

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАН**

УТВЕРЖДАЮ



**ОТЧЕТ**

**По Программе «Эволюция органического мира и  
планетарных процессов (код программы 1.22П)**

**Проект: «Сравнение молекулярно-генетических,  
морфологических и палеонтологических данных  
эволюции» №0240-2016-0002**

Научный руководитель проекта  
академик РАН Инге-Вечтомов С.Г.

Санкт-Петербург

2016

## СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

По теме: «СРАВНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
И ПАЛЕОНТОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ ЭВОЛЮЦИИ»

Организация исполнитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАН

Научный руководитель проекта:

академик РАН Инге-Вечтомов С.Г.



---

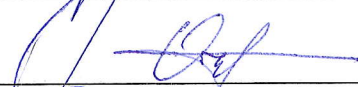
Абрамсон Н.И. , кбн,

зав. лабораторией



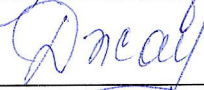
---

Бондарева О.В., стажер



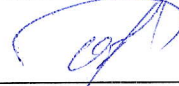
---

Джапаридзе Л.А., снс, кбн



---

Тарасов О.В., ассистент



---

## РЕФЕРАТ

Отчет 13 стр., 2 рис., 3 табл., 1 прил.

Глобальная торговля и транспортная сеть облегчили распространение видов в новые для них местообитания и регионы по всей планете. Способствуя биологическим инвазиям человек, ставит непреднамеренные «природные эксперименты», выступая активным фактором биологической эволюции. Инвазии - один из частных случаев более общей проблемы расселения видов, при этом инвазии, в отличие от естественного расселения, сопровождающегося постепенным расширением ареала, как правило, осуществляются более быстрыми темпами и нередко сопровождаются резкой сменой среды обитания. В связи с основной целью проекта перед исполнителями в 2016 году стояли следующие задачи:

Исследование факторов, обеспечивающих успех непреднамеренной инвазии, предполагается провести на примере древесной улитки *Arianta arbustorum* (Linnæus, 1758) демонстрирующей в последние годы стремительное расселение в Северо-Западном регионе России. Для исследования феномена этого успеха мы предполагаем, используя молекулярные маркеры, прежде всего, 1) изучить конкретные пути распространения этих улиток, 2) определить популяции-источники инвазии в Европе, 3) описать сценарий распространения и, 4) далее, выяснить механизмы, обеспечивающие успех данной инвазии.

## СОДЕРЖАНИЕ

НАИМЕНОВАНИЕ	Стр.
СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ .....	2
РЕФЕРАТ .....	3
СОДЕРЖАНИЕ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ .....	6
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	10
ПРИЛОЖЕНИЕ А (Сведения о публикациях по проекту) .....	11

## ВВЕДЕНИЕ

Человек выступает активным фактором биологической эволюции, как осуществляя направленный отбор организмов с определенными характеристиками для нужд сельского хозяйства, медицины, промышленности и лабораторных исследований, так и меняя среду обитания многих видов, зачастую непреднамеренно. В частности, созданная человеком глобальная транспортная сеть облегчила распространение живых организмов в новые для них местообитания и регионы по всей планете. Такие организмы принято считать инвазивными, и сегодня общепризнано, что они коренным образом меняют биоразнообразие. Таксономическое разнообразие инвазивных видов очень велико: от вирусов и бактерий до грибов, растений и животных. Инвазии - один из частных случаев более общей проблемы расселения видов, при этом инвазии, в отличие от естественного расселения, сопровождающегося постепенным расширением ареала, как правило, осуществляются более быстрыми темпами и нередко сопровождаются резкой сменой среды обитания. По определению, инвазивные виды присутствуют в чужих для них регионах, не в тех, где протекала их эволюционная история, поэтому, по всей вероятности, они должны быстро накапливать адаптации к новой для себя среде обитания. Инвазивные виды также способны провоцировать эволюционные изменения и у автохтонных видов. Таким образом, биологические инвазии предоставляют уникальную возможность исследования роли антропогенного фактора в эволюции и в динамике биологического разнообразия в ходе приспособления к новым параметрам среды в естественных условиях.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Биологические инвазии предоставляют уникальную возможность исследования роли антропогенного фактора в эволюции и в динамике биологического разнообразия в ходе приспособления к новым параметрам среды в естественных условиях.

Инвазии - один из частных случаев более общей проблемы расселения видов, при этом инвазии, в отличие от естественного расселения, сопровождающегося постепенным расширением ареала, как правило, осуществляются более быстрыми темпами и нередко сопровождаются резкой сменой среды обитания. В связи с основной целью проекта перед исполнителями в 2016 году стояли следующие задачи:

Исследование факторов, обеспечивающих успех непреднамеренной инвазии, на примере древесной улитки *Arianta arbustorum* (Linnæus, 1758), демонстрирующей в последние годы стремительное расселение в Северо-Западном регионе России. Для исследования феномена этого успеха мы предполагаем, используя молекулярные маркеры, прежде всего, 1) изучить конкретные пути распространения этих улиток, 2) определить популяционно-источники инвазии в Европе, 3) описать сценарий распространения и, 4) далее, выяснить механизмы, обеспечивающие успех данной инвазии.

Анализ образцов улиток, собранных в Ленинградской области, показал низкое генетическое разнообразие (и гаплотипическое, и нуклеотидное) на значительной территории. Для сравнения: на площади в 5 км<sup>2</sup> в Альпах было обнаружено 119 гаплотипов (Haase, Misof, 2009) с очень высоким нуклеотидным разнообразием, тогда как в Ленинградской области на площади в 100 км<sup>2</sup> всего 4 гаплотипа, отличающиеся максимум 4 заменами. Следовательно, для популяции из окрестностей Санкт-Петербурга характерен аномально низкий уровень генетической изменчивости. Важно также, что гаплотипы, обнаруженные в районе Санкт-Петербурга, уникальны и в Европе, по имеющимся на данный момент в ГенБанке данным, не встречаются. Это указывает на модель инвазии по «эффекту плацдарма», то есть моллюски настолько давно заселили данную территорию, что мутации смогли накопиться и зафиксироваться, но эффективная численность популяции все время была очень низкой. Это же подтверждают проведенные нами тесты на нейтральность, результаты которых указывают на прохождение популяции через «бутылочное горлышко» и на несбалансированность аллелей.

Далее, мы расширили охват территории изучения, включив в трансекту страны Балтии и Скандинавии от Дании до юго-запада Швеции и юго-восток Финляндии. На этой огромной территории и северо-западе России нам удалось обнаружить только 9 гаплотипов с 3 информативными заменами. Построенная сеть гаплотипов (рис.1)

показывает очень тесное родство гаплотипов улиток из России, стран Балтии и Скандинавии, в отличие от колоссального разнообразия гаплотипов моллюсков Западной Европы. Все гаплотипы улиток из Западной Европы отличаются от таковых из северо-западного региона не менее чем на 7-15 замен. В то же время, следует отметить, что, несмотря на низкое нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие древесных улиток в странах Балтии, Скандинавии на северо-западе России, все обнаруженные на этих территориях гаплотипы уникальны.

Для поиска потенциальных генов, за счет которых обеспечивается успешность расселения улитки *A. arbustorum*, мы начали сравнительный анализ транскриптомов особей из разных популяций: из Австрии, которая является частью исходного ареала *A. Arbustorum*, и из окрестностей Санкт-Петербурга, где данный вид был обнаружен относительно недавно. Секвенирование транскриптомов было проведено на платформе Illumina HiSeq 2000s. На данный момент получены первичные данные секвенирования, характеристики которых указывают на возможность их использования для дальнейшей работы (таблица 1).

Таблица 1. Основные характеристики отсеквенированных транскриптомов *Arianta arbustorum*.

Происхождение образцов	Образец	Общая длина, п.н.	Общее число ридов	GC %	AT %	% качественных ридов (Phred>30)
Санкт-Петербург	SPB-1	8 538 957 938	84 544 138	43,4	56,6	97,3
	SPB-2	6 765 029 894	66 980 494	46,4	53,6	97,2
	SPB-4	7 171 120 392	71 001 192	43,2	56,9	97,3
Австрия	AUS-FL	8 302 459 974	82 202 574	43,2	56,8	97,4
	AUS-2	7 452 910 594	73 791 194	44,8	55,2	97,3
	AUS-4	7 443 518 604	73 698 204	41,7	58,3	97,3

Рыжая полевка *Myodes glareolus* – вид, быстро расселяющийся естественным путем. Мы провели оценку изменчивости длины тринуклеотидного повтора (GCC)<sub>n</sub> в гене *GSPT1*, кодирующем фактор терминации трансляции, у 44 особей рыжей полевки, взятых из трех популяций из центральной и краевых частей ареала. Нам не удалось обнаружить различий в длине изучаемого олигонуклеотидного повтора ни в одной из трех взятых для анализа популяций.

Модельные организмы, используемые в генетических исследованиях, представлены популяциями, прошедшими долгий путь лабораторной эволюции, сопровождавшейся как направленным отбором, так и случайными изменениями. Мы провели полногеномный анализ дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, относящихся к Петергофским генетическим линиям (ПГЛ). Эта группа лабораторных штаммов происходит от разновидности дрожжей, используемой в промышленном производстве спирта. Мы впервые получили данные о филогенетическом положении ПГЛ в пределах вида *S. cerevisiae*: генетически предок ПГЛ оказался ближе к пекарским разновидностям дрожжей, а не к винодельческим, как другие лабораторные линии (рис. 2). Также мы нашли у штаммов ПГЛ некоторые ранее не описанные комбинации генов, предположительно дающих дрожжам преимущество при обитании в сложной среде.

В константных лабораторных условиях проведены сравнительные исследования индивидуальной изменчивости злостного инвайдера, хищной божьей коровки *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae). Рабочей гипотезой исследования было предположение, что различные параметры роста и развития у особей из инвазионных популяций будут более изменчивы, чем у особей из автохтонных популяций того же вида. В исследовании были использованы лабораторные линии *H. axyridis*, происходящие от особей, собранных в зоне инвазии (Краснодарский край и Чешская республика) и в пределах исходного, «естественного» видового ареала (Южная Корея и Дальний Восток России).

Таблица 2 Изменчивость скорости преимагинального развития и созревания самок *Harmonia axyridis* (Pallas): влияние внешних факторов и различия между популяциями.

Корм	Признак	Способ оценки	Популяции		
			Автохтонная	Инвазивные	
			Дегу (Корея)	Пардубице (Чехия)	Сочи
Персиковая гля	Время развития (дни)	коэффициент вариации	0.049 ± 0.002	0.053 ± 0.002	0.054 ± 0.003
		размах изменчивости	5.4 ± 0.4	5.4 ± 0.3	6.4 ± 0.5
	Время созревания (дни)	коэффициент вариации	0.235 ± 0.020	0.283 ± 0.023	0.262 ± 0.054
		размах изменчивости	17.4 ± 3.2	23.6 ± 3.0	19.0 ± 4.4
Яйца	Время развития (дни)	коэффициент вариации	0.073 ± 0.003 a	0.089 ± 0.002 b	0.081 ± 0.004 ab
		размах изменчивости	10.2 ± 0.9 a	13.4 ± 0.6 b	13.2 ± 0.9 ab



	Время созревания (дни)	коэффициент вариации	0.209 ± 0.032	0.158 ± 0.035	0.212 ± 0.014
		размах изменчивости	16.2 ± 2.5	15.2 ± 4.0	19.6 ± 1.7
Совокупные данные		ранжированные	8.3 ± 0.9 a	11.9 ± 1.0 b	12.2 ± 1.0 b

Примечание: В таблице приведены средние арифметические и их ошибки; данные, помеченные разными буквами в одной строке таблицы, достоверно различаются ( $P < 0.05$  по тесту Тьюки), отсутствие букв означает отсутствие достоверных различий.

Исследования показали, что в одних и тех же константных условиях основные параметры жизненного цикла: скорость преимагинального развития, размеры и вес отродившихся имаго (в значительной степени определяющие потенциальную плодовитость самок) и скорость репродуктивного созревания (косвенно отражающая тенденцию к репродуктивной диапаузе) у особей из лабораторных линий, происходящих от инвазионных популяций *H. axyridis*, более изменчивы, чем у особей из линий, происходящих от автохтонных популяций того же вида (Табл. 2 и 3). В основе этого явления, вероятно, лежит высокое генетическое разнообразие инвазионных популяций, обусловленное множественными интродукциями и / или гибридизацией с потомками особей из лабораторных линий, используемых для биологической борьбы с вредителями. Эта высокая индивидуальная изменчивость, возможно, послужила одной из предпосылок инвазии.

Таблица 3 Изменчивость размера и веса отрождающихся самок *Harmonia axyridis* (Pallas): различия между популяциями.

Признак	Способ оценки	Популяции		Достоверность различий между популяциями (тест Стьюдента).
		Автохтонная (Кедровая падь)	Инвазивная (Сочи)	
Размер (длина заднего бедра, мм)	коэффициент вариации	0.032 ± 0.002	0.045 ± 0.002	$P = 0.002$
	размах изменчивости	0.280 ± 0.027	0.450 ± 0.027	$P = 0.003$
Вес (мг)	коэффициент вариации	0.107 ± 0.002	0.128 ± 0.05	$P = 0.014$
	размах изменчивости	19.9 ± 1.3	27.4 ± 1.4	$P = 0.007$

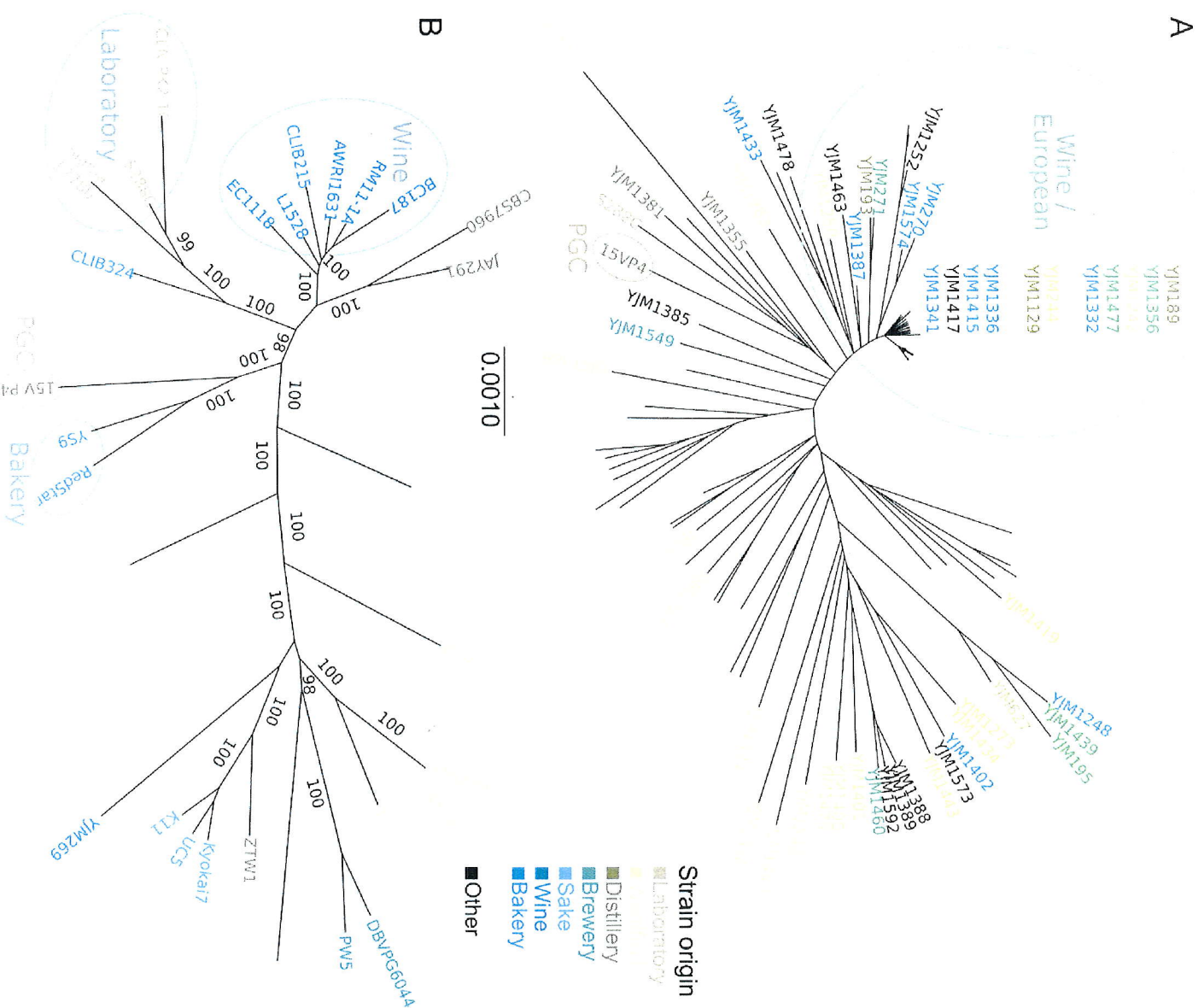
# ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДРОЖЖЕВЫХ ШТАММОВ

## ШТАММОВ

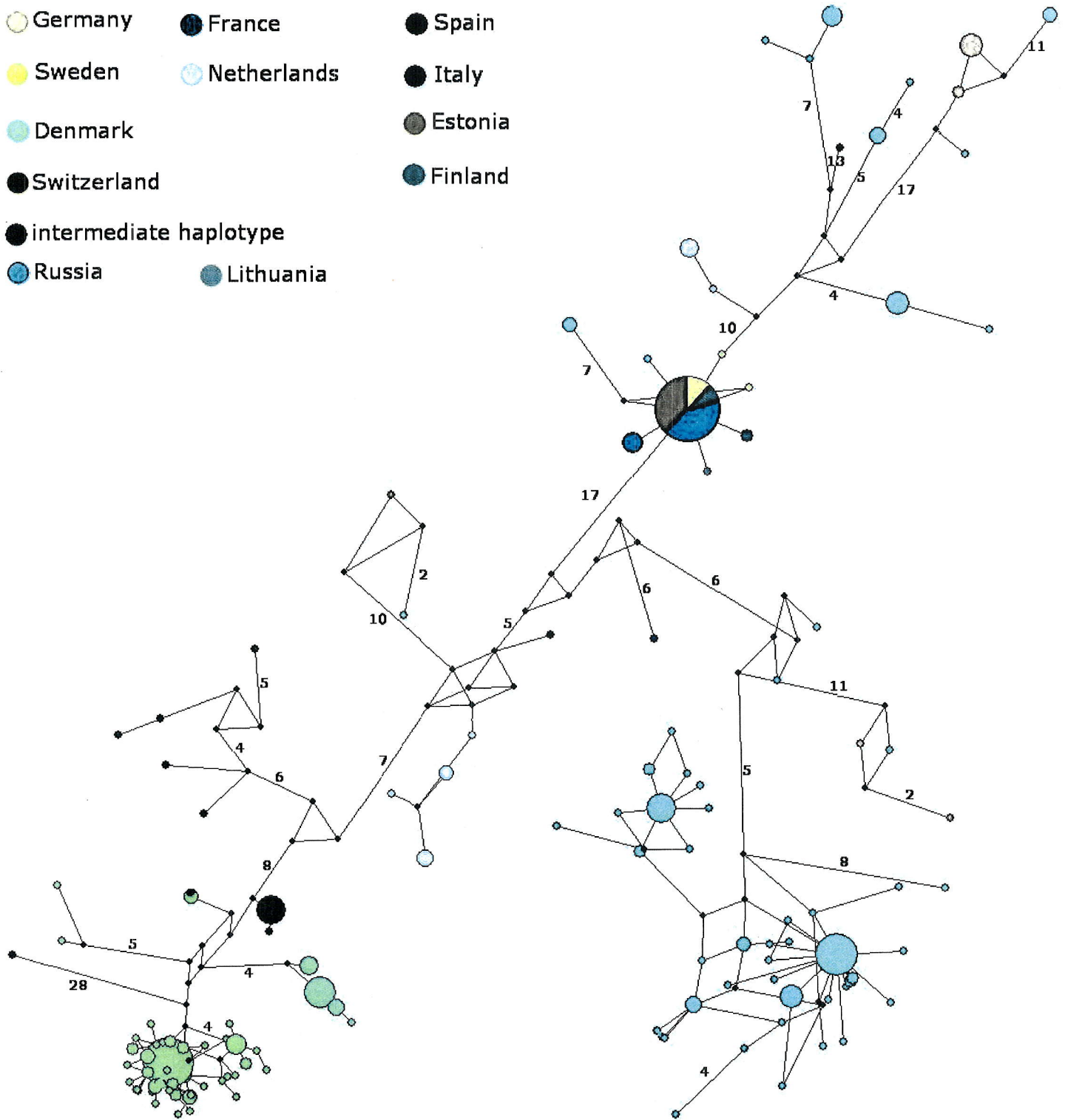
А – алгоритм NJ по  
ОДНОНУКЛЕОТИДНЫМ  
ВАРИАЦИЯМ, 95 ШТАММОВ

В – алгоритм ML по 807  
РАМКАМ СЧИТЫВАНИЯ, 29  
ШТАММОВ

РГС – Петергофские  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛИНИИ



- Austria
- England
- Romania
- Germany
- France
- Spain
- Sweden
- Netherlands
- Italy
- Denmark
- Estonia
- Switzerland
- Finland
- intermediate haplotype
- Russia
- Lithuania



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было показано, что 1) инвазивная популяция древесных улиток в короткий срок (приблизительно 50 лет) распространившаяся по колоссальной территории Северо-Западной Европы характеризуется чрезвычайно низким генетическим разнообразием. На территории в несколько тысяч квадратных километров было обнаружено всего 9 гаплотипов с 19 заменами. Для сравнения: на территории в 5 км<sup>2</sup> в Австрии обнаружено более 119 гаплотипов (Naase, Misof, 2009). Полученные данные говорят в пользу инвазии по модели «плацдарма», поскольку все обнаруженные на северо-западе гаплотипы уникальны и отличаются от ближайшего гаплотипа из Дании минимум 7 заменами. 2) было обнаружено, что у штаммов Петергофской генетической линии дрожжей имеются ранее не описанные комбинации генов, предположительно дающих дрожжам преимущество при обитании в сложной среде.

Кроме того, было показано, что индивидуальная изменчивость основных параметров жизненного цикла у особей из лабораторных линий, происходящих от инвазионных популяций божьей коровки *Harmonia axyridis*, выше, чем у особей из линий, происходящих от автохтонных популяций того же вида. В основе этого явления, вероятно, лежит высокое генетическое разнообразие инвазионных популяций. Высокая индивидуальная изменчивость, возможно, послужила одной из предпосылок инвазии.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

1. **О.В. Бондарева**, М.И. Орлова, **Н.И. Абрамсон**. Генетическая изменчивость древесной улитки *Arianta arbustorum* L. в Ленинградской области по данным анализа фрагмента последовательности митохондриального гена CO1//2016. Экологическая генетика Т. XIV №2:19-27
2. **Olga V. Bondareva, Natalja I. Abramson**. Genetic variability and invasion routes of *Arianta arbustorum* in St. Petersburg and Leningrad area//REPORT ON THE WORKSHOP ALPINE LAND SNAILS 2016. Editors: Elisabeth Haring, Oliver Macek & Helmut Sattmann. Verlag des Naturhistorischen Museums Wien, pp.16-17.
3. Drozdova P.B., **Tarasov O.V.**, Matveenko A.G., Radchenko E.A., Sopova J.V., Polev D.E., **Inge-Vechtomov S.G.**, Dobrynin P.V. Genome sequencing and comparative analysis of *Saccharomyces cerevisiae* strains of the Peterhof genetic collection. PLoS One. 2016. Vol. 11. P. e0154722.
4. Овчинников А.Н., Резник С.Я., Долговская М.Ю., Белякова Н.А. 2016. Индивидуальная изменчивость параметров роста и развития в инвазионных и автохтонных популяциях *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae) // Энтومол. обзор. Т. 95, вып. 2. С. 283-290.
5. **Н.И. Абрамсон, О.В. Бондарева, Л.А. Джапаридзе**. Молекулярно-генетические методы в исследовании инвазий. Сб. «Биология и фундаментальная медицина в Санкт-Петербурге», 2016, стр. 13.

Поданные в печать статьи:

1. **Natalja I. Abramson**, Dokuchaev N., Petrova N. Long-standing taxonomic and nomenclature issue of *Lemmus obensis chrysogaster* Allen, 1903 (Rodentia, Cricetidae) resolved. Mammalia, 2017 (принята в печать);