

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(СПбНЦ РАН)

УДК 575.83

Рег. № НИОКТР АААА-А18-118011590123-8

Рег. № ИКРБС



УТВЕРЖДАЮ  
ВРИО председателя СПбНЦ РАН

к.б.н.

Ю. Н. Бубличенко

О Т Ч Е Т

о научно-исследовательской работе

«Сравнение молекулярно-генетических, морфологических и  
палеонтологических данных эволюции»

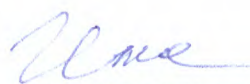
по теме

«Эволюция органического мира и планетарных процессов»  
(тема № 0240-2018-0004 Государственного задания)

(промежуточный, этап 1)

Программа фундаментальных исследований Президиума РАН № 17

Научный руководитель  
академик



С. Г. Инге-Вечтомов

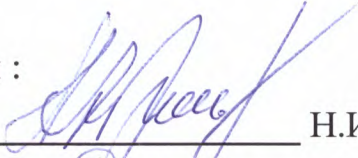
Санкт-Петербург

2018

## СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научный центр Российской академии наук (ФГБУН СПбНЦ РАН)

Исполнители :

с.н.с., к.б.н.  Н.И. Абрамсон (все разделы)

с.н.с., к.б.н.  Л.А. Джапаридзе (все разделы)


в.н.с., д.б.н.  С.Я. Резник (все разделы)

н.с.  О.В. Тарасов (все разделы)

Соисполнители:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт Российской академии наук (ФГБУН ЗИН РАН)

н.с., к.б.н.  Е.А. Генельт-Яновский (все разделы)

н.с., к.б.н.  Т.В. Петрова (все разделы)

м.н.с.  С.Ю. Бодров (все разделы)

аспирант  О.В. Бондарева (все разделы)

## РЕФЕРАТ

Отчет 24 стр., 1 кн., 8 рис., 1 прил.

ЭВОЛЮЦИЯ, ОТБОР, ПОПУЛЯЦИЯ, БИОРАЗНООБРАЗИЕ,  
ИНВАЗИВНЫЕ ВИДЫ, ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ,  
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, СЕКВЕНИРОВАНИЕ

Одной из фундаментальных задач эволюционной биологии является изучение механизма формирования адаптаций. До настоящего времени подавляющее большинство исследований по молекулярной филогенетике и анализу генетического разнообразия видов и популяций проводилось с использованием небольшого количества маркеров. Исследования на видовом и внутривидовом уровне затрагивали, как правило, лишь отдельные участки митохондриального генома. Выбор молекулярных маркеров в исследования по молекулярной филогении с использованием мультилокусного анализа, в значительной мере был случайным и зависел, в первую очередь, от уже имеющихся в Генбанке данных по секвенированию для конкретного таксона или же филогенетически близких форм. В последнее время, с появлением секвенирования нового поколения (NGS) вместе со значительным удешевлением секвенирования, появилась возможность коренным образом поменять прежний подход и проверить многие, противоречивые с точки зрения морфологических данных, молекулярные филогении и эволюционные сценарии. Исследования, основанные на полногеномных и транскриптомных данных, позволяют непосредственно подойти к анализу молекулярных основ в становлении адаптаций как на макротаксономическом, так и на микротаксономическом уровнях.

На уровне видов и популяций изучение генетического разнообразия интересно с точки зрения того, в какой степени генетический полиморфизм является отражением разных условий существования вида, а в какой, в свою

очередь, оказывает влияние на адаптивные способности отдельных популяций и вида в целом. Внедрение методов секвенирования нового поколения (NGS) позволило перейти на новый уровень исследование путей адаптации организмов к локальным условиям среды поскольку для анализа стали доступны одновременно огромное число ко-доминантных локусов, даже в случае когда нет референсного генома. Сравнение транскриптомов филогенетически близких таксонов с контрастными адаптациями или филогенетически далеких со сходными адаптивными признаками позволяет выявлять конвергенции и параллелизмы на молекулярном уровне.

Двустворчатые моллюски играют значительную роль в прибрежных сообществах и представляют собой одну из доминирующих групп макрофауны в экосистемах открытого моря. Значительное количество видов *Bivalvia*, типичных для литоральных сообществ, являются также обычными в верхнем горизонте сублиторали. Точно так же многие типичные сублиторальные виды встречаются от нуля глубин до батимальной зоны. Задача нашего исследования состояла в сравнении транскриптомов четырех массовых видов европейских двустворчатых моллюсков обитающих в контрастных условиях среды с целью выявить пути адаптации на генном уровне.

Традиционная парадигма биогеографии предполагает, что у широко распространённых морских беспозвоночных с планктонной личинкой отсутствует метапопуляционная структура. Уникальная изменчивость съедобной сердцевидки *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) на северо-восточной границе ареала противоречат традиционной парадигме биогеографии, и нами была выдвинута гипотеза объясняющая происхождение уникальной изменчивости у сердцевидок Северной Норвегии. Для проверки данной гипотезы одна из задач данной работы состояла в изучении генетической изменчивости и популяционной структуры съедобной сердцевидки в Норвежском и Баренцовом морях.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ	8
Сравнение молекулярно-генетических, морфологических и палеонтологических данных эволюции.....	8
1 Сравнение геномов и транскриптов филогенетически близких таксонов.....	9
1.1 Сравнительное исследование транскриптомов массовых видов европейских сублиторальных и литоральных двустворчатых моллюсков.....	9
1.2 Исследования молекулярных основ адаптаций грызунов к подземному образу жизни.....	13
2 Изучение генетической изменчивости и популяционной структуры широкораспространенного двустворчатого моллюска – съедобной сердцевидки <i>Cerastoderma edule</i> (Linnaeus, 1758) в Норвежском и Баренцовом морях.....	16
3 Разработка диагностических молекулярных маркеров, генотипирование типового материала с целью решения сложных вопросов номенклатуры и систематики.....	18
4 Тестирование филогенетических гипотез с учетом морфологических и молекулярных данных. Тестирование эволюционных сценариев.....	21
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	22
ПРИЛОЖЕНИЕ А Сведения о публикациях по теме в 2018 году....	23

## ВВЕДЕНИЕ

Фундаментальные исследования в области изучения и систематизации биоразнообразия все больше зависят от развития геномных технологий. По мере снижения затрат на секвенирование, накопление сиквенсов в международных генетических базах данных происходит с беспрецедентной скоростью. Таким образом, значение ДНК последовательностей как ключевых компонентов в эволюционных и экологических исследованиях только возрастает. В то же время эти данные будут иметь очень ограниченное значение вне филогенетического контекста и без точной таксономической привязки.

Значение коллекций типовых экземпляров в этом контексте особенно важно, так как правильное использование видовых названий целиком зависит от того, насколько надежно доказательство того, что новый экземпляр полностью конспецифичен экземпляру, с которым связано видовое название (голотип, типовой материал). Генетические исследования музейных коллекций при этом имеют первостепенное значение (в данном случае речь, прежде всего о генотипировании типовых экземпляров). Кроме того, это также бесценный источник материала, собранный в предшествующие столетия в труднодоступных ныне географических регионах в силу политических и экономических причин. Музейный материал позволяет исследовать генетическими методами и недавно исчезнувшие популяции, и виды под угрозой исчезновения. Именно поэтому, ценность зоологических коллекций крупнейших музеев для молекулярных исследований трудно переоценить. Таким образом, генетические исследования хранящихся в музеях типовых экземпляров имеют важнейшее значение при выяснении запутанных номенклатурных вопросов. В контексте вышесказанного одной из задач исследования было генотипирование типовых экземпляров, хранящихся в ЗИН РАН, собранных еще Пржевальским Н.М. и Северцовым А.Н.

Митохондриальные молекулярные маркеры широко используются и в филогенетических и филогеографических исследованиях. Это наиболее подходящие маркеры для оценки степени генетической дивергенции между изолированными природными популяциями. Однако наличие многочисленных ядерных копий митохондриального генома (NUMTS) может существенно осложнить такие исследования. В то же время они могут быть и хорошими филогенетическими маркерами. В настоящем исследовании мы анализировали соотношение псевдогенов контрольного региона и ортологичных последовательностей у обыкновенной слепушонки. Вопросы систематики, номенклатуры и распространения Азиатских скальных полевок рода *Alticola* Blanford, 1881 исследованы очень слабо. В состав рода входит 12 видов, относимых к двум под родам. До настоящего времени никем не исследовалась генетическая изменчивость видов на протяжении ареала. В нашем исследовании мы 1) проанализировали структуру генетической изменчивости и филогенетические связи под рода *Aszhizomys* при помощи митохондриального маркера цитохром б (*cytb*) и 2) трех ядерных маркеров у выборок из популяций охватывающих большую часть ареала обоих видов.

## **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **Сравнение молекулярно-генетических, морфологических и палеонтологических данных эволюции**

Проект направлен на решение фундаментальной проблемы теории молекулярной эволюции – способам эволюционного преобразования генетического материала.

В последнее время, с появлением секвенирования нового поколения (NGS) вместе с значительным удешевлением секвенирования, появилась возможность коренным образом поменять прежний подход и проверить многие, противоречивые с точки зрения морфологических данных, молекулярные филогении и эволюционные сценарии.

С применением различных молекулярных маркеров проанализирована изменчивость на разном таксономическом уровне у модельных видов беспозвоночных (протисты, моллюски, паразитические черви-трематоды) с целью описания таксономического разнообразия в этих группах на разных уровнях, реконструкции их эволюционной и популяционной историй.

В связи с основной целью проекта перед исполнителями в 2018 году стояли следующие цели и задачи:

- 1) Сравнение геномов и транскриптомов филогенетически близких таксонов, но контрастных по адаптациям. Исследования на разном эволюционном масштабе: от крупных таксономических групп до популяционных, внутривидовых исследований. Исследования видов в экстремальных условиях обитания. Выявление конвергенций и параллелизмов на молекулярном уровне, выявление независимого происхождения мутаций, приводящих к сходным фенотипическим эффектам.



- 2) Изучение генетической изменчивости и популяционной структуры широкораспространенного двустворчатого моллюска – съедобной сердцевидки *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) в Норвежском и Баренцовом морях.
- 3) Разработка диагностических молекулярных маркеров, генотипирование типового материала с целью решения сложных вопросов номенклатуры и систематики.
- 4) Тестирование филогенетических гипотез с учетом морфологических и молекулярных данных. Тестирование эволюционных сценариев.

## **1 Сравнение геномов и транскриптомов филогенетически близких таксонов**

### **1.1 Сравнительное исследование транскриптомов массовых видов европейских сублиторальных и литоральных двустворчатых моллюсков**

Внедрение методов секвенирования нового поколения (NGS) позволило перейти на новый уровень исследование путей адаптации организмов к локальным условиям среды поскольку для анализа стали доступны одновременно огромное число ко-доминантных локусов, даже в случае когда нет референсного генома. Сравнение транскриптомов филогенетически близких таксонов с контрастными адаптациями или филогенетически далеких со сходными адаптивными признаками позволяет выявлять конвергенции и параллелизмы на молекулярном уровне.

Двустворчатые моллюски играют значительную роль в прибрежных сообществах и представляют собой одну из доминирующих групп макрофауны в экосистемах открытого моря. Значительное количество видов *Bivalvia*, типичных для литоральных сообществ, являются также обычными в

верхнем горизонте сублиторали. Точно так же многие типичные сублиторальные виды встречаются от нуля глубин до батимальной зоны. Сравнение транскриптомов филогенетически близких таксонов, демонстрирующих контрастные адаптации или филогенетически удаленных таксонов, которые имеют сходные адаптивные черты, позволяет выявить конвергенции и параллелизмы на молекулярном уровне

Мы использовали транскриптомы четырёх массовых видов европейских двустворчатых моллюсков – *Limecola (Macoma) balthica*, *Mya arenaria*, *Arctica islandica* и *Hiatella arctica*, обитающих в контрастных условиях среды и доступные в базе данных SRA GenBank (рис.1).

а)



*Limecola balthica*

*Mya arenaria*

б)



*Hiatella arctica*

*Arctica islandica*

Рисунок 1 – Исследованные виды европейских двустворчатых моллюсков, обитающих в контрастных условиях среды и доступные в базе данных SRA GenBank: а) массовые виды приливно-отливной зоны; б) виды, обитающие глубже приливно-отливной зоны

Методы исследования: Транскриптомы были собраны de novo с использованием протокола Trinity. Ортологичные гены были

идентифицированы с использованием программы protheintho, расчёт значений  $dN/dS$  было проведено в программе PAML codeml для каждой ортогруппы. Анализ обогащения терминами GO проводился с использованием программного пакета Webgestalt.

Несмотря на высокие индивидуальные значения потерь и приобретений генов, было выявлено 1820 генов, типичных для литоральных видов, и не встречающихся у сублиторальных. Также литоральные виды теряют 520 генов, встречающихся у обоих сублиторальных моллюсков *H.arctica* и *A.islandica*. Анализ терминов GO показал высокий уровень различий между литоральными и сублиторальными видами на уровне генов, участвующих в (i) метаболизме белков и липидов, а также в (ii) контроле онтогенеза (рис.2,4)

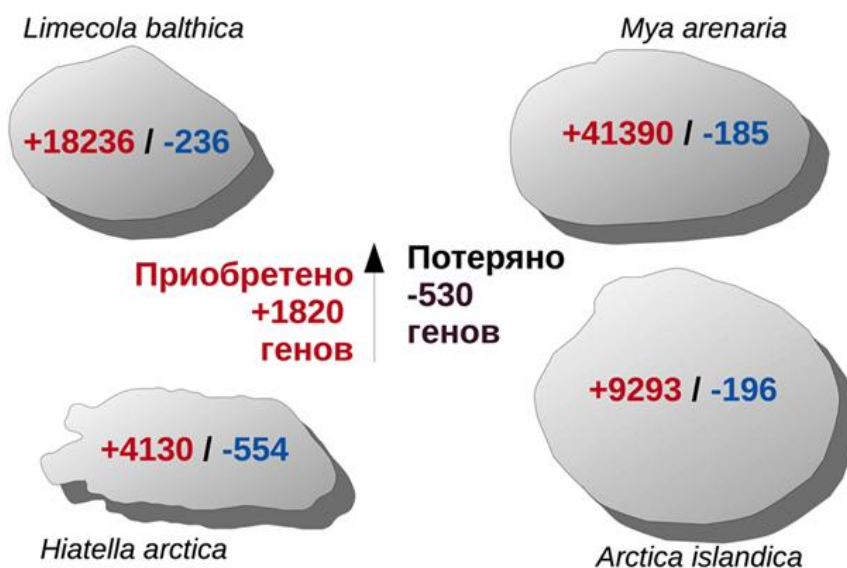


Рисунок 2 – Сравнение индивидуальных и групповых уровней потери и приобретения генов среди литоральных (вверху) и сублиторальных (внизу) видов двустворчатых моллюсков

Эти различия не соответствуют филогенетическим построениям, полученным на основе анализа митохондриальных маркеров (рис. 2). Ранее было показано, что двустворчатые моллюски могут избирательно поглощать растворенную в морской воде гликолевую кислоту, являющуюся основным продуктом метаболизма фитопланктона (DiDomenico & Iverson 1977). В

связи с этим мы предполагаем, что выявленные различия (рис. 3, 4) между транскриптомами литоральных и сублиторальных видов, по-видимому, отражают различия в спектре их питания.

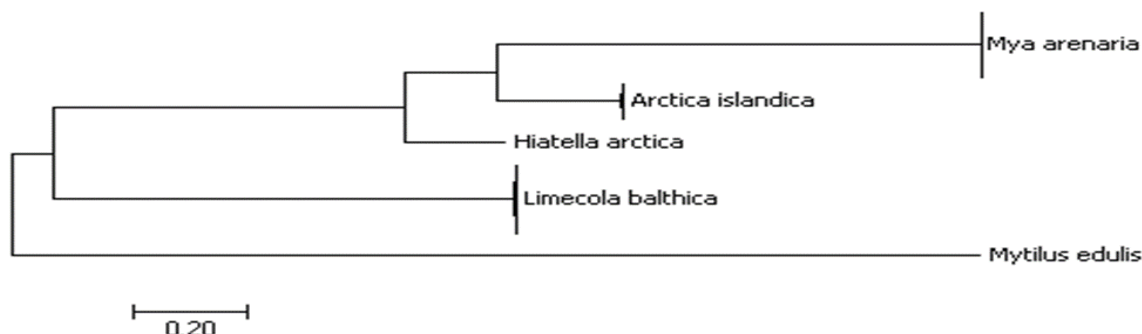


Рисунок 3 – Филогенетическое дерево изучаемых видов двустворчатых моллюсков, построенное методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) по нуклеотидным последовательностям фрагмента гена цитохром-с-оксидазы I (COI). В качестве внешней группы приведена *Mytilus edulis*. Деревья, построенные на основании данных Rad-Seq имеют аналогичную топографию ветвей

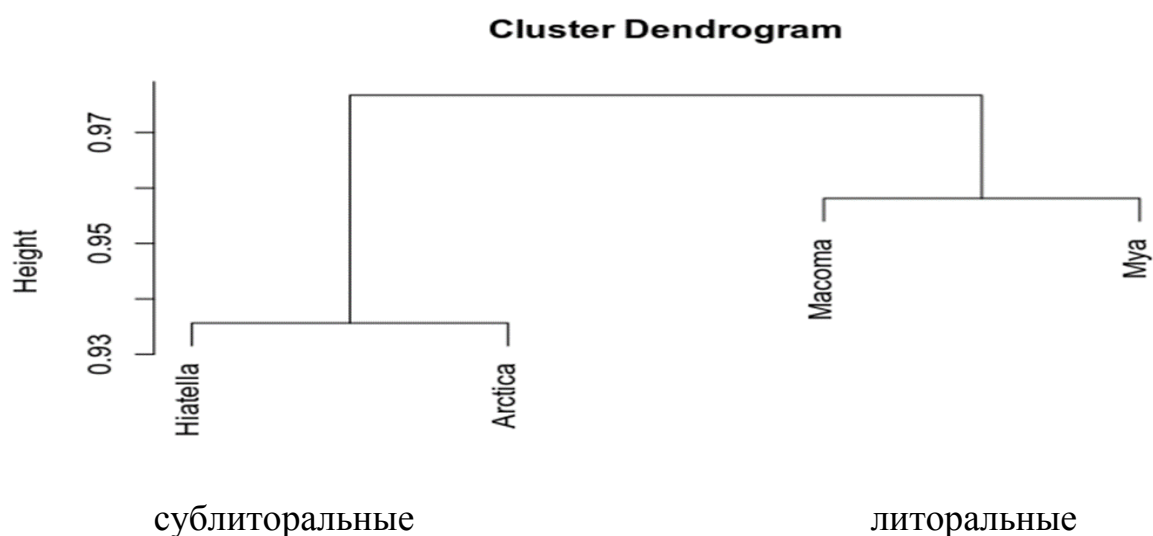


Рисунок 4 – Сравнительный анализ потерь и приобретений генов у литоральных и сублиторальных моллюсков. Дендрограмма построена по матрице попарных сравнений индивидуальных значений потерь и приобретений генов у каждого из видов

Данная работа была доложена в качестве устного доклада.

## 1.2 Исследования молекулярных основ адаптаций грызунов к подземному образу жизни

До последнего времени большинство работ с анализом генетического разнообразия видов и популяций основывались на небольшом количестве молекулярных маркеров. Такой подход не рассматривал молекулярные основы адаптивной изменчивости и, в большинстве работ постулировался нейтральный характер молекулярной изменчивости. Оставалось неясным какое количество генов вовлечено в формирование конкретных адаптаций, какая часть наблюдаемого генетического разнообразия несет адаптивный сигнал. В данном исследовании мы провели сравнение геномов наземных и подземных грызунов, депонированных в базе данных Ensembl genome browser ([ensembl.org](http://ensembl.org)).

Для нашего исследования мы взяли 7 видов грызунов (наземных и подземных), геномы и транскриптомы которых на данный момент хорошо собраны и аннотированы. Мы начали с исследования транскриптомов, поскольку значимые замены в белок-кодирующих генах могут оказывать существенное влияние на фенотип. Изначально мы изучали изменение направления отбора на ортологичных генах. Выравнивание ортологичных генов было построено в программе PoFF, в анализ вошли только однокопийные ортологи без паралогов, те, которые присутствуют у всех видов. По конкатенированному выравниванию этих генов было построено филогенетическое дерево, которое использовалось в дальнейших анализах.

Действие отбора мы определяли в программе codeml, которая определяет значение  $w$  (омеги). Общее направление отбора мы определяли сначала внутри обозначенных экологических групп грызунов (наземные и подземные). Если он был одинаковый, то направление сравнивалось между группами. Если направление внутри группы было разным, то общее значение отбора для группы считалось смешанным и такой ген не брался в анализ. Мы

не смогли обнаружить гены, действие отбора на которые меняется при изменении образа жизни. Это может быть связано с консервативной функцией этих генов. В то же время, мы оценили количество генов внутри группы подземных грызунов, которые имеют одно направление отбора (в данном случае не важно, какое, центр диаграммы Венна) (рис. 5) и те, для которых направление отбора для одного вида отличается от других (например, у вида на данный ген отбор положительный, а у других отрицательный).

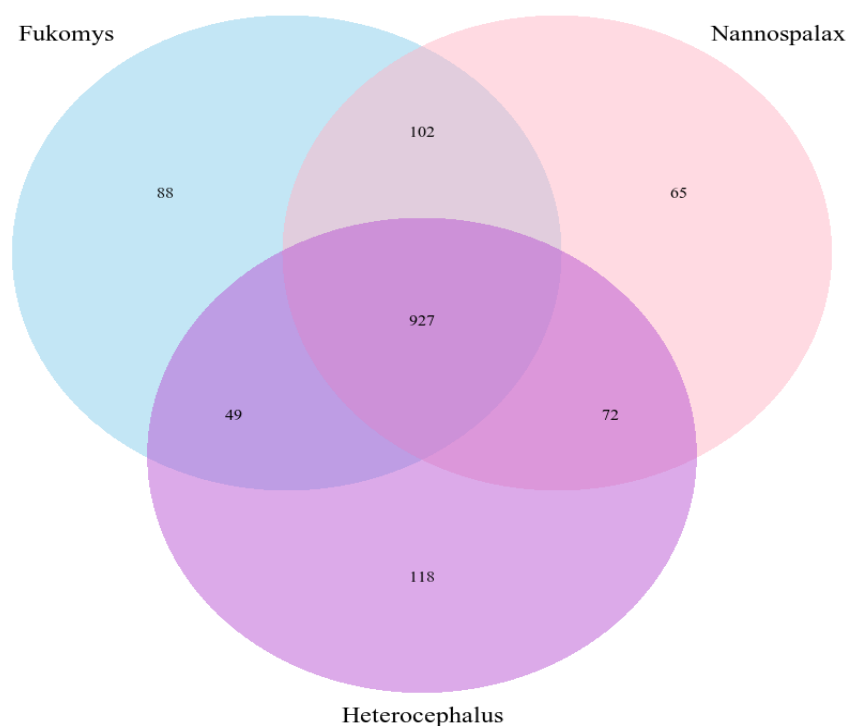


Рисунок 5 – Диаграмма Венна, показывающая количество генов с одинаковым направлением отбора (в центре), и количество генов, направление отбора по которым видоспецифично (по краям)

Мы измерили обогащенность терминами GO (генная онтология) эти 4 категории (общие гены и индивидуальные) и выявили, что для разных видов характерна обогащенность разными терминами. На следующем этапе мы изучили процесс потери и приобретений генов. Мы предположили, что подземные грызуны теряют и приобретают принципиально иное число генов, чем наземные. Однако, результаты анализа потерь и приобретений показали,

что эта гипотеза неверна. На основании матрицы попарных дистанций, вычисляемых по формуле  $\text{dist} = 1 - (\text{число генов общих для видов} / \text{суммарно число генов})$  была построена кладограмма в среде R и ее топология сравнивалась с филогенетическим деревом.

На рисунке 6 изображено приобретение и потеря генов. Слева – кладограмма на основе выравнивания ортологичных последовательностей, справа – на основе матрицы попарных дистанций, полученных по анализу содержания генов (присутствия-отсутствия).

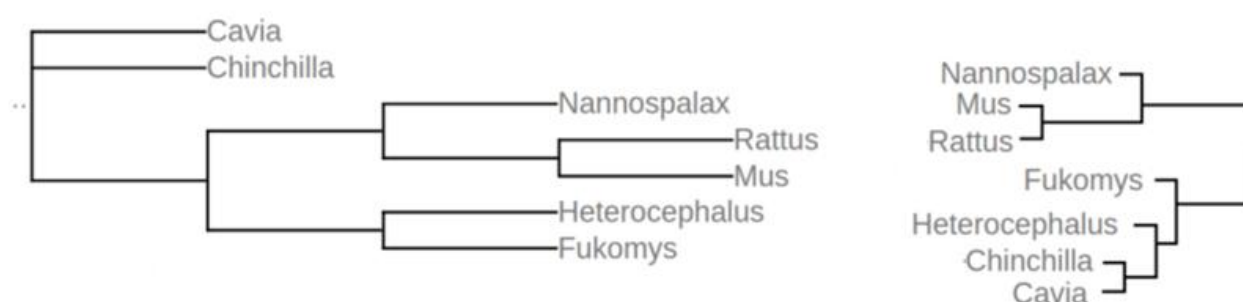


Рисунок 6 – Приобретение и потеря генов

По результатам проведенного пока мета-анализа мы не выявили общих направлений отбора на геномном уровне, связанных с адаптацией к подземному образу жизни.

Результаты исследования были доложены на 2-х международных совещаниях и готовятся к публикации.

## **2 Изучение генетической изменчивости и популяционной структуры широкораспространенного двустворчатого моллюска – съедобной сердцевидки *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) в Норвежском и Баренцовом моря**

Изучена генетическая изменчивость и популяционная структура широкораспространенного двустворчатого моллюска – съедобной сердцевидки *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) в Норвежском и Баренцовом морях. Было показано, что филогеографическая структура и эволюционная история *C. edule* на Скандинавском и Российском побережьях сложнее, чем ожидалось для популяций видов умеренного климата в морях, заселенных в постледниковый период. Основной филогеографический разрыв проходит по Лофотенским островам и отделяет группу субарктических популяций с четко выраженной звездообразной структурой сети гаплотипов от южных популяций. Распространение последних доходит до Северного моря и эти популяции отличаются наибольшим генетическим разнообразием.

На северо-восточной границе ареала *C. edule*, на Мурманском побережье, популяции моллюска имеют мозаичную структуру с значительной примесью гаплотипов, характерных для южных популяций и отличаются высоким гаплотипическим разнообразием. Такая мозаичная структура может быть объяснена метапопуляционной моделью, в которой ядро – это Норвежские популяции, а популяции мурманского побережья – спутники. Наши результаты противоречат традиционной парадигме биогеографии, согласно которой у широко распространенных морских беспозвоночных с планктонной личинкой отсутствует метапопуляционная структура.

Нами выдвинута гипотеза, объясняющая происхождение уникальной изменчивости у сердцевидок Северной Норвегии: эти популяции образовались вследствие ранней постледниковой колонизации (10-12 тыс.



лет назад), их изоляции способствовал океанографический разлом у Лофотен, и очищающий отбор по гаплотипам в ходе постледниковой колонизации субарктических морей бореальной *C. edule*. (рис. 7).

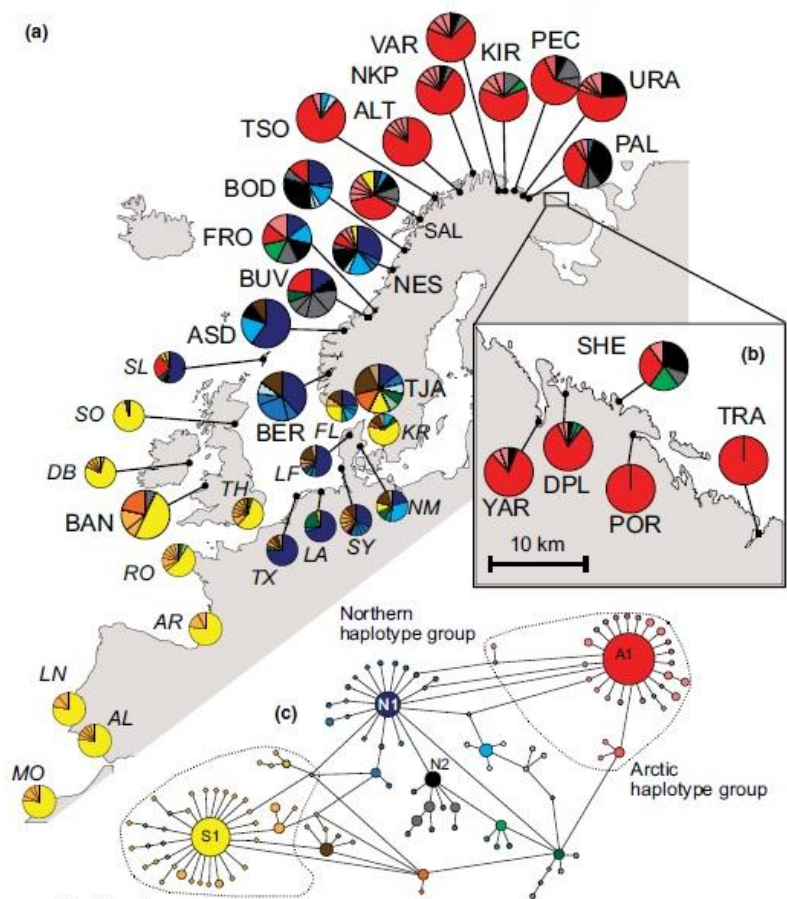


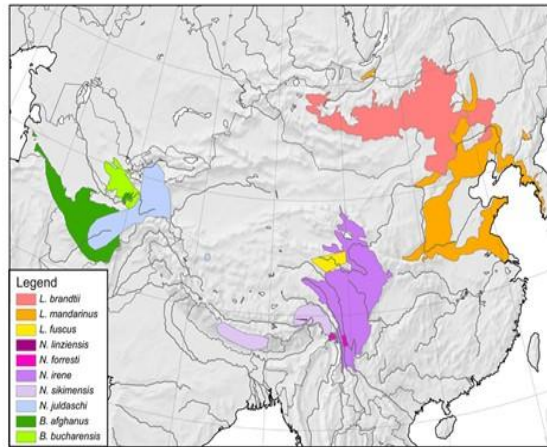
Рисунок 7 – Распространение гаплотипов митохондриального гена COI у *Cerastoderma edule* в Европе(a,b). Побережье Восточного Мурмана показано прямоугольником и вынесено на вставке. (c) Сеть гаплотипов с учетом максимальной экономии. Размер кругов пропорционален частоте встречаемости гаплотипа

### **3 Разработка диагностических молекулярных маркеров, генотипирование типового материала с целью решения сложных вопросов номенклатуры и систематики**

Ценность зоологических коллекций крупнейших музеев для молекулярных исследований трудно переоценить. Значение коллекций типовых экземпляров в этом контексте особенно важно, так как правильное использование видовых названий целиком зависит от того, насколько надежно доказательство того, что новый экземпляр полностью конспецифичен экземпляру, с которым связано видовое название. Таким образом, генетические исследования хранящихся в музеях типовых экземпляров имеют важнейшее значение при выяснении запутанных номенклатурных вопросов. Систематика и номенклатура Центрально-азиатских полевок родов *Neodon*, *Blanfordimus* и *Lasiopodomys* вызывала много вопросов.

При сравнении ареалов видов, составляющих эти рода и таксономической структуры, наблюдалось колоссальное несоответствие (рис.8). Так ареал *Lasiopodomys fuscus* очень узкий и находится в самом центре распространения полевок из рода *Neodon* и в то же время он очень изолирован от ареалов двух других видов своего рода. Ареал вида *Neodon juldaschi*, в свою очередь, находится в центре распространения полевок из рода *Blanfordimus* и сильно изолирован от ареалов других видов своего рода. Мы успешно изолировали ДНК и получили фрагменты митохондриального гена *cytb* из лектотипа и паралектотипов *L. fuscus* (сборы Пржевальского) и голотипа *N. juldaschi* (сборы Северцова А.Н.) из коллекции ЗИН РАН. Результаты филогенетического анализа привели в логическое соответствие данные зоогеографии и систематики. Так, согласно молекулярным данным, *L. fuscus* вне всякого сомнения относится к роду *Neodon*, а *N. juldaschi* к роду

*Blanfordimys*. Оба вида нашли свое место в хорошо поддержанных кластерах, высокой поддержкой соответствующих этим родам.



A

GENUS *Lasiopodomys*

SPECIES *brandtii* (red)  
 SPECIES *fuscus* (yellow)  
 SPECIES *mandarinus* (orange)

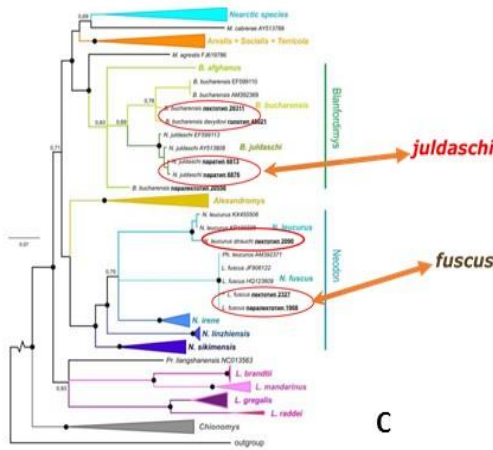
GENUS *Neodon*

SPECIES *forresti* (pink)  
 SPECIES *irene* (light purple)  
 SPECIES *juldaschi* (light blue)  
 SPECIES *sikimensis* (light purple)

GENUS *Blanfordimys*

SPECIES *afghanus* (green)  
 SPECIES *bucharensis* (light green)

B



C

GENUS *Lasiopodomys*

SPECIES *brandtii* (red)  
 SPECIES *mandarinus* (orange)

GENUS *Neodon*

SPECIES *forresti* (pink)  
 SPECIES *irene* (light purple)  
 SPECIES *sikimensis* (light purple)  
 SPECIES *fuscus* (yellow)

GENUS *Blanfordimys*

SPECIES *afghanus* (green)  
 SPECIES *bucharensis* (light green)  
 SPECIES *juldaschi* (light blue)

D

Рисунок 8 – Сравнении ареалов видов, составляющих эти рода и таксономической структуры

A – карта распространения видов центрально-азиатских полевок родов *Lasiopodomys*, *Neodon*, *Blanfordimys*;

B – таксономический состав родов по Mammals of the World, 2005;

C – филогенетическое положение типовых экземпляров по данным анализа фрагментов гена цит.б (Баесов анализ);

D – таксономический состав после ревизии

Вопросы систематики, номенклатуры и распространения Азиатских скальных полевков рода *Alticola* Blanford, 1881 исследованы очень слабо. В состав рода входит 12 видов, относимых к двум под родам. До настоящего времени никем не исследовалась генетическая изменчивость видов на протяжении ареала. В нашем исследовании мы 1) проанализировали структуру генетической изменчивости и филогенетические связи под рода *Ashzhomys* при помощи митохондриального маркера цитохром б (*cytb*) и трех ядерных маркеров у выборок из популяций охватывающих большую часть ареала обоих видов. Для прояснения некоторых спорных номенклатурных вопросов мы также использовали для генетического анализа музейный типовой материал. Важно отметить, что в процессе исследования мы добавили новые, неизвестные ранее точки к распространению видов под рода. По данным этого анализа оба вида строго монофилитичны, возраст под рода оценивается приблизительно 0.870 т. лет. Каждая соответствующая виду клада имеет свою структуру, у *A. macrotis* она соответствует известным выделяемым под видам. Несоответствие результатов анализа митохондриальных и ядерных генов можно объяснить, как межвидовой гибридизацией, так и предковым полиморфизмом с неполным расхождением линий. Для тестирования этих сценариев мы применили тест, имплементированный в программу JML. Результаты проведенного теста предполагают сценарий межвидовой гибридизации в прошлом. По результатам исследования подготовлена и сдана в журнал (*Biological J. of Linnean Society*)

#### **4 Тестирование филогенетических гипотез с учетом морфологических и молекулярных данных. Тестирование эволюционных сценариев**

Митохондриальные молекулярные маркеры широко используются в филогенетических и филогеографических исследованиях. Это наиболее подходящие маркеры для оценки степени генетической дивергенции между изолированными природными популяциями. Однако наличие многочисленных ядерных копий митохондриального генома (NUMTS) может существенно осложнить такие исследования. Нами показано наличие ядерных копий контрольного региона мтДНК у обыкновенной слепушонки. Мы клонировали участок контрольного региона и фрагмента цитохром б у обыкновенной *E. talpinus* и восточной *E. tancrei* слепушонок и обнаружили наличие до шести различных вариантов таких псевдогенов в геноме одной особи. Для выявления вероятного времени транслокации митохондриальных участков в ядерный геном мы провели филогенетический анализ с использованием всех доступных в Генбанке таксонов подсемейства полевочьих и собственных данных. Было показано, что транслокации происходили неоднократно и часть псевдогенов транслоцировалась в ядерный геном еще до дивергенции слепушонок от общего ствола арвиколин.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом было показано, что

1) выявленные различия между транскриптомами литоральных и сублиторальных видов, по-видимому, отражают различия в спектре их питания;

2) вопреки распространённым представлениям, широкоареальный прибрежный моллюск – сердцевидка съедобная, обладает четко выраженной метапопуляционной структурой с уникальной изменчивостью в популяциях у берегов Северной Норвегии. Показано, что это связано с ранней пост-ледниковой колонизацией (10-12 тыс. лет назад);

3) согласно молекулярным данным, *L. fuscus* вне всякого сомнения относится к роду *Neodon*, а *N. juldaschi* к роду *Blanfordimus*. Оба вида нашли свое место в хорошо поддержанных кластерах, соответствующих этим родам и, таким образом, характер распространения таксонов пришел в логическое соответствие с их систематическим положением;

4) транслокации митохондриальных генов в ядерный геном в эволюции слепушонок происходили неоднократно и часть псевдогенов транслоцировалась еще до дивергенции слепушонок от общего ствола арвиколин;

5) виды, входящие в подрод *Aschizomys*, рода скальных полевок *Alticola*, монофилитичны, как и сам подрод, а несоответствие филогений по митохондриальным и ядерным маркерам объясняется имевшейся в прошлом межвидовой гибридизацией.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### Сведения о публикациях по теме в 2018 году

1. Genelt-Yanovskiy, E., Nazarova, S., Tarasov, O., Mikhailova, N., & Strelkov, P. 2018. Phylogeography of the temperate marine bivalve *Cerastoderma edule* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Cardiidae) in the Subarctic: Unique diversity and strong population structuring at different spatial scales. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* . Q1 <https://doi.org/10.1111/jzs.12231>
2. Резник С.Я., Войнович Н.Д. Фотопериодическая регуляция суточного ритма вылета имаго трихограмм (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Энтомолог. обозр. 2018. Т. 97, вып. 2. С. 185-193. Английский перевод этой статьи индексируется в Scopus. Reznik, S. Y., & Voinovich, N. D. (2018). Photoperiodic Regulation of the Daily Rhythm of Trichogramma Adult Emergence (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Entomological Review*, 98(3), 259-265.
3. Bondareva Olga, Genelt-Yanovskiy Evgeny and Nataliya Abramson. Alpine land snail *Arianta arbustorum* (Linnaeus, 1758) (Gastropoda: Helicidae) in the Baltic Sea region: Invasion or range extension? Insights from phylogeographic analysis and climate niche modelling// *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* (в печати)
4. Semyon Yu. Bodrov, Evgeny Genelt-Janovsky, Evgeny S. Zakharov, Veronika K. Vasilyeva, Innokentiy M. Okhlopkov, Nataliya Abramson. Taxonomic structure and evolutionary history of mountain voles (*Alticola*, subgenus *Aschizomys*) in northeastern Asia // *Biological J. Linnean Society* (на рецензии).
5. Nataliya Abramson, Tatyana Petrova. Genetic analysis of type material brings logical order in geographic distribution and taxonomy. Case study of

- Central Asian vole genera *Neodon*, *Blanfordimus*, *Lasiopodomys*. 6th International Conference of Rodent Biology and Management and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, Germany, 3-7 September 2018), Book of Abstracts. P. 152 / 10.5073/jka.2018.459.000/
6. Kristina V. Kuprina, Olga V. Bondareva, Antonina V. Smorkatcheva, Nataliya Abramson, Svetlana A. Galkina. (Multiple mitochondrial pseudogenes in the nuclear genome in two species of mole voles (*Ellobius*, Cricetidae) // 6th International Conference of Rodent Biology and Management and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, Germany, 3-7 September 2018), Book of Abstracts. P. 148 / 10.5073/jka.2018.459.000/
  7. Semyon Yu. Bodrov, Evgeny Genelt-Yanovskiy, Evgeny S.Zakharov, Veronika K.Vasil'eva, Innokenty M.Okhlopkov, Nataliya Abramson. Taxonomic structure and evolutionary history of mountain voles (*Alticola*, subgenus *Aschizomys*) in north-eastern Asia. 6th International Conference of Rodent Biology and Management and 16th Rodens et Spatium (Potsdam, Germany, 3-7 September 2018), Book of Abstracts. – P. 147. 10.5073/jka.2018.459.000
  8. Genelt-Yanovskiy Evgeny, Nazarova Sophia and Bondareva Olga. Linear growth and shell shape variation in *Macoma calcarea* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Tellinidae) from the White Sea // Mees, J.; Seys, J. (Eds.) (2018). Book of abstracts – 53rd European Marine Biology Symposium. Oostende, Belgium, 17-21 September 2018. VLIZ Special Publication, 82. Vlaams Instituut voor de Zee - Flanders Marine Institute (VLIZ): Oostende. P. 131.