для гетероспецифического белка *hsp70* на личиночной стадии развития.

Значимые различия в ответах трансгенных самцов и самок на температурный стресс предполагают, что экспрессия *hsp70* имеет зависимый от пола характер. Оценка дифференциальной экспрессии у контрольных мух с нормальным количеством копий гена полностью подтвердила это предположение (Рисунок 4.3)



**Рисунок 4.3** - Уровни мРНК *hsp70*, определенные количественной ПЦР у контрольных мух, выращенных при нормальной (25°C) или повышенной (29°C) температуре.  
\*  $P \leq 0,05$ ; \*\*,  $P \leq 0,01$ , t-критерий.

### Заключение

На модели родственных видов дрозофил группы *virilis* впервые получены оценки влияния интрогрессии нерекombинирующих фрагментов геномов родственных видов на

топологию филогенетических реконструкций. Для видов субфилады *montana D.lacicola* и *D.montana* показана интрогрессия и последующее замещение гетероспецифичной митохондриальной ДНК и Y-хромосомы, приводящее к нарушению оценки топологии филогенетического дерева при использовании соответствующих маркеров. В рамках темы проведены совместные исследования с Лабораторией молекулярных механизмов биологической адаптации (Евгеньев М.Б.) адаптивной значимости и молекулярно-генетических механизмах действия шаперона HSP70. Впервые детально исследована адаптивная значимость изменчивости отдельных частей гена, включая как кодирующую последовательность, так и регуляторные области. Были показаны: адаптивная значимость эволюционной изменчивости кодирующей последовательности HSP70, преимущественная реализация функциональной активности этого гена на личиночной стадии развития, т.е. наличие специфических мишеней для данного шаперона при действии температурного стресса именно на личиночной стадии. Также подтверждена значимость конспецифических последовательностей промотера и 3'UTR для эффективного контроля экспрессии HSP70 и дифференциальная активность экспрессии этого гена у самцов и самок, согласующаяся с повышенной чувствительностью самцов к температурному стрессу. Показаны негативные сайд-эффекты гиперэкспрессии HSP70 на продолжительность жизни и скорость старения.

#### Список использованных источников

1. Morales-Hojas R., Reis M., Vieira C.P., Vieira J. Resolving the phylogenetic relationships and evolutionary history of the *Drosophila virilis* group using multilocus data//Mol. Phylogenet. Evol. - 2011. - Vol. 60. P. 249 - 258. DOI: 10.1016/j.ympev.2011.04.022.
2. Андрианов Б.В., Романов Д.А., Сорокина С.Ю., Горелова Т.В. Сравнительный анализ изменчивости митохондриального гена *cox1* и маркерного гена Y хромосомы *kl-2 1-beta dynein heavy chain* у дрозофил группы *virilis* (Diptera: Drosophilidae)//Генетика - 2019. - Т. 55. - N 5 - (в печати).
3. Evgen'ev, M., Garbuz, D. and Zatssepina, O. Heat Shock Proteins and Whole Body Adaptation to Extreme Environments. - New York, London: Springer Dordrecht Heidelberg, - 2014, P. 218.
4. Shilova V.Y., Zatssepina O.G., Garbuz D.G., Funikov S.Y., Zelentsova E.S., Schostak N.G., Kulikov A.M., Evgen'ev M.B. Heat shock protein 70 from a thermotolerant Diptera species provides higher thermoresistance to *Drosophila* larvae than correspondent endogenous gene//Insect Molecular Biology. - 2018. - Vol. 27. No. 1. P. 61 - 72 DOI: 10.1111/imb.12339. (WoS, Scopus)

5. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets//Mol. Biol. Evol. - 2016. - Vol. 33. P. 1870 - 1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

6. Leigh J.W., Bryant D. POPART: full-feature software for haplotype network construction // Methods in Ecology and Evolution. - 2015. - Vol. 6. P. 1110 - 1116. DOI: 10.1111/2041-210X.12410.

7. Benjamini Y., Hochberg, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing//J. R. Stat. Soc. Series B, Methodol. - 1995. - Vol. 57. P. 289 - 300.

## РАЗДЕЛ 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОММУНИКАЦИОННОГО ПОВЕДЕНИЯ.

### Введение

В последние годы в генетике количественных признаков широкое распространение получили высокопроизводительные методы полногеномного анализа. Несмотря на это, анализ «пути от гена к признаку», или онтогенетическая и физиологическая реализация наследственной информации, выраженная в виде сложных морфологических, физиологических и поведенческих признаков, в абсолютном большинстве случаев остается нерешенной проблемой. Более того, до сих пор неизвестна полная генетическая основа даже простых количественных признаков, если «простые» количественные признаки вообще существуют. Наиболее трудной и не менее актуальной является генетика поведения, поскольку поведенческие признаки полагают широчайший набор генетических факторов и очень сильное влияние среды. Актуальность исследования поведения определяется тем, что животные и человек осуществляют свою биологическую активность через поведенческие действия. В нашей лаборатории исследуются две формы поведения в связи с их эволюционной и этической значимостью: брачное поведение дрозофил, как один из механизмов эволюции и видообразования, и агрессивное поведение человека, в связи с его большой социальной значимостью от бытового уровня до взаимоотношения государств и межгосударственных блоков и союзов.

### **Подраздел 1. Генетические основы агрессивности у человека в зависимости от социокультурных характеристик общества**

Социофизиологические исследования подчеркивают связь между сознанием, эмоциями и агрессией. Установлено, что такие негативные последствия, как страх и беспокойство, часто провоцируют и модулируют агрессивное поведение, особенно реактивное [1]. Современные знания о генетической основе агрессии являются противоречивыми [2], [3], [4]. Выводы этих исследований были обобщены для всех популяций человека без учета культурных различий и межкультурных сравнений.

В течение десятилетий считалось, что нейротрансмиттер серотонин (5-НТ) участвует в модуляции агрессии как у животных, так и у людей, и что агрессия и серотонинергическая активность находятся в обратной зависимости [5, 6]. С ростом числа исследований становится очевидным, что система 5-НТ по-разному регулирует различные типы агрессии и, по-видимому, привлекает разные рецепторы 5-НТ [7]. Были продемонстрированы сложные двунаправленные отношения между агрессией и серотонином, основанные на взаимодействии между контролем нервных импульсов и социальным функционированием [8]. Серотонин воздействует на психологические

характеристики и социальные взаимодействия, которые влияют на агрессивное поведение; в свою очередь, психологические и социальные факторы оказывают влияние на серотонинергическую функцию [8].

Целью настоящего исследования являлась оценка связи пола и трех генов серотонинергической системы (переносчик серотонина, 5-НТТ и два рецептора серотонина, 5НТR1А и 5НТR2А) с общей агрессией на основе самооценок ВРАQ у представителей трех популяций: двух сельских традиционных африканских популяций, хадза и датога, и одна городская выборка из России, представленная российскими студентами.

Наш выбор образцов не был случайным. Хадза - это традиционные кочевые эгалитарные охотники-собиратели с низким уровнем агрессивности [9–11]. Датоги, являющиеся полукочевыми скотоводами, известные ранее как группа, вовлеченная в межэтнические набеги с масаи и сукума на крупный рогатый скот, известна более высоким уровнем агрессии [9], [11–13]. Выборка российских студентов была набрана для сравнения, потому что мы ожидали, что агрессия в этой группе контролируется жесткими культурными нормами и социальными установками, характерными для современных европейских обществ. Кроме того, учитывая тот факт, что наша выборка русских состояла из студентов, мы предположили, что уровень общей агрессии будет еще ниже по сравнению со средним уровнем населения.

Проверялись следующие прогнозы:

1. Исследованные популяции будут различаться по уровню общей агрессии, основанной на самооценках ВРАQ.
2. Различия по полу в общей агрессии будут наблюдаться у Датога, в отличие от двух других выборок, учитывая более патриархальный характер общества Датога.
3. Ожидаются различия в распределении частот аллелей для всех трех полиморфизмов, изученных в данном исследовании.
4. Генотипы *Sa+* полиморфизма *5-HTTLPR* будут связаны с более высокими показателями суммарной агрессии в каждой выборке.
5. Генотип *GG* полиморфизма *5HTR1A* будет связан с более высокими показателями суммарной агрессии в каждой выборке.
6. Генотип *GH* полиморфизма *5HTR2A* будет связан с более высокими показателями суммарной агрессии в каждой выборке.
7. Ожидается, что эффект взаимодействия трех изученных полиморфизмов будет значительным в связи с более высокой агрессивностью в исследуемых популяциях.

## Методы

**Участники.** Были получены данные на 853 человек (средний возраст:  $28,9 \pm 13,5$  лет; возрастной диапазон: 15–80 лет) из трех популяций (Таблица 5.1.). Данные по Хадза и Датога были собраны в районе Мангола в Северной Танзании. Образцы для генетического анализа были взяты в 2006–2007 гг., а в период с 2006 по 2014 г. для тех же лиц были собраны демографические данные и самооценки агрессивности. Аналогичные данные по русским студентам были собраны в 2010 и 2013 годах. Таким образом, две исследованные группы людей были представлены традиционными народностями, в большинстве своем неграмотными, живущими в сельской местности, в возрасте от 15 до 80 лет (для получения дополнительной информации о хадза и датога см. [10–12]). Студенты одного из российских университетов в возрасте от 16 до 28 лет представляли последнюю выборку (см. Таблицу 5.1.).

Возраст африканских участников исследования был установлен на основе календаря надежно датированных и запоминающихся событий в местной истории, поскольку большинство хадза и датога неграмотны и не ведут записи о рождении. Каждый участник был отнесен к определенной возрастной группе интервалом в 10-лет (1-ая возрастная группа: 16–19 лет; 2-ая возрастная группа: 20–29 лет; 3-ая возрастная группа: 30–39 лет; 4-ая возрастная группа: 40–49 лет; 5-ая возрастная группа: 50–59 лет; 6-ая возрастная группа: 60+ лет) в соответствии с предыдущими протоколами [14].

**Таблица 5.1. Происхождение популяций и пол участников**

Популяция	Мужчины	Женщины	Всего
Хадза	187	142	329
Датога	162	157	319
Русские (студенты)	86	119	205

**Протоколы.** Все африканские участники (хадза и датога) были опрошены на суахили. Их попросили предоставить информацию, включая их возраст, пол, семейное положение, этническую принадлежность и агрессию. Все вопросы прочитывались вслух в ходе диалогов один на один, и при необходимости предоставлялись дополнительные объяснения. Самооценка агрессии оценивалась с помощью опросника по агрессии Басса-Перри (BPAQ) [15] на основе 29 вопросов, сгруппированных в четыре подшкалы: физическая агрессия (9 вопросов), словесная агрессия (5 вопросов), гнев (7 вопросов) и враждебность (8 вопросов) – с ответами по шкале Лайкерта: от 1 (крайне нехарактерно для меня) до 5 (крайне характерно для меня). Перевод BPAQ на суахили был сделан ранее, в соответствии с принятыми стандартами (перевод и обратный перевод четырьмя

двухязычными помощниками [16], [17]). Более подробно о процедуре сбора данных можно узнать из наших предыдущих работ [11], [18].

Процедура сбора данных для российских студентов была иной, так как они могли заполнять анкету, а также демографические данные индивидуально. Российские студенты работали с русской версией ВРАQ, которая была первоначально переведена и утверждена нами и уже применялась в ряде предыдущих исследований [19]. Все данные были собраны анонимно, чтобы удовлетворить этическим требованиям.

Баллы по агрессии были рассчитаны только для респондентов, которые ответили на все вопросы. Данные были получены для всех четырех шкал ВРАQ (29 вопросов).

**Социокультурные характеристики.** Племя хадза - одна из немногих групп, все еще живущих традиционным образом жизни [19], [20]. Общество охотников и собирателей характеризуется присваивающей экономикой. Их культура во многом остается такой же, как и у бушменов Намибии до 1970-х годов [21–23]. Хадза живут в бассейне реки Эяси, недалеко от озера Эяси в северной Танзании, и говорят на языке щелкающих гласных (койсанская языковая макросемья) [24], [25].

Хадза имеют самую низкую гетерозиготность в Африке, возможно, из-за неоднократного прохождения через «горлышко бутылки» как в прошлом, так и в последнее время [26]. В настоящее время население племени хадза составляет около 1000 человек. Около 350 хадза (восточная часть племени хадза) все еще остаются традиционными охотниками-собирателями и подвергаются сильному давлению естественного отбора, очень похожему на то, что было характерно для исконной человеческой популяции в неолите [27–30]. Хадза известны своим эгалитаризмом и относительным миролюбием, а лидерство является у них номинальным явлением [20], [22], [23], [29], [30].

Датога - полукочевые полигинные скотоводы; численность этой популяции составляет около 90 000 человек. Они патрилокальны и патриархальны. В отличие от эгалитарных и относительно мирных охотников-собирателей хадза, датога, которые живут в том же районе [18], [31], [32], были выбраны за их агрессию, особенно за их общую агрессию, как у других африканских скотоводов [33], [34]. Как и в случае с хадза, для датога характерны различные типы агрессии, как физические, так и словесные. Это верно для обоих полов. В то время как мужчины и женщины могут противостоять однополым противникам, агрессия между супругами очень асимметрична и направлена исключительно на женщин [18]. Мужчины с жесткими чертами характера и воинскими навыками могут быть более успешными в своих попытках жениться и в родительских

обязанностях, потому что они могут добывать скот во время набегов и, в свою очередь, могут лучше защищать свое собственное стадо.

Русских в этом исследовании представляли студенты из университетов Москвы, и, как сообщалось ранее, уровень физической агрессии в этой выборке был низким, но использование в исследовании словесной агрессии было сочтено вполне уместным [35].

**Генотипирование.** Образцы буккального эпителия были собраны у всех участников исследования для проведения генотипического анализа. Геномная ДНК была выделена с использованием набора для экстракции Diatom DNA Prep 200 (IsoGeneLab, Россия). Полиморфные варианты генов *HTR1A*, *HTR2A* и *5HTTLPR* анализировали после локус-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора GenePak® PCR MasterMix Core (IsoGeneLab) в соответствии с протоколом. Условия амплификации включали начальную денатурацию при 94°C в течение 4 мин и 35 циклов, состоящих из трех этапов: денатурация в течение 1 мин при 94°C, отжиг праймеров в течение 1 мин при X°C и элонгация в течение 1 мин при 72°C. Последний шаг включал окончательную элонгацию в течение 2 мин при 72°C. Для идентификации SNP продукты амплификации были разделены на равные аликвоты по 10 мкл, одна из которых была обработана соответствующей эндонуклеазой рестрикции (5 единиц на образец) при оптимальной температуре X°C в течение ночи. Продукты амплификации и рестрикции фракционировали в 2% агарозном геле с окрашиванием бромидом этидия. Результаты были проанализированы и сфотографированы на устройстве BioDocAnalyze.

**Статистический анализ.** Генетическая структура выборок по трем изученным генам выявлялась перед поиском ассоциаций. Программа GenAlEx v 6.503 использовалась для расчета частот генотипов и аллелей, гетерозиготности и равновесия по Харди – Вайнбергу (HWE). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Поправка по Бенджамини-Хочбергу [36] использовалась при множественных сравнениях. Все данные были проверены с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), и многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с помощью программы SPSS-20. Уровень значимости был установлен на уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты

В популяциях хадза, датога и русских были обнаружены три аллеля в локусе *5-HTTLPR* и по два аллеля в генах *5HTR1A* и *5HTR2A*. Данные о распределении аллелей в этих локусах представлены в Таблице 5.2. Наиболее частыми аллелями были *La* (*5-HTTLPR*), *G* (*5HTR1A*) и *G* (*5HTR2A*).

**Таблица 5.2. Распределение частот аллелей генов 5-HTTLPR, 5HTTR1A и 5HTTR2 в исследуемых популяциях.**

Локус	Аллель/n	Hadza	Datoga	Russians
5-HTTLPR	N	327	319	205
	Sa	0.191	0.187	0.461
	Lg	0.209	0.127	0.046
	La	0.599	0.687	0.493
HT1A rs6295	N	327	319	205
	C	0.240	0.503	0.471
	G	0.760	0.497	0.529
HT2A, rs6311	N	327	319	205
	G	0.665	0.607	0.620
	A	0.335	0.393	0.380

Распределение генотипов гена 5-HTTLPR находилось в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга в двух популяциях ( $\chi^2=2,28$ , d.f.=3, p=0,517 ( $q^*<0,017$ ), хадза и  $\chi^2=0,90$ , d.f.=3, p=0,825 ( $q^*<0,017$ ), российские студенты), и значительно отклонялось от HWE у датого ( $\chi^2=23,77$ , d.f.=3, p=0,00003 ( $q^*<0,0003$ )). Распределение генотипов гена 5HTTR1A было в соответствии с HWE в двух популяциях ( $\chi^2=0,38$ , d.f.=1, p=0,537 ( $q^*<0,017$ ), датого, и  $\chi^2=0,16$ , d.f.=1, p=0,689 ( $q^*<0,017$ ), российские студенты) и значительно отклонялось у хадза ( $\chi^2=8,91$ , d.f.=1, p=0,0028 ( $q^*<0,0033$ )). Распределение генотипов гена 5HTTR2A было в соответствии с HWE во всех трех популяциях ( $\chi^2 = 3,62$ , d.f.=1, p=0,057 ( $q^*<0,017$ ), хадза;  $\chi^2=1,05$ , d.f.=1, p=0,689 ( $q^*<0,017$ ), датого; и  $\chi^2=3,92$ , d.f.=1, p=0,048 ( $q^*<0,017$ ), российские студенты).

Тест на неоднородность в распределении частот аллелей среди трех популяций обнаружил значимые попарные различия по гену 5-HTTLPR ( $G=17,0\div 119,2$ , d.f.=2, p=1,99E-04÷1,30E-26, поправка Бенджамини-Хочберга для трех парных сравнений:  $q^*<0,05$ ); высоко значимые различия по гену 5HTTR1A для следующих пар: хадза-датого,  $G=97,4$ , d.f.=1, p=5,77E-23,  $q^*<0,033$  и хадза-русские,  $G=0,1$ , d.f.=1, p=9,20E-15,  $q^*<0,033$ , в то время как у пары датого-русские было почти одинаковое распределение аллелей,  $G=1,1$ , d.f.=1, p=0,306,  $q^*<0,033$ ; и незначительные различия по гену 5HTTR2A для всех трех пар,  $G=0\div 4,8$ , d.f.=1, p=0,03÷1,0.

Данные были получены для всех четырех шкал ВРАQ (29 вопросов). Поскольку вербальная агрессия проявила себя во всех трех исследованных популяциях, мы посчитали важным включить оценки и этой подшкалы.

Целью исследования являлась общая агрессия, представляющая собой сумму шкал ВРАQ, с учетом возможных культурных различий (в частности, этнических ограничений в применении физической агрессии, гнева и враждебности). Ассоциативный анализ для общей агрессии проводился отдельно в каждой из изученных популяций. Следующие

значения альфы Кронбаха были получены: Хадза, 0,79; Датога, 0,79; и россияне, 0,88. Таким образом, надежность может быть интерпретирована как достаточная для Хадза и Датога и хорошая для русского образца.

Данные по самооценке общей агрессивности, основанные на анкете ВРАQ для мужчин и женщин в трех исследованных популяциях, не демонстрируют значимых межполовых различий по показателям общей агрессии во всех трех исследованных выборках. Оценки общей агрессии для трех исследованных выборок были следующие: Хадза -  $83,23 \pm 0,91$ , Датога -  $97,77 \pm 0,92$  и русские -  $79,60 \pm 1,19$ . Мы провели однофакторный дисперсионный анализ для сравнения оценок общей агрессии в трех исследованных популяциях, и различия были значительными ( $F=95,33$ ,  $d.f.1=2$ ,  $d.f.2=850$ ,  $p \ll 0,001$ ). Апостериорные тесты выявили значимые различия для всех трех сравниваемых пар (хадза-датога -  $p=0,0001$ ; хадза-русские -  $p=0,04$ ; датога-русские -  $p=0,0001$ ).

Поскольку мы обнаружили, что распределения частот аллелей для генов *5-HTTLPR* и *5HTR1A* значимо отличались между тремя популяциями, было невозможно провести общий анализ объединенных данных. Кроме того, в связи с тем, что российская выборка содержала данные только для одной возрастной группы, мы решили не включать переменную “возраст” в модель, чтобы сделать обработку данных идентичной. Следовательно, мы разработали следующую модель для каждой популяции отдельно: трехфакторный дисперсионный анализ ( $\mu+5-HTTLPR+5HTR1A+5HTR2A+\epsilon$ ) с показателями самооценки общей агрессии как зависимой переменной. Мы не включили переменную “пол” в модель, так как не было половых различий по оценкам общей агрессии во всех трех популяциях. В модель дисперсионного анализа были включены как основные эффекты, так и взаимодействия между ними для трех полиморфизмов. Единственные значимые результаты были получены для популяции хадза; основной эффект полиморфизма второго серотонинового рецептора был значимым (*post hoc*: *AA-AG*,  $p=0,001$ ; *AA-GG*,  $p=0,002$ ; *AG-GG*,  $p=0,660$ ). Для датога показан значимый эффект взаимодействия между *5-HTTLPR* и *5HTR1A*. Выявлено значимое различие между *Sa+* генотипами и *LaLa* генотипом в ассоциации с *CC*-генотипом гена *5HTR1A*, но не в связи с генотипами *CG* и *GG*. Никаких значимых эффектов изученных полиморфизмов у россиян получено не было.

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа с этническими популяциями и полиморфизмом *5-HTR2A* гена в качестве основных эффектов и их взаимодействие выявили высоко значимое влияние этнической принадлежности, полиморфизма *5HTR2A* и их взаимодействия на общую агрессию. Следует отметить также значимое отличие между датога и двумя другими этническими группами по общей агрессивности в сочетании со

всеми тремя *5HTR2*-генотипами. Русские и хадза значительно отличаются по общей агрессии только в ассоциации с генотипом *GG* локуса *5HTR1A*.

### Обсуждение

Первое предположение было подтверждено нашими результатами: различия по общей агрессии между исследованными выборками были значимыми, показатель общей агрессии был самый высокий у даготов и самый низкий у русских, тогда как хадза показали промежуточный результат. Таким образом, мы заключаем, что культурный фактор имеет значение и должен приниматься во внимание во всех исследованиях генетических основ и влияния среды на агрессивное поведение. Напротив, второе предположение не было подтверждено, и половые различия по общей агрессии не были обнаружены ни в одной из трех исследованных нами популяций. В соответствии с нашими третьим предположением, различия в распределении частот аллелей между популяциями были обнаружены для двух полиморфизмов, *5-HTTLPR* и *5HTR1A*, но отсутствуют для третьего, *5HTR2A*.

Основное влияние *5-HTTLPR*-полиморфизма на общую агрессию не наблюдалось ни в одной из исследованных нами групп; таким образом, четвертое предположение не было поддержано. Мы также не обнаружили никакого основного эффекта *5HTR1A*-полиморфизма; таким образом, наше пятое предположение не подтвердилось. Подтверждение значимости связи *G*-аллеля гена *5HTR2A* с более высокой общей агрессией в каждой выборке, поддержало шестое предположение. Мы не обнаружили никаких эффектов взаимодействия для комбинации генов *5-HTTLPR* и *5HTR2A*, а также для *5HTR1A* и *5HTR2A*. Эффект взаимодействия оказался значимым для комбинации генов *5-HTTLPR* и *5HTR1A*, но только в одной исследованной популяции, а именно у дагога. Следовательно, наше последнее предположение было частично поддержано.

Что касается исследованных полиморфизмов, распределение частот аллелей гена *5-HTT* в российской выборке хорошо соответствовало кавказской выборке, ранее изученной другими авторами (североамериканцы европейского происхождения) Wendland et al. [37]. Обе африканские выборки отличались от кавказской выборки по распределению частот аллелей: они имели меньшее количество аллеля *Sa* и большее количество аллеля *Lg*.

В исследованиях канадских выборок из Квебека и Онтарио и японской выборки [38, 39] по rs6295 (ген *5HTR1A*) преобладающим аллелем был аллель *C*, частота которого варьировала от 0,63 до 0,84, тогда как в наших популяциях наблюдался максимум 0,50 для аллеля *C* у дагога.

Наше исследование продемонстрировало также преобладание аллеля *G* гена *5HTR2A*: 0,61 у датога и 0,66 у хадза с промежуточной частотой у русских, что хорошо согласуется с результатами по европейским выходцам из США, австралийцам и японцам [40, 41].

Данные по самооценке ВРАQ продемонстрировали, что датога оценивали себя значительно выше по общей агрессии, чем в двух других популяциях. Эти данные интересны с точки зрения культурной антропологии в той степени, в которой датога являются полукочевыми скотоводами [42], полигамными и разделенными на возрастные группы с явной стратификацией по богатству [10], [43]. Традиционно датога должны быть хорошо обучены, чтобы использовать агрессию для защиты своего стада от набегов других этнических групп, а также колодцев и пастбищ от соплеменников [38]. Вполне возможно, что такие различия обусловлены разницей в социализации по агрессии в трех группах населения, в частности, родители датога более агрессивны по отношению к своим детям (Б. М., личные наблюдения). Эгалитарные хадза, которые по-прежнему остаются традиционным обществом [11], оценивали себя гораздо менее агрессивными, чем датога, что соответствовало нашим ожиданиям, но, тем не менее, они оценивали себя более агрессивными по сравнению с русскими, представленными в нашем исследовании студентами. Очевидно, что у хадза, как и в современной российской культуре, общая агрессия находится под социальным контролем, а дети социализируются против общей агрессии с раннего детства. Таким образом, различия в показателях агрессии между датога и двумя другими группами были ожидаемыми.

Результаты дисперсионного анализа продемонстрировали значимое влияние популяционного происхождения и полиморфизма *5HTR2A* на самооценку по общей агрессии. Носители генотипов *AG* и *GG* гена *5HTR2A* оценивали себя значительно выше, чем носители генотипа *AA*. Ранее предполагалось, что полиморфизм гена *5HTR2A* ассоциируется с агрессией, преступностью, враждебностью и гневом [3], [44–47], а также с асоциальным поведением [48], [49] или дезадаптивной импульсивностью [50]. Наши данные расширяют эти результаты, демонстрируя роль полиморфизма rs6311 гена *5HTR2A* в общей агрессии у взрослых здоровых мужчин и женщин из традиционных африканских обществ, а также для российской выборки студентов.

Наши результаты демонстрируют важность сравнительных исследований популяций при изучении влияния генов и окружающей среды. Несмотря на значительный эффект взаимодействия генов *5-HTTLPR* и *5HTR1A*, полученный у датога, мы не получили каких-либо значительных ассоциаций у хадза и русских. Возможное объяснение состоит в том, что социализация агрессии в этих культурах была разной: относительно толерантной (или

даже симулятивной) у датога и супрессивной в двух других случаях. Таким образом, наши результаты дали дополнительное подтверждение важной роли культурных факторов, опосредующих как взаимодействия генов, так и взаимодействия по типу ген-среда, тем самым дополняя результаты других исследований.

Наше исследование имеет определенные ограничения, прежде всего, потому что мы представили данные по изучению ассоциации генов-кандидатов. В настоящее время очевидно, что генетические факторы, участвующие в агрессивном поведении, могут иметь небольшой эффект, а факторы окружающей среды могут существенно влиять на экспрессию этих генов [51]. Результаты, полученные разными авторами с использованием подхода генов-кандидатов, часто противоречивы или не воспроизводимы, так как в нескольких случаях ассоциации были установлены с разными аллелями одного и того же генетического локуса. Таким образом, наши результаты по ассоциации полиморфизма rs6311 гена *HTR2A* с общей агрессией у взрослых следует воспринимать с осторожностью. Тем не менее, важно отметить, что наши результаты были получены для здоровых взрослых из трех популяций, являются достаточно репрезентативными ( $n = 853$ ) и были собраны с использованием одного и того же протокола. Эти результаты продемонстрировали необходимость тщательного изучения влияния социальной среды, а также половых различий по общей агрессии наряду с ассоциацией между полиморфизмами генов и определенным поведенческим признаком. Мы предполагаем, чтобы ген *5HTR2A* должен быть дополнительно изучен в исследованиях по взаимодействию генотип-среда вместе с другими генами, участвующими в нейротрансмиссивных и гормональных функциях. Учитывая современные данные полногеномных исследований агрессивного поведения, также имеет смысл рассмотреть гены потенциального риска и путей, вовлеченных в процессы развития нервной системы, включая проекцию нейронов и синаптическую пластичность [51]. Другие ограничения, о которых необходимо упомянуть, касаются выборки русских, поскольку в отличие от двух других групп, она была представлена только студентами. Таким образом, были представлены не все возрастные группы, кроме того, не все социальные слои включены. Тем не менее, мы предполагаем, что эта выборка была более или менее репрезентативной для всего населения, учитывая тот факт, что мы не работали с элитными университетами, а собирали данные в разных университетах, у студентов из семей, принадлежащих к разным социальным классам.

## Подраздел 2. Брачное поведение дрозофилы и презиготическая изоляция

Появление преждевременной репродуктивной изоляции при адаптации к различным средам является одним из возможных начальных этапов экологического видообразования [52-54]. Преждевременная изоляция в симпатрии может быть результатом пространственно-временной сегрегации или положительного ассортативного спаривания, то есть предпочтения для партнеров со сходными чертами [55-59]. Хорошо известные примеры экологически обусловленной эволюции преждевременной изоляции в природе включают популяции *Drosophila melanogaster* и *Drosophila simulans* с противоположных склонов «Эволюционного каньона» в Израиле, которые, как было показано, предпочитают партнеров с одного и того же склона [60, 61]; параллельная эволюция преждевременной изоляции между симпатрическим лимнетическим и бентическим трёхигловыми колюшками в разных озерах [62]; и недавняя дивергенция рас боярышника и яблони мухи *Rhagoletis pomonella*, сопровождаемая совместной дивергенцией их специализированных хищников, паразитоидных ос *Diachasma alloeum* [63].

Результаты нескольких экспериментальных эволюционных исследований показывают, что адаптация к различным средам может способствовать быстрому появлению частичной преждевременной изоляции у видов дрозофилы, и что положительное ассортативное спаривание иногда возникает как побочный продукт адаптации к стрессовым (или просто новым) условиям даже в отсутствие прямого отбора по предпочтениям спаривания [64-70]. Существуют доказательства того, что неслучайные спаривания, наблюдаемые в таких экспериментах, могут быть вызваны негенетическими факторами [71], [72], такими как изменения в симбиотическом микробиоме в ответ на новые условия, которые могут влиять на предпочтения спаривания [68], [73-78].

Однако все еще существует большая неопределенность в отношении причин и механизмов возникновения позитивного ассортативного спаривания в процессе адаптации к различным средам. В частности, неясно, какие сенсорные и поведенческие особенности ответственны за ассортативность, наблюдаемую в экспериментальных исследованиях [76]. Несомненно, дивергентный отбор не всегда приводит к ассортативному спариванию, о чем свидетельствуют некоторые экспериментальные эволюционные исследования, в которых адаптация к контрастным средам не приводила к значительным отклонениям от случайного спаривания [66], [79-82]. Более того, некоторые положительные результаты не были воспроизведены у разных штаммов одного и того же вида [72]. Необходимы дополнительные исследования, чтобы понять источники положительного ассортативного спаривания в процессе адаптации к различным средам.

Мы провели эволюционный эксперимент на *D. melanogaster*, целью которого было: (i) выяснить, приводит ли выращивание популяций дрозофилы к среде на основе крахмала с низким содержанием питательных веществ к ассортативному спариванию; сравнить результаты с результатами, полученными ранее [65], [72], [75]; (ii) проверить другую неблагоприятную среду (стандартную среду с высокой концентрацией NaCl) и посмотреть, может ли она аналогичным образом способствовать ассортативности; (iii) оценить ассортативность, используя различные экспериментальные схемы (то есть множественный выбор и конкурентные тесты), чтобы выяснить поведенческие основы неслучайного спаривания.

### Методы

**Линии *Drosophila melanogaster*.** Первоначальное разнообразие *D. melanogaster* дикого типа происходило от 30 диких мух, пойманных в сентябре 2014 года на юго-западе Москвы (Россия). Из этой выборки было получено несколько линий, каждая из которых начиналась примерно с 30 случайно выбранных мух. Эксперимент по эволюции начался в октябре 2014 года. В ходе эксперимента каждую линию выращивали при 22–25°C в условиях естественного освещения в одной из трех различных питательных сред:

1. Богатая среда (RichM): 60 г инактивированных дрожжей, 35 г манной крупы, 50 г сахарозы, 45 г рубленого изюма, 8 г агара и 2 г пропионовой кислоты на 1 л среды.
2. Среда с высоким содержанием соли (SaltM): RichM с добавлением 40 г NaCl на литр.
3. Среда на основе крахмала с низким содержанием питательных веществ (StarchM): 60 г инактивированных дрожжей, 30 г картофельного крахмала, 8 г агара и 2 г пропионовой кислоты на 1 л среды (такой же рецепт использовался Шароном и Нахарро [72,75]).

В текущем исследовании мы использовали одну линию на StarchM (Starch1), три линии на SaltM (Salt1-3) и четыре «контрольные» линии на RichM (Rich1-4). Еще четыре линии (Starch2-3, Rich5-6) были использованы в дополнительных мелкомасштабных тестах для оценки вариации между адаптированными к крахмалу линиями.

Линии Rich1-2, Rich5-6, Salt1 и Starch1-3 выращивали в популяционных ящиках 165 x 165 x 250 мм. Пищевую среду помещали в стеклянные пробирки (диаметр 22 мм, высота 100 мм, 10 мл среды на пробирку). В любое время в каждом ящике находилось 12 пробирок со средой. Численность популяции не регулировалась искусственно: все линии достигали своей максимально допустимой численности в заданных условиях.

Численность популяций составляла приблизительно тысяча взрослых мух в линиях Rich, несколько сотен в линии Salt1 и около ста в линиях Starch.

Тесты Mate-Choice были начаты в октябре 2015 года и продолжались до апреля 2017 года; дополнительные тесты были проведены в мае-июле 2018 года. Выбор самца был проверен в трио (одна самка, два самца или две самки, один самец) и в четверках (две самки, два самца). В каждом отдельном испытании использовались мухи из двух разных экспериментальных обработок, одна из которых всегда была «контрольной» (RichM). Например, трио может включать в себя самку "chooser" из линии Starch1 и двух самцов: Starch1 и Rich1; четверка может включать самок Salt2 и Rich3 и самцов Salt3 и Rich4. Если спарившиеся мухи происходили из одинаковых экспериментальных условий (например, самка Salt2 и самец Salt3), спаривание считалось «гомогамным».

Испытания проводились на девственных мухах через 3-4 дня после вылета. Мухи были разделены по полу в течение 8 ч после вылета и впоследствии содержались отдельно в стеклянных пробирках (диаметр 22 мм, высота 100 мм, 10 мл среды на пробирку). Чтобы различать линии, левое или правое крыло каждой мухи прокалывалось острой иглой (в центральной части крыла, между венами). Ряд исследований показал, что такие маркировки не влияют на поведение спаривания, селективность или успех спаривания у дрозофилы [64,68, 84]. Тесты выбора партнера проводились в тех же пробирках со свежей пищевой средой при 22–24°C.

Конкурентные тесты с тройками проводились в соответствии с одним из двух альтернативных протоколов (для проверки возможных последствий процедур тестирования):

1. Мух выращивали на их «нативной» среде в соответствии с их происхождением, эфирным наркозом, хранили на их нативной среде перед тестированием и тестировали на нативной среде;

2. За одно поколение до тестирования мух выращивали на RichM, подвергали холодной анестезии и тестировали на RichM.

Оба протокола дали схожие результаты, поэтому мы объединили их для дальнейшего анализа.

Тесты с четырьмя мухами с множественным выбором проводились в соответствии со вторым протоколом, который является более традиционным и должен сводить к минимуму прямое влияние пищи на выбор партнера. Мы удалили спарившихся мух из пробирки в начале спаривания, чтобы идентифицировать их (микроранки на крыльях не видны невооруженным глазом), оставив оставшихся мух в ситуации «нет выбора».

## Результаты и обсуждение

Результаты конкурентных тестов на выбор партнера приведены в таблицах 5.3. и 5.4.

**Таблица 5.3. Результаты конкурентных тестов с тройками**

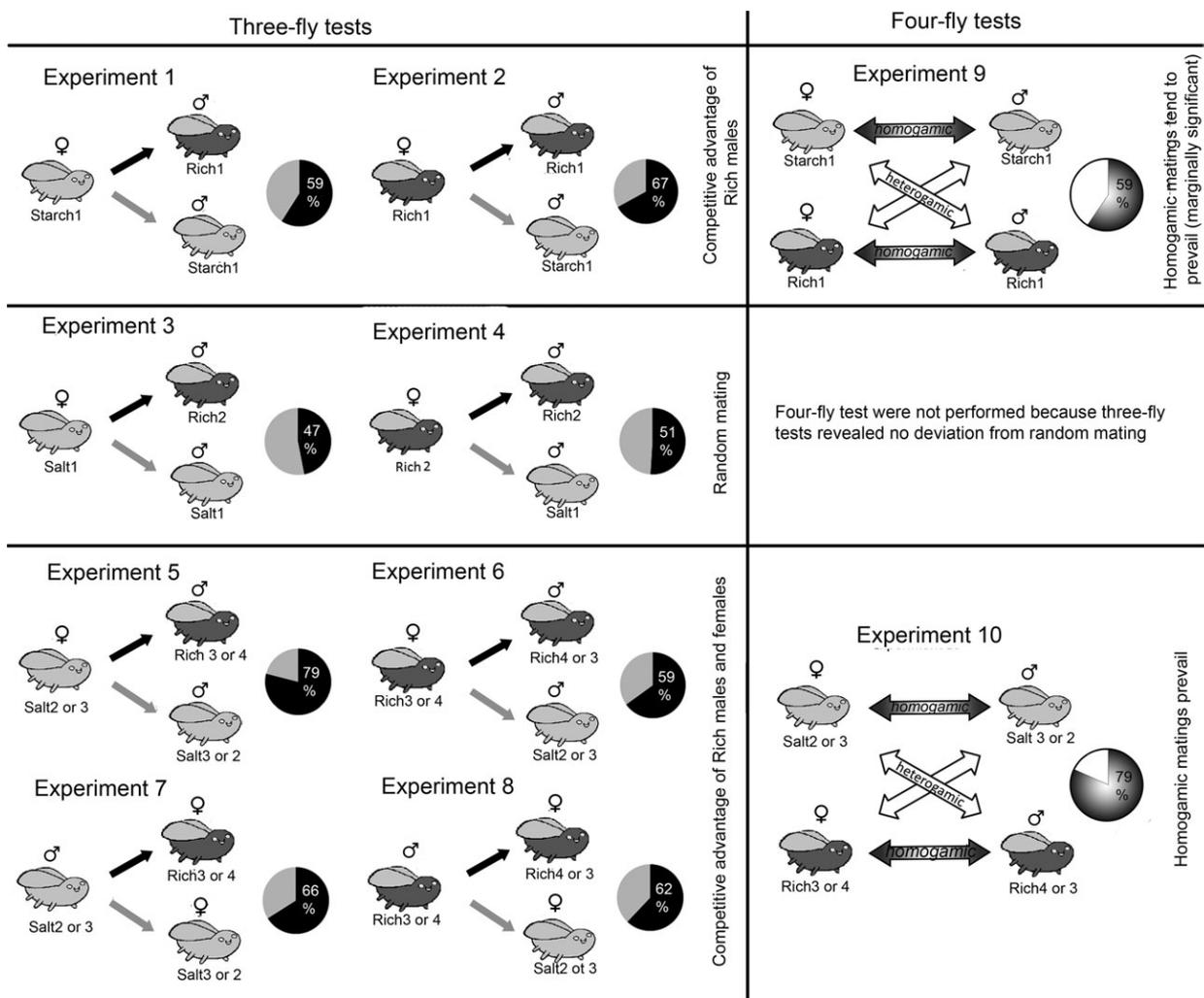
№. Эксп.	Задача теста	Линия ♀	Линия ♂	Муши в тесте из разных линий	Число троек	Гомогамных (%)	Успех контрольных мух (%)	Отклонение от случайного выбора (z-test): z value, P value
1	Влияние обедненной диеты на выбор	Starch1	Starch1, Rich1	No	106	43 (41%)	63 (59%)	1.853, 0.064
2		Rich1	Starch1, Rich1	No	106	71 (67%)	71 (67%)	3.501, 0.0005
3	Влияние солевой диеты на выбор	Salt1	Salt1, Rich2	No	76	40 (53%)	36 (47%)	0.523, 0.601
4		Rich2	Salt1, Rich2	No	76	39 (51%)	39 (51%)	0.174, 0.862
5	Повторности для условий 1-4	Salt2 / 3	Salt3 / 2, Rich3 / 4	Yes	104	22 (21%)	82 (79%)	5.915, <0.0001
6		Rich3 / 4	Salt2 / 3, Rich4 / 3	Yes	65	42 (65%)	42 (65%)	2.419, 0.016
7		Rich3 / 4, Salt 2 / 3	Salt3 / 2	Yes	50	17 (34%)	33 (66%)	2.263, 0.024
8		Rich3 / 4,	Rich4 / 3	Yes	50	31 (62%)	31 (62%)	1.697, 0.090

**Таблица 5.4. Результаты конкурентных тестов с четверками**

№. Эксп.	Задача теста	Линия ♀	Линия ♂	Муши в тесте из разных линий	Число четверок	Гомогамных (%)	Преимущество гомогамных (z-test): z; P	RichM гомогамные (%)	Преимущество RichM гомогамных (z-test): z; P
9	Влияние обедненной диеты на выбор	Starch1, Rich1	Starch1, Rich1	No	99	58 (59%)	1.791, 0.073	41 (76%)	5.174, <0.0001
10	Влияние солевой диеты на выбор	Salt2 / 3, Rich3 / 4	Salt3 / 2, Rich4 / 3	Yes	57	45 (79%)	4.379, <0.0001	40 (89%)	5.889, <0.0001

На рисунке 5.1 представлена схема, обобщающая полученные результаты. В тройках в большинстве случаев (76%) успех в спаривании имели мухи из контрольных линий. В четверках абсолютное большинство гомогамных спариваний (41 из 58 при конкуренции с мухами линии Starch, 40 из 45 при конкуренции с мухами линий Salt) также показали мухи из контрольных линий. Фактически, в тестах с множественным выбором (четверках) наблюдалась положительная ассортативность, тогда как в конкурентных тестах (тройки) выявлено не предпочтение своих, а конкурентное преимущество мух определенных линий. Статистическая модель показывает, что

наблюдаемая половая избирательность может объясняться различной степенью активности мух или их сексуальной мотивированностью, а не наличием предпочтений тех или иных половых партнеров.



**Рисунок 5.1 - Общая схема полученных результатов.**

Тесты с тремя мухами (левая колонка) выявили конкурентное преимущество мух RichM в некоторых, но не во всех линиях. Темный цвет на диаграммах и стрелках обозначает преимущественный выбор. Тесты с четырьмя мухами (правая колонка) выявили распространенность гомогамных спариваний (позитивные ассортативные спаривания). Цвет градиента на диаграммах и стрелках представляет гомогамные спаривания, белый цвет - гетерогамные спаривания.

Признаки подвижности мух, их конкурентоспособности при спаривании, являются компонентами общей приспособленности и их проявление реализуется через взаимодействие генотипа и факторов внешней среды. В данном случае полноценность питания личинок оказывает прямое влияние на сексуальную мотивированность имаго. Тем не менее, вопрос о неслучайном выборе брачного партнера остается открытым. В ходе данного эксперимента популяции дрозофил адаптировались к соответствующим условиям в отсутствие возможности выбора и конкуренции за различающиеся ресурсы, т.е. в отсутствие возможности «размывания» формирующихся адаптаций. Но даже в этом

случае, в условиях ограниченной численности конкурирующих пар, формируется «псевдоизбирательность» за счет общей приспособленности и эффекта падения конкурентоспособности после спаривания. В условиях конкуренции за ресурсы и возможности выбора различных ресурсов показанные эффекты могут быть первым шагом на пути закрепления адаптаций и формирования избирательности.

### **Заключение**

Оба исследования [85-87] показали исключительную важность учета эффектов влияния среды на генетическую основу количественных признаков, в данном случае – признаков поведения. И если в экспериментах с дрозофилой в качестве внешних признаков выступают условия питания личинок, то для человека существенным фактором, определяющим реализацию генотипа в поведенческих признаках является общий культурный контекст общества. Наши данные явным образом подтвердили необходимость учитывать происхождение популяций и культурные особенности испытуемых при поиске ассоциаций между генами и поведением, и продемонстрировали роль культурных установок в реализации агрессии внутри групп. Получили объяснения причины противоречивых результатов, полученных в исследованиях по ассоциации генов-кандидатов с поведением без учета социо-культурных норм. Предыдущие исследования показали, что полиморфизм гена *5HTR2A* ассоциируется с агрессией и преступностью. Наши данные расширили эти результаты, демонстрируя роль полиморфизма rs6311 гена *5HTR2A* в агрессии взрослых здоровых мужчин и женщин из исследованных нами выборок, и аллеля *G* локуса *5HTR1A* в самооценке по общей агрессии.

### **Список использованных источников**

1. Nelson R.J., Trainor B.C. Neural mechanisms of aggression//Nat. Rev. Neurosci. - 2007. - Vol. 8. No. 7. P. 536 - 546.
2. Pavlov K.A., Chistiakov D.A., Chekhonin V.P. Genetic determinants of aggression and impulsivity in humans//J. Appl. Genet. - 2012. - Vol. 53. No. 1. P. 61 - 82.
3. Banlaki Z., Elek Z., Nanasi T., Szekely A., Nemoda Z., Sasvari-Szekely M., Ronai Z. Polymorphism in the serotonin receptor 2a (HTR2A) gene as possible predisposal factor for aggressive traits//PLoS One. - 2015; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117792>.
4. Veroude K., Zhang-James Y., Fernández-Castillo N, Bakker M.J., Cormand B., Faraone S.V. Genetics of aggressive behavior: an overview//Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet. - 2016. - Vol. 171. No. 1. P. 3 - 43.
5. Soubrié P. Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior//Behav. Brain. Sci. - 1986. - Vol. 9. No. 2. P. 319 - 335.

6. Pihl R.O., Lemarquand D. Serotonin and aggression and the alcohol-aggression relationship//Alcohol Alcohol. - 1998. - Vol. 33. No. 1. P. 55 - 65.
7. Olivier B. Serotonin and aggression//Ann. N Y Acad. Sci. - 2004. - Vol. 1036. No. 1. P. 382 - 392.
8. Krakowski M. Violence and serotonin: influence of impulse control, affect regulation, and social functioning//J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. - 2003. - Vol. 15. No. 3. P. 294 - 305.
9. Butovskaya M.L. Aggression and conflict resolution among the nomadic Hadza of Tanzania as compared with their pastoralist neighbors. In: Fry DP, editor. War, peace, and human nature. The convergence of evolutionary and cultural views. Oxford: Oxford University Press; - 2013. P. 278 - 296.
10. Butovskaya ML, Vasilyev VA, Lazebny OE, Burkova VN, Kulikov AM, Mabulla A, Shibalev DV, Ryskov AP. Aggression, digit ratio, and variation in the androgen receptor, serotonin transporter, and dopamine D4 receptor genes in African foragers: the Hadza//Behav. Genet. - 2012. - Vol. 42. No. 4. P. 647 - 662.
11. Butovskaya ML, Lazebny OE, Vasilyev VA, Dronova DA, Karelin DV, Mabulla AZ, Shibalev DV, Shackelford TK, Fink B, Ryskov AP. Androgen receptor gene polymorphism, aggression, and reproduction in Tanzanian foragers and pastoralists//PLoS One. - 2015. - Vol. 10. No. 8 :e0136208.
12. Butovskaya M.L., Vasilyev V.A., Lazebny O.E., Suchodolskaya E.M., Shibalev D.V., Kulikov A.M., Karelin D.V., Burkova V.N., Mabulla A., Ryskov A.P.. Aggression and polymorphisms in AR, DAT1, DRD2, and COMT genes in Datoga pastoralists of Tanzania//Sci. Rep. - 2013. - Vol. 6. P. 3148.
13. Gray S., Sundal M., Wiebusch B., Little M., Leslie P., Pike I. Cattle raiding, cultural survival, and adaptability of East African pastoralists 1//Curr. Anthropol. - 2003. - Vol. 44 (S5). S3 - S30.
14. Campbell B.C., Gray P.B., Eisenberg D.T., Ellison P., Sorenson M.D. Androgen receptor CAG repeats and body composition among Ariaal men//Int. J. Androl. - 2007. - Vol. 32. No. 2. P. 140 - 148.
15. Buss A.H., Perry M. The aggression questionnaire//J. Pers. Soc. Psychol. - 1992. - Vol. 63. No. 3. P. 452 - 459.
16. Brislin R.W. Back-translation for cross-cultural research//J. Cross-Cult Psychol. - 1970. - Vol. 1. No. 3. P. 185 - 216.
17. Chapman D.W., Carter J.F. Translation procedures for the cross cultural use of measurement instruments//Educ. Eval. Policy Anal. - 1979. - Vol. 1. No. 3. P. 71 - 76.

18. Butovskaya M.L. Wife battering and traditional methods of its control in contemporary Datoga pastoralists of Tanzania//*J. Aggress. Confl. Peace Res.* - 2012. - Vol. 4. No. 1. P. 28 - 44.
19. Butovskaya M.L., Veselovskaya E.V., Prudnikova A.V. Models of man's biosocial adaptation in an industrial society//*Archaeol. Ethnol. Anthropol. Eurasia.* - 2011. - Vol. 38. P. 143 - 154.
20. Woodburn J. Minimal politics: the political organization of the Hadza of North Tanzania. In: Shack WA, Cohen PS, editors. *Politics in leadership: a comparative perspective.* Oxford: Clarendon Press; 1979. P. 244 - 266.
21. Woodburn J. Egalitarian societies//*Man.* - 1982. - Vol. 17. No. 3. P. 431 - 451.
22. Blurton-Jones N, O'Connell J.F., Hawkes K., Kamuzora C.L., Smith L.C. Demography of the Hadza, an increasing and high density population of savanna foragers//*Am. J. Phys. Anthropol.* - 1992. - Vol. 89. No. 2. P. 159 - 181.
- 23 Marlowe F. Why the Hadza are still hunter-gatherers. In: Kent S, editor. *Ethnicity, hunter-gatherers, and the 'other'.* Washington D.C: Smithsonian Institution Press. - 2002. P. 247 - 275.
- 24 Woodburn J. African hunter-gatherer social organization: is it best understood as a product of encapsulation//*Hunters Gatherers.* - 1988. - Vol. 1. P. 31 - 64.
- 25 Sands B. Evaluating claims of distant linguistic relationships: the case of Khoisan Ph.D. dissertation. Los Angeles: University of California; 1995. P. 204.
- 26 Sands B., Maddieson I., Ladefoged P. The phonetic structures of Hadza//*UCLA WPP.* - 1993. - Vol. 84. P. 67 - 88.
27. Henn B.M., Gignoux C.R., Jobin M., Granka J.M., Macpherson J.M., Kidd J.M., Rodríguez-Botigué L., Ramachandran S., Hon L., Brisbin A., Lin A.A., Underhill P.A., Comas D., Kidd K.K., Norman P.J., Parham P., Bustamante C.D., Mountain J.L., Feldman M.W. Hunter-gatherer genomic diversity suggests a southern African origin for modern humans//*Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* - 2011. - Vol. 108. No. 13. P. 5154 - 5162.
28. Blurton-Jones N.G., Hawkes K., O'Connell J.F. Antiquity of postreproductive life: are there modern impacts on hunter-gatherer postreproductive life spans?//*Am. J. Hum. Biol.* - 2002. - Vol. 14. No. 2. P. 184 - 205.
29. Mabulla A.Z. Hunting and foraging in the Eyasi Basin, northern Tanzania: past, present and future prospects//*Afr. Archaeol. Rev.* - 2007. - Vol. 24. No. 1-2. P. 15 - 33.
- 30 Marlowe F. *The Hadza: hunter-gatherers of Tanzania* (Vol. - 3), Berkeley-Los Angeles-London: Univ of California Press; 2010.

31. Elifuraha IL. Tanzania. In: Wessendorf K, editor. The indigenous world 2011. Copenhagen: International Work Group for Indigenous Affairs. P. 423 - 430.
- 32 Manning JT. The finger book. London: Faber & Faber; 2008.
33. Bachu A. Fertility of American men. Working paper series. Washington, D.C: U.S. Dept. of Commerce, Economics and Statistics Administration, Bureau of the Census, Population Division. - 1996. P. 14.
34. Grundy E., Kravdal O. Reproductive history and mortality in late middle age among Norwegian men and women//Am. J. Epidemiol. - 2008. - Vol. 167. No. 3. P. 271 - 279.
35. Butovskaya M.L., Veselovskaya E.V., Prudnikova A.V. Models of man's biosocial adaptation in an industrial society//Archaeol Ethnol Anthropol Eurasia. - 2011. - Vol. 38. No. 4. P. 143 - 154.
36. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing//J. R. Stat. Soc. Series B Stat. Methodol. - 1995. - Vol. 57. No. 1. P. 289 - 300.
37. Wendland J.R., Martin B.J., Kruse M.R., Lesch K.P., Murphy D.L. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531//Mol. Psychiatry. - 2006. - Vol. 11. P. 224 - 226.
38. Lemonde S., Turecki G., Bakish D., Du L., Hrdina P.D., Bown C.D., Sequeira A., Kushwaha N., Morris S.J., Basak A., Ou X.M., Albert P.R. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide//J. Neurosci. - 2003. - Vol. 23. No. 25. P. 8788 - 8799.
39. Kishi T., Tsunoka T., Ikeda M., Kawashima K., Okochi T., Kitajima T., Kinoshita Y., Okumura T., Yamanouchi Y., Inada T., Ozaki N., Iwata N. Serotonin 1A receptor gene and major depressive disorder: an association study and meta-analysis//J. Hum. Genet. - 2009. - Vol. 54. No. 11. P. 629 - 633.
40. Sanders A.R., Duan J., Levinson D.F., Shi J., He D., Hou C., Burrell G.J., Rice J.P., Nertney D.A., Olincy A., Rozic P., Vinogradov S., Buccola N.G., Mowry B.J., Freedman R., Amin F., Black D.W., Silverman J.M., Byerley W.F., Crowe R.R., Cloninger C.R., Martinez M., Gejman P.V. No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics//Am. J. Psychiatry. - 2008. - Vol. 165. No. 4. P. 497 - 506.
41. Tsunoka T., Kishi T., Kitajima T., Okochi T., Okumura T., Yamanouchi Y., Kinoshita Y., Kawashima K., Naitoh H., Inada T., Ujike H., Yamada M., Uchimura N., Sora I., Iyo M., Ozaki N., Iwata N. Association analysis of GRM2 and HTR2A with methamphetamine-

induced psychosis and schizophrenia in the Japanese population//Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry. - 2010. - Vol. 34. No. 4. P. 639 - 644.

42. Tomikawa M. Family and daily life: an ethnography of the Datoga pastoralists in Mangola. Senri Ethnological Studies. - 1978. - Vol. 1. P. 1 - 36.

43 Lane C. Pastures lost: Barabaig economy, resource tenure, and the alienation of their land in Tanzania. Nairobi: Initiatives Publishers, Initiatives Ltd.; 1996.

44. Berggard C., Damberg M., Longato-Stadler E., Hallman J., Orelund L., Garpenstrand H. The serotonin 2A -1438 G/A receptor polymorphism in a group of Swedish male criminals//Neurosci. Lett. - 2003. - Vol. 347. No. 3. P. 196 - 198.

45 Mik H.M., Ehtesham S., Baldassarra L., De Luca V., Davidge K., Bender D., Tharmalingam S., Kennedy J.L., Beitchman J.H. Serotonin system genes and childhood-onset aggression//Psychiatr. Genet. - 2007. - Vol. 17. No. 1. P. 11.

46 Keltikangas-Jarvinen L., Puttonen S., Kivimaki M., Elovainio M., Pulkki-Raback L., Koivu M., Rontu R., Lehtimaki T. Serotonin receptor genes 5HT1A and 5HT2A modify the relation between childhood temperament and adulthood hostility//Genes Brain Behav. - 2008. - Vol. 7. No. 1. P. 46 - 52.

47. Dijkstra J.K., Lindeberg S., Zijlstra L., Bouma E., Veenstra R. The secret ingredient for social success of young males: a functional polymorphism in the 5HT2A serotonin receptor gene//PLoS One. - 2013. - Vol. 8. No. 2. :e54821.

48. Burt S.A., Mikolajewski A.J. Preliminary evidence that specific candidate genes are associated with adolescent-onset antisocial behavior//Aggress. Behav. - 2008. - Vol. 34. No. 4. P. 437 - 445.

49. Moul C., Dobson-Stone C., Brennan J., Hawes D., Dadds M. An exploration of the serotonin system in antisocial boys with high levels of callous-unemotional traits//PLoS One. - 2013. - Vol. 8. No. 2. :e56619.

50. Tomson K., Vaht M., Laas K., Veidebaum T., Harro J. Effect of a human serotonin 5-HT 2A receptor gene polymorphism on impulsivity: dependence on cholesterol levels//J. Affect. Disord. - 2016. - Vol. 206. P. 23 - 30.

51. Fernández-Castillo N., Cormand B. Aggressive behavior in humans: genes and pathways identified through association studies//Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet., - 2016. - Vol. 171. No. 5, P. 676 - 696.

52. Rundle H.D., Nosil P. Ecological speciation//Ecol. Lett. - 2005. - Vol. 8. P. 336 - 352.

53. Fitzpatrick B.M. Underappreciated consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation//Int. J. Ecol. Evol. - 2012. P. 1 - 12. DOI: 10.1155/2012/256017.

54. Nanda P., Singh B.N. Behavioural reproductive isolation and speciation in *Drosophila*//J. Biosci. - 2012. - Vol. 37. P. 359 - 374.
55. Rice W.R. Disruptive selection on habitat preference and the evolution of reproductive isolation: a simulation study//Evolution. - 1984. - Vol. 38. P. 1251 - 1260.
56. Rice W.R., Salt G.W. The evolution of reproductive isolation as a correlated character under sympatric conditions: experimental evidence//Evolution. - 1990. - Vol. 44. P. 1140 - 1152.
57. Coyne J.A., Orr H.A. Speciation. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA., 2004. 545 pp.
58. Bolnick D.I., Kirkpatrick M. The relationship between intraspecific assortative mating and reproductive isolation between divergent populations//Curr. Zool. - 2012. - Vol. 58. P. 484 - 492.
59. Jiang Y., Bolnick D.I., Kirkpatrick M. Assortative mating in animals//Am. Nat. - 2013. - Vol. 181.: E125–E138.
60. Korol A., Rashkovetsky E., Iliadi K., Michalak P., Ronin Y., Nevo E. Nonrandom mating in *Drosophila melanogaster* laboratory populations derived from closely adjacent ecologically contrasting slopes at 'Evolution canyon'//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2000. - Vol. 97. P. 12637 - 12642.
61. Singh S.R., Rashkovetsky E., Iliadi K., Nevo E., Korol A. Assortative mating in *Drosophila* adapted to a microsite ecological gradient//Behav. Genet. - 2005. - Vol. 35. P. 753 - 764.
62. Rundle H.D., Nagel L., Boughman J.W., Schluter D. Natural selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks//Science. - 2000. - Vol. 287. P. 306 - 308.
63. Forbes A.A., Powell T.H.Q., Stelinski L.L., Smith J.J., Feder J.L. Sequential sympatric speciation across trophic levels//Science. - 2009. - Vol. 323. P. 776 - 779.
64. Kiliadis G., Alahiotis S.N., Pelecanos M. A multifactorial genetic investigation of speciation theory using *Drosophila melanogaster*//Evolution. - 1980. - Vol. 34. P. 730 - 737.
65. Dodd D.M.B. Reproductive isolation as a consequence of adaptive divergence in *Drosophila pseudoobscura*//Evolution. - 1989. - Vol. 43. P. 1308 - 1311.
66. Rice W.R., Hostert E.E. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years?//Evolution. - 1993. - Vol. 47. P. 1637 - 1653.
67. Rundle H.D., Chenoweth S.F., Doughty P., Blows M.W. Divergent selection and the evolution of signal traits and mating preferences//PLoS Biol. - 2005. - Vol. 3.: e368.
68. Koukou K., Pavlikaki H., Kiliadis G., Werren J.H., Bourtzis K., Alahiotis S.N. Influence of antibiotic treatment and *Wolbachia* curing on sexual isolation among *Drosophila melanogaster* cage populations//Evolution. - 2006. - Vol. 60. P. 87 - 96.

69. Марков А.В., Куликов А.М. Гипотеза «иммунологического тестирования» партнеров – согласованность адаптаций и смены половых предпочтений//Известия Академии Наук (Серия биологическая). - 2006. - Т. 33, - N 3. - С. 205 - 216.
70. Kawecki T.J., Lenski R.E., Ebert D., Hollis B., Olivieri I., Whitlock M.C. Experimental evolution//Trends Ecol. Evol. - 2012. - Vol. 27. P. 547 - 560.
71. Pfennig D.W., Servedio M.R. The role of transgenerational epigenetic inheritance in diversification and speciation//Non Genet. Inher. - 2013. - Vol. 1. P. 17 - 26.
72. Najjarro M.A., Sumethasorn M., Lamoureux A., Turner T.L. Choosing mates based on the diet of your ancestors: replication of non-genetic assortative mating in *Drosophila melanogaster*//Peer J. - 2015. - Vol. 3.: e1173.
73. Markov A.V., Lazebny O.E., Goryacheva I.I., Antipin M.I., Kulikov A.M. Symbiotic bacteria affect mating choice in *Drosophila melanogaster*//Animal Behavior. - 2009. - Vol. 77. No. 5. P. 1011 - 1017.
74. Miller W.J., Ehrman L., Schneider D. Infectious speciation revisited: impact of symbiont-depletion on female fitness and mating behavior of *Drosophila paulistorum*//PLoS Pathog. - 2010. - Vol. 6.: e1001214.
75. Sharon G., Segal D., Ringo J.M., Hefetz A., Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2010. - Vol. 107. P. 20051 - 20056.
76. Ringo J., Sharon G., Segal D. Bacteria-induced sexual isolation in *Drosophila*//Fly. - 2011. - Vol. 5. P. 310 - 315.
77. Erkosar B., Storelli G., Defaye A., Leulier F. Hostintestinal microbiota mutualism: “learning on the fly”//Cell Host Microbe. - 2013. - Vol. 13. P. 8 - 14.
78. Lizê A., McKay R., Lewis Z. Kin recognition in *Drosophila*: the importance of ecology and gut microbiota//ISME J. - 2014. - Vol. 8. P. 469 - 477.
79. Mooers A.O., Rundle H.D., Whitlock M.C. The effects of selection and bottlenecks on male mating success in peripheral isolates//Am. Nat. - 1999. - Vol. 153. P. 437 - 444.
80. Rundle H.D. Divergent environments and population bottlenecks fail to generate premating isolation in *Drosophila pseudoobscura*//Evolution. - 2003. - Vol. 57. P. 2557 - 2565.
81. Kwan L., Rundle H.D. Adaptation to desiccation fails to generate pre- and postmating isolation in replicate *Drosophila melanogaster* laboratory populations//Evolution. - 2010. - Vol. 64. P. 710 - 723.
82. Trajkovič J., Pavkovič-Lučič S., Savič, T. Mating success and wing morphometry in *Drosophila melanogaster* after long-term rearing on different diets//Behaviour. - 2013. - Vol. 150. P. 1431 - 1448.

83. Markov A.V., Ivnitsky S.B., Kornilova M.B., Naimark E.B., Shirokova N.G., Perfilieva K.S. Maternal effect obscures adaptation to adverse environments and hinders divergence in *Drosophila melanogaster*//Zh. Obshch. Biol. - 2016. - Vol. 6. P. 435 - 442.

84. Dodd D.M.B., Powell J.R. Founder-flush speciation: an update of experimental results with *Drosophila*//Evolution. - 1985. - Vol. 39. P. 1388 - 1392.

85 Butovskaya M.L., Butovskaya P.R., Vasilyev V.A., Sukhodolskaya J.M., Fekhredtinova D.I., Karelin D.V., Fedenok J.N., Mabulla A.Z.P., Ryskov A.P., **Lazebny O.E.** Serotonergic gene polymorphisms (5-HTTLPR, 5HTR1A, 5HTR2A), and population differences in aggression: traditional (Hadza and Datoga) and industrial (Russians) populations compared//J. Physiol. Anthropol. - 2018. - Vol. 37. No. 1. P. 10. DOI: 10.1186/s40101-018-0171-0.

86 Belkina E.G., Naimark E.B., Gorshkova A.A., Markov A.V. Does adaptation to different diets result in assortative mating? Ambiguous results from experiments on *Drosophila*//J. Evol. Biol. - 2018. – Vol. 31. No. 12. P. 1803 - 1814. DOI: 10.1111/jeb.13375

87 Sukhodolskaya E.M., Fehretdinova D.I., Shibalev D.V., Lazebny O.E., Mabulla A.Z.P., Butovskaya M.L., Ryskov A.P., Vasilyev V.V. Polymorphisms of dopamine receptor genes DRD2 and DRD4 in African populations of Hadza and Datoga differing in the level of culturally permitted aggression // Annals of Human Genetics. 2018. DOI: 10.1111/ahg.12263. (WoS, Scopus)

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

### Введение

Одним из наиболее востребованных модельных объектов современной эволюционной биологии развития является небольшая карповая рыба - *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei). Данный вид позвоночных стал одним из первых, у которого был полностью прочтен геном, детально изучен эмбриогенез, скелетогенез, развитие пигментного рисунка и других органов и тканей. Полученные на *D. rerio* результаты легли в основу множества гипотез и теорий, касающихся эволюционных преобразований позвоночных животных [1], в том числе внесли серьезный вклад в понимание процесса трансформации плавников рыб в конечности тетрапод. Выявленная в этих исследованиях роль гормональных регуляций морфогенеза позволила определить механизм формирования набора видоспецифических признаков пучка молодых видов лабеобарбусов озера Тана (Эфиопия) [2]. Несмотря на большое число групп, занимающихся изучением различных аспектов онтогенеза *D. rerio*, и огромное разнообразие современных методов и подходов ими применяемых, развитие мускулатуры оставалось практически не изученным. В литературе имелись лишь отрывочные сведения об онтогенезе мускулатуры парных плавников и головы. Развитие мускулатуры непарных плавников до настоящего момента оставалось «белым пятном». В связи с этим нами была поставлена задача провести детальное изучение морфологии мускулатуры парных и непарных плавников на разных этапах онтогенеза *D. rerio* [3].



Рисунок 6.1 - *Danio rerio*.

### Материалы и методы

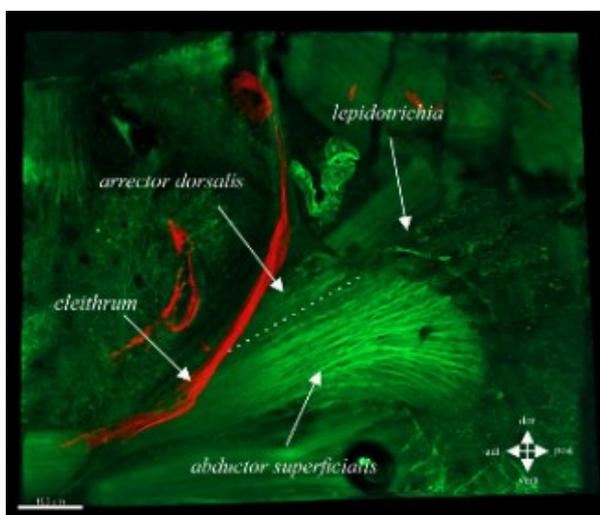
Объектом настоящего исследования являлись предличинки, личинки и молодь *D. rerio*, (Рисунок 6.1) полученные в результате естественного нереста в лабораторных условиях производителей дикого типа (wild-type, АВ). Инкубация икры и последующее выращивание рыб осуществлялись согласно общепринятому протоколу ([www.zfin.org](http://www.zfin.org)).

Ежедневно нами осуществлялась фиксация нескольких рыб (5-7 особей) в 4% параформальдегиде. Затем производилась оценка стандартной длины фиксированных рыб. Последующее окрашивание фаллоидином (phalloidin-Alexa 488) и просветление препаратов проводились согласно стандартным методикам. Анализ окрашенных образцов осуществлялся с использованием конфокального микроскопа Leica LAS AF (Leica, Germany), расположенного в Центре коллективного пользования ИБР РАН.

### Результаты

Проведено детальное описание развития мускулатуры хвостового плавника *D. rerio* [3]. Определена последовательность появления и морфология на разных стадиях онтогенеза всех мышц. Впервые для изучаемого вида обнаружены мышцы, располагающиеся между скелетными структурами, поддерживающими хвостовой плавник - гипуралиями 1-2 и гипуралиями 3-4. Данные мышцы появляются у личинок и исчезают по мере разрастания гипуралий в ширину. Функциональная нагрузка, лежащая на эти мышцы, остается под вопросом.

Изучено развитие мускулатуры спинного и анального плавников. Показано, что в обоих плавниках развитие мускулатуры происходит одинаково. Детально описан паттерн формирования всех слоев мышц для каждого из лучей. Обнаружен ранее не регистрировавшийся слой мышц. Таким образом, установлено, что каждый луч управляется тремя, а не двумя, парными мышцами.



**Рисунок 6.2** - Мускулатура грудного плавника развивающейся личинки *D. Rerio* (SL=6,7 mm)

Произведено описание развития мускулатуры грудных плавников и пояса грудных плавников (Рисунок 6.2). Показано, что мускулатура грудного плавника, также как и скелет, проходит две стадии развития: личиночную и взрослую. На первой стадии

формируется парная недифференцированная мышца, покрывающая всю поверхность хрящевого эндоскелетного диска. К моменту начала деления эндоскелетного диска на радиалии происходит утолщение этой мышцы, а затем ее дифференцировка и формирование взрослой мускулатуры плавника.

Брюшные плавники развиваются значительно позже грудных и непарных. Примечательно, что наши исследования наглядно продемонстрировали совпадения паттернов развития мускулатуры брюшных плавников с паттерном развития мускулатуры непарных плавников.

Таким образом, хвостовой плавник и грудные плавники демонстрируют индивидуальные паттерны развития мускулатуры, несхожие как между собой, так и с непарными плавниками. Это свидетельствует об их независимом происхождении. В то же время, паттерны развития, число и морфология мышц, управляющих движением лучей спинного и анального плавника являются гомологичными, что свидетельствует об общности их происхождения [4]. Примечательно, что такой же паттерн развития демонстрирует и мускулатура, связанная с лучами брюшных плавников. Несмотря на то что взрослая морфология мышц брюшных плавников в корне отличается от морфологии мускулатуры непарных плавников, идентичность паттернов их развития указывает на общность происхождения и является дополнительным свидетельством в поддержку гибридной теории появления парных плавников. Согласно данной теории грудные плавники и их пояс являются производными жаберных дуг, а брюшные плавники и их пояс – производными непарных плавников.

### **Заключение**

Впервые проведено детальное изучение развития мускулатуры парных и непарных плавников одного из наиболее востребованных объектов современной биологии развития позвоночных – *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei). Получены данные, свидетельствующие в пользу «гибридной» теории появления парных плавников, согласно которой грудные и брюшные плавники имеют разное происхождение. Пояс грудных плавников является производной жаберных дуг, так как демонстрирует общий с ними паттерн развития. При этом онтогенез брюшных плавников во многом совпадает с ходом развития туловищных непарных плавников – анального и дорзального, что позволяет рассматривать брюшные плавники в качестве их производных, а тазовый пояс в качестве производной проксимальных и дистальных радиалий – скелетных элементов, поддерживающих непарные плавники.

### Список использованных источников

- 1 Shkil F.N., Smirnov S.V., Kapitanova D.V. Internal sources of infraorbital series and lateral line scale count variability in six Labeobarbus species composing the Lake Tana (Ethiopia) species flock//Journal of Applied Ichthyology. - 2018. - Vol. 34. No. 2. P. 465 – 471. DOI: 10.1111/jai.13665. (WoS, Scopus)
- 2 Woltmann I., Shkil F., De Clercq A., Huysseune A., Witten P.E. Supernumerary teeth in the pharyngeal dentition of slow-developing zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) // Journal of Applied Ichthyology. 2018. DOI: 10.1111/jai.13668. (WoS, Scopus)
3. Siomava N., Shkil F., Voronezhskaya E., Diogo R. Development of zebrafish paired and median fin musculature: basis for comparative, developmental, and macroevolutionary studies//Scientific Reports. - 2018. - Vol. 8. DOI: 10.1038/s41598-018-32567-z. Q1
4. Shkil F.N., Kapitanova D.V. Links between thyroid hormone alterations and developmental changes in the evolution of the Weberian apparatus // In: Johanson Z., Underwood C., Richter M. eds. Evolution and Development of Fishes. Cambridge University Press. 2018. P. 227-240. ISBN 978-1-31683-217-2.

## 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

Выяснение механизмов возникновения фенотипического разнообразия в процессах видообразования – одна из важнейших задач эволюционных исследований [1]. В силу высокого разнообразия этих механизмов и их специфики в разных группах живых существ они активно изучаются во всем мире с применением разнообразных классических и современных методов; интенсивность таких исследований постоянно возрастает, а спектр исследуемых объектов расширяется. Одним из модельных объектов является арктический голец *Salvelinus alpinus* (L.), необычайно изменчивый полиморфный вид рыб, представленный множеством географических группировок и симпатрических форм [2], [3]. Он имеет широкое распространение на арктических побережьях Европы, Азии и Северной Америки [4] и изучается во многих странах мира; актуальны такие исследования и для России, на которую приходится значительная часть его области распространения [5]. Нами в течение ряда лет проводится изучение механизмов

внутривидовой диверсификации у рыб на примере изолированной от основной части ареала реликтовой группировки арктического гольца Забайкалья, где находится один из основных центров активного формообразования этой группы. Здесь в ряде горных озёр встречаются по 2-3 симпатрические формы арктического гольца, отличающиеся друг от друга и от форм из других озёр по экологическим, морфологическим и генетическим признакам [6]. Эти исследования тесно связаны с аналогичными исследованиями, проводимыми у нас в стране и за рубежом на других широко распространенных полиморфных видах костистых рыб Голарктики – сигах *Coregonus lavaretus* [7], трёхиглых колюшках *Gasterosteus aculeatus* [8] и др. Основными задачами в 2018 г. были изучение особенностей размножения разных форм арктического гольца из разных озёр Забайкалья, приводящих к возникновению репродуктивной изоляции, сравнительное изучение раннего онтогенеза разных форм и их гибридов, генетические исследования путей происхождения и степени изоляции симпатрических форм, родственных отношений географических популяций.

### **Материал и методы**

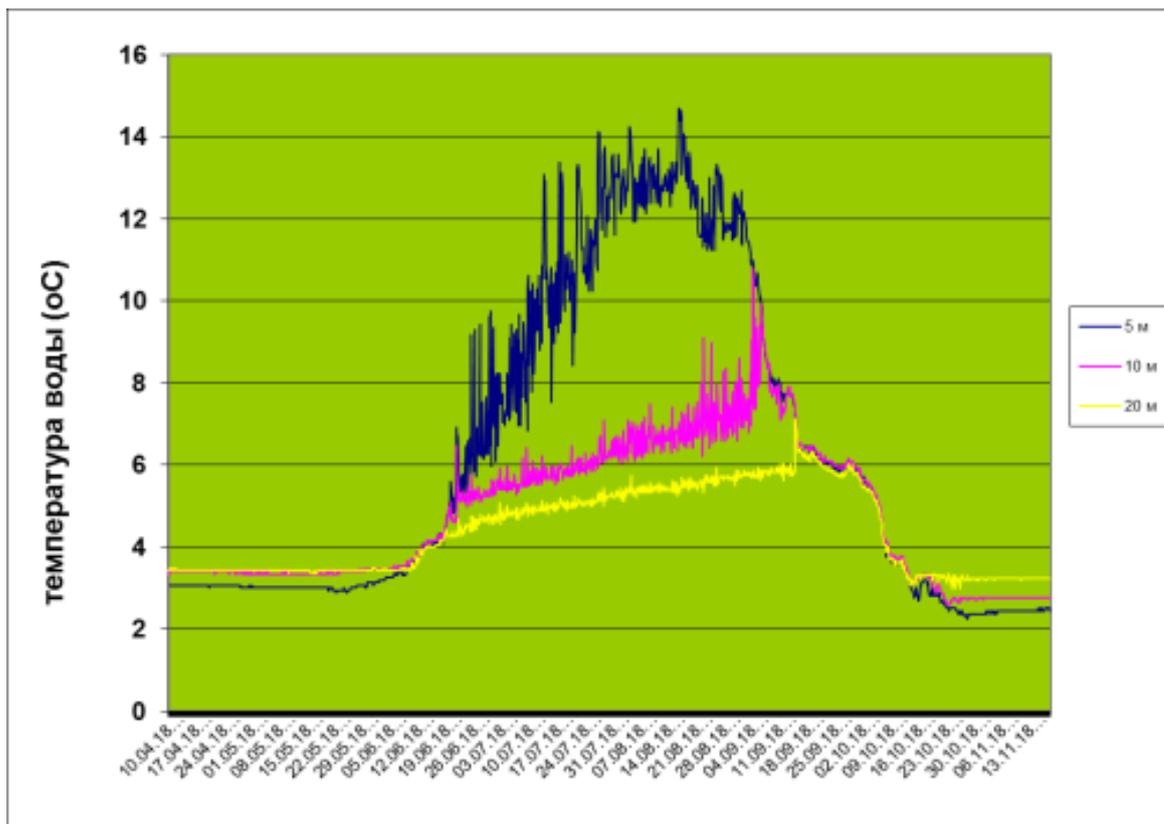
Использован материал, собранный в ходе трех экспедиций в северное Забайкалье в 2018 г. (март-апрель, июнь-сентябрь, ноябрь), приуроченных ко времени нереста весенне-, летне- и осенненерестующих популяций арктического гольца, а также в предыдущие годы. На основании контрольных обловов жаберными сетями определяли места и сроки нереста, определяли лимнические параметры озёр, на нерестилищах при помощи дночерпателя брали пробы грунта, на разной глубине на срок до года выставляли автономные регистраторы температуры, фиксировавшие температуру каждые 2-6 часов; с использованием эхолота и GPS-навигатора составляли карты глубин в районах нерестилищ, вычисляли уловы на единицу промыслового усилия на разных глубинах до, во время и после нереста. У рыб по стандартным методикам [9] определяли ряд репродуктивных показателей, проводили биологический и морфометрический анализы, анализ питания [10], определяли возраст по отолитам [11], брали образцы тканей для генетического анализа, которые фиксировали 96% этанолом. Для изучения онтогенеза икру текущих самок гольца осеменяли спермой текущих 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. Генетические анализы включали

изучение изменчивости нуклеотидных последовательностей контрольной области ДНК, изменчивости 8 микросателлитных локусов, полный геномный анализ (ddRADseq). При обработке данных использовали программы STATISTICA v. 8.0, FISAT II v. 1.2.2, PHYLIP v. 3.6, PAUP\* 4b10, STRUCTURE, v.2.3.2.1, PopART и др.

### Результаты и обсуждение

С целью выяснения механизмов возникновения репродуктивной изоляции в процессе видообразования в сотрудничестве с сотрудниками ИГУ изучены особенности размножения внутривидовых форм арктического гольца *Salvelinus alpinus* в ряде горных озер северного Забайкалья. Особое внимание уделено изучению размножения симпатрических форм в оз. Камканда и симпатрических и парапатрических форм в системе озер Кирылта-3 и Кирылта-4. В оз. Камканда были установлены места и сроки (вторая половина сентября) нереста карликовой бентосоядной формы гольца, что позволило подтвердить предположение о её значительной темпоральной репродуктивной изоляции от планктоноядной мелкой формы, нерестящейся, по полученным ранее данным, в ноябре-декабре. В то же время, продемонстрирована возможность ограниченной гибридизации рано созревающих самцов мелкой формы с самками карликовой и впервые проведено их искусственное скрещивание.

В двух соединенных озерах в верховьях р. Кирылта ранее нами были обнаружены парапатрические популяции мелкой планктоноядной формы с осенним и весенним нерестом (оз. Кирылта-4, ноябрь-декабрь; оз. Кирылта-3, март-апрель), при этом сроки нереста симпатричной с ней крупной хищной формы, в связи с её малочисленностью, были установлены лишь ориентировочно и только в оз. Кирылта-4 (осенний нерест) [12]. В ходе экспедиционных работ 2018 г. подтверждены перекрывание сроков нереста и возможность обмена генами между крупной и мелкой формами в оз. Кирылта-4, а в оз. Кирылта-3, помимо весенненерестующей, обнаружена субпопуляция мелкой формы с осенним (ноябрь) нерестом и получены первые свидетельства осеннего нереста крупной формы. Таким образом, в системе озёр Кирылта документирован уникальный симпатрическо-парапатрический комплекс форм с разными репродуктивными стратегиями и разной степенью репродуктивной изоляции. С помощью автономных регистраторов температуры показано, что возникновение весеннего нереста у мелкой формы в оз. Кирылта-3 может объясняться большей холодноводностью этого озера. В нём, в отличие от оз. Кирылта-4, в течение всего лета в районе нерестилищ на глубине около 10 м сохраняется температура  $< 8^{\circ}\text{C}$  (Рисунок 7.1.), при которой возможно нормальное развитие отложенной весной икры и вылупившихся из нее личинок.



**Рисунок 7.1** - Сезонные изменения температуры воды в оз. Кирялта-3 на разных глубинах по данным, полученным с помощью автономных регистраторов температуры.

На нерестилище мелкой формы арктического гольца на глубине 10 м температура в течение лета не превышает критического значения 8°C и благоприятна для развития икры, отложенной во время весеннего нереста.

Помимо этого, продолжены исследования размножения карликовых форм арктического гольца в озёрах Даватчан и Токко, получены новые данные по экологии их нереста и репродуктивным параметрам. Предпринята попытка изучения размножения арктического гольца в оз. Лёша, но в результате серии контрольных обловов установлено, что популяция в этом озере исчезла. Завершённые исследования размножения парапатрических и симпатрических форм гольцов из озёр Большое и Малое Леприндо оформлены в виде статьи, которая принята в печать [13]. На Рисунке 7.2 приведены обобщенные схемы, иллюстрирующие обнаруженные крупные различия в сроках размножения и раннего развития этих форм.

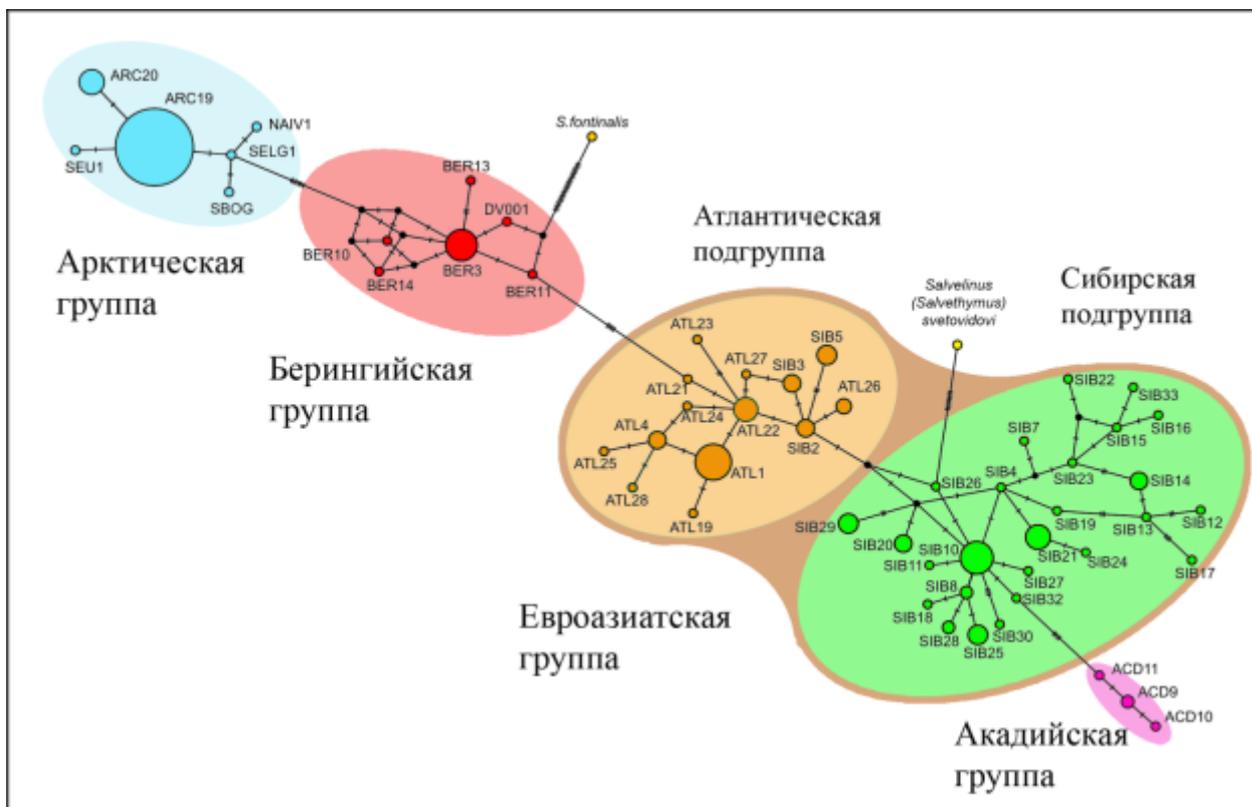


**Рисунок 7.2** - Календарные схемы нереста и событий раннего онтогенеза внутривидовых форм арктического гольца *Salvelinus alpinus* в озёрах Большое и Малое Леприндо

Для изучения онтогенеза разных форм арктических гольцов и их гибридов проведены искусственные скрещивания самок и самцов гольцов карликовой формы из озёр Камканда, Даватчан, Бол. Леприндо и Токко, мелкой формы из озёр Кирылта-3 (весенне- и осенненерестующие субпопуляции) и Кирылта-4; самок карликовой и самцов мелкой формы из оз. Камканда, самки крупной формы и самцов мелкой из оз. Кирылта-4, самок из осенненерестующей субпопуляции мелкой формы из оз. Кирылта-3 с самцами мелкой формы из оз. Кирылта-4, самок карликовой формы из озёр Даватчан и Токко с самцами карликовой формы из оз. Бол. Леприндо. Живая оплодотворенная икра доставлена в Москву, в сотрудничестве с коллегами с каф. ихтиологии МГУ проводится выращивание потомства от этих скрещиваний с периодическим отбором проб для внешнеморфологического и остеологического анализа.

Скрещивания внутри карликовых гольцов из озёр Камканда и Даватчан, мелких осенненерестующих из оз. Кирылта-3, между мелкими осенненерестующими из озёр Кирылта-3 и Кирылта-4, между двумя формами из озёр Камканда и Кирылта-4 проведены нами впервые, остальные – повторно, для обеспечения более репрезентативного материала и оценки межгодовой изменчивости развития. Наиболее важными результатами, полученными на настоящий момент, являются значительное разнообразие ранних стадий развития разных форм/популяций гольцов и относительно высокая жизнеспособность гибридов между ними, свидетельствующая об отсутствии строгой

постзиготической изоляции. Основные результаты сравнительного онтогенетического анализа, в связи с медленными темпами развития и низкой скоростью остеогенеза у холодноводных лососевых рыб, к которым относится арктический голец, ожидаются в течение 1-2 лет.

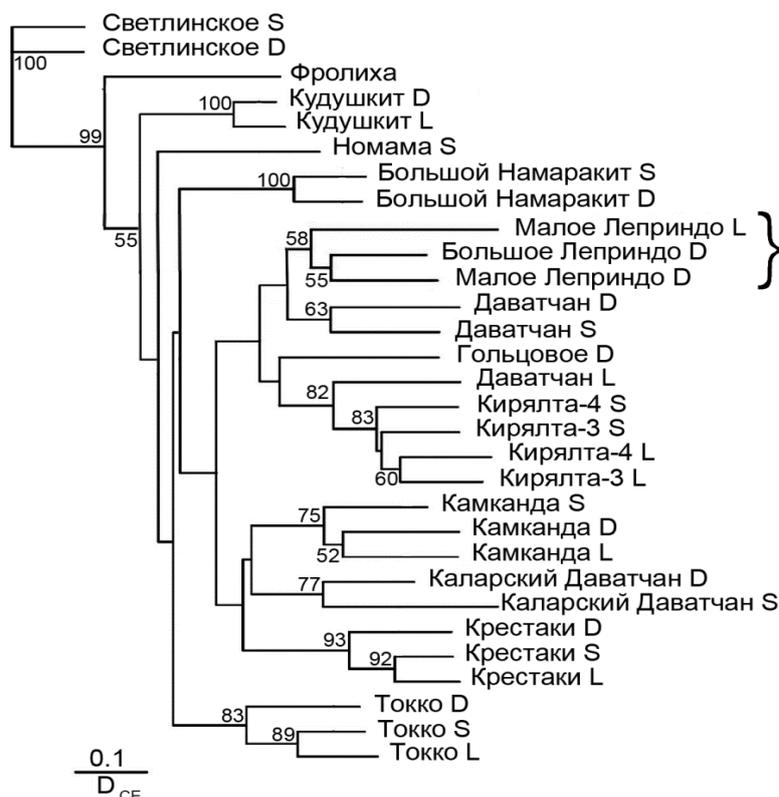


**Рисунок 7.3** - Медианная сеть гаплотипов контрольной области мтДНК арктического гольца *Salvelinus alpinus* и близких к нему видов/форм. Заливкой обозначены границы филогенетических групп и подгрупп.

Опубликованы результаты исследования филогеографии арктических гольцов России от Кольского п-ова до Индигирки по данным анализа нуклеотидных последовательностей контрольной области мтДНК (537-547 п.н.) гольцов из 25 популяций, в котором выделенные ранее атлантическая и сибирская филогенетические группы гольцов в связи с их близостью были объединены в единую евроазиатскую группу в ранге подгрупп (Рисунок 7.3) и было продемонстрировано их широкое распространение на этой территории [14], [15].

В сотрудничестве с коллегами из ун-та Глазго и ИОГен методами популяционной геномики (ddRADseq) и популяционной морфологии проведено пилотное исследование эволюционных путей происхождения параллельных экотипов арктического гольца в 13 озерах Забайкалья (сибирская подгруппа) и Шотландии (атлантическая подгруппа), в которых обитают симпатрические формы этого вида. Показано разнообразие генетических механизмов возникновения морфологически и экологически сходных форм

в разных озерах [16]. В рамках исследования арктических гольцов из озёр Большое Леприндо (карликовая форма) и Малое Леприндо (карликовая и исчезнувшая крупная формы) продемонстрировано общее происхождение всех трёх форм, которые образуют монофилетическую группу на консенсусном NJ дереве, построенном по данным анализа изменчивости 8 микросателлитных локусов (Рисунок 7.4).



**Рисунок 7.4** - Бескорневое консенсусное NJ дерево арктических гольцов *Salvelinus alpinus* из озёр Забайкалья, построенное на основании данных по 8 микросателлитным локусам.

Приведены названия озёр и обозначения форм гольца (D – карликовая, S – мелкая, L – крупная). Вдоль ветвей - индексы бутстрэпа (>50%).

По результатам байесова анализа генетической подразделённости объединенного массива мультилокусных данных выборок из этих двух и четырех близлежащих озёр генотипы гольцов из озёр Большое и Малое Леприндо отнесены к одному кластеру. Эти данные свидетельствуют о возникновении трёх форм внутри системы озер Леприндо. В то же время показана их генетическая сегрегация, свидетельствующая об определённой степени репродуктивной изоляции, в соответствии с различиями репродуктивных стратегий. У всех карликовых гольцов из обоих озёр обнаружен гаплотип контрольной области мтДНК SIB21, который был ранее отмечен и у гольцов из других озёр этого речного бассейна. У крупных гольцов наряду с ним найден новый гаплотип SIB34, отличающийся от SIB21 на одну мутацию. Различия в частотах гаплотипов между карликовыми гольцами из двух озёр, таким образом, отсутствуют, а между ними и крупными гольцами – значимы. В свою очередь, карликовые гольцы из озёр Большое и Малое Леприндо имеют различия по микросателлитам.

#### **Заключение**

Запланированные на 2018 г. работы проведены в полном объеме, достоверность результатов не вызывает сомнений. Полученные результаты показывают, что становление фенотипического разнообразия в ходе формообразования у арктического гольца напрямую связано с формированием различий в репродуктивных стратегиях между его внутривидовыми формами, приводящими к возникновению пре-копуляционных репродуктивных барьеров между ними и к накоплению генетических различий, подтверждаемых проведенными генетическими исследованиями. В дальнейшем планируется продолжить изучение фенотипического разнообразия комплекса форм арктических гольцов Забайкалья и особенностей их размножения в природе, их генетических различий, а также провести сравнительное изучение онтогенезов разных форм и их гибридов на развивающейся модели, полученной на данном этапе работы.

#### **Список использованных источников**

1. Тимофеев-Ресовский Н.В., Воронцов Н.Н., Яблоков А.В. Краткий очерк теории эволюции. - М.: Наука, 1977. - 301 с.
2. Klemetsen A. The most variable vertebrate on Earth//J. Ichthyology. - 2013. - Vol. 53. No. 10. P. 781 - 791.
3. 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.

4. Johnson L. Arctic charr//E.K.Balon (ed). Charrs: salmonid fishes of the genus *Salvelinus*. Perspectives in vertebrate science 1. Dr. W. Junk Publishers, -The Hague, - 1980. P. 15 - 98.
5. Савваитова К.А. Арктические гольцы (структура популяционных систем, перспективы хозяйственного использования). - М.: Агропромиздат, 1989. - 223 с.
6. Алексеев С.С. Распространение, разнообразие и диверсификация арктических гольцов *Salvelinus alpinus* complex (Salmoniformes, Salmonidae) Сибири. - Дисс. докт. биол. наук. 2016. Москва. - 439 с.
7. Ostbye K., Bernatchez L., Næsje T.F., Himberg K.J., Hindar K. Evolutionary history of the European whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) species complex as inferred from mtDNA phylogeography and gill-raker numbers//Molecular ecology. - 2005. - Vol. 14. P. 4371 - 4387.
8. Deagle B.E., Jones F.C., Chan Y.F., Absher D.M., Kingsley D.M., Reimchen T.E. Population genomics of parallel phenotypic evolution in stickleback across stream-lake ecological transitions//Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci. - 2011. - Vol. 279. P. 1277 - 1286.
9. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. - М.: Пищ. пром-сть, 1966. - 324 с.
10. Методическое пособие по изучению питания и пищевых отношений рыб в естественных условиях. - М.: Наука, 1974. - 254 с.
11. 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.
12. Alekseyev S.S., Pichugin M.Yu., Samusenok V.P., Gordeeva N.V., Yur'ev A.L., Khlystov V.S., Matveev A.N. Diversity of reproductive strategies of Arctic charr in Transbaikalia//9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802, - 2018. P. 100. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.
13. 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)//Вопросы ихтиологии (принята в печать).
14. Гордеева Н.В., Алексеев С.С., Кириллов А.Ф., Вокин А.И., Самусенок И.В. Распространение, состав и родственные отношения филогенетических групп арктического гольца *Salvelinus alpinus* (L.) (Salmoniformes, Salmonidae) в европейской части России и Сибири по данным анализа нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК//Вопросы ихтиологии. 2018. - Т. 58. – N 6. - С. 659 - 669.

15. Gordeeva N.V., Alekseyev S.S., Kirillov A.F., Vokin A.I., Samusenok I.V. Phylogeography of Arctic charr in the European part of Russia and in Siberia as revealed by the analysis of nucleotide sequences of mitochondrial DNA//9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802. 2018. P. 90. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.

16. Jacobs A., Carruthers M., Yurchenko A., Gordeeva N., Alekseyev S., Adams C., Elmer K. Parallel and non-parallel aspects of genomic and phenotypic evolution of Arctic charr// 9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802. 2018. P. 15. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.

## 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

Оценка влияния экологических факторов на здоровье человека – одна из актуальных задач для обеспечения необходимого качества жизни (определяющим фактором для этого является здоровье) на фоне все нарастающего негативного влияния окружающей среды, вследствие разных видов глобального и локального антропогенного воздействия, изменения климата.

Популяционное здоровье зависит от множества различных неблагоприятных факторов (среди которых курение, избыточное употребление алкоголя, наркотики, малая физическая подвижность, недостаток витаминов и другие). Эксперты ВОЗ и Всемирного Банка, анализируя причины сверхвысокой смертности в России, определили вклад факторов окружающей среды в 1-2%, что значительно ниже, чем от социальных факторов [1].

Все это определяет необходимость поиска все новых операциональных подходов для получения таких оценок. Определенная информация о благоприятности среды для здоровья живых существ может быть получена при использовании методологии здоровья среды, связанной с оценкой состояния природных популяций разных видов животных и растений по гомеостазу развития [2].

Среди разных подходов к оценке качества окружающей среды, наиболее близкой к получению характеристики благоприятности условий для здоровья человека, оказывается концепция и методология здоровья среды [2], [3]. Суть этого подхода состоит в оценке качества среды по состоянию природных популяций разных видов живых существ. Он может быть использован как в отношении отдельных видов, так и для характеристики состояния, здоровья экосистемы, путем интегрирования результатов оценки состояния разных видов ее составляющих. Особенностью подхода является то, что для оценки здоровья экосистем и видов используются не экосистемные или популяционные параметры, а показатели состояния организма для разных видов.

Главная мишень такой оценки – гомеостаз развития, как базовая характеристика, обеспечивающая нормальное состояние организма. Это и является основанием для того, чтобы говорить об оценках состояния здоровья. Изменение гомеостаза является первой реакцией организма на стрессирующее воздействие самой разной природы. Поэтому такая

система оценки выступает как система раннего предупреждения для выявления начальных изменений состояния организма. Сходство ответов, выявляемых для разных видов, обеспечивает надежную оценку изменения здоровья экосистемы.

Предлагаемая система включает ряд подходов, нацеленных на разностороннюю характеристику гомеостаза развития. Среди таких подходов оценки морфогенетического и цитогенетического гомеостаза, иммунного статуса, биохимические (оценка окислительного стресса) и физиологические (оценка энергетического обмена и процессов роста, анализ фотосинтеза) тесты. Общий итог проведенных оценок показал, что изменение состояния живых организмов оказывается неспецифическим ответом на неблагоприятные воздействия самой разной природы. Это позволило охарактеризовать подход, связанный с оценкой здоровья среды по состоянию гомеостаза развития разных видов живых существ в качестве операционального подхода для оценки и мониторинга качества среды [4].

На основании данных, полученных при обосновании подходов к оценке здоровья среды, как в лабораторных экспериментах, так при исследовании в природных популяциях, общая схема возможных изменений состояния живого организма, оцениваемого по гомеостазу развития, может быть представлена следующим образом. Высокий уровень гомеостаза развития соответствует благополучному состоянию организма. Это достигается на базе необходимой генетической коадаптации при оптимальных условиях развития. При отклонении от этих условий в силу разных причин наблюдается неспецифический ответ в виде ухудшения состояния организма, которое связано со снижением уровня гомеостаза развития. Дальнейшее усиление неблагоприятного воздействия уже может сопровождаться снижением жизнеспособности. Таким образом, на начальных этапах отклонение состояния организма от условной нормы может быть обнаружено лишь по показателям гомеостаза развития. Этим и определяется чувствительность предлагаемого подхода оценки здоровья среды по гомеостазу развития. По сути, эта схема отражает возможные изменения здоровья.

Все это и определяет возможность приложения оценок, получаемых при использовании методологии здоровья среды, для ориентировочной оценки благоприятности оцениваемого воздействия или качества среды для здоровья человека. Это касается как общей методологии, связанной с оценкой состояния живого организма по гомеостазу развития, так и конкретных используемых при этом подходов. Рекомендуемые при этом цитогенетические, биохимические и иммунологические тесты обычно используются в медицине и скорее требуют адаптации применительно к разным

видам живых существ. Существуют успешные практики использования физиологических и морфогенетических тестов для оценки здоровья человека [5-9].

Преимущество подходов при оценке здоровья среды – в возможности получения более однозначных оценок опасности воздействия для состояния живого организма, вследствие отсутствия социально-психологических барьеров и ограничений как при получении данных по различным подходам, так и при интерпретации результатов. Это дает возможность интегральной оценки реальной ситуации, которая имеет место при всем комплексе самых разных воздействий, как антропогенной, так и естественной природы, в отношении состояния живых организмов, которые находятся в данных условиях в течение всего жизненного цикла.

Оценка качества среды для характеристики ее опасности для здоровья человека может быть представлена по следующим основным направлениям. Прежде всего, это проведение физико-химических анализов для оценки степени воздействия. При затруднительности проведения таких оценок в отношении всех возможных воздействий, этот подход скорее может служить для выявления причинно-следственных связей при обнаружении изменений в состоянии здоровья. Далее, это оценка возможных изменений биоразнообразия. Затруднение в интерпретации получаемых при этом оценок состоит в том, что такие изменения вовсе не обязательно свидетельствуют об опасности воздействия для здоровья человека, а неизменность ситуации вовсе не означает сохранения благоприятных условий среды для здоровья. В качестве третьего подхода такой оценки, наиболее адекватного для поставленной цели, выступает оценка здоровья среды, которая представляет собой модель для оценки безопасности среды для здоровья живых существ.

При использовании собственно медицинских подходов получают данные по реальной (как в случае экологической эпидемиологии) или ожидаемой при оцениваемом воздействии (как при оценке экологического риска) изменений состояния здоровья человека. Неоднозначность оценок определяется социальными, психологическими и другими факторами, которые существенно ограничивают возможности таких оценок для установления причинно-следственных связей. В большинстве случаев в ответ на различные экологические и социально-психологические стрессы наблюдается неспецифический ответ в виде ухудшения состояния, снижения иммунного статуса и нарушения общего гомеостаза организма. Вследствие этого при самых разных видах воздействия может наблюдаться не столько появление каких-то специфических заболеваний, а повышение общей заболеваемости. Выявление специфических изменений

состояния здоровья населения возможно лишь при проведении достаточно сложных аналитических эколого-эпидемиологических работ [10].

В случае проведения оценок по экологической эпидемиологии получение данных о влиянии экологических факторов на здоровье предполагает специальные детальные исследования, поскольку обычно предоставляемые данные по медицинской статистике не удовлетворяют необходимым для такого анализа требованиям. Кроме того, даже при выполнении этих требований, установление причинно-следственной связи определенного воздействия с параметрами заболеваемости населения обычно затруднительно. Даже немногочисленные аналитические эколого-эпидемиологические работы, выполненные на должном методическом уровне, не учитывают вклад воздействия различной ситуации в месте проживания и работы, перемещений в течение жизни, возможных психологических стрессов. В связи с этим даже в тех случаях, когда происходит взыскание компенсации за нанесенный ущерб, это обычно касается лишь морально вреда. Кроме того, проведение таких оценок благоприятности среды для здоровья человека затруднительно в мало населенных или ненаселенных районах.

При оценках экологического риска определенного воздействия на здоровье человека, получаемые оценки и модели также нуждаются в оценке реальной ситуации при всем комплексе различных воздействий на исследуемой территории. Отсутствие надежной информации о степени воздействия различных факторов также накладывает определенные ограничения на такие оценки.

Оценки, получаемые при использовании методологии здоровья среды как раз и нацелены на характеристику благоприятности или неблагоприятности среды для живого организма по состоянию живых существ, находящихся при всем комплексе различных воздействий на исследуемой территории. Именно поэтому оценки здоровья среды могут быть использованы для характеристики опасности оцениваемого воздействия для живого организма, включая человека.

### **Методы**

Методология предполагает использование спектра методов, которые оценивают эффективность механизмов гомеостаза развития. Набор конкретных методов зависит от целей проводимой оценки, и по мере совершенствования технологии может несколько изменяться [2].

Морфологический подход. В качестве базового подхода использован морфологический подход, основанный на оценке стабильности развития. Основным подходом при оценке морфологических изменений, вследствие нарушений гомеостаза

развития, является морфогенетический, который связан с оценкой стабильности развития. Эта характеристика дает оценку совершенства онтогенетических процессов по величине фенотипического разнообразия, связанного с нарушениями в индивидуальном развитии. Для комплекса морфологических признаков используется величина интегрального показателя флуктуирующей асимметрии. Для получения сравнительных оценок разработана пятибалльная шкала отклонений состояния организма от нормы по величине интегрального показателя. Частота фенотипических отклонений в развитии, патологоанатомические и гистологические изменения также могут быть использованы для оценки стрессовых воздействий.

Оценка стабильности развития проводилась в отношении следующих модельных объектов, включая представителей млекопитающих (рыжая полевка, *Clethrionomys glareolus*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*) и растений (береза повислая, *Betula pendula*). Параллельно с оценкой стабильности развития были использованы генетический и иммунологический подходы для характеристики гомеостаза развития.

Генетический подход. Цитогенетические изменения в соматических клетках представляют собой интегральный показатель гомеостаза развития, характеризуя как мутагенность среды, так и эффективность иммунной системы организма. Наличие таких нарушений является индикатором стресса, ведущего к появлению аномальных клеток и снижению иммунной потенции организма элиминировать подобные нарушения. Такие генетические нарушения могут быть выявлены как на хромосомном, так и на молекулярном уровне. Цитогенетические методы, основанные на оценке структурных и числовых изменений хромосом в соматических клетках (включая микроядерный тест, сестринские хроматидные обмены, хромосомные aberrации и др.) обеспечивают характеристику стрессового состояния организма. По частоте aberrантных клеток разработана шкала отклонений состояния организма от условной нормы. Эти исследования проводились совместно с ИПЭЭ РАН.

Иммунологический. Одной из наиболее важных характеристик состояния живого организма является оценка эффективности иммунной системы. В дополнение к выше указанному цитогенетическому подходу, возможна оценка и других изменений иммунной потенции организма путем анализа других иммунологических параметров, таких как состав крови, продукция антител, эффективность иммунного ответа, устойчивость к заболеваниям и стрессу и др. В качестве одного из основных показателей было предложено использовать пролиферативную активность лимфоидных клеток, а для балльной оценки – индекс отклонений от условной нормы. Эти исследования проводились совместно с НИЦЭМ Минздрава РФ.

Для оценки популяционного здоровья и его возможных изменений были использованы медицинские подходы, включая экологическую эпидемиологию и оценку экологического риска. Эти исследования проводилось совместно с ИМП РАН.

### **Результаты и обсуждение**

Ответ на поставленные вопросы предполагает проведение и анализ результатов параллельной оценки здоровья человека и среды.

Такая параллельная оценка была проведена на средней Волге, в районе города Чапаевска. Многолетняя деятельность химического предприятия привела к загрязнению окружающей среды этого города диоксинами, полихлорированными бифенилами и другими супертоксикантами. В результате проведенных оценок город получил статус зоны экологического неблагополучия. Оценка экологической опасности для человека показала существенное снижение здоровья, серьезное повышение заболеваемости и оценок риска по целому ряду показателей. Содержание диоксинов и других хлорорганических веществ в крови детей, грудном молоке матерей было значительно выше, чем на других территориях мира [11]. Исследование с использованием метода «case-control» доказало, что длительное проживание в наиболее загрязненном районе является риском развития рака молочной железы [12]. Клиническое обследование супружеских пар, страдающих бесплодием, подтвердило такие нарушения эндокринного статуса, как недостаточность лютеиновой фазы и эндометриоз у женщин; идиопатические формы бесплодия со сниженными показателями спермы у мужчин [13]. Последующие исследования в г. Чапаевске с 1998 г. по настоящее время, проведенные в рамках лонгитудинального анализа по оценке влияния диоксинов на здоровье мальчиков совместно с Гарвардской Школой общественного здоровья (Бостон, США), выявили зависимости между содержанием в крови диоксинов и задержанием полового и физического развития детей и молодых мужчин [14], [15], генетические изменения [16].

Оценки здоровья среды показали существенное изменение состояния живых существ, как по наземным, так и по водным экосистемам (4-5 балл пятибалльной шкалы отклонений состояния организма от условной нормы, критическое состояние,  $p > 0,01$ ). Для модельного вида по наземным экосистемам – рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) были получены следующие данные. Стабильность развития оценивалась по величине интегрального показателя: среднее частота асимметричного проявления на признак по десяти краниологическим признакам (величина показателя в зоне воздействия составила  $0,47 \pm 0,03$ , в контроле  $0,31 \pm 0,04$ ). Цитогенетический гомеостаз оценивался по частоте абберантных клеток (величина показателя в зоне воздействия  $9,63 \pm 1,80$ , в контроле

2,85±0,79). Иммунный статус оценивался по величине интегрального индекса отклонений от условной нормы по ряду показателей состояния иммунной системы (величина показателя в зоне воздействия 4,40±0,07, в контроле 1,80±1,00). Данные, полученные в отношении мутагенного и тератогенного эффекта, снижении иммунного статуса, позволяют говорить о реальной угрозе экологической ситуации и для здоровья человека. Эти заключения были использованы для интерпретации данных, полученных в отношении человека, в качестве свидетельства роли экологических факторов в ухудшении здоровья населения даже в условиях крайне острых социально-экономических проблем в исследуемом районе.

На территории города Москвы была обнаружена параллель в изменении показателей заболеваемости и оценок экологического риска для здоровья человека с изменениями оценок здоровья среды (по разным видам при использовании разных подходов) при сравнении районов с более благополучной (в районе Ленинского проспекта) и напряженной экологической ситуацией (Капотня). Для модельного вида – полевой мыши (*Apodemus agrarius*) были получены следующие результаты. Стабильность развития оценивалась по величине интегрального показателя: среднее частота асимметричного проявления на признак по десяти краниологическим признакам (величина показателя в более загрязненном районе 0,46±0,03, в менее загрязненном 0,41±0,02). Цитогенетический гомеостаз оценивался по частоте аберрантных клеток (величина показателя в более загрязненном районе 6,33±0,80, в менее загрязненном 5,33±0,42). В наиболее загрязненных районах Москвы частота случаев бронхиальной астмы среди детей в 1,6 раза выше, чем на юго-западе города [17].

Сходство оценок здоровья среды с оценками экологического риска для здоровья человека было получено и для разных районов города Воронежа. Изменение здоровья среды (снижение стабильности развития у растений) и показателей здоровья человека (нарастание канцерогенного риска от загрязнения атмосферы мелкодисперсными частицами) наблюдалось при сравнении районов в градиенте нарастания степени антропогенного воздействия. У модельного объекта – березы повислой (*Betula pendula*) стабильность развития оценивалась по величине интегрального показателя: среднее относительное различие между сторонами на признак по пяти промерам листа (величина показателя на «промышленной территории» 0,054±0,003 с «спальным районом» 0,043±0,003). Оценки экологического риска (мелкодисперсные частицы, PM10) на уровне 5 балла на «промышленной территории» и на уровне 1 балла в «спальном» районе.

Сходные изменения здоровья среды (по оценкам стабильности развития растений) и заболеваемости человека были отмечены при сравнении разных районов в городе Калуге

[18]. Все эти факты естественно не означают сходства причинно-следственных связей выявленных эффектов, но демонстрируют, что напряжение экологической ситуации сказывается на здоровье человека и среды.

Все это дает основание для использования показателей здоровья среды для ориентировочной оценки благоприятности оцениваемого воздействия для человека в тех случаях, когда проведение других оценок не представляется возможным. В качестве примера можно привести оценку опасности среды для здоровья человека в районе аварийного химического загрязнения [2]. Использование подходов экологической эпидемиологии оказалось затруднительным в этом малонаселенном районе. Ограничены были и возможности для проведения оценок экологического риска, вследствие отсутствия достоверной информации обо всех видах загрязняющих веществ, попавших в окружающую среду вследствие произошедшей аварии. В этих условиях использование подходов здоровья среды оказывается единственно возможным путем для получения необходимых оценок.

### **Заключение**

Проведенный анализ и примеры параллельных исследований с использованием разных подходов [19-21], включая оценку здоровья среды, эколого-эпидемиологических показателей и экологического риска, свидетельствуют о возможности получения принципиально сходных характеристик качества среды. В силу особенностей каждого из этих подходов при этом получается взаимодополняющая информация, полезная для получения более полной картины и понимания природы наблюдаемых изменений здоровья человека и среды. При использовании собственно медицинских подходов получается интегральная информация о возможных изменениях здоровья человека на основе данных по заболеваемости. При использовании подхода, связанного с оценкой здоровья среды, получается информация об опасности воздействия для живых существ, на основе общих оценок состояния организма, которая представляет интерес для оценки возможных последствий для здоровья человека.

Таким образом, проведенный анализ позволяет говорить о перспективности использования оценок здоровья среды для ориентировочной характеристики благоприятности определенного воздействия или качества среды на исследуемой территории для здоровья человека, а также для интерпретации результатов, получаемых в области экологической эпидемиологии и оценки экологического риска для здоровья человека.

### Список использованных источников

1. Ревич Б.А. К оценке факторов риска смертности населения России и реальности их снижения: Комментарии к докладу Всемирного банка «Рано умирать». Проблемы прогнозирования. - 2006. – N 6. - С. 114 - 131.
2. 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.
3. Захаров В.М. Здоровье среды: концепция. М.: Центр экологической политики России. - 2000. - 30 с.
4. Захаров В.М., Трофимов И.Е. Оценка здоровья среды: экологическое нормирование (оценка состояния природных популяций по стабильности развития) // Вопросы экологического нормирования и разработка системы оценки состояния водоемов: Материалы Объединенного Пленума Научного совета ОБН РАН по гидробиологии, Гидробиологического общества при РАН и Межведомственной ихтиологической комиссии/Под ред. Павлова Д.С., Розенберга Г.С., Шатуновского М.И. М.: Тов-во научных изданиях КМК. - 2011. - С. 102 - 120.
5. Shapiro B.L. Development of human autosomal aneuploid phenotypes (with an emphasis on Down syndrome)//Acta Zool. Fennica. - 1992. – N 191. P. 97 - 105.
6. Fraser F.C. Developmental instability and fluctuating asymmetry in man/ Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implication. - Ed. T.A. Markow. Kluwer Academic Publishers. - 1994. P. 319 - 334.
7. Pechenkina E.A., Benfer R.A., Vershoubская G.G., Kozlov A.I. Genetic and environmental influence on the asymmetry of dermatoglyphic traits//Amer. J. Phys. Anthropol. - 2000. - Vol. 111. P. 531 - 543.
8. Mishra A.M., Chaubey R., Gautam R. Dermatoglyphic studies and its application in disease diagnosis with1 special reference to the breast cancer // Man In India. - 2004. Vol. - 84. P. 109-112.
9. Шадрина Е.Г., Третьякова А.М. Применение дерматоглифических показателей при изучении внутривнутрипопуляционных группировок (на примере населения Якутии)//Особь и популяция – стратегии жизни/IX Всерос. Популяц. семинар. Ч. 1. Уфа, 2006. - С. 528-533.
10. Ревич Б.А. Загрязнение окружающей среды и здоровье населения. Введение в экологическую эпидемиологию. - Учеб. пособие. М.: МНЭПУ, 2001. - 264 с.

11. Ревич Б.А., Сергеев О.В., Хаузер Р. Диоксины, фураны и ПХБ в крови подростков Чапаевска – первые результаты проспективного эпидемиологического исследования//Токсикологический вестник. - 2006. – N 6. - С. 2 - 8.
12. Ревич Б.А., Ушакова Т.И., Сергеев О.В., Зейлерт В.Ю. Рак молочной железы в г.Чапаевске с высоким уровнем загрязнения окружающей среды диоксинами//Гигиена и санитария. - 2005. - N 1. - С. 18 - 21.
13. Засыпкин М.Ю. Современные подходы к решению проблемы бесплодия среди населения городов с развитой химической промышленностью: Автореф. дисс. канд. мед. наук. М. - 1995.
14. Mingues-Alarcon L., Sergeev O., Revich B. et al. A longitudinal study of peripubertal serum organochlorine concentration and semen parameters in young men: The Russian childrens study//Environmental Health Perspective. - 2017. – Vol. 125. No. 3.: [do:org/10.1289/EHP25](https://doi.org/10.1289/EHP25)
15. Lam T., Williams P.L., Lee M.M., Korrick S.A., Birnbaum L.S., Burns J.S., Sergeyev O., Revich B., Altshul L.M., Patterson D.G., Hauser R. Prepubertal Serum Concentrations of Organochlorine Pesticides and Age at Sexual Maturity in Russian Boys//Environ Health Perspect. - 2015. - No. 123. P. 1216 - 1221.
16. Humblet O., Korrick S., Paige., Revich B. et al. Genetic modification of the association between Peripubertal dioxin exposure and pubertal onset in a cohort of Russian boys//Environmental Health Perspective. - 2016. - Vol. 124. No. 1.: [doi:10.1289/EHP1408104](https://doi.org/10.1289/EHP1408104)
17. Ермаков Н.В., Дубров Ю.Н., Мирошниченко Е.В. и др. Медико-экологическая карта загрязнения атмосферного воздуха города Москвы на основе распределения случаев атопической бронхиальной астмы по территории жилых кварталов//Атмосфера. Пульмонология и аллергология. - 2013. – N. 4. - С. 19 - 23.
18. Стрельцов А.Б. Региональная система биологического мониторинга. - Калуга: Изд. Калужского ЦНТИ, 2003. – 158 с.
19. Zakharov V.M., Revich B.A., Trofimov I.E. Role of assessment of the health of the environment for characterizing the impact of environmental factors on human health (Assessment of health of humans and the environment: Possible approaches)//Russian Journal of Developmental Biology. V. 49. N 1. P. 12-17. DOI: 10.1134/S1062360418010083). (WoS) Захаров В.М., Ревич Б.А., Трофимов И.Е. Роль оценки здоровья среды для характеристики влияния экологических факторов на здоровье человека (оценка здоровья человека и среды: возможные подходы)//Онтогенез. - 2018. - Т. 49. - N 1. - С. 15 - 21. DOI: 10.7868/S0475145018010020. (РИНЦ)
- 20 Zakharov V.M., Minin A.A., Trofimov I.E. Study of developmental homeostasis: From population developmental biology and the health of environment concept to the sustainable

development concept//Russian Journal of Developmental Biology. – 2018. - Vol. 49. No. 1. P. 1-11. DOI: 10.1134/S1062360418010071). (WoS) Захаров В.М., Минин А.А., Трофимов И.Е. Исследование гомеостаза развития: от популяционной биологии развития и концепции здоровья среды до концепции устойчивого развития//Онтогенез. - 2018. - Т. 49. – N 1. - С. 3 - 14. DOI: 10.7868/S0475145018010019. (РИНЦ)

21 Захаров В.М., Смуров А.В. Концепция здоровья среды: история и перспективы развития (основные вехи)//Жизнь Земли. - 2018. - Т. 40. – N 2. - С. 152 - 157. (РИНЦ)

## ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ механизмов эволюционной дивергенции видов проводится на разных уровнях организации живых систем – от молекулярного до биогеоценотического. Исследования изменений биоценозов под влиянием антропогенного фактора носят выраженный прикладной характер и направлены на выявление экологических рисков по оценкам маркерных показателей стабильности развития видов - типичных представителей данного биоценоза. Работы, посвященные анализу адаптивной радиации видов, имеют как прикладное, так и фундаментальное значение. Анализ популяций охраняемых, ландшафтообразующих и хозяйственно-ценных видов (наземных беличьих, слепышей и хомяковых, арктических гольцов) позволяет получить оценки состояния и распространенности видов и способствует поддержанию их биоразнообразия. Вместе с тем на основе проводимых исследований изучаются механизмы формирования специфических адаптаций, роль хромосомных перестроек и молекулярно-генетические механизмы их формирования, уточняется эволюционная история и филогенетическое положение видов. Работы, посвященные анализу онтогенетических закономерностей формирования видоспецифических признаков костистых рыб позволяют определить эволюционную историю формирования различных морфологических признаков – от недавних приобретений специфических характеристик формы челюстного аппарата до древних событий формирования поясов парных конечностей. Особенный интерес в этих исследованиях представляет эволюционная пластичность признаков, связанная с гормональными регуляциями ранних этапов онтогенеза, что предполагает в ряде случаев высокую скорость формирования эволюционных новшеств. Популяционно-генетические исследования на модели мышевидных грызунов и сусликов показывают высокие темпы накопления молекулярно-генетической изменчивости по ядерным и митохондриальным маркерам, сопутствующие территориальному разделению популяций и существенному снижению потока генов между ними. Реконструкция эволюционной истории видов проводится с применением ядерных и митохондриальных последовательностей, а так же «геномных окаменелостей» - интрогрессированных в состав ядерного генома фрагментов митохондриальных последовательностей, или NUMT-ов, маркирующих этапы дивергенции видов и сохраняющих характеристики предковой последовательности. Анализ изменчивости бактериальных симбионтов из популяций божьих коровок (*H. axyridis*) демонстрирует высокую скорость «одомашнивания» штаммов спироплазм, играющих существенную роль в формировании репродуктивной изоляции между популяциями, зараженными разными штаммами. Значительное внимание уделено поведенческим механизмам формирования презиготической изоляции между

родственными видами. Работы велись на различных видах дрозофилид, на видах млекопитающих (наземные белычьи). Если у млекопитающих эти исследования пока ограничиваются анализом характеристик коммуникативных сигналов, то у дрозофил изучаются генетические основы видоспецифического паттерна брачного поведения. На видах слепушонок, утративших в ходе эволюции Y-хромосому, изучались процессы детерминации пола. Большой интерес вызывает показанный ключевой эффект гена *Rspo1* в процессах детерминации пола, приводящий в случае инактивации экспрессии у большинства видов млекопитающих к передифференцировке пола. На модели дафний ведется анализ глобального изменения экспрессии генома в ходе детерминации пола, выявляются ключевые гены, определяющие специфику онтогенеза самцов и самок в данной модели. Продолжаются работы по оценке генетических основ изменчивости в пределах нормы агрессивного поведения у человека. Показано, что в обществах с различными социокультурными нормами контроль степени и способов выражения агрессии обеспечен различными генетическими системами.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ГОСЗАДАНИЯ

\*отчетные публикации

### Раздел 1

1 \***Капустина S.Yu., Lyapunova E.A.,** Adiya Ya., **Brandler O.V.** Features of Interspecific Contacts and Hybridization of Ground Squirrels (Marmotinae, Sciuridae, Rodentia) in Mongolia//Doklady Biochemistry and Biophysics. - 2018. - Vol. 482. No. 1. P. 275 - 278. DOI 10.1134/S1607672918050125.

### Раздел 2

2 \*Bekker E.I., Karabanov D.P., **Galimov Y.R.**, Haag C.R., Neretina T.V., Kotov A.A. Phylogeography of *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) in Northern Eurasia: Evidence for a deep longitudinal split between mitochondrial lineage//**PLOS One**. - 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0194045. -Q1

3 \*Fields P.D., Obbard D.J., McTaggart S.J., **Galimov Y.**, Little T.J., Ebert D. Mitogenome phylogeographic analysis of a planktonic crustacean//**Molecular Phylogenetics and Evolution**. - 2018. DOI: 10.1016/j.ympev.2018.06.028 -Q1

4 \*Borisova P.B., Schepetov D.M., Budaeva N.E. Aponuphis kucheruk, 1978 (Annelida: Onuphidae) from western African waters//Invertebrate Zoology. - 2018. - Vol. 15, No. 1. P. 19 - 41. DOI: 10.15298/invertzool.15.1.02.

5 \*Андрианов Б.В., **Блехман А.В.**, Горячева И.А., Захаров-Гезехус И.А., Романов Д.А. Азиатская божья коровка HARMONIA AXYRIDIS: глобальная инвазия. Монография / Под редакцией чл.-корр. РАН М.А. Захарова-Гезехуса – М.: Товарищество научных изданий КМК. - 2018. – 143 с. ISBN 978-5-907099-51-7. Andrianov B., Blekhman F., Goryacheva I., Zakharov-Gezekhus I., Romanov D. Asian ladybird HARMONIA AXYRIDIS: global invasion / М.: KMK Scientific Press Ltd. – 2018. – 143 p. ISBN 978-5-907099-51-7

6 \***Капустина С.Ю.,** Адъяа Я., **Брандлер О.В.** Генетическая дифференциация даурского суслика *Spermophilus dauricus* Brandt, 1843 по данным изменчивости контрольного региона митохондриальной ДНК//Известия РАН. Сер. биол. - 2018. – N 5. - С. 494 - 504. DOI: 10.1134/S0002332918050065 / **Капустина S.Yu.,** Adiya Ya., **Brandler O.V.** Genetic differentiation of the daurian ground squirrel *Spermophilus dauricus* Brandt, 1843 according to variability of the mitochondrial DNA Control Region//**Biology Bulletin**. - 2018. - Vol. 45. No. 5. P. 438 - 447. DOI: 10.1134/S1062359018050060

7 \*Goryacheva I., **Blekhman A.**, Andrianov B., Romanov D., Zakharov I. Spiroplasma infection in *Harmonia axyridis* - Diversity and multiple infection // **PLoS ONE**. - 2018. - Vol. - 13, No 5. e0198190. DOI: 10.1371/journal.pone.0198190. -Q1

8. \*Matveevsky S., Ivanitskaya E., Spangenberg V., **Bakloushinskaya I.**, Kolomiets O. Reorganization of the Y chromosomes enhances divergence in Israeli mole rats *Nannospalax ehrenbergi* (Spalacidae, Rodentia): comparative analysis of meiotic and mitotic chromosomes//Genes. - 2018. - Vol. 9. P. 272. doi:10.3390/genes9060272

Раздел 3

9 \*Molinier C., Reisser C. M., Fields P., Ségard A., **Galimov Y.**, Haag C. R. Identification of general patterns of sex-biased expression in *Daphnia*, a genus with environmental sex determination//G3: Genes, Genomes, Genetics. - 2018. - Vol. 8. No. 5. P. 1523 - 1533.

10 \***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. No. 3. P. 20. DOI:10.21926/obm.genet.1803023

Раздел 4

11 \*Shilova Vol.Y., Zatsepina O.G., Garbuz D.G., Funikov S.Y., Zelentsova E.S., Schostak N.G., **Kulikov A.M.**, Evgen'ev M.B. Heat shock protein 70 from a thermotolerant Diptera species provides higher thermoresistance to *Drosophila* larvae than correspondent endogenous gene//Insect Molecular Biology. - 2018. - Vol. 27. No. 1. P. 61 - 72. DOI: 10.1111/imb.12339. (WoS, Scopus)

Раздел № 5

12 \***Belkina E.G.**, Naimark E.B., Gorshkova A.A., Markov A.V. Does adaptation to different diets result in assortative mating? Ambiguous results from experiments on *Drosophila*//J. Evol. Biol. - 2018. – Vol. 31. No. 12. P. 1803 - 1814. DOI: 10.1111/jeb.13375

13 \*Butovskaya M.L., Butovskaya P.R., Vasilyev V.A., Sukhodolskaya J.M., Fekhredtinova D.I., Karelin D.V., Fedenok J.N., Mabulla A.Z.P., Ryskov A.P., **Lazebny O.E.** Serotonergic gene polymorphisms (5-HTTLPR, 5HTR1A, 5HTR2A), and population differences in aggression: traditional (Hadza and Datoga) and industrial (Russians) populations compared//J. Physiol. Anthropol. - 2018. - Vol. 37. No. 1. P. 10. DOI: 10.1186/s40101-018-0171-0.

14 \*Sukhodolskaya E.M., Fehredtinova D.I., Shibalev D.V., **Lazebny O.E.**, Mabulla A.Z.P., Butovskaya M.L., Ryskov A.P., Vasilyev V.V. Polymorphisms of dopamine receptor genes DRD2 and DRD4 in African populations of Hadza and Datoga differing in the level of culturally permitted aggression // Annals of Human Genetics. 2018. DOI: 10.1111/ahg.12263. (WoS, Scopus)

Раздел 6

15 \*Siomava N; **Shkil F**; **Voronezhskaya E**; Diogo R. Development of zebrafish paired and median fin musculature: basis for comparative, developmental, and macroevolutionary studies // Scientific Reports. 2018. V. 8. DOI: 10.1038/s41598-018-32567-z. (WoS, Scopus).

16 \***Shkil F.N.**, Smirnov S.V., **Kapitanova D.V.** Internal sources of infraorbital series and lateral line scale count variability in six *Labeobarbus* species composing the Lake Tana (Ethiopia) species flock//Journal of Applied Ichthyology. - 2018. - Vol. 34. No. 2. P. 465 – 471. DOI: 10.1111/jai.13665. (WoS, Scopus)

17 \*Woltmann I., **Shkil F.**, De Clercq A., Huysseune A., Witten P.E. Supernumerary teeth in the pharyngeal dentition of slow-developing zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) // **Journal of Applied Ichthyology**. 2018. DOI: 10.1111/jai.13668. (WoS, Scopus)

18 \***Shkil F.N.**, **Kapitanova D.V.** Links between thyroid hormone alterations and developmental changes in the evolution of the Weberian apparatus // In: Johanson Z., Underwood C., Richter M. eds. Evolution and Development of Fishes. Cambridge University Press. 2018. P. 227-240. ISBN 978-1-31683-217-2.

#### Раздел 7

19 \*Гордеева Н.В., **Алексеев С.С.**, Кириллов А.Ф., Вокин А.И., Самусенок И.В. Распространение, состав и родственные отношения филогенетических групп арктического гольца *Salvelinus alpinus* (L.) (Salmoniformes, Salmonidae) в европейской части России и Сибири по данным анализа нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК//Вопросы ихтиологии. - 2018. - Т. 58. - N 6. - С. 659 - 669. DOI: 10.1134/S0042875218050107 (Gordeeva N.V., Alekseyev S.S., Kirillov A.F., Vokin A.I., Samusenok I.V. Distribution, composition and relationships of phylogenetic groups of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) (Salmoniformes, Salmonidae) in the European part of Russia and in Siberia as revealed by the analysis of nucleotide sequences of mitochondrial DNA // Journal of Ichthyology. - 2018. – Vol. 58. No. 6. P. 808 - 818. DOI: 10.1134/S0032945218050089).

20 **Alekseyev S.S.**, Pichugin M.Yu., Samusenok V.P., Gordeeva N.V., Yur'ev A.L., Khlystov V.S., Matveev A.N. 2018. Diversity of reproductive strategies of Arctic charr in Transbaikalia. 9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802. Abstracts, P. 100. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.

21 Jacobs A., Carruthers M., Yurchenko A., Gordeeva N., **Alekseyev S.**, Adams C., Elmer K., 2018. Parallel and non-parallel aspects of genomic and phenotypic evolution of Arctic charr. 9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802. Abstracts, P. 15. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.

22 Gordeeva N.V., **Alekseyev S.S.**, Kirillov A.F., Vokin A.I., Samusenok I.V. 2018. Phylogeography of Arctic charr in the European part of Russia and in Siberia as revealed by the analysis of nucleotide sequences of mitochondrial DNA. 9th International Charr Symposium, Duluth Minnesota USA. Charr 2018. June 18-21. Duluth Entertainment Convention Center 350 Harbor Dr., Duluth, MN 55802. Abstracts, P. 90. Twitter: @charr2018. Facebook: <https://www.facebook.com/charr2018/>.

#### Раздел 8

23 \***Zakharov V.M.**, Revich B.A., **Trofimov I.E.** Role of assessment of the health of the environment for characterizing the impact of environmental factors on human health (Assessment of health of humans and the environment: Possible approaches)//Russian Journal of Developmental Biology. V. 49. N 1. P. 12-17. DOI: 10.1134/S1062360418010083). (WoS) Захаров В.М., Ревич Б.А., Трофимов И.Е. Роль оценки здоровья среды для характеристики влияния экологических факторов на здоровье человека (оценка здоровья человека и среды: возможные подходы)//Онтогенез. - 2018. - Т. 49. - N 1. - С. 15 - 21. DOI: 10.7868/S0475145018010020. (РИНЦ)

24 \***Zakharov V.M.**, **Minin A.A.**, **Trofimov I.E.** Study of developmental homeostasis: From population developmental biology and the health of environment concept to the sustainable development concept//Russian Journal of Developmental Biology. – 2018. - Vol. 49. No. 1. P. 1-11. DOI: 10.1134/S1062360418010071). (WoS) Захаров В.М., Минин А.А., Трофимов И.Е. Исследование гомеостаза развития: от популяционной биологии развития и концепции здоровья среды до концепции устойчивого развития//Онтогенез. - 2018. - Т. 49. – N 1. - С. 3 - 14. DOI: 10.7868/S0475145018010019. (РИНЦ)

25 **Захаров В.М.**, Смуров А.В. Концепция здоровья среды: история и перспективы развития (основные вехи)//Жизнь Земли. - 2018. - Т. 40. – N 2. - С. 152 - 157. (РИНЦ)

Отчет утвержден на заседании Ученого совета 27 декабря 2018 г., протокол № 12.