

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

УДК 575.83

№ гос.рег. АААА-А17-117041850233-1

УТВЕРЖДАЮ

Председатель СПбНЦ РАН  
академик



Ж. И. Алферов

ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе

«Эволюция органического мира и планетарных процессов»

(код программы 1.22П)

(№ 0240-2016-0002)

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

Этап 2017 года

Научный руководитель проекта  
академик

С.Г. Инге-Вечтомов

Санкт-Петербург

2017

## СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

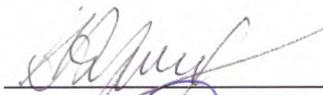
Организация-исполнитель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Санкт-Петербургский научный центр РАН

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

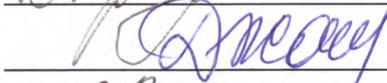


Исполнители:

Абрамсон Н.И., с.н.с., к.б.н.



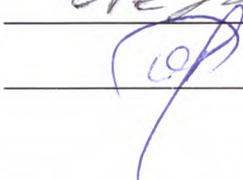
Джапаридзе Л.А., с.н.с., к.б.н.



Резник С.Я., в.н.с., д.б.н.



Тарасов О.В., н.с.



Соисполнители:

Генельт-Яновский Е.А., н.с., к.б.н.  
(ЗИН РАН)



Петрова Т.В., н.с., к.б.н.  
(ЗИН РАН)



Бодров С.Ю., м.н.с.  
(ЗИН РАН)



Бондарева О.В., аспирант  
(ЗИН РАН)



## РЕФЕРАТ

Отчет 19 стр., 2 рис., 1 табл., 1 прил.

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

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. В 2017 году исследование факторов, обеспечивающих успех непреднамеренной инвазии, на примере древесной улитки *Arianta arbustorum* (Linnæus, 1758), в Северо-Западном регионе России проводилось по нескольким взаимосвязанным направлениям. В отчетный период мы применили метод экологического моделирования совместно с исследованием изменчивости фрагмента митохондриального гена цитохром оксидаза I (*COI*) для сравнения филогеографической структуры и роли климатических условий в истории популяций *A. arbustorum* из контрастных условий видового ареала с целью (i) определить источник расселяющейся краевой популяции на северо-западе России, (ii) оценить вероятность влияния изменения климата на экспансивный рост популяции в этом районе. Таким образом, было показано, что

1) глубокая дивергенция Балтийских и Европейских митохондриальных линий говорит о длительном изолированном существовании северных и западных Европейских популяций древесных улиток;

2) согласно данным анализа попарного распределения частоты мутаций и экологического моделирования, экспансия Балтийской клады из неизвестного рефугиума, расположенного вероятнее всего к северу от Альп, началась около 6000 лет назад;

3) результаты моделирования предсказывают, в случае, если тренд климатических изменений не изменится, экспансия улиток на север и восток продолжится.

Результаты генетического анализа музейных экземпляров свидетельствуют о том, что представления о границах ареалов распространения леммингов в Палеарктике, изложенные в последних сводках (MSW 2005, Млекопитающие России, 2012), должны быть изменены. Ареал амурского лемминга ограничен только Амурской обл., Забайкальским краем (где он, по-видимому, исчез) и Южной Якутией. На Камчатке обитают 2 вида леммингов, а не один как ранее считалось.

Анализ последовательностей гена *SUP35* из 587 штаммов 10 видов рода *Saccharomyces* в сопоставлении с «естественными» аллелями этого гена с «лабораторными» показал, что ни одна из полученных в лабораторных условиях значащих замен в этом гене не была обнаружена среди «естественных» аллельных вариантов, что указывает на высокую консервативность факторов терминации трансляции.

Скращивание божьих коровок *Harmonia axyridis* (Pall.) из разных популяций показало, что способность к фотопериодической индукции диапаузы определяется несколькими генами, но один из них, очевидно, оказывает решающее воздействие, причем способность к диапаузе доминирует. Гены, детерминирующие цветовой полиморфизм *H.axyridis*, способны оказывать влияние и на существенные экофизиологические параметры, но этот эффект относительно слаб и проявляется лишь на определенном генетическом фоне и / или при определенных внешних условиях.

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ .....	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ .....	8
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	17
ПРИЛОЖЕНИЕ А (Сведения о публикациях по проекту) .....	19

## 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.

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. Корректное употребление имен таксонов полностью зависит от того, насколько доказана конспецифичность вновь собранных экземпляров с экземпляром, с которым связано 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.

## 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 2017 году стояли следующие задачи: Исследование факторов, обеспечивающих успех непреднамеренной инвазии, на примере древесной улитки *Arianta arbustorum* (Linnaeus, 1758), демонстрирующей в последние годы стремительное расселение в Северо-Западном регионе России. В отчетный период мы применили метод экологического моделирования совместно с исследованием изменчивости фрагмента митохондриального гена цитохром оксидаза I (*COI*) для сравнения филогеографической структуры и роли климатических условий в истории популяций *A.arbustorum* из контрастных условий видового ареала с целью (i) определить источник расселяющейся краевой популяции на северо-западе России, (ii) оценить вероятность влияния изменения климата на экспансивный рост популяции в этом районе. Мы рассматриваем несколько гипотез в отношении источника инвазивной популяции: (a) многократные события переноса улиток с транспортом на большие расстояния из западной Европы, (b) инвазия по типу плацдарма из Западной Европы, (c) выживание в ледниковом рефугиуме и продолжающееся расселение в новые пригодные места, спровоцированное изменением климата в регионе.

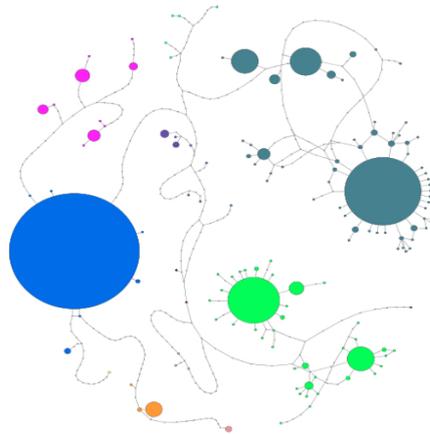
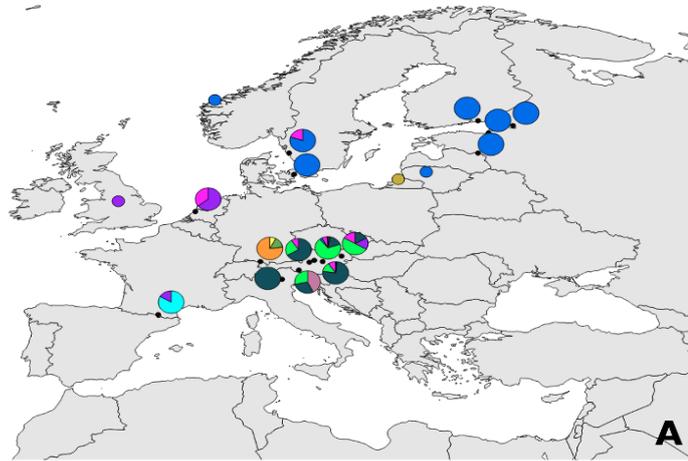


Рис. 1 – Географическое распределение филогрупп древесной улитки в Европе (А) и сеть гаплотипов (В), цветом обозначены генетические клады. Площадь кругов пропорциональна количеству частоте встречаемости гаплотипа. Промежуточные гипотетические гаплотипы показаны бледно-серыми точками.

Мы изучили генетическое разнообразие древесной улитки на основе анализа 284 пн фрагмента CO1. Результаты демографического анализа указывают на то что экспансивный рост популяций улитки в Балтийском регионе около 6000 лет назад. *A.arbustorum* предпочитает селится в увлажненных стациях с умеренной температурой летом. Наши данные об изменчивости митохондриальной ДНК у Арианты позволили нам понять, что улитка занесена из Северной Европы, но точнее установить пока не возможно. Монофорфизм Арианты типичен для активно расселяющегося вида. Улиток находят в значительных количествах (Бондарева, 2016), и это очередной пример активного расселения инвазивных и не только видов в восточную часть Балтийского региона и СЗ Россию. Мы попробовали понять, есть ли естественные причины, влияющие на расселение улиток на северо-

восток. Математическое моделирование с применением ГИС-технологий, встроенных в программу MAXENT показало, что наиболее вероятное объяснение этого феномена в том, что максимальный вклад в этот процесс вносит суровость зимы и умеренное тепло летом. Вероятно, наши данные поддерживают идею о том, что арианты становится меньше на южной границе ареала, - ЮЗ Европы, где в последние годы регулярно регистрируются температурные рекорды.

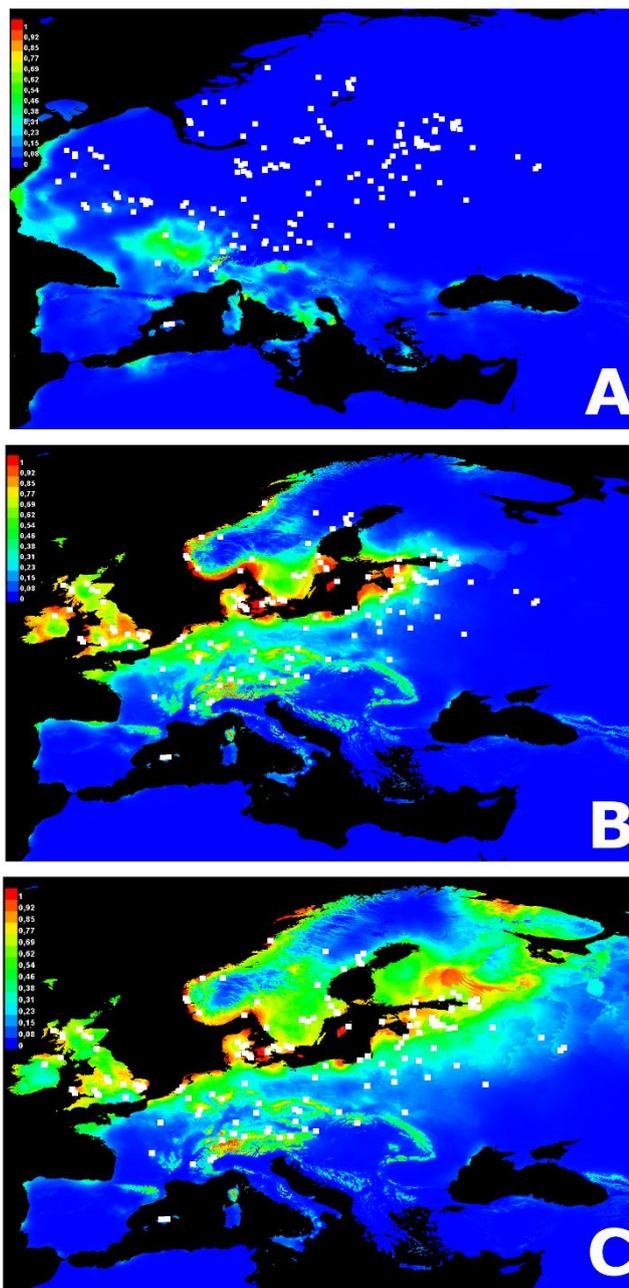


Рис. 2 – Моделирование распространения *A. arbustorum* в (А) период последнего ледникового максимума (са. 22 куг ВР), (В) середина голоцена (са.6 куг ВР) и (С) 2050 году. Степень оптимальности обитания уменьшается

от теплых оттенков цвета к холодным, красным и желтым цветом показаны предполагаемые подходящие местообитания.

Глубокая дивергенция Балтийских и Европейских митохондриальных линий говорит о длительном изолированном существовании северных и западных Европейских популяций древесных улиток. Согласно данным анализа попарного распределения частоты мутаций и экологического моделирования, экспансия Балтийской клады из неизвестного рефугиума, расположенного вероятнее всего к северу от Альп, началась около 6000 лет назад. Результаты моделирования предсказывают, что, если тренд климатических изменений не изменится экспансия улиток на север и восток продолжится.

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.

С помощью программы FastQC был проведен анализ качества полученных данных секвенирования. Качество полученных данных позволило использовать их для дальнейшей сборки транскриптомов. Сборка транскриптомов осуществлялась с помощью пакета Trinity с использованием мощностей ресурсного центра «Вычислительный центр СПбГУ». В качестве референса для сборки использовали геном пресноводного брюхоногого моллюска *Biomphalaria glabrata*.

С помощью диаграммы «кратность изменения экспрессии генов — р-значение разницы экспрессии» мы попытались выявить гены, транскрипция которых в наибольшей степени отличается у улиток, взятых из разных популяций. Всего было выявлено 123 гена, экспрессия которых была повышена в Санкт-Петербургской популяции по сравнению с австрийской, и

141 ген, экспрессия которых была понижена в Санкт-Петербургской популяции по сравнению с австрийской. Для того чтобы выявить функциональные группы генов, которые могут обеспечивать высокую скорость расселения древесной улитки, был проведен анализ наиболее варьирующих между этими штаммами генов с использованием инструмента DAVID. Нам не удалось выявить ни одной функциональной группы, гены которой были бы значимо больше представлены среди отличающихся по экспрессии между разными популяциями.

Корректное употребление имен таксонов полностью зависит от того, насколько доказана конспецифичность вновь собранных экземпляров с экземпляром, с которым связано название (голотип, типовый 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. Нами проведены генетические исследования музейных коллекций представителей подсемейства полевоchieх (*Arvicolinae*, *Rodentia*). Нами успешно выделена ДНК и получены фрагменты сиквенсов *цит б* от экземпляров, собранных в экспедициях Н.М.Пржевальского, П.К.Козлова, В.И. Роборовского, Н.А.Северцова, Г.И.Радде и ф.Киттлица в 19-ом – начале 20-го века.

Проблемы в изучении распространения, систематики и филогении леммингов (*g.Lemmus*) в значительной степени связаны с труднодоступностью мест обитания, широким ареалом в Палеарктике (арктические тундры и таежная зона от Скандинавии до Чукотки и Камчатки) и крайней редкостью отдельных форм. В этой связи генетическая информация, полученная от экземпляров, хранящихся в музейных

коллекциях особенно ценна, так как многие места откуда имеются сборы почти 200-летней давности, сегодня практически недоступны, а ландшафтная обстановка в иных случаях подверглась сильному антропогенному воздействию и сегодня леммингов там уже нет. Результаты нашего анализа свидетельствуют, о том, что представления о границах ареалов распространения леммингов в Палеарктике, изложенные в последних сводках (MSW 2005, Млекопитающие России, 2012) должны быть изменены. Ареал амурского лемминга ограничен только Амурской обл, Забайкальским краем (где он по-видимому исчез) и Южной Якутией. На Камчатке обитают 2 вида леммингов, а не один как ранее считалось. Таксономический и номенклатурный аспекты: *L.a.ognevi* – синоним *L.sibiricus*; *L.flavescens* и *L.chrysogaster* синонимы *L.trimucronatus*.

В лабораторных условиях проведено скрещивание божьих коровок *Harmonia axyridis* из автохтонной Иркутской и инвазионной Сочинской популяций, различающихся по фотопериодической индукции диапаузы. Опыты были проведены при температуре 20°C и длине светового дня 18 часов. Через 20 дней после отрождения из куколки всех самок потомства вскрывали. Критерием индукции диапаузы было слабое развитие яичников при наличии хорошо развитого жирового тела. У особей из Иркутской популяции короткий световой день индуцировал репродуктивную диапаузу, в то время как у божьих коровок из Сочинской популяции фотопериодическая реакция была ослаблена. Гибриды первого поколения продемонстрировали четкую фотопериодическую реакцию, сходную с таковой у родительских форм из Иркутской популяции. Возвратные скрещивания гибридов с особями из Иркутской популяции привели практически к тому же результату. Среди потомства от возвратных скрещиваний с особями из Сочинской инвазивной популяции доля диапаузирующих самок была весьма изменчивой, в совокупности – близкой к среднему между двумя популяциями (табл. 1). Судя по этим данным, способность к фотопериодической индукции диапаузы у самок *H.axyridis*

определяется несколькими генами, но один из них, очевидно, оказывает решающее воздействие, причем способность к диапаузе доминирует. Сравнение реципрокных скрещиваний не выявило достоверных различий. Очевидно, вклад генотипов самца и самки в детерминацию данного признака у потомства примерно одинаков.

Таблица 1 – Доли диапаузирующих самок в потомстве от разных типов скрещивания между особями из инвазивной Сочинской (СП) и автохтонной Иркутской (ИП) популяциями *Harmonia axyridis* (при обозначении типа скрещивания самка указана первой). Приведены медианы и квартили; значения, помеченные разными латинскими буквами, достоверно различаются ( $p > 0.05$ , тест Тьюки, примененный к ранжированным данным).

Тип скрещивания	Объем исследованной выборки		Доля диапаузирующих особей среди самок потомства (%)
	Число родительских пар	Число вскрытых самок потомства	
ИП×ИП	10	96	100 (100–100) c
СП×СП	10	113	73 (55–90) a
ИП×СП	10	109	100 (100–100) bc
СП×ИП	10	116	100 (100–100) bc
(ИП×СП)×ИП	9	73	100 (97–100) bc
ИП×(ИП×СП)	8	81	100 (100–100) bc
(СП×ИП)×ИП	7	53	100 (100–100) bc
ИП×(СП×ИП)	6	43	100 (100–100) bc
(ИП×СП)×СП	9	102	90 (70–100) ab
СП×(ИП×СП)	10	97	85 (75–100) a
(СП×ИП)×СП	9	100	100 (92–100) ab
СП×(СП×ИП)	8	85	100 (88–100) ab

Автохтонная иркутская популяция азиатской божьей коровки *Harmonia axyridis*, самки которой всегда диапаузируют в условиях короткого дня, и инвазионная сочинская популяция, у самок которой тенденция к фотопериодической индукции диапаузы выражена слабее, различаются также по составу цветковых морф: сочинская представлена только морфой *succinea*, а иркутская – морфами *succinea* и *axyridis* с явным преобладанием последней, в пределах которой мы выделили два фенотипа, различающихся по степени меланизации. Содержание жуков в условиях короткого дня (12 ч) индуцировало репродуктивную диапаузу у самок, всех исследованных нами морф и фенотипов иркутской популяции, но при длинном дне (18 ч) самки морфы *succinea* проявляли несколько меньшую тенденцию к диапаузе. Очевидно, межпопуляционные различия в реакциях, регулирующих сезонный цикл азиатской божьей коровки, определяются генами, не связанными (или почти не связанными) с детерминацией цветкового полиморфизма. Различия в размере и весе между популяциями были весьма существенными, но различия между морфами и фенотипами были статистически достоверными лишь в некоторых из проведенных нами опытов. В сочетании с литературными данными результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что гены, детерминирующие цветовой полиморфизм *H.axyridis*, способны оказывать плейотропный эффект и на другие признаки, в том числе и на существенные экофизиологические параметры, но этот эффект относительно слаб и проявляется лишь на определенном генетическом фоне и / или при определенных внешних условиях.

Модельные организмы, используемые в генетических исследованиях, представлены популяциями, прошедшими долгий путь лабораторной эволюции, сопровождавшейся как направленным отбором, так и случайными изменениями.

К настоящему времени получена информация о последовательностях как отдельных генов, так и полных геномов у разных штаммов *S.cerevisiae*,

что делает этот вид также удобным объектом для изучения внутривидовой эволюции. В лабораторных условиях у дрожжей было получено большое число мутаций по генам *SUP35* и *SUP45*, кодирующим факторы терминации трансляции; некоторые из этих мутаций влияют на различные свойства соответствующих белков, не затрагивая при этом жизненно важные функции. Мы провели анализ последовательностей гена *SUP35* из 587 штаммов 10 видов рода *Saccharomyces* и сопоставили «естественные» аллели этого гена с «лабораторными». Ни одна из полученных в лабораторных условиях значащих замен в этом гене не была обнаружена среди «естественных» аллельных вариантов, что указывает на высокую консервативность факторов терминации трансляции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было показано, что 1) глубокая дивергенция Балтийских и Европейских митохондриальных линий говорит о длительном изолированном существовании северных и западных Европейских популяций древесных улиток. Согласно данным анализа попарного распределения частоты мутаций и экологического моделирования, экспансия Балтийской клады из неизвестного рефугиума, расположенного вероятнее всего к северу от Альп, началась около 6000 лет назад. Результаты моделирования предсказывают, что, если тренд климатических изменений не изменится экспансия улиток на север и восток продолжится; 2) Результаты генетического анализа музейных экземпляров свидетельствуют, о том, что представления о границах ареалов распространения леммингов в Палеарктике, изложенные в последних сводках (MSW 2005, Млекопитающие России, 2012) должны быть изменены. Ареал амурского лемминга ограничен только Амурской обл, Забайкальским краем (где он по-видимому исчез) и Южной Якутией. На Камчатке обитают 2 вида леммингов, а не один как ранее считалось. Таксономический и номенклатурный аспекты: *L.a.ognevi* – синоним *L.sibiricus*; *L.flavescens* и *L.chrysogaster* синонимы *L.trimucronatus*.

Мы провели анализ последовательностей гена *SUP35* из 587 штаммов 10 видов рода *Saccharomyces* и сопоставили «естественные» аллели этого гена с «лабораторными». Ни одна из полученных в лабораторных условиях значащих замен в этом гене не была обнаружена среди «естественных» аллельных вариантов, что указывает на высокую консервативность факторов терминации трансляции

Скрещивание божьих коровок *Harmonia axyridis* (Pall.) из разных популяций показало, что способность к фотопериодической индукции диапаузы определяется несколькими генами, но один из них, очевидно, оказывает решающее воздействие, причем способность к диапаузе

доминирует. Гены, детерминирующие цветовой полиморфизм *H. axyridis*, способны оказывать влияние и на существенные экофизиологические параметры, но этот эффект относительно слаб и проявляется лишь на определенном генетическом фоне и / или при определенных внешних условиях.

## Список публикаций по теме

- 1) Natalia Abramson, Nikolay Dokuchaev and Tatyana Petrova. Long-standing taxonomic and nomenclature issue of *Lemmus obensis chrysogaster* Allen, 1903 (Rodentia, Cricetidae) resolved. //Mammalia. Online erschienen: 04.04.2017 | DOI: <https://doi.org/10.1515/mammalia-2016-0081>
- 2) Reznik S.Ya., Ovchinnikova A. A., Ovchinnikov A. N., Barabanova L.V., Belyakova N. A. 2017. Inheritance of diapause regulation in the multicoloured Asian ladybird *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). European Journal of Entomology, 114: 416-421 (doi: 10.14411/eje.2017.053) <https://www.eje.cz/pdfs/eje/2017/01/53.pdf>.
- 3) Reznik, S. Y., Ovchinnikov, A. N., Ovchinnikova, A. A., & Belyakova, N. A. Color polymorphism, development, and reproductive diapause of the multicolored Asian ladybird *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae) females. 2017. Entomological Review, 97(4): 407-412. <https://link.springer.com/article/10.1134/S0013873817040017>
- 4) Tikhodeyev Oleg N., Tarasov Oleg V., Bondarev Stanislav A. Allelic variants of hereditary prions: The bimodularity principle // Prion, 2017, Vol. 11 , Iss. 1, pp. 4-24. <https://doi.org/10.1080/19336896.2017.1283463>