

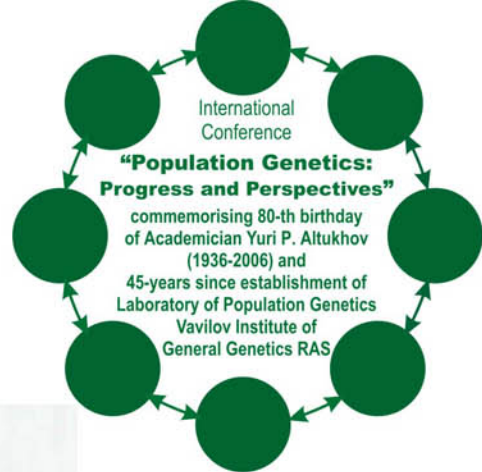
# Генетика популяций: прогресс и перспективы

Материалы Международной научной  
конференции, посвящённой 80-летию  
со дня рождения академика Ю.П. Алтухова  
и 45-летию лаборатории  
популяционной генетики ИОГен РАН

“Ваш Формат”  
Москва 2017



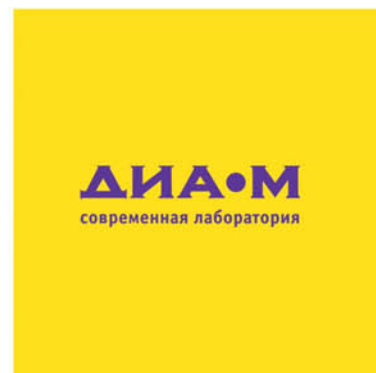
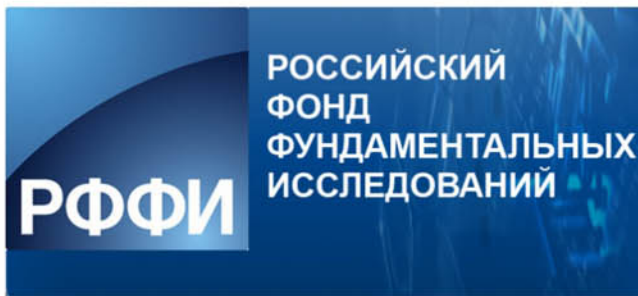
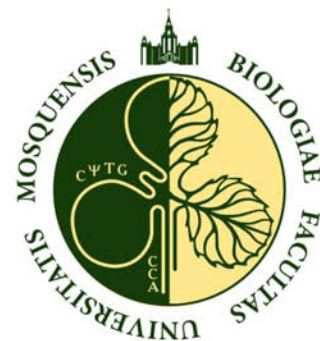
17-21 апреля 2017, ЗБС



17-21 April 2017,  
 Zvenigorod Biological Station



Академик Юрий Петрович Алтухов  
 Academician Yuri P. Altukhov  
 (1936 - 2006)



Федеральное агентство научных организаций / Federal Agency of Scientific Organizations  
Российская академия наук / Russian Academy of Sciences (RAS)  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН  
Vavilov Institute of General Genetics RAS (VIGG)  
Научный совет по генетике и селекции РАН / Scientific Council for Genetics and Breeding RAS  
Вавиловское общество генетиков и селекционеров  
Vavilov Society of Geneticists and Breeders  
Кафедра генетики Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова  
Department of Genetics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University (MSU)  
Учебно-научный центр ИОГен РАН и Кафедры генетики Биологического факультета МГУ  
Scientific Training Center of VIGG and Department of Genetics of Faculty of Biology MSU  
Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета  
МГУ им. М.В. Ломоносова / S.N. Skadovsky Zvenigorod Biological Station MSU

## **Генетика популяций: прогресс и перспективы**

Материалы Международной научной конференции, посвящённой  
80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936 – 2006)  
и 45-летию основания лаборатории  
популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН  
(Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического  
факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, 17-21 апреля 2017 г.)

## **Genetics of Population: Progress and Perspectives**

Proceedings of the International Scientific Conference commemorating the 80th  
birthday of Academician Yury P. Altukhov (1936–2006)  
and dedicated to the 45th Anniversary of  
the Laboratory of Population Genetics VIGG RAS named after Yu. P. Altukhov  
(held at S. N. Skadovsky Zvenigorod Biological Station of Biological Faculty of  
Lomonosov Moscow State University on April 17–21, 2017)

«Ваш Формат»  
Москва - 2017

**УДК 575.087.1(082)**

**ББК 28.04я43**

**Авт. зн. Г34**

### **Генетика популяций: прогресс и перспективы**

Материалы Международной научной конференции, посвящённой 80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936 – 2006) и 45-летию основания лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН (17-21 апреля 2017 г., Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова). – М.: Ваш Формат, 2017 – 354 с.

Сборник содержит тезисы пленарных, секционных и стендовых докладов, посвященных изучению генетических процессов в популяциях растений, животных и человека, а также генетическим основам видообразования, представленных на Международной научной конференции, посвящённой 80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936 – 2006) и 45-летию основания лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН (Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, 17-21 апреля 2017 г.).

### **Редакторы:**

Д.В. Политов, М.М. Белоконь, Е.А. Мудрик, О.Л. Курбатова, Е.А. Салменкова

### **Финансовая поддержка:**

Конференция организована и проведена при поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-20098г и спонсорской поддержке ООО «Диаэм», ООО «СкайДжин», ТД «Сибиряк» (ООО «Кедровый бор»).

Издание осуществлено за счёт средств проекта Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-20098г.

### **Фото обложки:**

Передняя обложка: пейзаж – автор Е.А. Мудрик (ИОГен РАН).

Передний форзац: Ю.П. Алтухов - автор К.А. Трувеллер (Биофак МГУ).

Задний форзац: вверху – лаборатория популяционной генетики ИОГен РАН; внизу (Ю.П. Алтухов) – автор К.А. Трувеллер.

Задняя обложка: вверху (Ю.П. Алтухов) – автор К.А. Трувеллер, в середине (нерест лососей) и внизу справа (нерка) – автор М.В. Шитова (ИОГен РАН), внизу слева (кета) – автор С.И. Грунин (ИБПС СО РАН).

Научное издание (Отпечатано с готового оригинал-макета)

**ISBN 978-5-9909701-7-5**

© Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 2017

**UDC 575+576.4**

**Genetics of Populations: Progress and Perspectives**

Proceedings of the International Scientific Conference commemorating the 80th birthday of Academician Yuri P. Altukhov (1936–2006) and dedicated to the 45th anniversary of the Laboratory of Population Genetics VIGG RAS named after Yu.P. Altukhov (held at S.N. Skadovsky Zvenigorod Biological Station of Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University, April 17–21, 2017). – Vash Format, Moscow, 2017 – 354 p.

The volume contains abstracts of plenary, session and poster presentations of studies of genetic processes in plant, animal and human populations and genetic mechanisms of speciation and presented at the International Scientific Conference commemorating the 80th birthday of Academician Yuri P. Altukhov (1936–2006) and dedicated to the 45th anniversary of the Laboratory of Population Genetics VIGG RAS named after Yu.P. Altukhov (held at S.N. Skadovsky Zvenigorod Biological Station of Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University on April 17–21, 2017).

**Editors:**

D.V. Politov, M.M. Belokon, E.A. Mudrik, O.L. Kurbatova, E.A. Salmenkova

**Financial support:**

The conference was financially supported by the project of Russian Foundation for Basic Research no. 17-04-20098 and by sponsors: companies *Dia-M*, *SkyGen*, *TH Sibiryak (Kedrovyyi Bor)*.

The publication of the proceedings was supported by the project of Russian Foundation for Basic Research no. 17-04-20098.

**Cover photo:**

Front cover: landscape – author Elena A. Mudrik (Vavilov Institute of General Genetics RAS).

Flyleaf: Yuri P. Altukhov – author Kirill A. Truveller (Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University).

Back flyleaf: top – Laboratory of Population Genetics of Vavilov Institute of General Genetics RAS; bottom (Yuri P. Altukhov) – author Kirill A. Truveller.

Back cover: top (Yu.P. Altukhov) – author Kirill A. Truveller; middle (salmon spawning) and bottom right (sockeye salmon) – author Marina V. Shitova (Vavilov Institute of General Genetics RAS), bottom left (chum salmon) – author Sergei I. Grunin (Institute of Biological Problems of the North, Far Eastern Branch RAS).

Scientific publication (Printed from ready layout)

**ISBN 978-5-9909701-7-5**

© Vavilov Institute of General Genetics RAS, 2017

*Глубокоуважаемые коллеги!*

*Международная научная конференция «Генетика популяций: прогресс и перспективы» продолжает серию юбилейных мероприятий, посвященных памяти выдающегося учёного-популяциониста Юрия Петровича Алтухова (1936 – 2006). Первые конференции, «Проблемы популяционной и общей генетики» и её молодёжный сателлит, состоялись 14–16 ноября 2011 г. на базе Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН) в Москве и были приурочены к 75-летию учёного. В этом году дополнительным поводом к отмечаемой в октябре 2016 г. 80-летней годовщине со дня рождения Юрия Петровича стал юбилей основанной им 45 лет назад лаборатории популяционной генетики ИОГен РАН, ныне носящей имя академика Ю.П. Алтухова. Местом проведения конференции в 2017 г. была выбрана Звенигородская биологическая станция им. С.Н. Скадовского Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Этот выбор организаторов основан и на связи ранних этапов научного пути Ю.П. Алтухова с биологическим (в то время биолого-почвенным) факультетом МГУ, и на развившихся за последнее десятилетие тесных учебно-научных связях ИОГен РАН с биостанцией и кафедрами биофака, которые проводят на ней летние учебные практики. Наследие Ю.П. Алтухова и его научной школы стало доступным молодому поколению студентов-биологов через их участие в самостоятельных работах в рамках зоолого-ботанической практики с применением молекулярно-генетических методов. Традиции научно-образовательных связей ИОГен РАН с биофаком МГУ продолжают и в форме чтения лекционных спецкурсов, и проведения практикумов на базе института для студентов кафедры генетики в рамках Учебно-научного центра.*

*Мы надеемся, что конференция послужит обмену опытом и представительным форумом для всестороннего обсуждения достижений, проблем и перспектив в области популяционной генетики в России и в мире. В задачи конференции входит: повышение информированности российских и зарубежных специалистов об исследованиях в области популяционной генетики, анализ роли традиционных и новых методов и подходов в оценке и мониторинге биоразнообразия, выявлении факторов, определяющих генетические процессы в популяциях растений, животных и человека, рассмотрение тенденций и перспектив развития данных направлений, укрепление связей между академическими и ведомственными исследовательскими организациями и учреждениями высшей школы, обсуждение развития научных идей академика Ю.П. Алтухова и их значения в современном мире.*

*В рамках конференции представлены доклады по следующим направлениям:*

- 1. Генетические процессы в популяциях животных.*
- 2. Генетические процессы в популяциях растений.*
- 3. Генетика популяций человека.*
- 4. Механизмы видообразования.*

*В настоящий том вошли тезисы докладов конференции, размещённые в алфавитном порядке по фамилиям первых авторов. Программа конференции и дополнительные материалы представлены на веб-сайте конференции по адресу: [confprogen.ru](http://confprogen.ru).*

*Организаторы выражают свою признательность всем коллегам, приславшим заявки и тезисы докладов, принявшим личное участие в конференции с пленарными, секционными и постерными докладами. Всё это позволило получить финансовую поддержку для подготовки и проведения конференции, за которую мы искренне благодарим Российский фонд фундаментальных исследований, предоставивший грант, и спонсоров – компании ООО «Диаэм», ООО «СкайДжин» и Торговый дом «Сибиряк» (бренд «Кедровый бор»), с которыми мы тесно и плодотворно работаем вместе. В будущем мы надеемся на продолжение традиции проведения конференций по популяционной генетике памяти Юрия Петровича Алтухова.*

*Научный и Организационный комитеты конференции*

## **Инфравидовые категории: таксономический и номенклатурные аспекты**

Абрамсон Н.И.

*Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия*

С широким распространением филогеографических исследований накопилось огромное количество примеров, свидетельствующих о резких противоречиях между данными разных подходов к выделению внутривидовых форм. Речь, прежде всего о методах выделения подвидовых форм на основе значимых дистанциях в изменчивости любых морфологических признаков (правило 75%), и подходом к выделению внутривидовых и других таксономических категорий, в основе которого лежат генетические данные. В кодекс зоологической номенклатуре категория подвида введена сравнительно недавно (во второй половине 20 века) и на настоящий момент логика выделения этого таксона находится в серьезном противоречии с логикой выделения остальных таксонов в системе биологической классификации. Бесспорно, что биологическая классификация живых организмов в идеале должна отражать иерархические группы организмов, объединяемые в таксоны разного уровня по принципу общности происхождения, родства. Именно поэтому при выделении надвидовых групп со времен Дарвина все усилия были направлены на поиск признаков, свидетельствующих об общности происхождения, на доказательства гомологии. Однако этот принцип нарушается при выделении подвидов и объединении локальных группировок в подвидовые формы. Это часто приводит к необоснованному увеличению номенклатурных названий и непомерному росту синонимии. Отмеченных сложностей можно бы было хоть отчасти избежать, если бы к номенклатурному оформлению внутривидовых группировок, на основе изменчивости различных групп признаков, как подвидовых подходить более взвешенно, выделяя группу популяций в подвид только в случае совпадения нескольких наборов данных и достаточно четко очерченных географических границ. В иных случаях при описании внутривидового разнообразия (полиморфизма) можно широко использовать не таксономические категории, такие как раса, экоморфа, хромосомная раса, митохондриальная филогруппа. В данном сообщении мы рассмотрим отмеченные выше противоречия на примере собственных исследований широкоарельных таксонов подсемейства полевоочьих и на основе литературных данных по другим группам животных.

### **Intraspecies categories: taxonomic and nomenclature aspects**

Abramson N.I.

*Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia*

Along with wide practice of phylogeographic studies an enormous number of cases evidencing for dramatic discrepancies in the data from different approaches to the distinguishing of subspecies are accumulating. This is in the first turn the contradictions between the methods of distinguishing the subspecies basing on any pronounced gaps in morphological features (the rule of 75%) and approach to their delimitation based on genetic data. The category of subspecies as regulated by the Zoological Nomenclature Code appeared comparatively recently (the second half of the XX century) and up to now the logic of distinguishing this category seriously contradicts to the logic of distinguishing the rest taxonomical categories in the system of biological classification. No doubt that biological classification of living forms ideally must reflect hierarchical grouping of organisms in taxa of different levels based on the principle of common origin. Just due to this all the efforts in distinguishing supraspecies groups since Darwin were directed to the search of characters evidencing for common origin, for homology. However, this principle violating in distinguishing subspecies and uniting of local populations into subspecies forms. This in its turn leads to unsubstantiated increase of nomenclature names and incredible growth of synonymy. These complications may be partly avoided if the approach to nomenclature registration of intraspecies groups on the base of variation of different features would be more cautious using subspecies name

only in the case when several data sets will coincide and the group has explicit geographic boundaries. In other cases in description of intraspecies diversity (polymorphism) non taxonomic categories such as race, ecomorp, chromosome race, mitochondrial phylogroup and other may be widely applied. Within this communication we consider the aforementioned contradictions at the examples of own studies of wide ranging taxa in the subfamily of Arvicolinae and at examples from other groups of animals from own and literature data.

### **«Что в имени тебе моем»: роль музейных коллекций в генетико-популяционных исследованиях**

Абрамсон Н.И., Петрова Т.В.

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

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, 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. В данном сообщении мы приводим результаты генетических исследований музейной коллекции 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*.

По результатам генотипирования ряд экземпляров из группы родов «*Microtus*» были переопределены. Так, из 2-х типовых экземпляров монгольской полевки, описанных как подвид «*baicalensis*» Fetisov, 1941, по результатам анализа один следует относить к полевке Миддендорфа (*A. middendorffii*), а второй – к полевке-экономке (*A. oeconomus*). Экземпляры,



собранные в северо-западной Монголии в 1929 году А.Н.Формозовым и записанные в коллекции как *A.limnophilus*, по данным молекулярной идентификации не относятся к данному виду, формируют отдельный кластер, сестринский по отношению к *A. gromovi*. Возможно, они относятся к новому, не описанному еще виду. Поставлена финальная точка в номенклатурном вопросе – центрально - азиатская кустарниковая полевка *N.juldaschi* относится не к роду *Neodon*, а к роду *Blanfordimys*. Наши результаты анализа лектотипа и паралектотипа *Lasiopodomys fuscus* однозначно указывают на то, что они относятся к роду *Neodon*. При этом анализ последовательности цитб из лектотипа *N. leucurus strauchi* также подтверждает и видовой статус *Neodon fuscus* (в противовес мнению о его синонимии *N. leucurus*).

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 15-04-04602

### **“What's in a name”: museum collections in the studies on population genetics**

Abramson N.I., Petrova T.V.

*Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia*

Fundamental studies in the field of biodiversity more and more depend from the development of genome technologies. As expenses on sequencing decreasing the accumulation of sequences in the international Genbank proceed with unprecedented velocity. Thus, the study of DNA sequences starting to play the key role in the evolutionary and ecological research. Meanwhile these data will have very limited significance outside phylogenetic context and without exact taxonomic linkage. The proper use of species names depends entirely on the process of verifying whether additional specimens are conspecific with the specimen with which the species name is associated (type material). This is the main reason why genetic studies of museum specimens are of paramount importance in elucidation of complex nomenclature issues (type material). Above this they are also priceless source of material that was gathered during preceding centuries in a hardly accessible today sites due to political or economic reasons. Moreover, museum material allow studying with genetic tools recently disappeared populations, species, and species under threat of extinction.

Here we report the results of genetic studies of museum collections of representatives of subfamily Arvicolinae (Rodentia). We have succeeded in DNA isolation and amplification of *cytb* fragments from specimens collected in the expeditions of N.M. Przhevalsky, P.K. Kozlov, V.I. Roborovsky, N.A. Severtzov, G.I. Radde and F. Kittlitz in 19 –beginning of 20<sup>th</sup> century. The gaps in the knowledge on distribution, systematics and phylogeny of true lemmings (*g.Lemmus*) to a significant degree related to hard access to the habitats, wide range in Palearctic and extremely rare occurrence of some forms. In this connection genetic information from specimens in museum collections particularly valuable so far as many places where specimens were collected almost 200 years ago nowadays are practically inaccessible and in some environment was subjected to strong anthropogenic impact and nowadays lemmings there are absent. Results of our molecular studies of museum collection dramatically change ideas on lemming species distribution and taxonomy given in the latest reference books (MSW 2005, Mammals of Russia, 2012). The range of Amur lemming is limited only to Amur area, Transbaikalia and South Yakutia. There are two species of *Lemmus* at Kamchatka peninsula, not one as was considered earlier. Taxonomic and nomenclature consequences of our results: *L. a. ognevi* – synonym of *L. sibiricus*; *L. flavescens* and *L. chrysogaster* synonyms of *L. trimucronatus*.

After genotyping of a number of samples from the generic group «*Microtus*» some of them were redefined. Thus, out of two type specimens of *M. mongolicus baikalensis* Fetisov, 1941, one should be assigned to the Middendorff vole (*A. middendorffii*), the second one to the root vole (*A. oeconomus*). Specimens collected in the northwestern Mongolia in 1929 by A.N. Formozov and listed in the collection as *A. limnophilus*, according to molecular identification do not belong to this species but form separate cluster, sister to *A. gromovi*. It is quite possible that they belong to a new,

undescribed species. Our studies put a final dot in the nomenclature issue of *Neodon juldaschi* that should be referred to the genus *Blanfordimys*. Our results of analysis of lectotype and paralectotype of *Lasiopodomys fuscus* unambiguously point on that this form should be assigned to the genus *Neodon*. Therewith the sequence of cyt b of the lectotype of *N. leucurus strauchi* also supports the species status of *Neodon fuscus* (contrary to the opinion on its synonymy with *N. leucurus*).

The work was financially supported by grant of RFBR № 15-04-04602

### **Morphometric and genetic variation in the Balkan endemic *Sideritis scardica* Grsb.**

Aneva I.<sup>1</sup>, Zhelev P.<sup>2</sup>, Evtimov I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biodiversity and Ecosystem Research,  
Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria*

<sup>2</sup>*University of Forestry, Sofia, Bulgaria*

*Sideritis scardica* Grsb. (section *Empedoclia*) is a valuable medicinal plant with natural distribution restricted to Balkan Peninsula. The present study aimed at studying the inter-population variation based on morphological traits and genetic markers. Eight natural populations were included in the study. Most traits exhibited moderate to high variation and the most differentiating one was the length of the acumen. Statistical analysis revealed that one population was significantly different from the others and it deserves special attention and profound taxonomic investigations, because most probably it represent a new species. DNA-based genetic markers were developed to test the relationships among populations and the taxonomic decisions.

### **Изменчивость микросателлитных локусов в уральских популяциях дремы белой**

Антонова Е.В.

*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

Изучению генетической структуры популяций растений из семейства Caryophyllaceae посвящено значительное число работ. Изменчивость микросателлитных локусов изучена по меньшей мере у 13 видов рода *Silene* – *S. latifolia*, *S. dioica*, *S. diclinis*, *S. vulgaris*, *S. nutans*, *S. acaulis*, *S. colpophylla*, *S. ciliate*, *S. italica*, *S. noctiflora*, *S. otites*, *S. paradoxa*, *S. scouleri* (Juillet et al., 2003; Galeuchet et al., 2005; Tero, Schlötterer, 2005; Teixeira, Bernasconi, 2007; Moccia et al. 2009; Fields et al., 2010; López-Vinyallonga et al., 2012; Zhang et al., 2013; Godé et al., 2014; Muller et al., 2015). В качестве объекта нами выбрана дрема белая (*Silene latifolia* ssp. *alba* (Mill.) Greuter & Burdet (= *Melandrium album* (Mill.) Garcke, = *S. alba* (Miller) Krause). Тотальную ДНК выделяли из зрелых листьев, высушенных до воздушно-сухого состояния, СТАВ методом (Doyle, 1991). Проведено тестирование 30 пар EST-SSR праймеров, разработанных для *S. latifolia* (Moccia et al., 2009). Удовлетворительные результаты были получены для 23 локусов, которые и были отобраны для проведения исследования. Прямые праймеры маркировали флюоресцентными метками (FAM, ROX, TAMRA, R6G), было создано 6 мультиплексов. Всего исследовано 390 растений из 10 ценопопуляций.

Локус *SL\_eSSR25* представляет собой дуплекс, поэтому от его анализа пришлось отказаться. Локусы *SL\_eSSR20* и *SL\_eSSR28* были мономорфны во всех исследованных выборках дремы Урала, доля полиморфных локусов составила 91.7%. Среднее число аллелей на локус ( $N_A$ ) в уральских популяциях ровно 6.9 при диапазоне изменчивости от 1 до 14. Эти данные хорошо согласуются с результатами исследований европейских популяций *S. latifolia* (Moccia et al., 2009), у которых  $N_A$  составило 6.65 (от 2 до 12). Число аллелей на локус в американских популяциях дремы варьировало от 5 до 22 аллелей (Fields et al., 2014).

Эффективное число аллелей на локус составляет 3.8 при вариабельности между локусами от 1.3 до 6.4 и значимо не различается между исследованными популяциями. Средняя наблюдаемая гетерозиготность изменялась от 12.1 до 82.3%. У 9 изученных локусов

(*SL\_eSSR02*, *SL\_eSSR04*, *SL\_eSSR06*, *SL\_eSSR09*, *SL\_eSSR14*, *SL\_eSSR15*, *SL\_eSSR16*, *SL\_eSSR27*, *SL\_eSSR29*) ожидаемая гетерозиготность значимо не отличалась от наблюдаемой. У 12 локусов (*SL\_eSSR01*, *SL\_eSSR07*, *SL\_eSSR10–SL\_eSSR1013*, *SL\_eSSR17*, *SL\_eSSR19*, *SL\_eSSR22–SL\_eSSR24*, *SL\_eSSR30*) ожидаемая гетерозиготность значимо превышала наблюдаемую, что свидетельствует о дефиците гетерозиготных генотипов в выборках. Положительный коэффициент инбридинга варьировал 8.3 до 69.2%. В целом, индекс фиксации Райта был положительным. Только 12.4% от общей генетической изменчивости распределяется между исследованными популяциями дремы, остальная изменчивость реализуется внутри выборок. Наибольший вклад в межпопуляционную изменчивость вносит локус *SL\_eSSR14* ( $F_{ST}=11.1\%$ ), наименьший – *SL\_eSSR15* ( $F_{ST}=1.3\%$ ).

По 11 исследованным локусам (*SL\_eSSR02*, *SL\_eSSR04*, *SL\_eSSR06*, *SL\_eSSR09*, *SL\_eSSR14–17*, *SL\_eSSR23*, *SL\_eSSR27*, *SL\_eSSR29*) распределение генотипов соответствовало соотношению Харди-Вайнберга. По некоторым локусам (*SL\_eSSR01*, *SL\_eSSR07*, *SL\_eSSR11*, *SL\_eSSR13*, *SL\_eSSR19*, *SL\_eSSR22*, *SL\_eSSR24*, *SL\_eSSR30*) отклонения от теоретического соотношения были значимы для всех выборок. По локусам *SL\_eSSR09* и *SL\_eSSR12* различия были обнаружены в некоторых популяциях. В большинстве случаев отклонения от соотношения Харди-Вайнберга связаны с недостатком гетерозиготных генотипов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №15-34-20639).

### Variability of microsatellite loci of *Silene latifolia* populations (Urals, Russia)

Antonova E.V.

*Institute of Plant and Animal Ecology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia*

The genetic variation of species from the Caryophyllaceae family has been well studied. Variability of microsatellite loci examined in at least 13 species of the genus *Silene* – *S. latifolia*, *S. dioica*, *S. diclinis*, *S. vulgaris*, *S. nutans*, *S. acaulis*, *S. colpophylla*, *S. ciliate*, *S. italica*, *S. noctiflora*, *S. otites*, *S. paradoxa*, *S. scouleri* (Juillet et al., 2003; Galeuchet et al., 2005; Tero, Schlötterer, 2005; Teixeira, Bernasconi, 2007; Moccia et al., 2009; Fields et al., 2010; López-Vinyallonga et al., 2012; Zhang et al., 2013; Godé et al., 2014; Muller et al., 2015). The white campion (*Silene latifolia* ssp. *alba* (Mill.) Greuter & Burdet (= *Melandrium album* (Mill.) Garcke, = *S. alba* (Miller) Krause) was chosen as an object of our investigation. Total DNA was isolated from mature dry leaves by CTAB method (Doyle, 1991). We have tested 30 pairs of EST-SSR primers developed for *S. latifolia* (Moccia et al., 2009). Positive results were obtained for the 23 loci, which were selected for the next study. The forward primers were labeled with fluorescent labels (FAM, ROX, TAMRA, R6G), 6 multiplexes has been created. Total number of investigated plants was 390 from 10 populations.

Since locus *SL\_eSSR25* is a duplex, its analysis had to be abandoned. Loci *SL\_eSSR20* and *SL\_eSSR28* were monomorphic in all studied samples *S. latifolia* from Urals, the proportion of polymorphic loci was 91.7%. The average number of alleles per locus ( $N_A$ ) is 6.9 (variability ranging from 1 to 14) in the Ural populations. These data are in good agreement with European populations of *S. latifolia* (Moccia et al., 2009), in which the  $N_A$  was 6.65 (from 2 to 12 alleles). The number of alleles per locus in American populations of white campion ranged from 5 to 22 (Fields et al., 2014).

The effective number of alleles per locus was 3.8, with variability between loci ranging from 1.3 to 6.4. It had not significantly differed between the studied populations. The average observed heterozygosity ranged from 12.1 to 82.3%. The expected heterozygosity for nine studied loci (*SL\_eSSR02*, *SL\_eSSR04*, *SL\_eSSR06*, *SL\_eSSR09*, *SL\_eSSR14*, *SL\_eSSR15*, *SL\_eSSR16*, *SL\_eSSR27*, *SL\_eSSR29*) was not significantly different as compared with observed heterozygosity. The expected heterozygosity was significantly higher than observed heterozygosity for 12 loci (*SL\_eSSR01*, *SL\_eSSR07*, *SL\_eSSR10–SL\_eSSR1013*, *SL\_eSSR17*, *SL\_eSSR19*, *SL\_eSSR22–SL\_eSSR24*, *SL\_eSSR30*). This indicates a deficit of heterozygous genotypes in the populations.

Positive inbreeding coefficient ranged 8.3 to 69.2%. In general, Wright fixation index was positive. Only 12.4% of the total genetic variation was distributed between the populations, remain variability was realized within the populations. The largest contribution to inter-population variability was made with locus *SL\_eSSR14* ( $F_{ST}=11.1\%$ ), the smallest one with *SL\_eSSR15* ( $F_{ST}=1.3\%$ ).

The genotype distribution of 11 studied loci (*SL\_eSSR02*, *SL\_eSSR04*, *SL\_eSSR06*, *SL\_eSSR09*, *SL\_eSSR14-17*, *SL\_eSSR23*, *SL\_eSSR27*, *SL\_eSSR29*) was consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. For some loci (*SL\_eSSR01*, *SL\_eSSR07*, *SL\_eSSR11*, *SL\_eSSR13*, *SL\_eSSR19*, *SL\_eSSR22*, *SL\_eSSR24*, *SL\_eSSR30*) deviations from the theoretical ratios were significant for all samples. The differences for loci *SL\_eSSR09* and *SL\_eSSR12* were detected in some populations. In most cases, deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was associated with a loss of heterozygous genotypes.

This work was financial supported by Russian Foundation for Basic Research (project №15-34-20639).

### **Влияние направленной селекции на повреждение крыла типа «вырезка» на примере гибридных линий гетерозиготных по *vestigial***

Антосюк О.Н., Мухаметзянова А.Ш.

Уральский федеральный университет им. Первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
Екатеринбург, Россия

Длительная направленная селекция на усиление апоптоза (частоту встречаемости повреждения крыла типа «вырезка») может проявляться у особей не только как усиление апоптоза в крыловом имагинальном диске, но также и усиливать апоптоз в яйцевых трубках яичников у самок дрозофилы. К тому же, используя морфометрический анализ крыла обнаружено изменение формы крыловой пластинки в ходе селекции у гибридных линий, гетерозиготных по *vestigial*. Установлено, что направленная селекция провоцирует мутагенез в вышеуказанных гибридных линиях (4 линии из 6 характеризуются возникновением мутаций). Полученные данные свидетельствуют о том, что длительная направленная селекция является провокационным фоном для мутагенеза, усиления общего уровня апоптоза, а также формы крыла, что является важным обстоятельством для исследований в области популяционной генетики и биологии.

В работе использовали ряд линий дикого типа, отловленных в природе в разных местообитаниях и в разное время («Биос-3», «Белгород», «Дегтярск», «Host», «Челябинск»), мутантную линию *vestigial* (*vg*, II: 57,0 сМ; характеризуется рудиментарными крыльями) и лабораторную линию «Oregon-R». Для получения гибридных особей отбирали виргинных самок (не старше 4 часа вылета) и производили скрещивание с самцами мутантной линии *vestigial*, а также были произведены реципрокные скрещивания. Ещё в 70-е годы (Goux J.M., Paillard M.) осуществлен анализ реципрокных гибридов *vg* и линий дикого типа, отловленных в природе. Авторы обнаружили в ряде скрещиваний наличие повреждений крыла типа «вырезка» в  $F_1$ . Частота подобных повреждений крыла у гетерозиготных особей *vg+ / vg* может колебаться в зависимости от линии дикого типа от 0,2 до 74, 4%.

В нашем исследовании «+» селекция велась в направлении повреждения крыла. Направленный отбор привел к появлению мутаций в линиях: «Биос-3×*vg*», «Host×*vg*», «*vg*×Дегтярск», «Oregon-R×*vg*». В линии «Биос-3×*vg*» в  $F_{50}$  обнаружена мутация *white* (отсутствие пигмента в глазах), в линии «Host×*vg*» - мутация *scalloped* (зазубренный край крыла), в линии «*vg*×Дегтярск» - мутация *yellow* (желтый цвет тела), в линии «Oregon-R×*vg*» возникла мутация *Beadex* (повреждение крыла по всему периметру). Последние три мутации возникли на ранних этапах селекции (до  $F_{20}$ ). Для определения уровня апоптоза, а также влияния селекции на его усиление использовали имагинальный крыловой диск личинок начала 3-го возраста и яичники имаго (у самцов не происходит апоптоз в процессе

сперматогенеза). Для определения апоптоза использовали окраску акридиновым оранжевым красителем. В ходе работы установили, что направленная селекция усиливает апоптоз как в крыловом имагинальном диске, так и в яйцевых трубках яичников у самок дрозофилы. Также определили выраженные линейные различия у гибридных линий, полученных от разных линий дикого типа. Проведя морфометрический анализ крыла, определили изменение формы крыловой пластинки у особей с повреждениями крыла типа «вырезка» в ходе длительной направленной селекции.

### **The Influence of the direct selection on damage like "cutting" of a wing on the example of hybrid heterozygotes' of vestigial strains**

Antosyuk O.N., Mukhametzhanova A.S.

*Ural federal university named after the First President of Russia B. N. Yeltsin,  
Yekaterinburg, Russia*

The long direct selection on intensive apoptosis (frequency of occurrence of damage like "cutting" of a wing) shown at flies not only as intensive apoptosis in wing imaginal disc, but also and intensive apoptosis in ovaries of the drosophila. Besides, we use the morphometric analysis of a wing, which demonstrate the change of wing form by during selection at hybrid strains, heterozygotes' of vestigial. It is established that the directed selection influence on level of mutagenesis in this hybrid strains (4 strains from 6 are characterized by emergence of mutations). Our data testify that the long direct selection is a provocative background for a mutagenesis, general level of intensive apoptosis, and also, change of wing shape is important circumstance for researches in the field of population genetics and biology.

### **Распространенность генетических вариантов, ассоциированных с туберкулезом, в популяциях различного этнического происхождения и географического положения**

Бабушкина Н.П., Кучер А.Н., Брагина Е.Ю., Гараева А.Ф., Гончарова И.А.,  
Цитриков Д.Ю., Гомбоева Д.Е., Рудко А.А., Фрейдин М.Б.  
*НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ РАН, Томск, Россия*

Среди селективных факторов, оказавших влияние на формирование специфичности структуры генофондов этно-территориальных групп населения, немаловажную роль играют инфекционные заболевания. В настоящее время доказано, что подверженность туберкулезу в определенной степени генетически детерминирована, при этом наблюдаются региональные различия по распространенности данного инфекционного заболевания. Для изучения у русских жителей г. Томска генетических факторов подверженности туберкулезу, специфично ассоциированных с различными этапами развития инфекции и его отдельными клиническими формами, был проведен выбор полиморфных вариантов, наиболее информативных с точки зрения подверженности туберкулезу легких. Выбор маркеров проводился с помощью двух подходов: анализ данных полногеномных ассоциативных исследований и анализ ассоциативных сетей. Цель настоящего исследования состояла в оценке дифференциации различных этно-территориальных групп населения по данному спектру маркеров. Генотипирование томской выборки (русские, n=446 человек) проводили с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии, SNaPshot-, HRM- и ПДРФ-анализов с использованием оборудования ЦКП НИИ медицинской генетики ФГБНУ «Томский НИМЦ» «Медицинская геномика».

Всего было проанализировано 62 SNP, 59 из которых являются аутосомными маркерами, и 3 локализованы на X-хромосоме (rs139956886, rs142513793, rs5928363). Из дальнейшего рассмотрения были исключены rs1925714 и rs1434579, по которым удалось прогенотипировать менее 30% выборки, а также rs1020941 и rs9373523, по которым было

установлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. Для семи вариантов (rs12294076, rs12283022, rs7947821, rs75343219, rs12386026, rs139956886, rs142513793) в томской популяции определялся только частый аллель, что, в целом, соответствует информации об их популяционной распространенности: по данным проекта 1000 геномов, полиморфизм в этих локусах зарегистрирован либо только у негроидов, либо в Африканских и Южно-Американских популяциях. Таким образом, межпопуляционные сравнения проведены для 51 SNP. Для сравнения привлечены европеоидные выборки, охарактеризованные в рамках проекта НарМар: CEU – жители штата Юта Северо- и Западно-Европейского происхождения, FIN – финны из Финляндии, GBR – британцы из Англии и Шотландии, IBS – иберийцы из Испании, TSI – итальянцы (Тоскана) (<http://www.ensembl.org/>).

В томской выборке для большинства полиморфных маркеров (36 SNP) частоты аллелей находятся в границах значений, полученных для других европеоидных популяций. В целом, между разными территориальными группами европеоидного происхождения по 51 SNP наблюдался невысокий уровень дифференциации ( $G_{ST}=0,008$ ). При попарном сравнении томской популяционной выборки с другими европеоидными группами значение  $G_{ST}$  варьировало от 0,4% при сравнении с выборками GBR (статистически значимые различия по частоте аллелей зарегистрированы по 8 локусам) и IBS (значимые различия выявлены для 13 SNP) до 0,56% при сравнении с FIN (значимые различия для 15 SNP). Согласно расчетам генетических дистанций (по Nei) наиболее близка томская популяция оказалась к IBS (0,003924), а наиболее удалена от FIN (0,005718, но томская выборка была ближе к финской, чем другие европеоидные группы). На дендрограмме, построенной по генетическим дистанциям, выделяется 3 кластера: CEU-GBR, IBS-TSI, FIN-Том, т.е. наблюдается широтная кластеризация сравниваемых европеоидных групп населения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ (проект №15-15-00074).

### **The prevalence of genetic variants associated with tuberculosis in populations of various ethnic origin and geographical location**

Babushkina N.P., Kucher A.N., Bragina E.Yu., Garaeva A.F., Goncharova I.A., Tcitrikov D.Yu., Gomboeva D.E., Rudko A.A., Freidin M.B.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS,  
Tomsk, Russia*

Infectious diseases play important role in the formation of gene-pools of populations of different ethnic origin and geographical location. It has been proven that susceptibility to tuberculosis is genetically predetermined to a certain extent, and there are regional variations in the prevalence of this infectious disease. For the purpose of study of genetic factors associated with different stages of tuberculosis infection in the Russians of West Siberia, we have chosen most informative polymorphic variants of candidate genes using the analysis of the results of genome-wide association studies and the analysis of associative networks. The current study aimed at the assessment of the differentiation of populations of different ethnic origin and geographical location using this set of genetic variants. The Russians of the city of Tomsk (n=446) were genotyped using MALDI-TOF mass-spectrometry, SNaPshot, HRM, and RFLP-assays with the equipment provided by the “Medical Genomics” Core Facilities Centre at the Research Institute of Medical Genetics of Tomsk National Research Medical Centre.

A total of 62 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were analysed, out of which 59 were autosomal and 3 located on X-chromosome. Two SNPs were excluded because of low individual call rate (<30%) and two SNPs were excluded because of the deviation from Hardy-Weinberg equilibrium. In Tomsk sample, seven SNPs (rs12294076, rs12283022, rs7947821, rs75343219, rs12386026, rs139956886, and rs142513793) were monomorphic for the major allele, which is consistent with the data on other world populations as, according to the 1000 Genomes project, these SNPs are only polymorphic in either African or South-American populations. Thus, the

comparisons between populations were carried out for 51 remaining SNPs. For comparison with the Russians, the HapMap project data for European populations were used: Utah residents with Northern and Western European ancestry (CEU); Finnish in Finland (FIN); British in England and Scotland (GBR); Iberian populations in Spain (IBS); and Toscani in Italy (TSI) (<http://www.ensembl.org/>). In the Tomsk sample, the prevalence of alleles for the most of the SNPs (36) was within the range of frequencies seen in other European populations. Overall, among all studied groups, there was small level of genetic differentiation by the 51 SNPs ( $G_{ST}=0.008$ ). For pairwise comparisons with the Tomsk sample the  $G_{ST}$  statistics values varied from 0.4% when compared to GBR (statistically significant differences in allelic frequencies were obtained for 8 SNPs) and IBS (significant differences for 13 SNPs) to 0.56% when compared to FIN (significant differences for 15 SNPs). According to the Nei's genetic distances, Tomsk sample was closest to IBS (0.003924) and farthest to FIN (0.005718); though the Tomsk sample was closer to the Finnish population as compared to other Europeans. Three clusters were revealed on the dendrogram built on the genetic distances: CEU-GBR, IBS-TSI, FIN-Tomsk, thus revealing the latitude cauterization of the studied groups.

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant № 15-15-00074).

### **Геногеография народонаселения Северной Евразии: полные геномы, полные экзомы, полные Y-хромосомы**

Балановский О.П.<sup>1,2</sup>, Балановская Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *Медико-генетический научный центр, Москва, Россия*

Геномные проекты по изучению генофонда населения бурно развиваются во всем мире, причем Россия находится в благоприятных условиях. Благоприятных, потому что велико генетическое разнообразие нашего населения, существует собственная научная школа геногеографии, есть сильные биоинформатики, богат опыт междисциплинарных исследований (в том числе развиваемых на нашем научно-просветительском сайте [www.генофонд.рф](http://www.генофонд.рф)). Уже есть примеры, когда эти потенциальные возможности приносят реальные плоды. Еще одной важной предпосылкой успешных геномных проектов является доступность качественно собранных образцов, охватывающих большинство популяций Северной Евразии и содержащих ДНК в объеме, достаточном для полногеномного секвенирования. Этот биобанк народонаселения Северной Евразии, созданный нашим коллективом благодаря личному энтузиазму и благодаря международному проекту "Генографик", включает более 26 тысяч образцов из почти трехсот популяций России и сопредельных стран. На основе этого биобанка проведено секвенирование полных геномов, полных экзотов и полных Y-хромосом.

ГЕНОМЫ. В 2016 году полные геномы достигли своего полного потенциала для анализа генофондов. В «Nature» одновременно вышли три статьи, представляющие сотни геномов с высоким покрытием из множества уголков земного шара. В двух из этих статей участвовала наша команда, и в одной из них (Pagani et al., 2016) отмечено, что структура генофонда коррелирует с этнической самоидентификацией. Можно увидеть корреляцию и с антропологией, то есть с делением на расы, но более всего выражена корреляция с географией. Выявлены и территории, где эта закономерность нарушается – барьеры для потока генов, по разные стороны которых находятся географически смежные, но генетически контрастные популяции. Ранее (Балановский, 2015) проведено сходное исследование по Y-хромосоме и большинство барьеров в обоих исследованиях совпали. Широкогеномные данные (скрининг сотен тысяч информативных SNP) давно уже исчисляются тысячами образцов. Их применение к генофонду славян показало степень сходства разных славянских популяций и историю их формирования: наложение славянской "глазури" на многослойный пирог генофонда, сформировавшийся в предшествующие эпохи.

**ЭКЗОМЫ.** С 2016 года Биобанк народонаселения Северной Евразии открыт к сотрудничеству и ряд коллективов уже обращается к нему, чтобы получить образцы для своих научных проектов или сформировать контрольные выборки. Биобанк использован и в проекте «Российские экзомы», выполняемом в Казани и Москве. Данные по первой сотне экзомов показали, что «экзомофонд» казанских татар лишь частично перекрывается с экзомами мишарей, которые являются мостиком от них к экзомам Мордовии (мокша и эрзя по экзомам почти неразличимы). Равнинные таджики генетически ближе к татарам, чем горные таджики – в согласии с данными антропологии о том, что горные таджики сохранили более древний антропологический тип, а равнинные таджики метисированы с пришлыми тюрками.

**Y-ХРОМОСОМЫ.** Третье направление – секвенирование 11 млн.п.н. Y-хромосомы – поддержано грантом РНФ. Мы исследуем филогеографию гаплогрупп Y-хромосомы, распространенных в Северной Евразии, и к настоящему времени изучили три частых (C, N, R1b) и две редких (G1 и Q3) гаплогруппы, которые суммарно составляют более половины «мужского» генофонда России и сопредельных стран. Каждая гаплогруппа исследуется в два этапа. На первом этапе проводится полное секвенирование Y-хромосомы для нескольких десятков образцов, по этим данным строится подробное филогенетическое дерево и рассчитывается возраст его ветвей. На втором этапе выбираются SNP-маркеры, определяющие каждую ветвь, эти маркеры генотипируются уже на тысячах образцов всего биобанка, и таким образом определяются частоты каждой ветви в каждой популяции. Такое двухэтапное исследование, проведенное для центральноазиатской гаплогруппы C, выявило множество ветвей, причем ареалы многих перекрываются на территории Монголии, а сразу 6 ветвей несут сигналы быстрого демографического роста их носителей в одно и то же время – около 1200-900 лет назад. То есть мы обнаружили обширный пул генетических линий, возникших в Монголии накануне возникновения Монгольской империи и затем широко распространившихся по Центральной Азии – вероятно, не без связи с этой империей.

Подобное исследование проведено и для североевразийской гаплогруппы N1c (Pumae et al., 2015). В пределах этой гаплогруппы с обширным ареалом выделены 8 ветвей с четкой географической привязкой: южносибирская, уральская, восточносибирская, прибалтийская, североевропейская, прибайкальская, чукотская и амурская. Расхождение всех ветвей, кроме первых двух, произошло лишь около 4 тысяч лет назад, то есть столь недавние события сформировали почти половину Y-хромосомного фонда многих регионов Северной Евразии. Для гаплогруппы R1b мы выявили и изучили «восточную» ветвь (Balanovsky et al., 2017), определили ее возраст и показали, что именно она преобладала в ямной археологической культуре причерноморских степей. По аутосомным данным, ее потомки мигрировали в Центральную Европу, почти заместив предшествовавшее население. Но отсутствие «восточной» ветви R1b в современном населении Западной Европы показывает, что мужчины-ямники не столь уж активно мигрировали туда или по крайней мере не оставили там сыновей.

Исследование поддержано грантом РНФ 14-14-00827, РФФИ 16-04-00890, Программами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Динамика генофондов».

### **Gene geography of North Eurasian populations: full genome, full exome, and full Y-chromosome sequencing**

Balanovsky O.P.<sup>1,2</sup>, Balanovskaya E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

Population genomic projects in Russia are based on full genome, full exome and full Y-chromosome sequencing. In 2016, three papers in “Nature” presented hundreds high quality



genomes from across globe, including Russia, and the genetic barriers identified matches those estimated from Y-chromosomal data earlier. The preliminary results of the Russian exomes project shed light on genetic interrelations of the Volga-Ural populations.

The Y-chromosomal project generated data on 181 Y-chromosomes yielding thousands new informative SNPs for haplogroups C, G1, G2, N1b, N1c, and R1b. From these data we constructed phylogenetic trees and dated dozens of their branches using our estimates of the mutation rate. Then we screened the branch-defining SNPs in the entire Biobank of indigenous North Eurasian populations (led by prof. Elena Balanovska), which includes 26,000 samples from 260 populations.

For haplogroup R1b, we identified a previously unstudied “eastern” branch, R1b-GG400, found in East Europeans and West Asians and forming a brother clade to the “western” branch R1b-L51 found in West Europeans. The ancient samples from the Yamnaya archaeological culture are located on this eastern branch, showing that the paternal descendants of the Yamnaya population – in contrast to the published autosomal findings - still live in the Pontic steppe and were not an important source of paternal lineages in present-day West Europeans. For haplogroup C-M217 - the predominant paternal component in Central Asians - we found signals of simultaneous expansion in two independent branches. Both expansion times and gene geographic maps of the expanded lineages indicated the emergence of the Mongol Empire as the likely trigger.

### **О плодовитости триплоидных гибридов серебряного карася (*Carassius gibelio*) с карпом (*Cyprinus carpio*)**

Балашов Д.А., Рекубратский А.В., Дума Л.Н., Иванеха Е.В., Дума В.В.  
*Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства,  
пос. Рыбное, Московская обл., Россия*

Большинство вновь возникающих триплоидов у растений и животных полностью стерильно. Это относится и к рыбам (см. обзоры: Benfey, 1999; Gomelsky, 2011). С другой стороны, в диплоидно-полиплоидных однополых комплексах рыб нормально плодовитые триплоидные формы являются постоянными и главными членами (Васильев и др., 2010). Самки гибридов серебряного карася и карпа (карасекарпов) плодовиты и продуцируют диплоидные гаметы. Поскольку самцы таких гибридов стерильны, их воспроизводство осуществляется с помощью индуцированного гиногенеза. В возвратных скрещиваниях самок карасекарпов с самцами карпа получают триплоидное потомство. Среди триплоидов, полученных от гибридов F<sub>1</sub>, а также гибридов первого гиногенетического поколения не было найдено ни одной плодовитой особи. Однако при воспроизводстве диплоидных гибридов при помощи гиногенеза на протяжении шести поколений произошло также восстановление плодовитости триплоидных самок из возвратного потомства. Фертильность триплоидных гибридов, полученных от самок шестого поколения гиногенеза, изучали на протяжении трех лет у пяти-, шести- и семигодовалых рыб. У самцов весной был хорошо заметен брачный наряд, однако ни от одного из 20 самцов не получили текучую сперму. Из 23 пятигодовалых самок, получивших гипофизарную инъекцию, 12 отдали небольшое количество икры. Процент оплодотворения был небольшим (12%), все предличинки оказались уродливыми и погибли вскоре после освобождения от оболочек. В два следующих нерестовых сезона плодовитость триплоидных гибридных самок существенно не изменилась, однако их потомство оказалось жизнеспособным. От шестигодовалых самок получили два потомства – гиногенетическое, осеменяя яйцеклетки генетически инактивированной спермой карпа, и возвратное, от скрещивания триплоидных самок с самцами карпа. Выживаемость эмбрионов и личинок в обоих потомствах оказалась относительно невысокой, но, тем не менее, были выращены сеголетки, что является исчерпывающим доказательством жизнеспособности потомства триплоидных гибридных самок карасекарпа. Рыб из гиногенетического и возвратного потомства подвергли кариологическому анализу. Среди рыб, полученных в возвратном скрещивании одна особь оказалась точным тетраплоидом (198 хромосом), две -

анеуплоидами (162 и 165 хромосом) и две – точными триплоидами (143 и 151 хромосома). У рыб из гиногенетического потомства число хромосом было близким к триплоидному (141-149). Обнаружение рыб с точным тетраплоидным числом хромосом указывает на то, что некоторая часть яйцеклеток, продуцируемых гибридами, является триплоидной. Полученные данные могут служить экспериментальным доказательством гипотезы сетчатого видообразования, объясняющей происхождение тетраплоидных видов у низших позвоночных.

### **Fertility of triploid hybrids between crucian carp, *Carassius gibelio*, and common carp, *Cyprinus carpio***

Balashov D.A., Recoubratsky A.V., Duma L.N., Ivanekha L.N., Duma V.V.  
*All-Russian Research Institute of Freshwater Fisheries, Rybnoe, Moscow region, Russia*

Most of *de novo* produced triploids in plant and animals are sterile, it is true also for fishes (see review Benfey, 1999; Gomelsky, 2011). On the other hand, fertile triploid forms are the constant and common members of polyploid unisexual complexes in fish (Vasiliev et al., 2010). Females of hybrids between crucian and common carps are fertile to produce diploid unreduced gametes. As males in these hybrids are sterile, they are reproduced with induced gynogenesis. Backcrosses of hybrid females with common carp males result in triploid progeny. No fertile individuals have been found among triploids produced from F<sub>1</sub> hybrid females or hybrid females from first gynogenetic progeny (G<sub>1</sub>). Gynogenetic reproduction of diploid hybrids through six generation improved fertility in triploid backcross hybrids. We investigated their fertility during 3 years using 5, 6 and 7 year old fishes. In spawn season all males manifested spawning livery but all 20 of them did not produce sperm after pituitary injections. Twelve of 23 five year old females produces small quantity of eggs with fertilization rate of 12%. All prelarvae hatched were abnormal and died before swim up. During two next spawn seasons fecundity of triploid females remained unimproved but their progenies proved to be viable. Two progenies were obtained from six year old females, gynogenetic (using genetically inactivated sperm) and backcross, using common carp sperm. These progenies both were reared during a year demonstrating viability of progeny from triploid crucian x common carp hybrid females. Karyological analysis revealed specimens from gynogenetic progeny to be triploid (141-149 chromosomes). Fishes from backcross progeny proved to be triploid (2 specimens, 143 and 151 chromosomes), aneuploid (2 specimens, 162 and 165 chromosomes), and tetraploid (1 specimen, 198 chromosomes). Discovery of fish with exact tetraploid chromosome number demonstrates that at least part of eggs produced by triploid females are unreduced triploid. The data obtained can be considered as an experimental evidence for the hypothesis of reticulate speciation which explain origin of tetraploidy in low vertebrates.

### **Microsatellite analysis reveals the conspicuous population structure of the endemic *Picea chihuahuana* Martínez**

Bailón-Soto C.E.<sup>1</sup>, Heinze B.<sup>2</sup>, Wohlmuth A.<sup>2</sup>, Mariscal-Lucero S. del R.<sup>1</sup>, Reyes-Martínez A.<sup>1</sup>, Wehenkel C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera, Universidad Juárez del Estado de Durango, Durango, México*

<sup>2</sup>*Federal Research Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape (BFW), Department of Genetics, Wien, Austria*

In the face of ongoing environmental changes, an accurate assessment of the genetic relationships among natural populations across the species distribution is very important for tree management, for breeding and gene conservation programs. *Picea chihuahuana* Martínez is a seriously endangered species endemic to Sierra Madre Occidental, Mexico. Its current status and

management proposals of *in situ* and *ex situ* conservation have been previously presented based on the genetic structure and diversity of its populations. Previous studies have focused on the fragmented and isolated small populations of this spruce through isoenzyme analysis, AFLP screening and mtDNA and cpDNA markers. Although *Picea chihuahuana* Martínez has been extensively studied, this is the first time that nuclear microsatellite analyses are done. The advantages of microsatellites are their codominant nature and high mutation rates (from  $1 \times 10^{-2}$  to  $1 \times 10^{-6}$ ), giving a closely frame-time to review events as fragmentation in species distribution and loss of genetic variability. Thus, the population structure inferred in this study using data from seven nuclear microsatellite loci was consistent with geography and habitat fragmentation but displayed no single isolation-by-distance effects. In accordance to previous studies with different markers we found low levels of gene flow as those were found in most of localities sampled. Based on genetic similarities from the nine populations screened, two may be the origin of the species since their genetic distance was the shortest among all. This source served well for maintaining a certain degree of connectivity among all populations before fragmentation. However, one population showed the highest isolation degree. These results are necessary and pertinent for conservation programs of this species and may help at restoring connectivity through accurate reforestation programs.

### **Эмпирическое исследование видовых границ у мелких млекопитающих**

Банникова А.А.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Аккуратное определение видовых границ находится в фокусе внимания эволюционной биологии, потому что это является предпосылкой для изучения видообразования. Вместе с тем, умножение современных знаний о структуре вида обнаружило зыбкость границы между внутривидовым и межвидовым уровнем дивергенции и усложнило само понятие вида. В настоящее время определение видовых границ таксонов находится в рамках как популяционно-генетического, так и филогенетического анализа. В течение последних лет стремительно развиваются мультилокусные методы делимитации видовых границ. На их основе при решении вопроса о том, какие генетические линии следует считать видами, часто используется единая концепция вида De Queiroz, согласно которой основным критерием «видовости» является свободный обмен генами внутри себя и относительное обособление от других популяций. Однако при этом в качестве видов на выходе зачастую оказываются не «хорошие» с точки зрения традиционной систематики виды, а внутривидовые группировки. Ситуация обостряется в случае сильно структурированных видов. Приходится признать, что самодостаточных методов, которые выделяли бы виды, имея дело с сильно структурированными популяциями, пока не существует, все они очевидно завышают число таксонов, считая за виды метапопуляции. Кроме того, тесты на распознавание видов не принимают во внимание времена дивергенции. Однако представляется крайне важным рассматривать эволюционные события в рамках аккуратного оцененного времени с целью восстановления исторического сценария и определения факторов видообразования. Приводится обзор оригинальных исследований по внутривидовой генетической структуре ряда мелких млекопитающих, населяющих различные широты, природные зоны и ландшафты и обсуждается решения вопроса о том, какие генетические линии следует считать видами. Наши данные показывают, что использование видо-делимитационных методов вкупе с аккуратной оценкой времен дивергенций пополняют объективное представление о структуре видов и видообразовании.

Работа поддержана проектами РФФИ № 17-04-00065а и 15-29-02771офи-м.

## **An empirical study of species boundaries in small mammals**

Bannikova A.A.

*Department of Vertebrate Zoology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Species delimitation is a major research focus in evolutionary biology because accurate species boundaries are a prerequisite for the study of speciation. The increasing of our knowledge about the incongruence of ontological definition vs. empirical species delimitation highlights the fragility of the border between inter- and intraspecific divergence. Today, delimitation of the species boundaries is within the framework of population genetics as well as phylogenetic analysis. Multilocus species delimitation methods have developed rapidly over the last few years and are currently being applied to a large number of taxonomic problems. By using different strategies to estimate gene flow these methods can help determine which lineages have been evolving in isolation. Under a general lineage species concept by De Queiroz, such independently evolving lineages would correspond to species. However, the situation becomes more complicated in the case of high diverse species. Besides, these methods rely on the use of multiple loci and no time calibration is needed for the species delimitation tests. However, it would be important to place speciation events within an accurate temporal framework in order to evaluate different speciation scenarios and determine the factors that promoted speciation. Review of the original studies of the intraspecific genetic structure of small mammals distributed in different altitudes and landscapes are presented. Our data show that applying of species delimitation methods and accurate time estimation allow us to obtain objective view on the species and speciation process.

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 17-04-00065a and 15-29-02771ofi-m.

### **Молекулярно-цитогенетическая характеристика амфиподы-вселенца *Gmelinoides fasciatus* из разных популяций**

Барабанова Л.В., Галкина С.А., Михайлова Е.И.

*Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия*

Байкальская амфипода *Gmelinoides fasciatus* Stebbing, 1899 представляет большой интерес в связи с ее уникальными адаптационными способностями. Во второй половине прошлого века этот аборигенный вид претерпел успешную акклиматизацию в целом ряде водоемов центральных и северо-западных областей России в процессе его направленной интродукции для расширения пищевой базы промысловых рыб. В настоящее время представители данного вида могут быть обнаружены в водной системе реки Волга, а также в целом ряде водоемов Карельского перешейка, Ладожском и Онежском озерах, а также Финском заливе Балтийского моря. Оставаясь одним из наиболее многочисленных представителей ракообразных фауны пресноводного озера Байкал, *G. fasciatus* может служить модельным объектом для изучения различных механизмов биологической адаптации. Относительно короткий промежуток времени, прошедший с момента начала его расселения, и последующая адаптация к различным условиям среды обитания, позволяют выдвинуть предположение об участии генетических механизмов в данном процессе.

Особенности жизненного цикла ракообразных, в том числе и амфиподы *G. fasciatus*, позволяют широко использовать цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы для решения вопроса о возможных изменениях генома на разных уровнях его организации у представителей инвазивных популяций по сравнению с амфиподами из автохтонной популяции озера Байкал. С этой целью в летние периоды 2015-2016 годов нами был собран материал в отдельных точках озера Байкал, а также на побережьях Финского залива и Ладожского озера. Для оценки структурных изменений генома был проведен анализ частоты

хромосомных нарушений в митотически делящихся клетках эмбрионов *G. fasciatus*, собранных в разных местах обитания. Ранее полученные данные на других видах ракообразных по оценке частоты структурных нарушений генома продемонстрировали высокую чувствительность данного показателя относительно изменения параметров среды обитания. Аналогичный анализ, проведенный в отношении амфиподы *G. fasciatus*, не выявил значительных различий по данному показателю у представителей исследуемых популяций. Можно предположить, что интервал времени, прошедший с момента интродукции байкальской амфиподы в новые водные системы, оказался достаточным для стабилизации данного показателя и достижения им оптимального спонтанного уровня.

Отсутствие различий на уровне перестроек хромосом инициировало дальнейшие исследования с привлечением молекулярно-цитогенетических методов. Для того чтобы дать молекулярно-цитогенетическую характеристику генома представителей исследуемых популяций был проведен анализ результатов *in situ* гибридизации теломерных повторов (ТТАГГ)<sub>n</sub>. Эти повторы гибридизуются преимущественно на концах хромосом, хотя выявляются и отдельные районы интерстициальной локализации. DAPI-окрашивание позволило выявить А-Т богатые прицентромерные районы митотических хромосом. Предварительные данные оценивают диплоидное число хромосом, как равное 52. Зонд 18S рДНК позволил выявить сайты гибридизации на двух хромосомах набора. Секвенирование консервативных и вариабельных фрагментов гена 18S рРНК, амплифицированных по матрице ДНК рачков Байкальской популяции, а также собранных в разных точках Финского залива и озера Ладога, открывает перспективу поиска возможных более тонких изменений, произошедших в процессе адаптации на молекулярном уровне.

Работа выполнена при частичном финансировании грантами Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-9513.2016.4 и РФФИ №15-29-02526.

### **Molecular-cytogenetic study of alien amphipod *Gmelinoides fasciatus* in different populations**

Barabanava L.V., Galkina S.A., Mikhailova E.I.  
*Department of Genetics and Biotechnology, Saint-Petersburg State University,  
Saint-Petersburg, Russia*

Baikal amphipod *Gmelinoides fasciatus* Stebbing, 1899 is of particular interest for population studies due to its unique adaptation abilities. In the second half of the last century, this indigenous species went through successful acclimation in quite a number of water bodies in Central and North-Western regions of Russia in the course of its direct introduction to enlarge food source for commercial fish. At present, the representatives of this species can be found in the water system of Volga river as well as in a number of water bodies of Karelian isthmus, Ladoga and Onega lakes, along with the Gulf of Finland in the Baltic Sea. Still remaining one of the most numerous representatives of crustaceans in fauna of freshwater Lake Baikal, *G. fasciatus* can be used as a model to study various mechanisms of biological adaptation. Due to comparatively short period of time, which elapsed since the start of *G. fasciatus* resettlement, and successful adjustment of this species to new habitat factors, it is possible to suggest that genetic mechanisms would underly the adaptation process.

Peculiar features of life cycle of crustacean species, amphipod *G. fasciatus* among others, make it feasible to widely use cytogenetic and molecular-cytogenetic methods in solving the question as to whether genome changes at different levels of its organization were possible in crustaceans of invasive populations compared to individuals in autochthonous population of Lake Baikal. With this objective, during summer periods of 2015-2016 we collected material at different spots of Lake Baikal, along coastal line of the Gulf of Finland as well as of Lake Ladoga. In order to assess structural changes in the genome, we analyzed frequencies of chromosomal aberrations in mitotically dividing embryo cells of *G. fasciatus* from those different spots. Previous data with respect to assessment of structural genome aberrations, obtained for other crustacean species

allowed to reveal high dependency of chromosome aberrations measure upon the changes of habitat parameters. Similar type of analysis, pursued in regard to amphipod *G. fasciatus*, did not reveal considerable deviations in frequencies of chromosomal aberrations in the studied populations. It is possible to assume, that the time interval, starting from the point of introduction of Baikal amphipod to new water systems, turned out to be sufficient for stabilization of the studied parameter to that extent, that it reached the optimal spontaneous level.

Lack of significant deviations of chromosome aberration frequencies in the studied populations brought up the initiative to further investigate the *G. fasciatus* genome changes. At the start of molecular-cytogenetic characterization of the genome, using individuals from the studied populations, we analyzed the results of *in situ* hybridization of telomeric repeats (TTAGG)<sub>n</sub>. Those repeats hybridize predominantly to chromosome ends, although some interstitial sites have been revealed. DAPI-staining allowed to visualize A-T rich pericentromeric regions of mitotic chromosomes. Preliminary counts indicate that diploid chromosome number equals to 52.

18S rDNA probe hybridized to two chromosomes in the set. Sequencing of 18S rRNA conserved and variable gene fragments, amplified using DNA of amphipod from indigenous Baikal population and those from different collection spots in the Gulf of Finland and Lake Ladoga, could give the perspective to reveal possible tiny changes in the genome being the consequence of adaptation processes at molecular level.

The research was partly funded by the grant of the President of Russia for support of leading scientific schools 9513.2016.4 and RFBR grant N15-29-02526.

### **Анализ контрольного региона мтДНК дикого северного оленя (*Rangifer tarandus*) лесного и тундрового экотипов**

Баранова А.И., Холодова М.В., Давыдов А.В.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Ареал *Rangifer tarandus* занимает почти всю тундру, часть тайги старого и нового света, а также ряд арктических островов. Подвидовое деление вида до сих пор остается спорным вопросом. Кроме того, среди материковых диких северных оленей выделяют две основные экологические формы: тундровую и лесную (таежную), которые имеют ряд морфологических и экологических различий. Данная работа проводилась с целью выявить генетические особенности этих экотипов северного оленя.

Для филогенетического анализа были использованы 295 последовательностей фрагмента контрольного региона мтДНК (431 п.н.) дикого северного оленя. Все гаплотипы, общие с домашними северными оленями были исключены из анализа. Европейские лесные олени были представлены выборками из современных группировок Архангельской обл., республик Карелия и Коми и из исчезнувшей группировки Нижегородской обл. Сибирские лесные олени - из Саяно-Алтайского региона и центральной части Красноярского края. Тундровый экотип представлен образцами северных оленей с п-ва Таймыр, Якутии и Чукотки. Также ряд группировок из европейской части России (Мурманская и Архангельская обл.) рассматривались, как промежуточная лесотундровая форма.

В целом, доля гаплотипов, общих для лесной и тундровой экоформ, была не велика. Однако на сети гаплотипов не было выявлено отдельных гаплогрупп, объединяющих оленей, относящихся только к одному экотипу. Всего было описано 117 гаплотипов, из них 37 только для лесной формы северного оленя, 57 только для тундровой и 10 для лесотундровой. Тринадцать гаплотипов были общими для оленей разных экотипов. Из них четыре гаплотипа были общими для европейских лесных и лесотундровых оленей. Один гаплотип встречен среди тундровых оленей Таймыра и лесотундровых Архангельской обл. Пять гаплотипов были общими для лесных и тундровых оленей. Из них один встречается среди сибирских и европейских лесных оленей и тундровых оленей Таймыра и четыре гаплотипа были общими только для сибирских лесных и для тундровых оленей Таймыра.

Три гаплотипа были общими для лесных, тундровых и лесотундровых оленей. Самый распространенный гаплотип был описан для лесотундровых оленей Мурманской обл., тундровых оленей Таймыра и лесных оленей, как сибирских, так и европейских. Характерно, что среди тундровых оленей гаплотипы, общие с таковыми лесных и лесотундровых оленей, были описаны только для таймырской популяции - самой многочисленной группировки дикого северного оленя на территории Евразии. В группировках тундровых оленей Якутии и Чукотки гаплотипов лесного оленя обнаружить не удалось.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Биоразнообразии природных систем».

### **The analysis of the control region of mtDNA of reindeer of the tundra and forest ecotypes**

Baranova A.I., Kholodova M.V., Davydov A.V.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

The range of *Rangifer tarandus* includes almost the entire tundra area as well as a significant part of the taiga zone of the Old and New world, and a number of Arctic Islands. Subspecific division of the species still remains a controversial issue. In addition, among the mainland wild reindeer there are two main ecological forms: tundra and forest (taiga) ecotypes, which have a number of morphological and ecological differences. This work was carried out to identify the genetic characteristics of these ecotypes of reindeer.

For phylogenetic analysis we used 295 sequences of the mtDNA control region fragment (431bp) of wild reindeer. All haplotypes shared with domestic reindeer were excluded from the analysis. European forest reindeer were represented by samples from contemporary groups of the Arkhangelsk region, republics of Karelia and Komi and the extinct group from Nizhny Novgorod region, Siberian forest reindeer - from the Sayano-Altai region and Central part of Krasnoyarsk territory. Tundra ecotype was represented by reindeer samples from Taimyr, Yakutia and Chukotka. A number of groups from the European part of Russia (Murmansk and Arkhangelsk region) were considered as intermediate forest-tundra form.

Overall, the proportion of haplotypes that are common to forest and tundra ecotypes was not great. However, on the haplotype network there were no certain haplogroups that are specific to only one ecotype. We described 117 haplotypes, of which 37 belonged only to the forest, 57 only to tundra and 10 to forest-tundra ecotype of reindeer. Thirteen haplotypes were common for deer of different ecotypes. Among them, four haplotypes were common to European forest and forest-tundra reindeer. One haplotype was found among the reindeer of the tundra and forest-tundra types of Taimyr and Arkhangelsk region, respectively. Five haplotypes were common to the forest and tundra reindeer. One of them was found among the Siberian and European forest reindeer and the tundra reindeer of Taimyr, and four haplotypes were common to only the Siberian forest and tundra reindeer of Taimyr. Three haplotypes were common to the forest, tundra and forest-tundra reindeer ecotypes. The most common haplotype was described for the forest-tundra reindeer of Murmansk region, tundra reindeer of Taimyr and forest reindeer, both the Siberian and European. Characteristically, among the reindeer of the tundra ecotype haplotypes, shared with forest and forest-tundra reindeer, has been described only for the Taimyr population - the largest group of wild *Rangifer tarandus* in Eurasia. We have not found haplotypes of forest ecotype, among the tundra reindeer of Yakutia and Chukotka.

Work was executed at financial support of Presidium RAS program "Biodiversity of natural systems".

## Генетическая дифференциация сибирского осетра *Acipenser baerii* Brandt, 1869 в природе и аквакультуре

Барминцева А.Е.<sup>1</sup>, Мюге Н.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

Генетическая изменчивость пяти природных популяций сибирского осетра (реки Обь, Енисей, Лена, Колыма и озера Байкал) и особей из аквакультуры изучена с помощью митохондриальных (D-петли) и ядерных (микросателлитных локусов) маркеров. Пятьдесят различных мтДНК-гаплотипов были обнаружены среди изученных 357 сибирских осетров (мт ДНК гаплотипы депонированы в NCBI GenBank под номерами ## KU375049-KU375098). Семь гаплотипов оказались общими для различных (от 2 до 4) популяций, остальные гаплотипы характерны только для одной популяции. Каждая популяция имеет несколько мажорных гаплотипов и большое количество редких гаплотипов, найденных в одной или двух особях. Основные гаплотипы не являются уникальными для конкретного речного бассейна и распределяются среди нескольких популяций. Полученные данные позволяют предположить прохождение видом «бутылочного горлышка», резкого падения численности при последнем оледенении и указывает на один общий рефугиум для этого вида в прошлом. По полученному распределению мтДНК-гаплотипов мы предполагаем, что данным рефугиумом могло являться озеро Байкал, откуда потом сибирский осетр заселился повторно в сибирские реки. При искусственном разведении одна самка осетра дает тысячи яиц и мальков, которые несут одну общую материнскую митохондриальную ДНК. Именно это оказывает сильное влияние на генетическую изменчивость в аквакультуре и проявляется резким снижением вариаций гаплотипов мтДНК. Большинство сибирских осетров, выращиваемых в настоящее время в коммерческой аквакультуре в России несут только два митохондриальных гаплотипа - ВаеНар3 и ВаеНар7. В азиатской части России два других гаплотипа, ВаеНар4 и ВаеНар5 преобладают у особей аквакультурных стад.

Микросателлитный анализ локусов не выявил каких-либо диагностических аллелей, специфичных для популяций из различных рек. Все природные популяции обладают примерно таким же набором аллелей, однако аллельные частоты действительно изменяются в разных популяциях, позволяющих идентифицировать происхождение того или иного аквакультурного стада или группы особей. Assignment test, выполненный с помощью программы STRUCTURE, для всех образцов показал, что по распределению частот аллелей, выборка подразделяется на четыре генетически различных кластера. Тем не менее, распределение на кластеры не соответствует принятому разделению сибирского осетра на подвиды - Байкал и бассейны трех крупных сибирских рек - Обь-Иртышского бассейна, Енисея и Лены. Образцы из озера Байкал и реки Енисей (и аквакультурные особи соответствующего происхождения) не отличаются и принадлежат к одному кластеру. Выборка из реки Обь и аквакультура, состоящая из одомашненных осетров из этой популяции также образуют единую группу. Осетр из р.Колыма образует отдельный генетический кластер, который ближе к популяции из р.Енисей и оз. Байкал, чем к популяции р.Лена, как считалось ранее. Неожиданно оказалось, что аквакультурные особи из популяций осетровых рыб р. Лена (все, имеющие происхождение из Конаковского осетрового завода) разделились на два отдельных кластера. Один кластер состоит из старых одомашненных диких осетров, основоположников маточного стада Конаковского экспериментального завода осетровых, а также РМС из ряда аквакультурных хозяйств. В то же время, существует второй кластер, в который попали особи из нескольких других аквакультурных РМС ленского происхождения, которая является генетически отличной от первой группы. Эта группа, по-видимому произошла от небольшого количества особей из Конаково и распространилась на ряд коммерческих аквакультурных стад осетровых.



## Genetic differentiation wild and farmed Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt, 1869

Barmintseva A.E<sup>1</sup>, Muge N.S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

Genetic variation in five natural populations of the Siberian sturgeon (Rivers Ob, Yenisei, Lena, Kolyma and lake Baikal) as well as aquaculture is assessed for mitochondrial (Control region, or D-loop) and nuclear (microsatellite loci) markers. Fifty different DNA sequences (haplotypes) have been found among 357 Siberian sturgeons studied (sequences are deposited in NCBI GenBank under accession ## KU375049-KU375098). Seven haplotypes are shared among different (2-4) populations, and other haplotypes are limited to only one population. Every population possesses few abundant haplotypes and large number of rare haplotypes, found in one or two specimens. Major haplotypes are not unique for particular river basin, but shared among several populations. This distribution supports the severe bottleneck in population size in the past glaciation and may indicate a single common refugium for this species in the past. Lake Baikal population possesses the most diverged haplotypes shared with all River populations, which makes plausible a hypothesis that this lake served as a refugium for *A. baerii* during glaciation maximum. Under artificial propagation one female gives thousands of eggs and fingerlings, all bearing the same maternal mitochondrial DNA, the most severe effect on genetic variability in aquaculture is seen in drastic decrease in mtDNA haplotype variation. Majority of Siberian sturgeons, reared now in commercial aquaculture in Russia have only two mitochondrial haplotypes – BaeHap3 and BaeHap7. In the Asian part of Russia two other haplotypes, BaeHap 4 and BaeHap5 are prevailing in some aquacultured stocks.

Microsatellite loci analysis does not reveal any diagnostic alleles, specific for particular *A. baerii* population. All natural populations possess about the same set of alleles, however allelic frequency do vary in different populations allowing identifying origin of an aquacultured stock. Assignment test, performed with STRUCTURE software (Pritchard et al. 2000) for all samples revealed that the dataset is most likely represented by four genetically distinct clusters. However, the distribution of samples in groups does not meet the accepted division of the Siberian sturgeon into subspecies - Baikal and the basins of three major Siberian rivers - Ob-Irtysh basin, Yenisei and Lena. Samples from Lake Baikal and Yenisei River (and aquaculture stock of corresponding origin) are not different and belong to one cluster. Samples of the Ob River and aquaculture stocks consisting of domesticated sturgeon from this population also form a single group. Sturgeon from the Kolyma river form distinct cluster, which is genetically closer to Yenisei and Baikal population, but not to the Lena river sturgeons. Surprisingly, the samples of aquaculture stocks originated from the Lena sturgeon populations (all – of Konakovo origin) split into two distinct clusters. One cluster consists of old domesticated sturgeons of wild origin – founders of Konakovo experimental sturgeon plant brood stock, as well as stocks from a number of aquaculture farms. At the same time, there is a second cluster of stocks, also from several commercial sturgeon farms, which is genetically distinct from the first group of stocks. These stocks are apparently descended from a small number of individuals from the Konakovo farm and spread to a number of commercial sturgeon aquaculture.

## Хромосомные исследования географии и динамики популяционно-генетической структуры у *Microtus arvalis sensu lato* (Rodentia, Arvicolinae) на территории Восточной Европы

Баскевич М.И.<sup>1</sup>, Миронова Т.А.<sup>1</sup>, Черепанова Е.В.<sup>1</sup>, Сапельников С.Ф.<sup>2</sup>, Кривоногов Д.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Воронежский заповедник, ст. Графская, Россия

<sup>3</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (Арзамасский филиал), Арзамас, Россия

В ходе обобщения данных по хромосомной изменчивости у *Microtus arvalis* s. l. (Rodentia, Arvicolinae) акцент сделан на исследование географии и динамики полиморфизма по хромосомной мутации 5-й пары аутосом у *M. arvalis* формы *obscurus* (МАО). Внимание сосредоточено на анализе популяций из Восточной Европы. В норме 5-я пара аутосом у МАО представлена двумя субтелоцентриками, а у мутантных особей перестроенный гомолог этой пары имеет форму акроцентрика. Подтвержден механизм мутации: перицентрическая инверсия, сопровождающаяся дупликацией хромосомного материала и появлением блока гетерохроматина и ЯОР на перестроенном гомологе. В Восточной Европе эта перестройка, как правило, в гетерозиготном состоянии отмечена в некоторых популяциях МАО из Центрального Черноземья и Поволжья (Ворнцов и др., 1984; Быстракова, 2003; Баскевич и др., 2005; 2008; 2011; наши данные). Анализ совокупных результатов позволяет отметить, что полиморфные по хромосомной мутации выборки из Поволжья приурочены к Правобережью Волги, тогда как в популяциях МАО из Заволжья перестройка ранее выявлена не была. Этот результат рассматривается в соответствии с гипотезой расселения, согласно которой в постледниковый период Правобережье и Заволжье заселялось предками МАО из различных рефугиумов, одним из которых могла служить Приволжская возвышенность. Новые данные по обнаружению полиморфных по 5-й паре аутосом популяций МАО в Центральном Черноземье (мутация выявлена у трех из 8 особей из окр. с. Новогремяченское Воронежской обл., у двух из 5 экз. из окр. с. Излегоще Липецкой обл.) и Верхнем Поволжье (перестройка отмечена у одной из 2 особей из пункта вблизи с. Рамешки Нижегородской обл.) могут быть связаны с обитанием в условиях экологического пессимума на периферии ареала данной кариоморфы. Динамика популяционно-генетической структуры рассмотрена на примере кариологически полиморфной по данной мутации популяции МАО из Арзамасского р-на Нижегородской обл. (окрестности с. Протопоповка), для которой получены приоритетные данные, обобщающие результаты 4-летнего мониторинга динамики популяционно-генетической структуры этой кариоморфы. Частота встречаемости хромосомной перестройки 5-й пары аутосом в исследованной популяции, рассчитанная в %, варьировала в разные годы. Так, в сборах 2009 г. ( $n=8$ ) она составила 62.5%; в отловах 2010 г. ( $n=11$ ) не выявлена; в выборке, собранной в 2011 г. ( $n=10$ ) составила 10%; а в сборах 2013 г. ( $n=12$ ) встречалась с частотой 8.3%. При этом были отмечены колебания и в динамике численности изученной популяции. Так, численность популяции составила 40,1 особей на 100 ловушко/суток в 2009 г., 8,7 особей на 100 ловушко/суток - в 2010 и 26,7 особей на 100 ловушко/суток - в 2011 г. Выявленная нами тенденция взаимосвязи популяционно-генетической структуры с динамикой численности может определяться действием частотно-зависимого отбора, направленного на поддержание хромосомного полиморфизма по мутации и связанных с нею эффектов. Однако нельзя исключить, что в основе наблюдаемого явления могут лежать ненаправленные эволюционные процессы, и в частности, генетический дрейф.

Исследование поддержано РФФИ (№ 16-04-00032а).

## **Chromosomal researches of geography and dynamics of population-genetic structure of *Microtus arvalis sensu lato* (Rodentia, Arvicolinae) at the territory of Eastern Europe**

Baskevich M.I.<sup>1</sup>, Mironova T.A.<sup>1</sup>, Cherepanova E.V.<sup>1</sup>, Sapelnikov S.F.<sup>2</sup>, Krivonogov D.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Voronezhskii State Reserve, Graphskaya, Russia*

<sup>3</sup>*Lobachevsky State University of Nizhniy Novgorod (Arzamas Branch), Arzamas, Russia*

During synthesis of data on chromosomal variability at *Microtus arvalis* s. l. (Rodentia, Arvicolinae) the emphasis is placed on a research of geography and dynamics of polymorphism on a chromosomal mutation of the 5th pair of autosomes at *M. arvalis* of the obscurus form (MAO). The attention is concentrated on the analysis of populations from Eastern Europe. Normal the 5th pair of autosomes at MAO is presented by two subtelocentrics, and at mutant individuals the reconstructed homolog of this pair has the form of acrocentric. The mechanism of this mutation is confirmed: the pericentric inversion which is followed by duplication of chromosomal material and emergence of the block of heterochromatin and NOR on the reconstructed homolog. In Eastern Europe this mutation, as a rule, in a heterozygotic state is noted in some populations of MAO from the Central Black-Soil area and the Volga region (Vorntsov, etc., 1984; Bystrakova, 2003; Baskevich, etc., 2005; 2008; 2011; our data). The analysis of cumulative results allows to note that selections of the Volga region, polymorphic on a chromosomal mutation, are dated for the Right bank of Volga whereas in MAO populations from the Left bank of Volga mutation hasn't been earlier revealed. This result is in conformity with a resettlement hypothesis according to which during the postglacial period the Right and the Left banks of the Volga river became populated by ancestors of MAO from various refugia, to one of which could serve Volga Hills. New data on detection of polymorphic on the 5th pair of autosomes populations MAO in the Central Black-Soil region (the mutation is revealed at three of 8 individuals of the surrounding village Novogremyachensky of the Voronezh Region, at two of 5 specimens of the surrounding village of Izlegoshche of the Lipetsk Region) and Upper Volga area (reorganization is noted at one of 2 individuals of locality near the village of Rameshki by the Nizhny Novgorod Region) can be connected with dwelling in the conditions of an ecological pessimum on the periphery of an area of this karioform. Dynamics of population-genetic structure is considered on the example of polymorphic on this mutation population MAO from the Arzamas district of the Nizhny Novgorod Region (the neighborhood of the village of Protopopovka) for which the results of 4 years' monitoring of dynamics of population-genetic structure of this karioform priority yielded, generalizing are obtained. The frequency of occurrence of chromosomal reorganization of the 5th pair of autosomes in the studied population calculated in % varied in different years. So, in collecting 2009 (n=8) it has made 62.5%; in catching of 2010 (n=11) it isn't revealed; in the selection collected in 2011 (n=10) has made 10%; and in collecting 2013 (n=12) met frequency of 8.3%. At the same time fluctuations and in dynamics of number of the studied population have been revealed. So, the number of population has made 40,1 individuals on 100 trap/days in 2009, 8,7 individuals on 100 trap/days - in 2010 and 26,7 individuals on 100 trap/days - in 2011. The tendency of interrelation of population-genetic structure with dynamics of number revealed by us can be defined by action of the frequency-dependent selection directed to maintenance of chromosomal polymorphism on mutations and the related effects. However it is impossible to exclude that not directed evolutionary processes, and in particular, genetic drift can be the cornerstone of the observed phenomenon.

The research is supported by the RFBR (No. 16-04-00032a).

## Роль фактора изоляции в формировании генетической структуры грызунов Валдайской возвышенности

Баскевич М.И.<sup>1</sup>, Потапов С.Г.<sup>1</sup>, Богданов А.С.<sup>2</sup>, Хляп Л.А.<sup>1</sup>, Шварц Е.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Кольцова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>WWF, Российское отделение, Москва, Россия

Для изучения влияния факторов изоляции на формирование генетической структуры грызунов Валдая исследованы генетические особенности Валдайских популяций трех видов: полевки-экономки *Microtus oeconomus*, лесной мышовки *Sicista betulina* и желтогорлой мыши *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis*. Представлены собственные хромосомные (G-, C-, AgNOR-окраска хромосом) и (или) молекулярные (секвенирование фрагментов генов *cytb* и *COI* мт ДНК) результаты по данным представителям грызунов Валдая, сопоставляемые с аналогичными результатами для других популяций этих видов. Для полевки-экономки, *Microtus oeconomus*, обитателя увлажненных лесных биотопов, характеризующейся стабильным кариотипом ( $2n=30$ ) по всему ареалу от Лапландии до Аляски, за исключением изолятов в Фенноскандии, обнаружена кариологически полиморфная популяция в Валдайском Национальном Парке (ВНП), на краю основного массива ареала вида в Западной Палеарктике ( $2n=31$ ,  $n=2$ ;  $2n=30$ ,  $n=6$ ). В полиморфной популяции из ВНП уточнена (G-banding) природа хромосомной перестройки (робертсоновская диссоциация хромосомы № 8), сходная с таковой в изолятах из Фенноскандии, но отмеченная лишь в гетерозиготном состоянии. Предполагается, что обнаруженный феномен может служить аргументом в пользу существования рефугиума лесной и тундровой растительности в области Скандинавского щита, откуда в LGM могло происходить заселение Валдайской возвышенности полиморфными предками полевки-экономки, а в эволюции вида имели место не только дивергентные, но и ретикулярные процессы, чередование которых определило специфику хромосомного полиморфизма изученной периферической популяции вида. Второй объект, лесная мышовка *Sicista betulina* (населяет хвойно-широколиственные леса Евразии), был исследован кариологически (C-banding) и на основе секвенирования фрагмента (1099 п.н.) гена *cytb* мтДНК. Сравнивали выборки *S. betulina* из ВНП с другими образцами из Восточной Европы. Результаты анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *cytb* мтДНК в исследованных образцах мышовок демонстрируют высокий уровень отличий по данному молекулярному признаку образцов *S. betulina* из ВНП (окрестности оз. Крень) не только от таковых вида-двойника *S. strandi* из Центрального Черноземья (уровень их отличий составляет порядка 10%), но и от образцов из Тверской обл. (Ржев, Бубоницы) и Подмосковья (Звенигород) (уровень отличий превышает 8%). С молекулярными данными коррелируют хромосомные результаты. Можно высказать предположить, что своеобразие популяции *S. betulina* из ВНП определяется ее генетическим родством с предками из рефугиумов в области Скандинавского щита, откуда могло происходить заселение освобождавшейся ото льда в LGM территории северо-западной части Валдая, тогда как заселение лесных ландшафтов бассейна Верхней Волги и сопредельных участков, по-видимому, происходило из внеледниковой области. Положение Валдайской популяции (окр. с. Соколово,  $n=3$ , оз. Крень,  $n=1$ ) *A. (S.) flavicollis* в структуре вида, сравниваемое с рядом других выборок, изучено по фрагменту гена *COI* (654 п.н.). Показаны принадлежность популяции из Валдайского р-на к северной форме и ее более высокий по сравнению с южной формой уровень изменчивости по исследованному фрагменту *COI* ( $D=0,007$ ), что, вероятно, обусловлено ее становлением в условиях значительной фрагментированности подходящих для вида местообитаний в северной части ареала вида.

Исследование поддержано РФФИ (№ 16-04-00032а).

## Role of isolation factor in formation of genetic structure in rodents of Valdai Hills

Baskevich M. I.<sup>1</sup>, Potapov S.G.<sup>1</sup>, Bogdanov A.S.<sup>2</sup>, Khlyap L.A.<sup>1</sup>, Shvarts E.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*I.A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*WWF, Russian Department, Moscow, Russia*

For studying of influence of isolation factors on formation of genetic structure of rodents of Valdai, genetic features of the Valdai populations of three species: root vole *Microtus oeconomus*, Northern birch mouse *Sicista betulina* and yellow-necked mouse *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis* were investigated. Own chromosomal (*G*-, *C*-, *AgNOR*-banding of chromosomes) and (or) molecular (sequence analysis of fragments of *cytb* and /or/ *COI* genes of mtDNA) results on these representatives of rodents of Valdai compared with similar results for other populations of these species are presented. For the first time for a root vole, *Microtus oeconomus*, the inhabitant of the humidified forest biotopes which is characterized by a stable karyotype ( $2n=30$ ) on all area from Lapland to Alaska except for isolates in Fennoscandia, kariologically polymorphic population in the Valdai National Park, on the edge of the main massif of species range in the Western Palaearctic is found ( $2n=31$ ,  $n=2$ ;  $2n=30$ ,  $n=6$ ). In polymorphic population from Valdai National Park the nature of chromosomal reorganization (robertsonian dissociation of a chromosome No. 8) similar to that in isolates from Fennoscandia, but only in a heterozygotic state noted is specified using *G*-banding of chromosomes. It is supposed that the found phenomenon can serve as an argument in favor of existence of a refugia of forest and tundra vegetation in the field of the Scandinavian board from where in LGM there could be a settling of Valdai Hills by polymorphic ancestors of a root vole, and in evolution of species took place not only divergent, but also reticular processes alternation of which has defined specifics of chromosomal polymorphism of the studied peripheral population of this species. The second object, Northern birch mouse *Sicista betulina* (inhabits the coniferous and broad-leaved woods of Eurasia), has been investigated kariologically (*C*-banding) and on the basis of a sequence analysis of *cytb* gene fragment (1099 bp) of mtDNA. We compared the samples of *S. betulina* from Valdai National Park to other samples from Eastern Europe. Results of the analysis of the nucleotide sequences of a fragment of *cytb* gene in the studied samples of birch mice show the high level of differences on this molecular marker of *S. betulina* samples from Valdai National Park (the vicinity of the lake Krenye) not only from those a sibling-species *S. strandi* from the Central Black-Soil region (level of their differences makes about 10%), but also from samples of the Tver region (Rzhev, Bubonitsy) and Moscow area (Zvenigorod) (level of differences exceeds 8%). With molecular data correlated with chromosomal results. It is possible to assume that the originality of population of *S. betulina* from Valdai National Park is defined by its genetic relations with ancestors from refugium in the field of the Scandinavian board from where there could be a settling of the territory of a northwest part of Valdai exempted from ice in LGM, whereas settling of forest landscapes of the basin of Upper Volga and adjacent territories, apparently, came from unglacial area. Position of the Valdai population (near village Sokolovo,  $n=3$ , lake Krenye,  $n=1$ ) of *A. (S.) flavicollis* in structure of a species, compared to some other samples has been studied by *COI* gene fragment (654 bp). It has been shown by the studied fragment of *COI*, the belonging of *A. (S.) flavicollis* population from the Valdai district to a northern form and its variability level, ( $D=0,007$ ) higher in comparison with the southern form, that is probably caused by its formation in the conditions of a considerable fragmentation of the habitats suitable for the life in the northern part of the species range.

The research is supported by the RFBR (No 16-04-00032a).

## Генетическая оценка засухоустойчивости популяции линейных и сортовых растений хлопчатника *G. hirsutum* L.

Бекмухамедов А.А., Тонких А.К., Ибрагимхаджаев С.У., Бобохужаев Ш.У., Пардаев А.Р.  
Национальный Университет Узбекистана им. М. Улугбека, Ташкент, Узбекистан

Для оценки засухоустойчивости растений существует ряд научных методов. Один из них основан на проращивании семян в растворах сахарозы с высоким осмотическим давлением, имитирующим условия физиологической сухости. Определяя процент проросших семян на растворах с высоким осмотическим давлением, представляется возможным определить относительную засухоустойчивость линий и сортов на этапе прорастания семян. Засухоустойчивость на этапах вегетативного развития оценивают по скорости развития растений (высота растений, количество междоузлий или плодоземелетов и т.д.) в условиях нормального и недостаточного водоснабжения. С помощью камер давления достаточно легко определить в полевых условиях водный потенциал листьев растений, который связан с концентрацией осмолитов в листьях и может дать показателя засухоустойчивости растений.

Целью исследования является изучение влияния предпосевной обработки семян хлопчатника ЭМП на устойчивость растений к недостатку влаги на ранних этапах развития и отбор генотипов устойчивых к засухе. В работе использовали семена хлопчатника сортов С-6524, Андижан-37, Наманган-77, Ибрат и линий Л-492, Л-4112, Л-608. Для определения засухоустойчивости семян в чашках Петри на фильтровальной бумаге проращивали по 50 семян в трёх повторностях. Фильтровальную бумагу увлажняли раствором сахарозы с осмотическим давлением 0,8 МПа (8бар-0,3М), 1,45 МПа (14,5бар-0,5М) и 1,8 МПа (18бар-0,6М). Подсчёт проросших семян осуществляли через неделю. Для выращивания проростков в горшки объёмом 300 мл на глубину 3 см помещали по 5 семян хлопчатника и выращивали в течение 10 суток при ежедневном поливе. Для создания водного дефицита количество поливов уменьшали в 2 раза. Полученные результаты по экспериментальному проращиванию семян хлопчатника на растворах сахарозы с различным осмотическим давлением показали, что по устойчивости к недостатку воды линии и сорта располагаются следующим образом: С-6524 – Л-492 – Андижан-37 – Л-4112 – Наманган-77 – Л-608 – Ибрат. Более устойчивым оказалось сорт С-6524 и наименее устойчив сорт Ибрат. Обработка семян ЭМП во всех случаях привела к увеличению устойчивости к недостатку воды. Результаты по измерению средней высоты 10-дневных проростков выращенных в условиях нормального и дефицитного водоснабжения показали, что сорта и линии располагаются в следующем порядке: С-6524 (-15%) – Л-492 (-22%) - Андижан-37 (-35%) - Наманган-77 (-40%) – Л-4112 (-41%) – Л-608 (-50%) – Ибрат (-61%). То есть, как в тесте на засухоустойчивость, наиболее устойчивым является сорт С-6524, а наименее - Ибрат. При нормальном водообеспечении предпосевная обработка семян увеличивает рост проростков в следующем порядке: Л-492 (41%), Андижан-37 (26%), Наманган-77 (19%), С-6524 (9%), Л-4112 (7%), Л-608 (1%) и Ибрат (1%). Это показывает, что больше увеличился рост проростков у линии Л-492 (на 41%) и меньше у сорта Ибрат (на 1%). Результаты в растворах сахарозы с различным осмотическим давлением, имитирующих недостаток влаги показали следующий порядок расположения сортов и линии по устойчивости к засухе: С-6524 (15%), Л-492 (22%), Андижан-37 (35%), Наманган-77 (36%), Л-4112 (41%), Л-608 (49%) и Ибрат (62%). В тесте на засухоустойчивость семян, наиболее устойчивым оказался С-6524 и наименее – Ибрат. При недостаточном водообеспечении предпосевная электромагнитная обработка увеличивает рост проростков у сортов и линий в следующем порядке: Ибрат (на 65%), Андижан -37 (на 41%), Наманган-77 (на 39%), Л-608 (34%), Л-4112 (на 27%, Л-492 (на 9%) и С-6524 (на 7%). То есть более всего увеличивается рост проростков у сорта Ибрат и менее – у сорта С-6524. Интересно отметить, что предпосевная ЭМИ обработка больше всего увеличивает рост проростков у менее устойчивого к засухе сорта Ибрат, и наоборот, меньше всего у наиболее

устойчивых к засухе С-6524 и Л-492. Водный потенциал у семядольных листьев у сортов и линий при нормальном водообеспечении примерно одинаков (8,7 – 9,4 бар) и практически зависит от водного потенциала почвы (содержания воды в почве). При дефиците воды в почве, водный потенциал семядольных листьев у всех опытных растений по абсолютной величине повышен (13,8 – 15,9 бар), причём, чем выше засухоустойчивость сорта или линии, тем выше водный потенциал. А электромагнитная обработка семян делает водный потенциал при дефиците влаги у всех сортов по абсолютной величине еще выше (14,9 – 16,8 бар). Кроме того, в полевых условиях при нормальном (схема 1-2-1) и недостаточном (схема 1-1-0) режиме поливов были выращены опытные растения линий и сортов, на которых по этапам вегетативного развития учитывали изменения морфологических признаков. А также в лабораторных условиях, измерив показатели хозяйственно-ценных признаков, отбирали наиболее урожайные растения, выращенные в условиях дефицита воды.

### **Genetic evaluation of drought resistance in the population of linear and varietal plants of cotton *G. hirsutum* L.**

Bekmukhamedov A.A., Tonkikh A.K., Ibragimhadjaev S.U., Bobokhujaev Sh.U., Paradaev A.R.  
*National University of Uzbekistan named after M. Ulugbek, Tashkent, Uzbekistan*

The main problem of the Central Asia is timely watering for the agricultural plants. The main aim of the investigation is discovery of the genotypes between different cotton genetic lines and varieties, which were grown on small water background. It was suggested the treatment of the cotton seeds by low frequency electric magnetic field.

### **Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны, *Pinus sibirica* Du Tour, по микросателлитным локусам**

Белоконь М.М.<sup>1</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>1</sup>, Мудрик Е.А.<sup>1</sup>, Полякова Т.А.<sup>1</sup>, Шатохина А.В.<sup>1</sup>,  
Политов Д.В.<sup>1</sup>, Крутовский К.В.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Отделение лесной генетики и селекции, Гёттингенский университет,  
Гёттинген, Германия*

<sup>3</sup>*Лаборатория лесной геномики, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии,  
Научно-образовательный центр геномных исследований, Сибирский федеральный  
университет, Красноярск, Россия*

<sup>4</sup>*Отделение по изучению и управлению экосистем, Техасский АМ университет,  
Колледж Стейшин, Техас, США*

Сибирской кедровая сосна, *Pinus sibirica* Du Tour, - один из важнейших в экономическом и экологическом отношении лесообразующих видов хвойных России. Изучение ее генетической изменчивости ведется уже несколько десятилетий. При помощи изоферментных локусов установлены уровни внутривидового разнообразия и межвидовой дифференциации, описана геногеографическая структура вида (Крутовский и др., 1989; Политов и др., 1989; Политов 1989, 2007; и др.). Однако для решения задач молекулярно-генетической идентификации особей и паспортизации насаждений аллозимные локусы не обладают достаточным уровнем изменчивости, что обусловлено их подверженностью естественному отбору. Напротив, микросателлитные локусы как правило селективно нейтральны и, благодаря высокой частоте мутирования, обладают высоким полиморфизмом. Полногеномное секвенирование позволило идентифицировать большое число микросателлитных локусов в геноме сибирской кедровой сосны. В Лаборатории лесной геномики Научно-образовательного центра геномных исследований Сибирского федерального университета ([29](http://genome.sfu-</a></p></div><div data-bbox=)

kras.ru/forest\_genomics) на основании контигов, полученных при полногеномном анализе сибирской кедровой сосны и содержащих короткие tandemные повторы, были разработаны видоспецифичные праймеры. По результатам предварительного тестирования 70 микросателлитных локусов с три-, тетра- и пентануклеотидными повторами были отобраны 20 перспективных средне- и высокополиморфных локусов, которые можно использовать как генетические маркеры в популяционно-генетических исследованиях сибирской кедровой сосны (Белоконь и др. 2016).

Генотипы 255 деревьев из 15 выборок, представляющих популяции из различных частей ареала, были проанализированы по девяти ядерным микросателлитным локусам. Условием отбора данных локусов было наличие в них не менее двух аллелей. В целом число аллелей на локус находилось в пределах от 2 до 12, в популяциях число аллелей на локус было в пределах от одного до семи и в среднем составило  $N_A=3.36\pm 0.10$ ;  $N_E=2.28\pm 0.07$ . Наименее изменчивым оказался локус *PS\_718958* - мономорфный в трех выборках, и со значительным преобладанием частого аллеля во всех остальных выборках, кроме «Корткерос», в которой обнаружен альтернативный аллель с частотой 0.591. Средняя наблюдаемая гетерозиготность ( $H_O=0.489\pm 0.018$ ) в целом не значительно отличалась от средней ожидаемой гетерозиготности ( $H_E=0.499\pm 0.017$ ). Индекс фиксации указывает на равновесное распределение генотипов ( $F=0.009\pm 0.022$ ). Однако в отдельных популяциях мы наблюдали как дефицит гетерозиготных генотипов (популяции западной части ареала), так и их избыток (восточные и некоторые южные популяции). В большинстве популяций обнаружен дефицит гетерозиготных генотипов по локусу *PS\_364418* ( $F=0.229\pm 0.038$ ), что может быть связано с присутствием «нуль»-аллеля в данном локусе. Межпопуляционная доля генетической изменчивости  $F_{ST}=0.138\pm 0.021$  указывает на высокую степень дифференциации по микросателлитным локусам. Генетические дистанции  $D_N$  (Nei, 1978) находятся в пределах от 0.011 до 0.458. Максимальные дистанции отмечены между крайней западной популяцией и тремя восточными популяциями. Анализ главных координат показал, что в целом генетическая дифференциация популяций отражает их географическое расположение. Распределение популяций по первой координате соответствует географической долготе. Микросателлитные локусы *Pinus sibirica* обладают более высоким полиморфизмом, чем аллозимные, их изменчивость отражает существующую генетическую дифференциацию популяций и может быть успешно использована для генетической идентификации особей и паспортизации насаждений в практике ведения лесного хозяйства.

Работа выполнена в рамках проекта «Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации», финансируемого Правительством РФ (договор № 14.Y26.31.0004).

### Genetic diversity of Siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, by microsatellite loci

Belokon M.M.<sup>1</sup>, Belokon Yu.S.<sup>1</sup>, Mudrik E.A.<sup>1</sup>, Polyakova T.A.<sup>1</sup>, Shatokhina A.V.<sup>1</sup>, Politov D.V.<sup>1</sup>  
Krutovsky K.V.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding,  
Georg-August University of Göttingen, Germany

<sup>3</sup>Laboratory of Forest Genomics, Genome Research and Education Center,  
Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>4</sup>Department of Ecosystem Science and Management, Texas A&M University,  
College Station, TX, USA

Siberian stone pine, *Pinus sibirica* Du Tour, is one of the most economically and ecologically important forest forming conifer species in Russia. Studies of genetic diversity of this species are underway for over three decades. Intrapopulation diversity and interpopulation differentiation levels were established using isozyme loci, and genogeographic structure was



described (Krutovsky et al., 1989; Politov et al., 1992; Krutovskii et al., 1994, 1995; Politov, Krutovskii, 1994; Politov 1988, 2007 etc.). However, allozyme loci being under the action of natural selection do not have sufficient levels of diversity for molecular-genetic individual identification and provenance certification. Microsatellite loci are highly polymorphic and mostly selectively neutral genetic markers. The whole genome sequencing allowed identifying numerous microsatellite loci in the Siberian stone pine genome. Sets of new PCR primers have been designed at the Laboratory of Forest Genomics in Genome Research and Education Center of Siberian Federal University ([http://genome.sfu-kras.ru/en/forest\\_genomics](http://genome.sfu-kras.ru/en/forest_genomics)) based on contigs obtained by the whole genome sequencing of Siberian stone pine and containing short tandem repeats. Out of the tested 70 primer pairs 20 were selected as perspective for reliable genotyping with moderate to high level of polymorphism. These loci can be used as genetic markers in population genetic studies of Siberian stone pine (Belokon et al., 2016). Genotypes of 255 trees representing 15 selected range-wide population samples of *P. sibirica* were analyzed by nine nuclear microsatellite loci. In total, the number of alleles per locus was in the range from two to 12. Mean and effective number of alleles per locus was  $N_A=3.36\pm 0.10$  and  $N_E=2.28\pm 0.07$ , respectively. Locus *PS\_718958* was monomorphic in three populations, the common allele was predominating in other samples except for "Kortkeros" where an alternative allele was detected at high frequency (0.591). In total, mean observed heterozygosity ( $H_O=0.489\pm 0.018$ ) did not significantly differ from mean expected heterozygosity ( $H_E=0.499\pm 0.017$ ). Fixation index demonstrated genotypic equilibrium ( $F=0.009\pm 0.022$ ). However, in some populations of the western part of range we observed heterozygote deficiency while in eastern and some southern populations there was some heterozygote excess. Heterozygote deficiency in locus *PS\_364418* ( $F=0.229\pm 0.038$ ) was observed in most populations. It might be due to the presence of null-allele in this locus. Interpopulation component of genetic diversity  $F_{ST}=0.138\pm 0.021$  demonstrates high level of differentiation by microsatellite loci. Nei's genetic distances  $D_N$  (Nei, 1978) lays in the range from 0.011 to 0.458. The highest values of genetic distances were recorded between the westernmost population and a group including three eastern populations. As principal coordinate analysis demonstrated, genetic differentiation of populations reflects their geographic localization. Ordination of populations along the first principal coordinate is in concordance with longitude. In *Pinus sibirica*, microsatellite loci demonstrate higher levels of polymorphism than allozyme loci. Their diversity reflects existent genetic differentiation of populations and may be successfully applied for genetic identification of individuals and for provenance certification in the forestry practice.

The presented study was a part of the project "Genomic studies major boreal coniferous forest tree species and their most dangerous pathogens in the Russian Federation" funded by the Government of the Russian Federation (contract № 14.Y26.31.0004).

### Генетическое разнообразие кедрового стланика, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, Якутии

Белоконь Ю.С.<sup>1</sup>, Белоконь М.М.<sup>1</sup>, Захаров Е.С.<sup>2</sup>, Ефимова А.П.<sup>2</sup>, Политов Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

Кедровый стланик, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, широко распространенный вид кедровых сосен. Благодаря своей кустарниковой стелящейся форме и высокой экологической пластичности стланик выживает в условиях, зачастую непригодных для произрастания большинства деревьев. Ареал вида простирается от озера Байкал на западе до Чукотского полуострова на северо-востоке, до Сахалина, Курильских и Японских островов на юго-востоке. В широтном направлении вид распространен от Якутской лесотундры до субальпийского пояса Сихоте-Алиньского хребта и гор Корейского полуострова на юге. Генетическая структура и дифференциация семи популяций кедрового стланика из Якутии были исследованы с использованием 24 изоферментных локусов loci (*Adh-1*, *Fdh*, *Fest-2*, *Gdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Idh*, *Lap-3*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mnr-1*, *Pepca*, *6Pgd-2*, *6Pgd-3*, *Pgi-1*, *Pgi-2*,

*Pgm-1*, *Pgm-2*, *Skdh-1*, *Skdh-2*, *Sod-2*, *Sod-3* and *Sod-4*). Все локусы, кроме *Pgi-1* и *Sod-3*, оказались полиморфными во всех выборках. Среднее число аллелей на локус составило  $N_A=2.17$ , средняя ожидаемая гетерозиготность –  $H_E=24.5\%$ , средняя наблюдаемая гетерозиготность –  $H_O=22\%$ . Среднее значение индекса фиксации ( $F$ ) равно  $0.088\pm 0.015$ . Незначительный недостаток гетерозигот ( $F=0.163\pm 0.030$ ) отмечен в выборке Большое Токо на Алданском нагорье. Доля межпопуляционной дифференциации ( $F_{ST}$ ) составила 0.049. Генетические расстояния Нея находились в пределах от 0.008 (между выборками Сегян-Кюёль и Батагай) до 0.039 (между выборками Большое Токо и Жиганск). Наблюдаемые значения генетического разнообразия и дифференциации характерны для континентальных популяций *P. pumila*. Высокие уровни генетической дифференциации кедрового стланика зависят от географического положения и условий произрастания популяции.

Работа выполнена при поддержке подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

### **Genetic differentiation of Siberian dwarf pine *Pinus pumila* (Pall.) Regel populations from Yakutia**

Belokon Yu.S.<sup>1</sup>, Belokon M.M.<sup>1</sup>, Zakharov E.S.<sup>2</sup>, Efimova A.P.<sup>2</sup>, Politov D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia*

Siberian dwarf pine, *Pinus pumila* (Pall.) Regel, is a widespread pine species. Due to a unique shrub or crawling form and high ecological plasticity *P. pumila* survives under conditions unsuitable for most trees. The species range is extended from Baikal Lake in the west to the Chuckchi Peninsula in the northeast and Sakhalin, the Kurils, and Japan in the southeast and, latitudinally, from the Yakutian forest-tundra zone to the subalpine belt of Sikhote-Alin Range and mountains of the Korean Peninsula in the South. Genetic structure and differentiation of seven Siberian dwarf pine populations from Yakutia were studied using 24 allozyme loci (*Adh-1*, *Fdh*, *Fest-2*, *Gdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Idh*, *Lap-3*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mnr-1*, *Pepca*, *6Pgd-2*, *6Pgd-3*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Skdh-1*, *Skdh-2*, *Sod-2*, *Sod-3* and *Sod-4*). Two loci, *Pgi-1* and *Sod-3*, were monomorphic at all samples. Mean allele number per loci ( $N_A$ ) was 2.17, mean expected heterozygosity  $H_E=24.5\%$ , observed heterozygosity  $H_O=22\%$ . Fixation index ( $F$ ) mean value was  $0.088\pm 0.015$ . Minor level of heterozygote deficiency  $F=0.163\pm 0.030$  was observed in Bolshoe Toko population from Aldan Mountains. Total differentiation among populations from Yakutia was  $F_{ST}=0.049$ . Nei genetic distances ( $D_N$ ) varied from 0.008 (between populations Segyan-Kuyol' and Batagay) to 0.039 (between populations Bolshoye Toko and Zhigansk). Observed values of genetic diversity and differentiation are characteristic to mainland *P. pumila* populations. High levels of genetic differentiation of Siberian dwarf pine depend on geographic origin and growing conditions.

This study was supported by The project 0112-2015-0045 'Population gene pools under conditions of dynamically changing environment: molecular genetic approach to the analysis of factors of evolution and adaptation' of the Program of Fundamental Research of the Presidium of Russian Academy of Sciences 'Biodiversity of Living Nature' (subprogram 'Gene Pools of Living Nature and Their Conservation').

## Генетическая изменчивость и дифференциация популяций белки обыкновенной, *Sciurus vulgaris* L., по микросателлитным локусам

Билоконь С.Ю.<sup>1</sup>, Белоконь М.М.<sup>2</sup>, Дикий И.В.<sup>1</sup>, Захаров Е.С.<sup>3</sup>,  
Белоконь Ю.С.<sup>2</sup>, Политов Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет им. И.Я. Франко, Украина

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

Изучена генетическая изменчивость обыкновенной белки, *Sciurus vulgaris* L., из трех популяций Якутии, одной популяции из Архангельской области и двух западноукраинских популяций по 12 ядерным микросателлитным локусам. Все локусы оказались полиморфными с количеством аллелей от трех до 16. Среднее число аллелей на локус составило 6,3 ( $\pm 0,5$ ) для архангельской и якутских популяций, и 5,8 ( $\pm 0,4$ ) для западноукраинских популяций. Средняя наблюдаемая гетерозиготность  $H_O=0,746$  ( $\pm 0,020$ ) и средняя ожидаемая гетерозиготность  $H_E=0,715$  ( $\pm 0,017$ ) указывают на высокое генетическое разнообразие якутских белок. В Архангельской области и на Западе Украины средние гетерозиготности в исследованных популяциях оказались несколько ниже -  $H_O=0,683$  ( $\pm 0,045$ ),  $H_E=0,691$  ( $\pm 0,030$ ), и  $H_O=0,624$  ( $\pm 0,024$ ),  $H_E=0,682$  ( $\pm 0,019$ ), соответственно. Значение индекса фиксации  $F=-0,048$  ( $\pm 0,022$ ) показывает отсутствие дефицита гетерозигот в якутских популяциях. В популяции из Архангельской области индекс фиксации был близок к равновесному ( $F=0,014 \pm 0,041$ ), а в западноукраинских оказался выше ( $F=0,078 \pm 0,033$ ), что может свидетельствовать об определенной доле инбридинга. Близкие к равновесным соотношения генотипов и высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности свидетельствуют о том, что якутские белки не испытывали значительных сокращений численности. В то время как популяции белки Прикарпатья и Карпат были, по-видимому, подвержены спадам численности и влиянию фрагментации среды обитания.

Доля межгрупповой изменчивости по виду ( $F_{ST}$ ) составила 0,064 ( $\pm 0,014$ ). Минимальная дифференциация наблюдалась между двумя популяциями восточной части Якутии,  $F_{ST}=0,013$ , а также географически близкими популяциями Прикарпатья и Карпат, представленными различными цветовыми формами,  $F_{ST}=0,018$ . Максимально дифференцированы популяции из различных регионов ( $F_{ST}$  в пределах 0,028 – 0,043 между архангельской и якутскими популяциями, 0,055 – 0,062 между архангельской и западноукраинскими популяциями, и 0,035 – 0,063 между якутскими и западноукраинскими популяциями).

Полученные данные свидетельствуют о том, что распределение генетической изменчивости на ареале *Sciurus vulgaris* в основном соответствует модели изоляции расстоянием. Выделение цветовых форм, обитающих на смежных не изолированных территориях, в отдельные подвиды во многих случаях не обоснованно генетически. Изменчивость окраски меха зависит от фона окружающей среды и, по-видимому, связана с жестким отбором со стороны хищников. Особенно ярким примером этому могут служить черные белки из Карпат, обитающие в зоне темнохвойной тайги и буковых лесов, и рыжие белки из Прикарпатья, которые населяют смешанные леса с преобладанием сосны обыкновенной. Высокая вариабельность окраса якутских белок также обусловлена разнообразием типов леса в регионе.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» (подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие»).

## Genetic diversity and differentiation of Eurasian red squirrel, *Sciurus vulgaris* L., populations by SSR data

Bilokon S.Yu.<sup>1</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Dykyy I.V.<sup>1</sup>, Zakharov E.S.<sup>3</sup>,  
Belokon Yu. S.<sup>2</sup>, Politov D.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine*

<sup>2</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia*

We studied the genetic diversity of Eurasian red squirrel, *Sciurus vulgaris* L., of three populations from Yakutia, one from Archangelsk district and two Western-Ukrainian populations by 12 nuclear microsatellite loci. All loci are polymorphic with allele number from three to 16. Average allele number on locus amounts 6,3 ( $\pm 0,5$ ) for Archangelsk and Yakutia populations, and 5,8 ( $\pm 0,4$ ) for Western-Ukrainian populations. Average observed  $H_O=0,746$  ( $\pm 0,020$ ) and average expected heterozygosity  $H_E=0,715$  ( $\pm 0,017$ ) show high genetic diversity of Yakutian squirrels. In Archangelsk district and Western Ukraine average heterozygosities of studied populations were lower -  $H_O=0,683$  ( $\pm 0,045$ ),  $H_E=0,691$  ( $\pm 0,030$ ), и  $H_O=0,624$  ( $\pm 0,024$ ),  $H_E=0,682$  ( $\pm 0,019$ ). Fixation index  $F=-0,048$  ( $\pm 0,022$ ) shows absence to heterozygote deficiency in Yakutia populations. In population from Archangelsk district fixation index is close to equilibrium ( $F=0,014 \pm 0,041$ ), and in Western-Ukrainian populations is higher ( $F=0,078 \pm 0,033$ ), what can mean some part of inbreeding. Close to equilibrium proportions of genotypes and high level of observed heterozygosity demonstrate that Yakutian squirrels haven't been exposed to significant decline. While the Western-Ukrainian squirrels were apparently subject to the number of recessions and influence of habitat fragmentation.

Value of intergroup variability ( $F_{ST}$ ) was 0,064 ( $\pm 0,014$ ). Minimal differentiation observed between two populations from East Yakutia,  $F_{ST}=0,013$ , and geographically close populations of Subcarpathia and Carpathian mountains, presented with different color forms,  $F_{ST}=0,018$ . Most differentiated are populations from different regions ( $F_{ST}$  from 0,028 to 0,043 between Archangelsk and Yakutian populations, 0,055 – 0,062 between Archangelsk and Western-Ukrainian populations, and 0,035 – 0,063 between Yakutian and Western-Ukrainian populations).

Received data shows that distribution of genetic variability at range of *Sciurus vulgaris* substantially corresponds the model of isolation by distance. Detachment of color forms that inhabit adjacent non isolating territories into separate subspecies is genetically not reasonable in a lot of cases. Diversity of fur color depends on scenery color and predator selections apparently. As a good example can be black squirrels from Carpathian mountains that inhabit dark conifer and beech forests, and red squirrels from Subcarpathia that inhabit mixed forests with Scots pine predomination. High variability of fur color among Yakutian squirrels depends on diversity of forest types in that region.

This study was supported by The project 0112-2015-0045 'Population gene pools under conditions of dynamically changing environment: molecular genetic approach to the analysis of factors of evolution and adaptation' of the Program of Fundamental Research of the Presidium of Russian Academy of Sciences 'Biodiversity of Living Nature' (subprogram 'Gene Pools of Living Nature and Their Conservation').

### Хромосомный полиморфизм *Chironomus plumosus* из Рыбинского водохранилища

Большаков В.В.

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
п. Борок, Ярославская обл., Россия*

В результате анализа цитогенетической структуры популяции *Chironomus plumosus* (L. 1758) из Рыбинского водохранилища нами было обнаружено высокое разнообразие

сочетаний последовательностей дисков политенных хромосом. При этом распределение отдельных последовательностей оказалось неравномерным и соответствовало биотопам, формирующимся в разных областях водохранилища. Нами были выделены геномные комбинации, за счёт которых происходит формирование единой популяции “Рыбинское водохранилище”: A1.1.B1.2.C1.2.D1.1.E1.1.F1.1., A1.1.B2.2.C1.2.D1.1.E1.1.F1.1., A1.1.B2.2.C2.2.D1.1.E1.1.F1.1. и A1.1.B2.2.C1.1.D1.1.E1.1.F1.1., встреченные у 22.8% особей из 569 изученных. Для всех исследованных точек характерны последовательности *pluA1*, *pluA3*, *pluB2*, *pluC1*, *pluC2*, *pluD1*, *pluD2*, *pluE1* и *pluF1*. Последовательность *pluA4* обнаружена на трёх станциях, при этом на одной станции наблюдается увеличение частоты её встречаемости (2013-2016 гг.), на двух уменьшение и даже исчезновение (в 2016 г). Последовательность *pluA2* очень редка, однако, на некоторых станциях обнаруживается как в гетеро-, так и в гомозиготном состоянии. На всех станциях высок уровень гетерозиготности, хотя бы одна гетерозигота встречена у 88% особей, а количество гетерозигот на особь варьирует от 1.4 до 2.4. Во всех случаях у личинок были обнаружены последовательности *pluB2* и *pluC2*. Опираясь на то, что разные инверсии обладают различным экологическими оптимумами (Дубинин, 1966), можно предположить, что данные последовательности обладают адаптивной значимостью и даже способствуют выживанию межвидовых гибридов в изменяющихся условиях водохранилища.

Исследование выполнено при поддержке проекта РФФИ № 16-34-00124 мол\_a.

### **Chromosomal polymorphism in *Chironomus plumosus* from Rybinsk reservoir**

Bolshakov V.V.

*I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Yaroslavl reg., Russia*

Analyses of cytogenetic structure of the population *Chironomus plumosus* (L. 1758) from the Rybinsk reservoir revealed high diversity of chromosomal banding sequences. The distribution of individual sequences turned out uneven and correlated with habitats, which arose in different areas of the reservoir. We have identified genomic combinations, due to which there is the formation of a combined population "Rybinsk Reservoir": A1.1.B1.2.C1.2.D1.1.E1.1.F1.1., A1.1.B2.2.C1.2.D1.1.E1.1.F1.1., A1.1.B2.2.C2.2.D1.1.E1.1.F1.1. and A1.1.B2.2.C1.1.D1.1.E1.1.F1.1., which were met in 22.8% of the 569 studied individuals. For all studied points typical sequences, like a *pluA1*, *pluA3*, *pluB2*, *pluC1*, *pluC2*, *pluD1*, *pluD2*, *pluE1* and *pluF1* were found. The sequence *pluA4* was found in three stations, but in one station there was an increase the frequency of its occurrence (2013-2016), and reduction on the two stations and even disappearance (in 2016). The sequence *pluA2* was very rare, however, at some stations found like a hetero- and homozygous forms. At all stations a high level of heterozygosity was found, at least one heterozygote occurred in 88% of the individuals, and the number of heterozygotes per individual ranged from 1.4 to 2.4. In all larvae from different habitats the sequences *pluB2* and *pluC2* were found. Based on the fact that different inversions have different environmental optima (Dubinin, 1966), we can assume that these sequences have adaptive significance, and contribute to the survival of hybrids in the changing conditions of the reservoir.

This work was financially supported by the grant of RFBR №16-34-00124 мол\_a.

## Популяционно-генетические особенности улитки *Arianta arbustorum* L. в странах побережья Балтийского моря

Бондарева О.В.<sup>1</sup>, Абрамсон Н.И.<sup>1,2</sup>, Джапаридзе Л.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Научный центр РАН, Санкт-Петербург, Россия

В широком смысле инвазии представляют собой частный случай расширения ареала вида, происходящего в короткие сроки и часто в результате антропогенных изменений. Среди видов наземных экосистем один из примеров чрезвычайно успешной инвазии, происходящей в последние годы в Северо-Западном регионе России – древесная улитка *Arianta arbustorum* (Linnæus, 1758). За первое десятилетие нынешнего века плотность поселения ариант в некоторых местах увеличилась до тысяч экземпляров на квадратный метр, они распространились практически по всей Ленинградской области. Поскольку инвазии являются частным примером расселения видов, мы воспользовались общепринятым арсеналом методов в рамках современного научного направления «филогеография», использующих, по большей части, в качестве молекулярного маркера митохондриальную ДНК. В данном исследовании мы использовали ген COI для выяснения источника инвазии, а так же изучения популяционной структуры улитки.

Ранее наши исследования в Ленинградской области показали крайне низкое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие на площади почти в 100 км<sup>2</sup>. А наличие общей клады России и Дании на филогенетическом дереве косвенно указывало на возможность заселения улиткой России с помощью водного транспорта через Данию. Чтобы проверить эту гипотезу, мы собрали материал из всех прибрежных стран Балтики, сиквенсов из которых на момент исследования не было в Генбанке: Швеции, Финляндии, Норвегии и Дании, а так же стран Прибалтики (Латвии, Литвы и Эстонии). Из всех образцов была также выделена ДНК и амплифицирован ген COI. Анализ сети гаплотипов показал единство всех собранных образцов со всех точек, несмотря на огромную территорию сборов. Следует так же отметить, что эти гаплотипы уникальны и в других странах Западной Европы (где находится естественный ареал данного вида) не встречаются. Из этих данных можно сделать вывод о том, что вся исследуемая нами территория заселялась одной группой основателей, предположительно, из Австрии (как наиболее близкая на филогенетическом дереве клада). Полученные в результате популяционно-генетических исследований данные свидетельствуют также в пользу инвазии по сценарию «плацдарма», когда небольшая группа основателей довольно долго находится на новой территории в ограниченном числе и лишь потом вследствие определенных пусковых механизмов начинается экспансивное размножение.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-02526 – офи-м.

## Population genetic structure of pulmonate mollusk *Arianta arbustorum* L. in the Baltic countries

Bondareva O.V.<sup>1</sup>, Abramson N.I.<sup>1,2</sup>, Dzhaparidze L.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Scientific Center RAS, Saint-Petersburg, Russia

Biological invasions represent a special case of species dispersal, that occurs very rapidly and often results from anthropogenic changes. Land snail *Arianta arbustorum* (Linnæus, 1758) is one of the examples of a very success invasion in the North-West region of Russia. The density of settlements has increased up to thousand snails per square meter in some places during last decade. They spread over the entire Leningrad region. So far as invasions are partial case of species dispersal history that is in the focus of the phylogeography we used traditional methods of the field

based on mitochondrial genes as molecular markers. We used COI as marker to uncover invasion source and to reveal the population structure of the snail in the territory under study.

Our previous studies showed both low haplotype and nucleotide diversity at the square of 100 km<sup>2</sup> in the Leningrad region. Samples from Denmark, Austria and Russia composed a common clade on the phylogenetic tree. This fact pointed on the possibility of invasion route from Denmark with water carriage. To test this, we collected samples from all counties on the Baltic coast, that were absent in Genbank (Denmark, Sweden, Norway, Finland, Lithuania, Latvia, Estonia). Network analysis showed that all haplotypes obtained from samples at this territory were nearly the same. It should be noted, that all these haplotypes were unique and not found in Central Europe, within historical range. Based on our data, we can conclude, that all studied countries were populated by one wave of invasion and it best of all is described by “bridgehead” model.

This work was financially supported by the grant of RFBR N 15-29-02526-ofi-m

### **Анализ полиморфизма адаптивно-значимых генов в популяциях лиственницы сибирской Северного и Среднего Урала**

Боронникова С.В., Нечаева Ю.С., Жуланов А.А.

*Пермский государственный национальный исследовательский университет,  
Пермь, Россия*

Исследования закономерностей распределения генетической изменчивости особенно актуальны для видов, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение. Виды рода *Larix* Mill. являются самыми распространенными древесными растениями России и всей планеты в целом. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb. Генетическая изменчивость природных популяций лиственницы сибирской на Приполярном Урале и на восточном макро-склоне Уральских гор изучена В. Л. Семериковым с соавторами с использованием изоферментных, митохондриальных, хлоропластных, AFLP-маркеров и выявления нуклеотидного полиморфизма некоторых потенциально адаптивно-значимых генов.

Цель исследования - определить нуклеотидные последовательности отобранных для изучения локусов адаптивно-значимых генов и выявить их нуклеотидный полиморфизм в популяциях *L. sibirica* Уральских гор. Нуклеотидный полиморфизм изучен в десяти популяциях *L. sibirica*: восемь популяций расположены в Пермском крае, две популяции находятся в Свердловской области. Географические расстояния между популяциями изменяются в больших пределах: от минимального – 30 км (популяции, располагающиеся на склонах разных хребтов Северного Урала) до максимального – 508 км между наиболее удаленными популяциями. Для анализа нуклеотидного полиморфизма *L. sibirica* были проанализированы десять пар праймеров к 10 локусам потенциально адаптивно-значимых генов. Для дальнейшего анализа отобраны три локуса. Для проведения реакции секвенирования был использован набор BigDye TerminatorCycleSequencingKit и прямая, а затем обратная последовательности из пары праймеров к соответствующим локусам. Капиллярный электрофорез проведен на генетическом анализаторе Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США) в двух направлениях. Полученные 244 нуклеотидные последовательности трех локусов *L. sibirica* общей длиной 250391 нуклеотид внесены в мировую базу генетических данных GenBank NCBI под номерами: KT364889-KT365131.

В изученных трех локусах *L. sibirica* определены частоты однонуклеотидных замен (SNP). Всего обнаружено 54 SNP-маркера. Наименее изменчивым оказался локус *4CLI-363* (1 SNP на 123 п.н.) В среднем частота SNP в изученных популяциях *L. sibirica* по трем локусам составила 1 SNP на 53 п.н. Как и у других видов растений, наиболее часты замены в интронах и в некодирующих элементах. В экзонах исследуемых трех локусов *L. sibirica* выявлено 19 SNP, из которых несинонимичными были 5 замен. При определении показателей нуклеотидного разнообразия изученных локусов *L. sibirica* установлено, что

общее гаплотипическое разнообразие ( $Hd$ ) изменялось от 0.881 (локус *ABA-WDS*) до 0.916 (локус *sSPcDFD040B03103-274*) и в среднем составило 0.896. Показатель нуклеотидного разнообразия ( $\pi$ ) имел наибольшее значение в локусе *ABA-WDS* ( $\pi=0.010$ ), а наименьшее – в локусе *4CLI-363* ( $\pi=0.002$ ), и в среднем по трем локусам *L. sibirica* составил 0.007. В популяциях значения параметра  $Hd$  варьировали от наибольшего 0.911 в популяции Среднего Урала Свердловской области, до наименьшего 0.636 в популяции, расположенной в центре «безлиственничного языка» западного склона Среднего Урала в Пермском крае.

Изученные популяции *L. sibirica* на Среднем и Северном Урале характеризуются высоким уровнем нуклеотидной изменчивости по сравнению с другими видами хвойных растений. Также они обнаруживают несколько более высокие оценки параметров нуклеотидного разнообразия ( $Hd=0.896$ ;  $\pi=0.007$ ;  $\theta_w = 0.015$ ), чем полученные ранее для *L. sibirica* из различных регионов России ( $Hd=0.822$ ;  $\pi=0.005$ ;  $\theta_w = 0.007$ ) в работе В.Л. Семерикова с соавторами (2013), но в целом полученные данные согласуются с показателями нуклеотидного полиморфизма, характерными для данного вида.

### **Polymorphism analysis of adaptive significant genes in populations of Siberian larch of North and Middle Ural**

Boronnikova S.V., Nechaeva Yu.S., Zhulanov A.A.  
*Perm State University, Perm, Russia*

Researches of regularities of genetic diversity allocation especially actual for species that occupy extensive areas and have economic value. Species of the genus *Larix* Mill. are the most common woody plants of Russia and the world. In Ural genus *Larix* represented by Western race of the Siberian larch *Larix sibirica* Ledeb. Genetic diversity of natural populations of the Siberian larch in the Subpolar Ural and in the Eastern macro-slope of the Ural mountains was researched by V.L. Semerikov with coauthors using isozyme, mitochondrial, chloroplast, AFLP-markers and detecting nucleotide polymorphism of some potentially adaptive significant genes.

The purpose of the research is to determine the nucleotide sequence that was selected for researching of loci of adaptive significant genes and to study their nucleotide polymorphism in the *L. sibirica* populations located in the Ural Mountains. Nucleotide polymorphism researched in ten populations *L. sibirica*: eight populations locate in Perm krai, and two populations locate in Sverdlovsk region. Geographical distances between populations vary within wide limits: from min – 30 km (populations, located in the slopes of the different mountain ranges of the Northern Ural) to max – 508 km between the most remote populations. For analysis of nucleotide polymorphism of *L. sibirica* were analyzed ten pairs of primers to 10 loci of potentially adaptive significant genes. For the further analysis were selected three loci. For sequence analysis was used BigDye TerminatorCycleSequencingKit, straight, and then reverse sequences of the primer pair corresponding to the loci. Capillary electrophoresis conducted on Genetic Analyzer («Applied Biosystems», USA) into two ways. The obtained 244 nucleotide sequences of three loci with total length 250391 nucleotide were included in the global database GenBank NCBI numbered: KT364889-KT365131.

In the studied three loci of *L. sibirica* was determined frequencies of single nucleotide polymorphism (SNP). Generally, 54 SNP-markers was detected. The least variable has been the locus *4CLI-363* (1 SNP to 123 bp). Average, frequency of SNPs in researched populations of *L. sibirica* for the three studied loci was 1 SNPs to 53 bp. Like other plant species, the most frequent replacement in introns and non-coding elements. In exons of studied three loci *L. sibirica* were identified 19 SNPs of which 5 were nonsynonymous. In determining the nucleotide diversity of studied loci found that the total haplotype diversity ( $Hd$ ) varied from 0.881 (locus *ABA-WDS*) to 0.916 (locus *sSPcDFD040B03103-274*) and averaged 0.896. Indicator of nucleotide diversity ( $\pi$ ) had the highest value at a locus *ABA-WDS* ( $\pi = 0.010$ ), and the smallest - in the locus *4CLI-363* ( $\pi = 0.002$ ), and an average of three loci *L. sibirica* was 0.007. The value of the parameter  $Hd$  in



populations varied from largest 0.911 in the population of the Middle Urals Sverdlovsk region, to the lowest 0.636 in the population located in the center of "without-larch tongue" of the western slope of the Middle Urals in Perm krai. The researched populations of *L. sibirica* in the Middle and North Ural characterize by high nucleotide variability in comparison with other types of conifers species. We also have identified a slightly higher estimates of nucleotide diversity parameters ( $Hd = 0.896$ ;  $\pi = 0.007$ ;  $\theta_W = 0.015$ ), than previously obtained for *L. sibirica* from different regions of Russia ( $Hd = 0.822$ ;  $\pi = 0.005$ ;  $\theta_W = 0.007$ ) in the work of V.L. Semerikov with coauthors (2013), but in general, the data were consistent with the nucleotide polymorphism typical for the species.

### **Фено-генотипические характеристики детей с «адаптивной нормой» и детей, умерших в разных возрастных периодах**

Ботвиньев О.К.

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия*

Согласно концепции «адаптивной нормы» (Алтухов, 1990), дети, характеризующиеся средними значениями массо-ростовых признаков при рождении, обладают повышенной неспецифической устойчивостью к заболеваниям и неблагоприятным средовым факторам. В развитие этой концепции, нами на базе лечебных учреждений г. Москвы была проанализирована медицинская документация 2016 детей, умерших за последние несколько лет. Были исследованы возраст детей, диагнозы, включая патологоанатомические данные, массо-ростовые характеристики при рождении, группы крови по системам *ABO* и *Rhesus*. Изучено распределение фенотипических комбинаций этих систем. В качестве контрольной группы исследованы здоровые дети.

Среди умерших больше всего (82%) было новорожденных (51%) и грудных (31%) детей. У новорожденных основными диагнозами были:

1. Врожденные пороки развития, хромосомные и генные болезни.
2. Болезни, характерные для раннего неонатального периода.
3. Инфекционные болезни.

В грудном возрасте первая группа болезней конкурирует с инфекционными болезнями. Меньше всего детей умерло в возрасте от 4 до 7 лет от инфекционных болезней. После 7 лет вероятность летального исхода возрастает и спектр заболеваний другой: исход хронической патологии разных органов и систем, опухоли (преобладают лейкозы).

Распределение умерших детей по массе и длине тела при рождении сдвинуто, по сравнению с контрольной группой, в сторону низких значений ( $p < 0.05$ ). Средние значения, особенно у новорожденных (масса тела 2823 г; длина тела 47.7 см) и грудных (масса тела 2995 г; длина тела 48.4 см), значительно ниже, чем в контрольной группе (масса тела 3458 г; длина тела 51.2 см) ( $p < 0.05$ ), но увеличиваются в более старших группах. Однако, коэффициенты вариации признаков остаются повышенными ( $p < 0.05$ ). Определенные закономерности были выявлены при анализе распределения по классам с учетом двух признаков одновременно. Среди умерших во всех возрастных группах доля детей со средними показателями (адаптивная норма) была значительно ниже (14-25%), по сравнению с контрольной группой (39%) ( $p < 0.05$ ). А доля детей с низкими показателями среди умерших всегда повышена ( $p < 0.05$ ). В то же время детей «крупных», среди умерших до 1 года было меньше, но в более старшем возрасте их доля увеличивается ( $p < 0.05$ ).

Что касается распределения фенотипов детей по системам *ABO* и *Rhesus*, то оно значительно изменено, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0.05$ ). Среди умерших увеличена доля фенотипов *ORh+*, *ORh-*, *BRh+*, *BRh-* и снижена доля фенотипов *ARh+* и *ABRh+*. В группах детей, умерших после года, отклонений от ожидаемого распределения фенотипов не выявлено. Однако, среди всех умерших детей имели место такие же особенности распределения, как и у детей первого года жизни.

Следует отметить, что среди умерших в более старшем возрасте были дети с характеристиками, подобными новорожденным детям. Очевидно, это связано со снижением младенческой смертности. Полученные данные позволяют говорить о том, что дети с отклонениями во внутриутробном развитии значительно отличаются от детей «адаптивной нормы» и они имеют повышенную вероятность различных заболеваний с неблагоприятным исходом в любом возрасте.

### **Pheno-genotypic characteristics of children of "adaptive norm" and children who died in different age periods**

Botvinyev O.K.

*Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*

According to the concept of the "adaptive norm" (Altukhov, 1990), children characterized by average values of anthropometric traits at birth have increased unspecific resistance to diseases and unfavorable environmental factors. In the development of this concept, we analyzed medical records of 2016 children who died in the last few years, based on medical institutions in Moscow. The age of children, diagnoses, including pathoanatomical data, mass-growth characteristics at birth, *ABO* and *Rhesus* blood groups phenotypes were investigated. The distribution of phenotypic combinations of these systems has been studied. As a control group, healthy children were examined. Among the dead, the most (82%) were newborns (51%) and infants (31%). In newborns, the main diagnoses were:

1. Congenital malformations, chromosomal and gene diseases.
2. Diseases characteristic of the early neonatal period.
3. Infectious diseases.

In infancy, the first group of diseases competes with infectious diseases. The fewest children died between the ages of 4 and 7 from infectious diseases. After 7 years, the risk of a lethal outcome increases and the spectrum of other diseases becomes different: the outcome of chronic pathology of various organs and systems, tumors (leukemias predominate).

Distribution of deceased children by weight and body length at birth is shifted, in comparison with the control group, towards low values ( $p < 0.05$ ). Mean values, especially in newborns (body weight 2823 g, body length 47.7 cm) and infants (body weight 2995 g, body length 48.4 cm), are significantly lower than in the control group (body weight 3458 g; body length 51.2 cm) ( $p < 0.05$ ), but increase in the older groups. However, variation coefficients remain elevated ( $p < 0.05$ ). Certain regularities were revealed in the analysis of the distribution by classes, taking into account the two characteristics simultaneously. Among the deceased in all age groups, the proportion of children with average values (adaptive norm) was significantly lower (14-25%), compared with the control group (39%) ( $p < 0.05$ ). And the proportion of children with low values among the dead is always increased ( $p < 0.05$ ). But the proportion of "large" children among the deceased to 1 year was less, but at an older age their share increases ( $p < 0.05$ ).

With regard to the distribution of *ABO* and *Rhesus* phenotypes of children who died, it is significantly altered, compared with the control group ( $p < 0.05$ ). Among the deceased, the proportion of the phenotypes *ORh+*, *ORh-*, *BRh+*, *BRh-* is increased, and the share of the phenotypes *ARh+* and *ABRh+* is decreased. In groups of children who died after a year, there were no discrepancies from the expected phenotypic distribution. However, among all deceased children, the same discrepancies have been revealed as in the children of the first year of life.

It should be noted that among the deceased at an older age were children with characteristics similar to newborn children. Obviously, this is due to a decrease in infant mortality. The findings suggest that children with abnormalities in prenatal development are significantly different from children of the "adaptive norm" and they have an increased risk of various diseases with an unfavorable outcome at any age.

## Ассоциативное исследование подверженности шизофрении в русской популяции Сибирского региона

Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Марусин А.В.<sup>1</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>, Федоренко О.Ю.<sup>2</sup>, Семке А.В.<sup>2</sup>,  
Иванова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия

<sup>2</sup>НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, Томск, Россия

В настоящее время активно обсуждается мнение, что все заболевания, связанные с нарушениями когнитивных функций (шизофрения, болезнь Альцгеймера, биполярное расстройство и др.), являются крайней степенью проявления адаптации. Распространенность и высокая наследуемость шизофрении (ШЗ), вместе с тем фактом, что черты этого заболевания не наблюдаются у других видов млекопитающих, дали начало гипотезе, которая связывает происхождение болезни с появлением в ходе эволюции определенных черт, которые характерны только для человека, таких как развитие языка или непропорционально высокое потребление энергии человеческим мозгом.

Целью нашей работы было проведение ассоциативного исследования 30 генетических маркеров, ассоциированных с ШЗ, в группе больных и здоровых русских из Сибирского региона. Группа больных ШЗ русских представлена 389 пациентами НИИ психического здоровья ТНИМЦ (г. Томск) с диагнозом «Шизофрения» (код F20 по МКБ-10), собранными в трех сибирских городах (Томск, Чита, Кемерово). В контрольную группу вошли 674 не родственника индивида русского происхождения из тех же трех городов, не имеющие в анамнезе психоневрологических заболеваний. С помощью мультиплексного генотипирования методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на платформе Sequenom MassArray 4.0 был проведен анализ ассоциаций в дизайне «случай-контроль» при сравнении больных ШЗ и контрольной группы с использованием сформированной нами мультиплексной панели, состоящей из 30 SNP. По данным полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) эти маркеры показали высокозначимые ассоциации с риском развития шизофрении, болезни Альцгеймера и нарушениями когнитивных способностей.

Распределение генотипов исследованных полиморфных вариантов проверяли на соответствие ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга с помощью точного теста Фишера. При проведении попарного сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность. Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель “отношение шансов” – OR. Отличия считали статистически значимыми для  $p < 0.05$ . Для 5 из 30 SNP при сравнении исследованных выборок выявлена статистически значимая ассоциация с ШЗ: rs11064768 гена *CCDC60*, rs16887244 гена *LSMI*, rs17594526 гена *TCF4*, rs7004633 межгенного региона *LOC105375629/LOC105375631*, rs7561528 гена *LOC105373605*.

Было показано, что маркерами риска развития шизофрении у русских являются: аллель G маркера rs11064768 гена *CCDC60* (OR = 1,79; CI: 1,26-2,53;  $p = 0,001$ ), аллель G локуса rs16887244 гена *LSMI* (OR = 1,31; CI: 1,04-1,64;  $p = 0,02$ ), аллель T локуса rs17594526 гена *TCF4* (OR = 1,65; CI: 1,24-2,21;  $p = 0,0006$ ), аллель A локуса rs7004633 межгенного региона *LOC105375629/LOC105375631* (OR = 1,34; CI: 1,07-1,69;  $p = 0,01$ ), генотип AA локуса rs7561528 гена *LOC105373605* (OR = 1,85; CI: 1,19-2,89;  $p = 0,02$ ).

Продукт гена *CCDC60* – белок с неизвестной пока функцией, но по литературным данным повышенный уровень экспрессии этого гена наблюдается в нервных тканях. Повышенная экспрессия гена *LSMI* может играть определенную роль в клеточной трансформации и прогрессировании некоторых злокачественных опухолей, в том числе рака легких, мезотелиомы и рака молочной железы. Следует отметить, что в литературе описаны ассоциации ШЗ и альтернативных аллелей этих двух SNP (т.е. аллель A локуса rs11064768

гена *CCDC60* и аллель А локуса rs16887244 гена *LSM1*) как у европеоидов, так и у монголоидов.

Ген *TCF4* кодирует белок - транскрипционный фактор 4, в состав которого входит ДНК-связывающий домен типа «спираль-петля-спираль». Это белок регулирует эпигенетические механизмы, в частности ДНК метилирование и ацетилирование гистонов, участвует в управлении ЦНС пластичностью когнитивных функций, включая память, социальные взаимодействия, и аудио связи. Этот белок инициирует дифференцировку нейронов и играет важную роль, прежде всего, в процессе развития нервной системы.

В отношении двух других маркеров (rs7004633 и rs7561528), ассоциацию с которыми мы показали у русских, механизмы их возможного вовлечения в подверженность к болезни менее ясны. По ранее опубликованным GWAS эти два локуса показали ассоциацию с аутичным спектром расстройств, биполярным расстройством, синдромом дефицита внимания и гиперреактивности (для rs7004633) и с болезнью Альцгеймера (для rs7561528) у европеоидов. Наши результаты демонстрируют возможность существования общей генетической составляющей у ШЗ, болезни Альцгеймера и когнитивных способностей.

### **Association study of schizophrenia susceptibility genetic markers in the Russian population of the Siberian region**

Bocharova A.V.<sup>1</sup>, Marusin A.V.<sup>1</sup>, Stepanov V.A.<sup>1</sup>, Fedorenko O.U.<sup>2</sup>, Semke A.V.<sup>2</sup>, Ivanova S.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS, Tomsk, Russia*

<sup>2</sup>*Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center RAS, Tomsk, Russia*

This paper reports the results of replicative analysis of associations of 30 SNPs in the regions of 21 genes and 7 intergenic regions, previously identified in genome-wide association studies (GWAS), with schizophrenia in the Russian population of the Siberian region. Associations of schizophrenia with genetic markers rs11064768 in gene *CCDC60*, rs16887244 in gene *LSM1*, rs17594526 in gene *TCF4*, rs7004633 in intergenic region of *LOC105375629/ LOC105375631*, rs7561528 in gene *LOC105373605* were found. It was established that high risk markers for schizophrenia in Russians were G allele of rs11064768 gene *CCDC60* (OR = 1,79; CI: 1,26-2,53; p = 0,001), G allele of rs16887244 gene *LSM1* (OR = 1,31; CI: 1,04-1,64; p = 0,02), T allele of rs17594526 gene *TCF4* (OR = 1,65; CI: 1,24-2,21; p = 0,0006), A allele of rs7004633 in intergenic region of *LOC105375629/ LOC105375631* (OR = 1,34; CI: 1,07-1,69; p = 0,01) and genotype AA of genetic marker rs7561528 gene *LOC105373605* (OR = 1,85; CI: 1,19-2,89; p = 0,02).

Among the 5 SNPs that were significantly associated with schizophrenia in that study, we found only one SNP, rs7004633, showed significant association with schizophrenia and major psychiatric disorders such as autism spectrum disorder, attention deficit-hyperactivity disorder, bipolar disorder, major depressive disorder. Probably, one of the loci, which reported association with a disease, rs7561528 gene *LOC105373605*, is common for the development of diseases characterized by impaired cognitive abilities such as schizophrenia and Alzheimer's disease. According to our data, polymorphic variants of other genes and intergenic regions didn't show association with developing risk of schizophrenia in the Russian population of the Siberian region.

### **Генетическая структура популяций живородящих актиний**

Бочарова Е.С.

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия*

Забота о потомстве у актиний может проявляться в виде внутреннего (в гастральной полости) или внешнего (на стенке тела) вынашивания молодежи. Ранее авторы отмечали у

актиний вынашивание клонально произведенного потомства наряду с потомством при нормальном половом размножении. Мы исследовали несколько популяций распространенного в северных широтах вида *Aulactinia stella*. В Белом и Баренцевом морях (Северная Атлантика) данный вид широко представлен на литорали, однако, у 174 экземпляров мы обнаружили всего 1 митохондриальный гаплотип (по последовательностям 12S rRNA, 16S rRNA и COIII) и 4 ядерных генотипа (по последовательностям рибосомального кластера). Эти североатлантические популяции состояли только из самок или особей без гонад, размножающихся с помощью амеиотического партеногенеза, а 33% взрослых особей содержали потомство других особей своего вида. В сублиторали Тихого океана вдоль побережья Камчатки нами исследовано 22 взрослых актинии (самки и самцы), при этом только 3 самки содержали молодь. У данных экземпляров было обнаружено 5 митохондриальных гаплотипов, один из которых был идентичен североатлантическому гаплотипу, и 6 новых ядерных генотипов. Среди тихоокеанских 2 особи содержали молодь, которая была результатом полового размножения, а 1 самка вынашивала наряду со своим потомством еще и потомства других особей того же вида. Таким образом, были обнаружены популяции одного и того же вида актиний, который в разных условиях размножаются либо клонированием, либо половым размножением, что влияет на генетическую структуру популяции вида, а своеобразный альтруизм актиний по отношению к потомству других особей является характерной чертой данного вида.

Работа проводится при поддержке гранта РФФИ №16-04-01685.

### **Population genetic structure of viviparous sea anemones**

Bocharova E.S.

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Sea anemones take care of their offspring by internal (in the gastric cavity) or external (on the body wall) brooding. Recently some authors emphasized sea anemone brooding of clonally produced young as well as sexually produced one. Several populations of distributed in northern latitudes species *Aulactinia stella* were studied. In the White and the Barents Seas this species is widely distributed in the intertidal zone, but we found only 1 mitochondrial haplotype (based on the sequences of 12S rRNA, 16S rRNA and COIII) and 4 nuclear genotypes (based on the sequences of ribosomal cluster). These North Atlantic populations consisted of only females and individuals without gonads that reproduced by ameiotic parthenogenesis, and 33% of all adults contained offspring from other individuals of the same species. In the sublittoral zone of the Pacific Ocean along Kamchatka Peninsula we investigated 22 adult sea anemone (males and females), and only 3 females contained young. These individuals were found to have 5 mitochondrial haplotypes, one of which was identical to the North Atlantic haplotype, and 6 new nuclear genotypes. Among the Pacific samples 2 individuals contained young, which was a result of sexual reproduction, and 1 female brooded offsprings of other individuals of the same species as well as its own offspring. Thus, we found populations of the same sea anemone species, which reproduces clonally or sexually under different conditions, that influences on population genetic structure of the species, and a peculiar altruism of the sea anemones towards to the offspring of the other individuals is a trait of this species. The work is supported by RFBR grant №16-04-01685.

### **Вид как система, закономерно изменяющаяся во времени**

Брынцев В.А.

*Мытищинский филиал МГТУ им. Н.Э.Баумана, Мытищи, Московская обл., Россия*

Представление о виде как системе принадлежит Н.И. Вавилову. Он рассмотрел сложную пространственную структуру вида, указав на закономерности изменчивости.

Ключевое место в изучении пространственной структуры вида принадлежит популяционной генетике. Достаточно глубоко ей исследованы и динамические аспекты изменения генетической структуры популяций под действием отбора, мутагенеза, изоляции, «волн жизни». Они рассматриваются как факторы эволюции. В основе популяционной динамики и микроэволюции вида лежит цикл смены поколений.

Предлагается рассмотреть вид как динамическую систему, т.е. систему, имеющую начало и конец во времени. Она закономерно изменяется во времени, проходя фазы: роста и дифференциации, стагнации, деградации, реликта. Данная гипотеза не могла быть построена на базе эмпирических наблюдений за изменением вида. В ее основу легли общие системно-динамические модели и рассмотрение видов, в пределах рода, показавшее их разное возрастное состояние. Ключевым моментом модели является появление нового вида, причиной которого становятся системные мутации, исследованные и описанные В.Н.Стегнием. При таком видообразовании происходит не равная дивергенция двух видов, а дочерний вид отделяется от вида материнского. Если последний сохраняется, то мы имеем два разновозрастных вида. Один из них активно расширяет свой ареал, а другой деградирует и погибает, или превращается в реликт. В основе филогенеза рода лежат видовые циклы.

Представление вида как системы, закономерно изменяющейся во времени, позволяет наметить исследовательскую программу изучения жизненного цикла видов. Возрастное состояние видов и их системные характеристики рассматриваются в сравнении в пределах рода. Первичными критериями определения возраста вида могут стать: протяженность ареала, тенденция к его увеличению или сужению, степень внутривидовой дифференциации, сравнение уровней эндогенной, индивидуальной и межпопуляционной изменчивости. Важной задачей является нахождение генетических, эпигенетических, цитогенетических изменений, происходящих с изменением возраста вида.

Возраст вида важен для филогенетических построений. В практическом плане знание о нем необходимо для выбора мероприятий по охране генофонда (реликтовые виды) и методов борьбы с неконтролируемым расселением (инвазивные виды). При введении в культуру и селекции возраст вида во многом определяет как методы, так и результаты селекционной работы.

### **Species as the system are changing in time naturally**

Bryntsev V.A.

*Mytishchi branch of Bauman Moscow State Technical University,  
Mytishchi, Moscow region, Russia*

The concept of species as the system belongs to N.I. Vavilov. He considered the complex spatial structure of the species, indicating the patterns of variability. A key place in the study of the spatial structure of the species belongs to population genetics. She studied the dynamic aspects of changes in the genetic structure of populations under the influence of selection, deep enough mutagenesis, isolation and "waves of life". They are regarded as factors of evolution. At the heart of the population dynamics of species and microevolution is the cycle of generational change.

It is proposed to consider the species as a dynamic system, in other words, system which is having a beginning and end at time. It changes naturally with time passing phase of growth and differentiation, stagnation, degradation and relic. This hypothesis could not be built on the basis of empirical observations of changes in the species. It is based on general system-dynamic models and consideration of the species within the genus, showing their different age condition. Central to the model is the emergence of a new species, which are caused the systemic mutations, studied and described V.N.Stegniem. This speciation causes not equal divergence of the two species, and the child view is separated from the parent species. If the last is kept we have two species of different ages. One of them is actively expanding its area, and the other will deteriorate and die or turns into a relic. At the heart of phylogeny the genus are cycles of species.

Submission of the species as a system, are changing in time naturally, allows to outline a research program of studying the life cycle of species. The age condition of species and their system characteristics are considered in comparison within the genus. The primary criteria for determining the age of species can be: the size of the area, the tendency to increase it or narrowing it, the degree of intraspecific differentiation, comparing the levels of endogenous, individual and inter-population variability. An important task is to find the genetic, epigenetic, cytogenetic changes which occur with a change of the age of the species.

The age of species is important for phylogenetic analysis. In practical terms the knowledge of it is necessary to select the measures for the protection of the gene pool (relict species) and methods of combating the uncontrolled dispersal of (invasive species). With the introduction to the culture and following selection of the age of species determines by the methods and results of the selection work.

### **Полиморфизм гена *MTHFR* в популяциях человека**

Бутовская П.Р.<sup>1</sup>, Учаева В.С.<sup>1</sup>, Удина И.Г.<sup>1</sup>, Бутовская М.Л.<sup>2</sup>, Лазебный О.Е.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Ген метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*) находится на первой аутосоме и занимает 17 т.п.о., включает 11 экзонов общей протяженностью 2.2. т.п.о (номер доступа в базе данных GenBank – U09806). Продукт гена катализирует реакцию превращения витамина В9 в усваиваемую форму, участвуя в обмене аминокислот гомоцистеина и метионина. Снижение активности фермента приводит к увеличению концентрации гомоцистеина в организме. Мутации, нарушающие функцию метилентетрагидрофолатредуктазы, ассоциируются с риском широкого спектра заболеваний, включая сердечно-сосудистые (тромбозы) и дефекты нервной трубки плода. В данном исследовании проводилось изучение двух однонуклеотидных полиморфизмов гена *MTHFR*, rs1801133 и rs1801131, в двух выборках из Испании (студенты университета в Барселоне, n=740, и пациенты клинической диагностической лаборатории Эчеварне, n=81), и двух российских выборках (ханты и манси из Ханты-Мансийской автономной области, n=172, и городская популяция г. Краснодара, n=103). Полученные данные сравнили с выборками из базы данных «1000 геномов»: африканские популяции (n=661), американские (n=347), европейские (503), восточноазиатские (n=504) и южноазиатские (n=489). Все исследованные выборки находились в состоянии равновесия по Харди-Вайнбергу по обоим локусам. Обнаружено значимое отличие по распределениям частот генотипов студентов университета в Барселоне и пациентов лаборатории Эчеварне, так же, как и между двумя выборками из России. Распределение частот генотипов локуса rs1801133 характеризовалось высокой степенью гетерогенности, тогда как для локуса rs1801133 более характерным было равномерное распределение. Наименьшая частота T-аллеля локуса rs1801133 была обнаружена в африканских популяциях – 9%, наибольшая – в испанских популяциях – 39%. Частоты аллелей исследованных локусов в выборках из испанских популяций оказались ближе к европейским, тогда как в российских выборках они оказались промежуточными между популяциями Южной и Восточной Азии.

## Polymorphism of the MTHFR gene in human populations

Butovskaya P.R.<sup>1</sup>, Uchaeva V.S.<sup>1</sup>, Udina I.G.<sup>1</sup>, Butovskaya M.L.<sup>2</sup>, Lazebny O.E.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Miklukho-Maklai Institute of Ethnology and Anthropology RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

The human gene for MTHFR has been mapped to chromosomal region 1p36.3 and consists of 17kb, which include 11 exons spanning 2.2 kb (cDNA GenBank accession number U09806).

Methylenetetrahydrofolate reductase is important for a chemical reaction involving forms of the vitamin folate, also called vitamin B9, it converts 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methyltetrahydrofolate. This reaction is required for the multistep process that converts the amino acid homocysteine to another amino acid, methionine. If MHTFR activity is decreased that can lead to elevated levels of homocysteine. This enzyme was associated with increased cardiovascular risk, neural tube defects, pregnancy complications and the high level of homocysteine, which makes it very useful in clinical analysis diagnostics. We have studied the variation in two polymorphisms of MTHFR, rs1801133 and rs1801131, in two populations from Spain and two from Russia and compared their allele frequencies with the data from the database "1000 Genomes". All populations including four studied were in accordance with the Hardy–Weinberg equilibrium. We have counted Wright's fixation index, ( $F_{ST}$ ) and Nei's coefficient of difference ( $G_{ST}$ ) to measure the variation among and within studied populations. There was no statistically significant difference in allelic frequencies between Echevarne sample and the student Spanish sample as well as between two samples from Russia. The frequencies of rs1801133 turned to be quite heterogeneous, while of rs1801131 were homogeneous among populations. The lowest frequency of T mutant allele was found in African population 9%, and the highest was in Spain population with European ancestry – 39%. The allelic frequencies of Spanish sample turned to be close to the European from the database 1000 Genomes, and Russia samples frequencies were between South and East Asian population frequencies.

## Разнообразие и распространенность генетических вариантов симбионта *Wolbachia* и мтДНК *Drosophila melanogaster* в природных популяциях Палеарктики

Быков Р.А.<sup>1</sup>, Юдина М.А.<sup>1,2</sup>, Мазунин И.О.<sup>3</sup>, Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup>*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*Балтийский федеральный университет имени И. Канта, Калининград, Россия*

Симбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена в популяциях *Drosophila melanogaster* по всему миру. Частота встречаемости бактерии варьирует от единичных зараженных особей до тотальной инфицированности популяции. Генотипы *Wolbachia* у *D. melanogaster* строго сонаследуются с определенными вариантами мтДНК хозяина, что указывает на коэволюцию компонентов материнской наследственности. Выделяют отдельные клады *Wolbachia* и мтДНК *D. melanogaster*, которые имеют географическую подразделенность. В рамках данной работы проведен анализ популяционных выборок и отдельных линий *D. melanogaster* из разных регионов Палеарктики. Установлен статус инфицированности линий и определены частоты встречаемости и разнообразие генотипов *Wolbachia* в рассматриваемых популяциях *D. melanogaster*. Проведено исследование разнообразия мтДНК *D. melanogaster* в популяциях Палеарктики, в рамках которого, на основании анализа полногеномных последовательностей мтДНК, был выбран участок, размером 343 п.н., позволяющий выделить определенные клады мтДНК. В докладе представлены результаты проведенного анализа, показано генетическое разнообразие



*Wolbachia* и мтДНК *D. melanogaster* в исследованных популяциях Палеарктики, обсуждается вопрос о вкладе отбора, нейтральной эволюции и миграции в геногеографию материнской наследственности *D. melanogaster*.

### **Diversity and distribution of *Wolbachia* genotypes and mtDNA haplotypes in Palearctic populations of *Drosophila melanogaster***

Bykov R.A.<sup>1</sup>, Yudina M.A.<sup>1,2</sup>, Mazunin I.O.<sup>3</sup>, Ilinsky Yu.Yu.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia*

*Wolbachia* endosymbiont is widespread in *Drosophila melanogaster* populations all over the world. Symbiont prevalence varies in populations from low to high percentage. *Wolbachia* genotypes in *D. melanogaster* are strictly coinherited with certain mitotypes of the host that indicates the coevolution of maternal factors. There are several clades of *Wolbachia* and *D. melanogaster* mtDNA, which have geographic pattern. Here we have analysed *D. melanogaster* populations of Palearctic regions in respect of infection status, rate of symbiont prevalence, diversity of *Wolbachia* genotypes and mtDNA variants. To determine the pattern of mtDNA we sequenced 343 bp region that contained several parsimony sites for mtDNA clade discrimination. In the report the results of the study are discussed, in particular we addressed to the role of selection, neutral evolution and migration in establishing geographical pattern of maternally inherited factors.

### **Генетические взаимоотношения мировых популяций по маркерам X-хромосомы**

Вагайцева К.В., Харьков В.Н., Степанов В.А

*НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия*

В данной работе описаны генетические взаимоотношения популяций проживающих на территории России с популяциями из проекта 1000 геномов (1000 Genomes). Многочисленные популяционно-генетические исследования населения России, выполненные с использованием различных систем генетических маркеров, выявили высокую внутри и межпопуляционную генетическую вариабельность, существенные генетические отличия между популяциями, принадлежащими к различным этническим и географическим регионам (Степанов В.А., 2002; Лавряшина М.Б., 2012; Харьков В.Н., 2005, 2012; Балановская Е.В. и др., 2007; Хитринская И.Ю., 2003 и др.). Структура генофонда населения Российской Федерации была исследована с помощью таких маркерных систем как «классический» белковый полиморфизм (Рычков Ю.Г., 1992; Балановская Е.В. и др., 2007 и др.), линий мтДНК (Голубенко М.В., 1998; Деренко М.В. и др., 2010; Батырова А.З., 2004; Грошева А.Н. и др., 2014; Балановский О.П., 2012 и др.), Y-хромосомы (Харьков В.Н. и др., 2007, 2011, 2013, 2014; Харьков В.Н., 2005, 2012; Балановский О.П., 2012; Схаляхо Р.А. и др., 2012; Балаганская О.А. и др., 2011; Лепендина И.Н. и др., 2010; Падюкова А.Д. и др., 2014 и др.), аутосомные Alu-повторы (Хитринская И.Ю., 2003; Хитринская И.Ю. и др., 2001, 2014; Лепендина И.Н. и др., 2013 и др.), и другие отдельные аутосомные локусы (Лавряшина М.Б. и др., 2010, 2011; Песик В.Ю. и др., 2014; Степанов и др., 2011; Zhivotovsky L.A. et al., 2009 и др.), широкогеномные панели аутосомных SNP (Kushniarevich A. et al., 2015; Степанов В.А. и др., 2010). Данные о генетической структуре популяций по X-хромосомным маркерам могут служить дополнительным инструментом для реконструирования путей расселения современного человека и филогеографии его генетического разнообразия, поскольку в отличие от Y-хромосомы и мтДНК, X-хромосома несет информацию о комбинативной

изменчивости и с отцовской, и с материнской стороны, и удобна в изучении за счет гемизиготности мужчин (Schaffner S.F., 2004).

Материал исследования: русские (190 человек), сибирские татары г. Томска (76 человек), ханты (92 человека), хакасы (95 человек), казахи (95 человек), буряты (94 человека), тувинцы (95 человек). Для выполнения работы были выбраны 63 SNP-маркера входящие в состав тест-системы X-SNPid (Степанов В.А., 2015). Генотипирование осуществлялось с помощью мультиплексного генотипирования методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на платформе Sequenom MassArray 4.0. Генетические взаимоотношения популяций выявляли с помощью метода главных компонент (ГК). В качестве переменных использовали данные о частотах аллелей. Анализ частот аллелей SNP маркеров, показал согласованность между генетической кластеризацией популяций и их географической группировкой. В пространстве главных компонент среди изученных популяций можно выделить 4 кластера: популяции Африки и афроамериканцы, европейцы, южная Азия, восточная Азия. Вторая ГК распределила популяции Евразии и Америки по степени содержания восточно-евразийской компоненты в генофонде. В европейский кластер попали русские и популяции входящие в группу EUR «1000 Геномов» (европейцы штата Юта, итальянцы, финны, британцы, иберы). Казахи, ханты и хакасы попали в кластер образованный популяциями южной Азии (SAS: индийцы, пенджабцы, бенгальцы, тамилы). Сибирские татары (Томск) расположились между европейским и южно-азиатским кластерами. Восточно-азиатский кластер образовали популяции группы EAS: китайцы (хань, дайцы), японцы, вьетнамцы (кинх). Между азиатскими кластерами в непосредственной близости друг от друга расположились популяции бурят и тувинцев. В популяциях AMR «1000 Геномов» уменьшение европейской компоненты в генофонде показано по следующему направлению: пуэрториканцы, колумбийцы, мексиканцы, перуанцы.

### **Genetic relationships of world populations by X chromosomal markers**

Vagaitseva K.V., Kharkov V.N., Stepanov V.A.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center RAS,  
Tomsk, Russia*

This paper describes the genetic relationship of populations living in Russia with populations from the 1000 Genomes Project. Data on the genetic structure of populations of the X-chromosomal markers may serve as an additional tool for the reconstruction of the settlement ways of modern man and phylogeography of its genetic diversity. As opposed to the Y-chromosome and mtDNA, the X chromosome carries information about paternal, and maternal combinative variability and useful in the study due men hemizygoty (Schaffner SF, 2004).

To perform the work were selected 63 SNP-markers included in the test-sitem X-SNPid (V.A. Stepanov, 2015). Genotyping was performed using the multiplex genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry by a platform Sequenom MassArray 4.0. The genetic relationship among populations were studied by principal component analysis (PC). Analysis of SNP allele frequencies showed consistency between genetic clustering of populations and their geographical grouping. In the space of principal components can be identified 4 clusters among the studied populations: populations of Africa and African Americans, Europeans, South Asia, East Asia. The second PC distributed populations of Eurasia and America in the degree of the content of the East Eurasian component in the gene pool. The European Cluster hit Russian population and populations from EUR «1000 Genomes» (Utah Europeans, Italians, Finns, British, Iberians). Kazakhs, Khanty and Khakassia were in a cluster populations of South Asia (SAS: Indians, Punjabis, Bengalis, Tamils). Siberian Tatars (Tomsk) is located between the European and South Asian cluster. East Asian cluster formed EAS population groups: Han, Dai, the Japanese. Between Asian clusters in close proximity to each other are the Buryat population and Tuvan. In populations AMR «1000

Genomes» reduction in the European components in the gene pool is shown on the following areas: Puerto Ricans, Colombians, Mexicans, Peruvians.

### **Может ли эволюционно диплоидный геном тетраплоидных видов осетровых сохранить функциональные свойства нормального диплоидного генома?**

Васильев В.П.<sup>1</sup>, Медведев Д.А.<sup>1</sup>, Рачек Е.И.<sup>2</sup>, Амвросов Д.Ю.<sup>2</sup>, Мюге Н.С.<sup>3</sup>,  
Барминцева А.Е.<sup>3</sup>, Васильева Е.Д.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия

<sup>4</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический  
факультет, Зоологический музей, Москва, Россия

Семейство осетровых (Acipenseridae) включает три рода - *Acipenser* (вместе с *Huso*), *Scaphirhynchus* и *Pseudoscaphirhynchus*, которые представлены 25 видами. Начало их эволюции восходит к триасу, т.е. 245-208 млн. лет назад. В течение этого периода они прошли несколько разобщенных во времени актов полиплоидизации, в результате чего возникли три группы видов с разными уровнями пloidности: диплоидные (8 видов) с числами хромосом около 120, тетраплоидные с числами хромосом 250-270 и один гексаплоидный вид с числом хромосом около 372. Однако, согласно ряду косвенных данных, 120-хромосомные виды имеют тетраплоидное происхождение (см. Vasil'ev, 2009). Недавно были получены убедительные данные, согласно которым стерлядь (2n=120) является сегментным тетраплоидом (Romanenko et al., 2016). Таким образом, с учетом тетраплоидного происхождения 120-хромосомных видов, уровни пloidности осетровых повышаются в два раза: тетраплоиды (120 хромосом), октоплоиды (250-270 хромосом) и 12-плоиды (372 хромосомы). В связи с этим было предложено использовать две шкалы уровней пloidности осетровых (Vasil'ev, 2009): современная шкала (2n – 4n – 6n) и эволюционная шкала (4n – 8n – 12n), в соответствии с которой 120-хромосомные виды являются эволюционно тетраплоидными и, соответственно, повышается уровень пloidности. В тоже время ряд многохромосомных (250-270 хромосом) видов имеет независимое полиплоидное происхождение благодаря параллельным актам полиплоидизации.

Проблема, поставленная в заглавии, и её решение связаны с исследованием плодовых самок гибридов, полученных от видов осетровых с различными уровнями пloidности: самка стерляди *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (2n=120) (С) x самец калуги *A. dauricus* Georgi, 1775 (2n≈264-270) (К). Для выяснения причин плодovitости одной из самок СxК мы провели микросателлитный и цитометрический анализ. Полученные данные показали, что геном этой самки возник в результате оплодотворения спонтанно диплоидизированной яйцеклетки стерляди. В результате геном гибрида СxК содержит не сумму гаплоидных наборов стерляди и калуги (190 хромосом), как следовало ожидать, а включает диплоидный геном стерляди и гаплоидный набор калуги (около 260 хромосом). У возвратных гибридов СxК x С число хромосом было около 185, т.е. гибридные самки продуцировали яйцеклетки с числами хромосом порядка 125. В связи с этим можно полагать, что в мейозе 120 хромосом стерляди формируют 60 бивалентов, а 130 хромосом от калуги формируют около 65 бивалентов. Этот характер мейоза подтверждается также анализом микросателлитов. Особи из потомства этой самки, полученного после осеменения икры инактивированной (без оплодотворения) спермой, имели около 125 хромосом. Этот результат крайне интересен тем, что потомство с геномом, включающим гаплоидный набор хромосом стерляди + четверть генома (в данном случае эволюционно гаплоидный набор) калуги, является жизнеспособным. Это еще одно хорошее свидетельство того, что цитогенетическая и молекулярная эволюция осетровых - процесс крайне медленный.

При этом здесь мы имеем интегральную оценку, в отличие от ранее полученных оценок по отдельным молекулярным маркерам. Действительно, тетраплоидные виды осетровых возникли не менее 100 млн. лет назад (если судить по хронологии распада Гондваны), а время дивергенции геномов стерляди и калуги, согласно методу молекулярных часов, составляет около 125 млн. лет (Peng et al., 2007).

### **Can evolutionary diploid genome of tetraploid sturgeon species maintain the functional properties of the normal diploid genome?**

Vasil'ev V.P.<sup>1</sup>, Medvedev D.A.<sup>1</sup>, Rachek E.I.<sup>2</sup>, Amvrosov D.Yu.<sup>2</sup>, Muge N.S.<sup>3</sup>,  
Barmintseva A.E.<sup>3</sup>, Vasil'eva E.D.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Pacific Fisheries Research Center, Vladivostok, Russia*

<sup>3</sup>*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

<sup>4</sup>*M.V. Lomonosov Moscow State University, Biological Department, Zoological Museum, Moscow, Russia*

The family Acipenseridae includes three genera - *Acipenser* (together with *Huso*), *Scaphirhynchus*, and *Pseudoscaphirhynchus*, which are represented by 25 species. The beginning of their evolution goes back to the Triassic, i.e. 245-208 millions years ago. During this period, they have passed through several separated in time acts of polyploidization, which resulted in the origin of three groups of species with different ploidy levels: diploids (8 species) with chromosome numbers about 120, tetraploids with 250-270 chromosomes, and the only hexaploid species with chromosome number about 372. However, according to some indirect data, 120-chromosome species have tetraploid origin (see Vasil'ev, 2009). Recently obtained convincing data prove that sterlet sturgeon ( $2n = 120$ ) is a segmental tetraploid (Romanenko et al., 2016). Thus, considering tetraploid origin for 120-chromosome sturgeon species, the ploidy levels in these fishes should increased twice, namely tetraploids (120 chromosomes), octoploids (250-270 chromosomes), and didekaploids (372 chromosomes). In this connection, it was proposed to use two scales of ploidy levels in sturgeons (Vasil'ev, 2009): a recent scale ( $2n - 4n - 6n$ ) and evolutionary scale ( $4n - 8n - 12n$ ), whereby 120-chromosome species are evolutionary tetraploids, and thus the level of ploidy increases. At the same time, a number of multi-chromosome species (250-270 chromosomes) has an independent polyploid origin due to parallel acts of polyploidization.

The problem posed in the title, and its solution, are associated with the study of fertile hybrid females obtained from sturgeon species with different ploidy levels: female of sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 ( $2n = 120$ ) (S) x male of kaluga sturgeon *A. dauricus* Georgi, 1775 ( $2n \approx 264-270$ ) (K). To determine the causes of fertility of one of SxK females we conducted microsatellite and cytometric analyses. The data show that the genome of this female originated by fertilization of the spontaneously diploidized egg from sterlet. As a result, the genome of SxK hybrid does not contain the amount of haploid sets of sterlet and kaluga (190 chromosomes), as expected, but includes diploid genome from sterlet and haploid set of kaluga (about 260 chromosomes). The back-cross SxK x S hybrids had a chromosome number about 185, i.e. hybrid females produced the eggs with about 125 chromosomes. In this regard, it is believed that in meiosis 120 chromosomes from sterlet form 60 bivalents, and 130 chromosomes from kaluga form about 65 bivalents. This pattern of meiosis is also confirmed by the microsatellite analysis. Individuals from the offspring of this female obtained after insemination of its eggs by inactivated sperm (without fertilization) had about 125 chromosomes. This result is very interesting because the progeny with the genome consisting of haploid chromosome set from sterlet + a quarter of the genome (in this case evolutionary haploid set) from kaluga is viable. This is another good sign that cytogenetic and molecular evolution of sturgeon is a very slow process. Herewith, here we have integral evaluation, unlike the previously obtained estimates for individual molecular markers. Indeed, the tetraploid species of sturgeon appeared at least 100 Mya (judging from the chronology

of Gondwana decay), and the time of the divergence of the genomes of sterlet and kaluga sturgeons, according to the method of molecular clock, is about 125 million years (Peng et al., 2007).

### **Клональное потомство гибридов осетровых рыб как экспериментальное воспроизведение первых этапов сетчатого видообразования**

Васильев В.П.<sup>1</sup>, Медведев Д.А.<sup>1</sup>, Рачек Е.И.<sup>2</sup>, Амвросов Д.Ю.<sup>2</sup>, Васильева Е.Д.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия

<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Зоологический музей, Москва, Россия

В основе сетчатого видообразования у позвоночных животных лежат три взаимосвязанных явления: гибридизация, однополное размножение и полиплоидия. Полный цикл сетчатого видообразования включает несколько этапов: 1) межвидовая гибридизация диплоидных бисексуальных видов и возникновение новых клональных (гиногенетических у рыб) или полуклональных (гибридогенетических) видов; 2) возвратная гибридизация клональных или полуклональных видов с одним из исходных или с третьим диплоидным бисексуальным видом, в результате чего возникают триплоидные клональные виды; 3) гибридизация триплоидных клональных видов с одним из исходных бисексуальных видов и образование тетраплоидных клональных и/или, что более важно, восстановление бисексуальности и возникновение тетраплоидных бисексуальных видов.

Среди рыб найдено достаточно большое число бисексуальных видов, имеющих полиплоидное происхождение. У современных осетровых (Acipenseridae) выявлены три уровня плоидности: виды с числом хромосом около 120 (функциональные диплоиды, эволюционные тетраплоиды), с числом хромосом около 250-270 (функциональные тетраплоиды, эволюционные октоплоиды) и единственный вид *Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818 с числом хромосом около 372 (функциональный гексаплоид, эволюционный дидекаплоид). К настоящему времени общепринято, что полиплоидные виды осетровых имеют аллополиплоидное происхождение, т.е. возникли в результате гибридизации видов с меньшим уровнем плоидности. Действительно, многие виды осетров обладают исключительно высокой способностью к образованию жизнеспособных и более или менее плодовитых гибридов при искусственных скрещиваниях. Однако известно, что нормально фертильные гибриды, способные успешно размножаться, возникают от родительских видов с одинаковым уровнем плоидности, тогда как у гибридов от видов с разным уровнем плоидности стерильны оба пола или стерильны самки. В ряде случаев гибридные самки у рыб могут быть плодовитыми не только при сходных кариотипах родительских видов, но и при существенных их различиях. Плодовитость таких самок обусловлена тем, что они продуцируют нередуцированные яйцеклетки, благодаря премейотической эндоредупликации хромосом, и затем в первом делении мейоза конъюгируют не гомологичные, а возникшие сестринские хромосомы. В результате потомство, таких самок, при условии блокирования истинного оплодотворения, генетически идентично матери, т.е. является клоном.

Экспериментальные скрещивания для получения клонального потомства осетров проводили на Лучегорской НИРС ТИНРО-Центра. Использовали самок ранее полученного гибрида калуги *A. dauricus* Georgi, 1775 ( $2n=250$ ) и стерляди *A. ruthenus* Linnaeus, 1758 ( $2n=120$ ) и интактную и инактивированную сперму стерляди и инактивированную сперму амурского осетра, *A. schrenckii* Brandt, 1869. Кариологический анализ сеголетков возвратных гибридов (калуга х стерлядь) х стерлядь и (стерлядь х калуга) х стерлядь показал, что они являются триплоидами (имеют около 250 хромосом), соответственно самки гибрида продуцируют нередуцированные яйцеклетки (около 190 хромосом). Успешность инактивации спермы в двух других скрещиваниях подтверждена анализом микросателлитов и кариотипов; с помощью микросателлитного анализа показана полная идентичность

гибридной самки и полученного потомства. Таким образом, нам впервые удалось получить клональное потомство осетровых рыб. Искусственное получение клональных линий гибридов и триплоидных гибридов осетровых можно рассматривать как экспериментальное воспроизведение первых этапов сетчатого видообразования.

### **The clonal progeny of sturgeon hybrids as an experimental reproduction of the first stages of the reticular speciation**

Vasil'ev V.P.<sup>1</sup>, Medvedev D.A.<sup>1</sup>, Rachek E.I.<sup>2</sup>, Amvrosov D.Yu.<sup>2</sup>, Vasil'eva E.D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Pacific Fisheries Research Center, Vladivostok, Russia*

<sup>3</sup>*M.V. Lomonosov Moscow State University, Biological Department, Zoological Museum, Moscow, Russia*

Three related events, namely hybridization, unisexual reproduction and polyploidy, underlie reticular speciation in vertebrates. The complete cycle of reticular speciation involves several stages: 1) interspecific hybridization between diploid bisexual species and the origin of new clonal (gynogenetic in fish) or semiclonal (hybridogenetic) species; 2) back-cross hybridization between clonal or semiclonal species and one of its parental or the third diploid bisexual species resulting in the origin of triploid clonal species; 3) hybridization between triploid clonal species and one of parental bisexual species resulting in the origin of tetraploid clonal species or, more important, tetraploid bisexual species by the restoration of bisexuality.

A large enough number of bisexual species from polyploid origin are found among fishes. Three levels of ploidy are revealed in recent sturgeons (Acipenseridae): species with a chromosome number of about 120 (functional diploids, but evolutionary tetraploids); species with about 250-270 chromosomes (functional tetraploids, evolutionary octoploids) and the only species *Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818 with about 372 chromosomes (functional hexaploid, evolutionary didekaploid). By now, it is generally accepted that the polyploid species of sturgeon have allopolyploid origin: they originated by the hybridization of species with lower levels of ploidy. Indeed, many species of sturgeon have extremely high ability to form a viable and more or less fertile hybrids when artificial crossings. However, it is known that normal fertile hybrids (that can successfully reproduce) arise from the parental species with the same ploidy level, whereas among hybrids of species with different ploidy levels both sexes and females are sterile. In some cases, the hybrid females in fishes are fertile not only if their parental species have similar karyotypes, but even these karyotypes are significantly different. The fecundity of these females is caused the fact that they produce unreduced eggs, owing to premeiotic endoreduplication of chromosomes, and then in the first division of meiosis the conjugation occurs between not homologous but newly appeared sister chromosomes. As a result, such females, provided blocking of true fertilization, produce the offspring genetically identical to the mother, i.e. a clone.

The experimental crossbreeding to produce clonal offspring in sturgeons was carried out in Luchegorsk station of Pacific Fisheries Research Center. Females of previously obtained hybrid between kaluga sturgeon *A. dauricus* Georgi, 1775 ( $2n = 250$ ) and sterlet *A. ruthenus* Linnaeus, 1758 ( $2n = 120$ ) were used as well as intact and inactivated sterlet sperm and inactivated sperm of Amur sturgeon, *A. schrenckii* Brandt, 1869. The karyological analysis of back-cross hybrid fingerlings (kaluga sturgeon x sterlet) x sterlet and (sterlet x kaluga) x sterlet showed that they are triploids (have about 250 chromosomes), it means that hybrid females produce unreduced eggs (about 190 chromosomes). The success of the inactivation of the sperm in the other two crossings is confirmed by microsatellite analysis and karyological data; microsatellite analysis shows complete identity of the hybrid female and its progeny. Thus, we succeeded in producing of clonal progeny of sturgeon the first time. Artificial obtaining of clonal lines of hybrids and triploid hybrids of sturgeons can be considered as an experimental reproduction of the first stages of reticular speciation.

## Особенности территориального распределения врожденных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае в связи с экологическими факторами

Васильев Ю.А.<sup>1</sup>, Курбатова О.Л.<sup>2</sup>, Победоносцева Е.Ю.<sup>2</sup>, Грачева А.С.<sup>2</sup>, Учаева В.С.<sup>2</sup>,  
Редько А.Н.<sup>1</sup>, Удина И.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кубанский государственный медицинский университет  
Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Изолированные расщелины губы и/или неба (ВРГ, ВРГН и ВРН) – одни из самых распространенных врожденных пороков развития. Частота встречаемости рассматриваемых мультифакториальных патологий в европейских популяциях составляет в среднем 1:1000, а коэффициент наследуемости варьирует в разных популяциях от 50% до 90%. Среди факторов окружающей среды, вносящих вклад в этиологию этих пороков, установлена роль загрязнения воздуха SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> и O<sub>3</sub>, а также наличия пестицидов и тяжелых металлов не только в среде обитания, но и в организме матери. Показана роль факторов образа жизни, влияющих на формирование ВРГ, ВРГН и ВРН, - таких, как курение, алкоголизм, прием некоторых лекарств или наркотиков, профессиональные вредности, включающие контакт с химикатами. В Краснодарском крае проводится мониторинг ВРГ, ВРГН и ВРН как пороков, входящих в список обязательной регистрации службами медицинской статистики. В Кубанском Государственном Медицинском Университете создана компьютерная база данных о детях с ВРГ, ВРГН и ВРН и их родителях. В нашем исследовании проанализированы данные о детях с ВРГ, ВРГН и ВРН, родившихся за период с 1985 по 2009 гг., представленных в базе. Для расчета частот ВРГ, ВРГН и ВРН в каждой административно-территориальной единице Краснодарского края число родившихся детей с ВРГ, ВРГН и ВРН за конкретный год было отнесено к числу родившихся детей в конкретном году по данным Краснодарстата. Диапазон изменчивости частот ВРГ, ВРГН и ВРН в районах Краснодарского края составил от 1:500 до 1:2000. Для проверки гипотезы о том, что эта изменчивость обусловлена экологическими факторами, проведен анализ территориального распределения частот встречаемости ВРГ, ВРГН и ВРН в отдельных районах Краснодарского края в связи с обобщенными показателями экологического неблагополучия территории, включающими данные о загрязнении сточных вод и почвы, а также о вредных выбросах в атмосферу, которые измеряются с помощью интегрального индекса экологического загрязнения (ИИЭЗ). В результате обнаружена статистически значимая связь между значениями частоты ВРГ, ВРГН и ВРН и величиной ИИЭЗ:  $r = 0,9726$ ,  $p = 0,027$ . На основе полученных результатов изучения взаимосвязи между уровнем загрязнения окружающей среды и частотой ВРГ, ВРГН и ВРН сделан вывод о том, что индекс ИИЭЗ может служить индикатором риска рождения детей с ВРГ, ВРГН и ВРН в Краснодарском крае. Средняя частота ВРГ, ВРГН и ВРН статистически достоверно увеличивается с возрастанием степени экологического неблагополучия территории: уровня загрязнения атмосферного воздуха, сточных вод и почвы. В наиболее загрязненных районах средняя частота ВРГ, ВРГН и ВРН на 20% превышает таковую в наименее загрязненных районах. Полученный результат подтверждает наше предположение о вероятной роли экологической составляющей в значительном разбросе частот ВРГ, ВРГН и ВРН в районах края.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект №16-44-230636 p\_a).

## **Peculiarities of territorial distribution of congenital clefts of lip and/or palate in Krasnodarskii krai in connection with ecological factors**

Vasiliev Yu.A.<sup>1</sup>, Kurbatova O.L.<sup>2</sup>, Pobedonostseva E.Yu.<sup>2</sup>, Gracheva A.S.<sup>2</sup>, Uchaeva V.S.<sup>2</sup>, Redko A.N.<sup>1</sup>, Udina I.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Kubanskii State Medical University of the Health Care Ministry of RF, Krasnodar, Russia*

<sup>2</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Isolated clefts of lip and/or palate (CL, CLP, and CP) are among the most frequent congenital malformations. The incidence of the considered multifactorial pathologies in the European populations is at average 1:1000, the heritability coefficient varying in different populations from 50% to 90%. Among the environmental factors, making contribution to the etiology of CL, CLP and CP, air contamination by SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub>, and, also, the presence of pesticides and heavy metals not only in the habitat, but also in the organism of mother were detected. The role of factors of lifestyle influencing the development of CL, CLP and CP has been shown: smoking, alcoholism, intake of some medicines and drugs, professional harm including contact with chemicals. In the Krasnodarskii krai, monitoring of CL, CLP and CP is included into the list of obligatory registration by the services of medical statistics. In Kubanskii State Medical University, computer data base was developed including data about children with CL, CLP and CP and their parents. In our investigation, data on the children with CL, CLP and CP born during the period from 1985 to 2009 and included into the data base, have been analyzed. For calculation of frequency of CL, CLP and CP in each administrative territorial unit of the Krasnodarskii krai, the number of children born with CL, CLP and CP for definite year was referred to the total number of children born in this year by the data of Krasnodarstat. We suggested that observed variation of frequencies of CL, CLP and CP in different regions, which was from 1:500 to 1:2000, was mediated by ecological factors. Analysis of territorial distribution of frequencies of CL, CLP and CP in different regions of Krasnodarskii krai in connection with generalized characteristics of ecological unsafety of the territory, including data on contamination of waste water and soil and on harmful emissions in the atmosphere, measured by integral index of ecological contamination (IIEC) was fulfilled. As a result, statistically significant correlation between frequencies of CL, CLP and CP and the value of IIEC was detected:  $r = 0,9726$ ,  $p = 0,027$ . Basing on obtained results of the study on interrelation between the level of contamination of the environment and frequency of CL, CLP and CP, we have concluded that index IIEC might serve as indicator of risk of birth of a child with CL, CLP and CP in Krasnodarskii krai. Average frequency of CL, CLP and CP demonstrates statistically significant increase with growth of magnitude of ecological unsafety of the territory: the level of contamination of atmospheric air, waste water and soil. In the most contaminated regions, the average frequency of CL, CLP and CP exceeds the frequency in less contaminated regions by 20%. Obtained result confirms our suggestion about the impact of ecological component to the substantial variation of frequencies of CL, CLP and CP in regions of Krasnodarskii krai.

Investigation was partly sponsored by RFFI (project №16-44-230636 r\_a).

## **Филогения палеарктических видов комплекса *Anopheles maculipennis* (Diptera: Culicidae), выявляемая на основе разных методов**

Ваулин О.В.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Изучение филогенетических отношений в комплексах близких видов малярийных комаров важно как в эпидемиологическом, так и в эволюционном отношениях. Для голарктического комплекса *Anopheles maculipennis* и, в частности, в отношении его палеарктических видов, такие исследования проводились многократно и с помощью



различных подходов (анализ результатов скрещиваний, цитогенетики, изоферментов, кутикулярных углеводов, структура участка ITS2 генов рРНК). Была проведена работа по построению консенсусной схемы филогенеза палеарктических видов комплекса *Anopheles maculipennis*. Данные литературы были дополнены собственными филогенетическими построениями по фрагменту митохондриального гена COI и участков ITS2 и D2 28S генов рРНК. Подтверждено близкое родство в парах цитогенетически близких видов: *An. sacharovi*/*An. martinius*, *An. atroparvus*/*An. labranchiae*, *An. maculipennis*/*An. melanoon* и *An. messeae*/*An. daciae*. Вид *An. beklemishevi*, видимо, является наиболее рано дивергировавшим членом монофилетичной палеарктической части комплекса. Этот вид кластеризовался с палеарктическими видами на дендрограммах, построенных по последовательности гена COI. На дендрограммах, построенных по варибельному участку D2 28S рДНК, этот вид, вместе с неарктическим *An. earlei*, так же был близок к палеарктическим видам. Однако его цитогенетическая структура оказывается малосравнимой с таковой у остальных палеарктических видов комплекса. Филогенетические отношения относительно недавно открытых палеоарктических видов комплекса *An. persiensis* и *An. artemievi* выявлены неоднозначно в связи с малой вовлечённостью этих видов в ранние филогенетические работы. Цитогенетических данных по *An. persiensis* нет, а известная последовательность ITS2 допускает несколько вариантов кластеризации. Вид *An. artemievi* гомосеквентен паре видов *An. maculipennis*/*An. melanoon*, хотя ближе к парам *An. sacharovi*/*An. martinius* и *An. atroparvus*/*An. labranchiae* по последовательности ITS2. Неопределённость с уточнением места видов *An. persiensis* и *An. artemievi* указывает на необходимость дальнейших исследований филогении рассматриваемой группы видов.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований СО РАН «Интеграция и развитие» 1.29.

### **Phylogeny of Palearctic species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae), revealed by different methods**

Vaulin O.V.

*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

A study of phylogenetic structure of complexes of close related species of malaria mosquito is a task for epidemiology and evolution theory. These kinds of study were performed many times for Holarctic *Anopheles maculipennis* complex and it's Palearctic part. These studies based on the results of different methods (analyses of hybridizations results, cytogenetics, isozymes studies, cuticular hydrocarbons and ITS2 region of rRNA genes structure). This work to construct a consensus phylogeny scheme of this group was performed. The published data were supplemented by our phylogenetic schemes based on DNA sequences of fragment of mitochondrial gene COI, and ITS2 and D2 28S regions of rRNA genes. A close relation within pairs of cytogenetic close species was suggested (*An. sacharovi*/*An. martinius*, *An. atroparvus*/*An. labranchiae*, *An. maculipennis*/*An. melanoon* and *An. messeae*/*An. daciae*). *An. beklemishevi* is apparently the earliest diverged species of the monophyletic Palearctic part of the Complex. This species clustered with other Palearctic species on dendrograms, which were constructed by COI sequences. *An. beklemishevi* and Nearctic *An. earlei* were close to Palearctic species by dendrograms based on D2 variable region of 28S rDNA. However, structure of *An. beklemishevi* chromosomes is highly different from this structure for other Palearctic species. Phylogenetic relations of *An. persiensis* and *An. artemievi* relatively recent discovered Palearctic species of the Complex are under questions. It is explained by their low involvement in earlier phylogenetic studies. There is not any cytogenetical data for *An. persiensis* and described ITS2 sequence of this species allow us predict some variants of clusterization. *An. artemievi* is homosequential to species pair *An. maculipennis*/*An. melanoon* but it is closer to species pairs of *An. sacharovi*/*An. martinius* and

*An. atroparvus*/*An. labranchiae* by ITS2 sequences. An ambiguity of place of *An. persiensis* and *An. artemievi* indicates a necessity of development of study of phylogeny of this group members.

The study was supported by SB RAS Fundamental Study Program «Integration and development» 1.29.

### **Фенотипическая и генотипическая структура популяций сосны кедровой сибирской на северном пределе распространения**

Велисевич С.Н., Петрова Е.А.

*Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия*

Важнейшим вопросом популяционной биологии древесных растений является исследование закономерностей распределения биологического разнообразия внутри ареала вида, факторов лимитирующих распространение особей за его пределы и адаптивных процессов в приграничных популяциях. В северных регионах изучение структуры популяций актуально также для прогнозирования динамики границы ареалов, обусловленных температурными ограничениями, что особенно важно в условиях современных климатических тенденций. Большой интерес в этом отношении представляет сосна кедровая сибирская - важный лесообразующий вид с обширным ареалом и специфической репродуктивной стратегией. Фенотипическое и генотипическое разнообразие этого вида анализировалась в лесотундровом экотоне (65°48'-65°59' с.ш., правобережье Нижней Оби) в зоне перехода от относительно «полноценных» популяций к малочисленным группам и одиночным деревьям. Почва экотона - обедненный подзол глееватый с близким залеганием вечной мерзлоты. Корневые системы деревьев поверхностные, толстая моховая подстилка ограничивает развитие подроста и отрицательно влияет на возобновление. Деревья сосны кедровой (одиночные или группы) приурочены к защищенным от ветра пониженным элементам микрорельефа – блюдцевидным заболоченным мерзлотным проталинам, либо к южным склонам водораздельных рек.

Южная точка экологического профиля - елово-кедрово-лиственничное редколесье, представляет собой фрагмент самой северной популяции с относительно высокой численностью (200 шт./га) взрослых генеративных деревьев (120-240 лет). Наличие многочисленного (3 тыс. шт./га) подроста свидетельствует об устойчивости данной популяции. В средней части профиля - в елово-лиственничном редколесье генеративные деревья единичны (3 шт./га), однако количество подроста по-прежнему велико (1.2 тыс. шт./га). В самой северной части профиля плодоносящие деревья встречаются редко (1-2 шт./га), уменьшается количество подроста (0.2 тыс. шт./га), однако численное преобладание молодых экземпляров на границе ареала свидетельствует о потенциальных возможностях вида продвигаться дальше по градиенту лимитирующего фактора.

Из-за узкой адаптации к условиям существования в микронизах и однообразия экологических условий различия между исследованными группами деревьев по вегетативной и генеративной структуре крон деревьев были незначительными. Наблюдалась выраженная периодичность плодоношения. Характер погодичной динамики заложения женских и мужских стробиллов во многом определялся температурой воздуха в ночное время. Полноценные семена формировались раз в 10-12 лет, однако в последние годы наметилась тенденция к более частым урожайным годам. Выявленная периодичность плодоношения обусловила волнообразный характер возобновления сосны кедровой сибирской.

Генотипы 54 модельных деревьев были определены по 25 аллозимным локусам. Доля полиморфных локусов составила 44%, среднее число аллелей на локус 1.52. Деревья, произрастающие в южной точке профиля, были гетерозиготны в среднем по 13.1% локусов, произрастающие в средней части профиля – по 12.3% локусов. Генетическое разнообразие ( $H_E$ ) снижалось по направлению от относительно «полноценной» популяции (0.138) к малочисленным группам вблизи границы распространения (0.123).

Семена сосны кедровой сибирской из самой южной точки экологического профиля 58 лет назад были перенесены на 100 км к северу (66°39' с.ш.), за линию полярного круга и выращены в качестве лесных культур. На данный момент эти деревья вступили в плодоношение, имеют хорошо развитые кроны и довольно крупные приросты ствола. Рентгенографический анализ показал удовлетворительное качество их семян, что свидетельствует о высоком потенциале для дальнейшего воспроизводства. Этот уникальный опыт показал, что климат за пределами ареала не является ограничением не только для роста, но и для репродукции. Современная линия северной границы ареала обусловлена неспособностью кедровки – основного распространителя семян сосны кедровой сибирской, перемещать семена на большие расстояния.

### **Phenotypic and genotypic structure of Siberian stone pine populations at the northern area limit**

Velisevich S.N., Petrova E.A.

*Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS, Tomsk, Russia*

The important subject of woody plant population biology is the study of the distributional pattern of the biological diversity within species area, factors limiting the distribution of individuals beyond area limits, and adaptive processes in marginal populations. In the northern regions, the study of the population structure is also significant for predicting the dynamics of the area limits due to temperature limitation which is especially important in the context of current climate trends. Siberian stone pine in this respect is of great interest as an important forest-forming species with a wide range and specific reproductive strategy. Phenotypic and genotypic diversity of this species was analyzed in the forest-tundra ecotone (65°48'-65°59' N, the Lower Ob) in the transition zone from relatively "sustainable" populations to small tree groups and single trees. Podzolic-gley soils of the ecotone are characterized by a close underlying of permafrost. The tree roots are surface, the thick moss layer limits the seedlings development and obstruct reforestation. Siberian Stone pine trees (single or group) are located in wind protected low fragments of the microrelief such as unfrozen swampy depressions or the southern slopes of the watershed rivers.

The southern point of the ecological profile represented by spruce-cedar-larch tundra woodlands and is a fragment of the northernmost population with a relatively high number (200 pcs./ha) of adult generative trees (120-240 years). The presence of a large (3 th. pcs./ha) viable seedlings testifies to the stability of this population. In the middle part of the profile represented by spruce-larch tundra woodlands, adult generative trees are rare (3 pcs./ha), however, the number of viable seedlings is still high (1.2 th. pcs./ha). In the northernmost part of the profile generative trees are rare (1-2 pcs./ha), the number of seedlings decreases (0.2 th. pcs./ha), but the numerical predominance of young trees at the area limit indicates the potential of the species to move forward along the gradient of the limiting factor.

The considerable adaptation to the microhabitat conditions and the uniformity of environment led to insignificant differences between the studied groups in the vegetative and generative structure of tree crowns. There was a pronounced periodicity of seed cone formation. The year-to-year dynamics of the female and male cone initiation was determined by the air temperature at night. The viable seeds were formed once in 10-12 years, but in recent years there has been a trend towards more frequent harvest years. The pronounced periodicity of harvest years caused the wave-like pattern of the Siberian Stone pine reforestation.

Genotypes of 54 studied trees were determined from 25 allozyme loci. The part of polymorphic loci was 44%, the average number of alleles per locus was 1.52. The trees growing at the southern point of the profile have on the average 13.1% heterozygous loci, growing in the middle part of the profile - 12.3%. Genetic diversity ( $H_E$ ) declined in direction from a relatively "sustainable" population (0.138) to small groups in the middle part of the profile (0.123).

Seeds of Siberian Stone pine from the southern point of the ecological profile 58 years ago were moved to 100 km to the north (66°39' N), farther line of the Arctic Circle and grown as forest plantation. At the moment, these trees have well-developed crowns, quite large stem growths and they began cone formation. X-ray analysis showed a good quality of their seeds, which indicates a high potential for further reproduction. This unique experiment has shown that the climate outside the area limit is not a limitation not only for the growth, but also for reproduction. The current line of the northern area limit is located owing to inability of the nutcracker, the main distributor of Siberian stone pine seeds, to move the seeds for a long distance.

### **Карельская береза: особенности популяционно-генетической структуры**

Ветчинникова Л.В.<sup>1</sup>, Титов А.Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

Представители рода *Betula* L. занимают значительные площади во всех природных зонах северного полушария с умеренным климатом – от тундры до субтропиков. В их ряду особое место занимает карельская береза *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, обладающая высокоценной узорчатой текстурой древесины с особыми физико-механическими свойствами. Ее появление исключительно на территории стран Балтийского региона, по всей вероятности, явилось результатом особого направления в эволюции берез (Ветчинникова, Титов, 2016).

Цель наших исследований заключалась в изучении структуры популяций карельской березы в местах ее естественного произрастания, прежде всего находящихся на территории Северной Европы, в частности в России (Республика Карелия), Финляндии, Швеции, Дании. Полученные в ходе этих исследований результаты позволили выявить ряд важных особенностей в структуре природных популяций карельской березы. С одной стороны, карельская береза отличается достаточно широкой нормой реакции, относительно высокой пластичностью и способностью адаптироваться к разным условиям произрастания. Об этом, в частности, свидетельствуют наличие полиморфизма жизненных форм (от древовидной до кустарниковой), способность произрастать в условиях малопригодных для жизни других древесных растений, изменения в структуре древесины, связанные с депонированием метаболитов в определенных клетках и тканях и т. д.. С другой стороны, в последние десятилетия наблюдается явное сокращение численности карельской березы и занимаемой ею площади, а также снижение жизнеспособности популяций в целом, о чем говорит отсутствие естественного возобновления на всем протяжении ее ареала. По возрастной структуре популяции карельской березы характеризуются преобладанием спелых или даже перестойных деревьев, т. е. растений, находящихся в постгенеративной (сенильной) стадии развития.

В соответствии с характерным для нее типом размножения карельская береза относится к анемофильным перекрестноопыляемым растениям, что теоретически должно было бы обеспечить высокий уровень ее генетического полиморфизма (Алтухов, 2003). Однако изучение генетической структуры популяций карельской березы не вполне подтверждает это. Проведенный нами микросателлитный анализ ДНК выявил сравнительно высокий уровень генетического разнообразия в ее популяциях ( $H_E=0.78$ ), но, в то же время, зафиксировал значительную межпопуляционную дифференциацию ( $F_{ST}=0.14$ ), которая, по всей вероятности, обусловлена пространственной изолированностью популяций и усилением в них инбридинга (Ветчинникова и др., 2012).

Из анализа имеющихся данных следует, что основной причиной наблюдаемых изменений в структуре популяций карельской березы, особенно находящихся на территории России, является многолетняя выборочная рубка наиболее ценных деревьев (Ветчинникова и др., 2013). Следовательно, несмотря на то, что карельская береза обладает достаточно высоким адаптивным потенциалом, продолжающееся в настоящее время сокращение ее

численности и наличие близкородственных скрещиваний создают реальную опасность не только существенного снижения ее генетического разнообразия, но и деградации генофонда этого уникального биологического объекта.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Министерства образования и науки РФ (№ 0220-2014-0009, № 0021-2014-0032), а также при частичной финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН (проект № 0220-2015-0014).

### **Karelian birch: features of the population genetic structure**

Vetchinnikova L.V.<sup>1</sup>, Titov A.F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Forest Research Institute, Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biology, Karelian Research Centre RAS, Petrozavodsk, Russia

Representatives of the genus *Betula* L. occupy vast territories in all natural zones of the Northern Hemisphere with temperate climates – from tundra to subtropics. A peculiar member of this genus is Karelian (curly) birch *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, which possesses highly valuable figured grain with unique physico-mechanical properties. The fact that it appeared only in the Baltic region is probably a result of a distinct line of evolution in birch (Vetchinnikova and Titov, 2016).

The aim of our study was to investigate the structure of Karelian birch populations in its natural range, primarily in Northern Europe, viz. Russia (Republic of Karelia), Finland, Sweden, Denmark. The results of these studies helped reveal some important features in the structure of Karelian birch natural populations. On the one hand, Karelian birch boasts quite a wide range of normal response, relatively high plasticity, and ability to adapt to a variety of habitat conditions. This is evidenced, for instance, by polymorphism of its life forms (from tree-like to shrub-like), ability to grow under conditions poorly suited for the survival of other woody plants, modifications in the structure of wood associated with the storage of metabolites in certain cells and tissues, etc. On the other hand, Karelian birch populations and territories occupied by the birch have been notably declining in the past decades, just like the overall viability of the populations, as indicated by the absence of natural recruitment throughout its range. The prevalent classes in the populations' age structure are mature or even over-mature trees, i.e. plants at the post-reproductive (senile) developmental stage.

According to the reproductive type, Karelian birch is a cross-pollinated anemophilous plant – a characteristic that should have, theoretically, ensured a high level of its genetic polymorphism (Altukhov, 2003). Studies of the genetic structure of Karelian birch populations do not however fully affirm this inference. DNA microsatellite analysis we have conducted did show a relatively high level of genetic diversity in the populations ( $H_E=0.78$ ), while at the same time detected considerable between-population differentiation ( $F_{ST}=0.14$ ), most probably generated by spatial isolation of the populations and growing inbreeding within them (Vetchinnikova et al., 2012). It follows from the analysis of the available data that the key reason for the modifications observed in the structure of Karelian birch populations, especially those in Russia, is years of selective cutting of the most valuable trees (Vetchinnikova et al., 2013). Hence, even though the adaptive potential of Karelian birch is quite high, the continuing decline in abundance and crossings between closely related individuals are fraught not only with the risk of a considerable loss of its genetic diversity, but also of degeneration of the gene pool of this unique biological object.

The studies were financed by allocations from the federal budget for implementation of state order from the Russian Ministry of Education and Science (№ 0220-2014-0009, № 0021-2014-0032), as well as partially funded by the Basic Research Programme of the RAS Presidium (project № 0220-2015-0014).

## «Малая родина» Ю.П. Алтухова

Воронецкий В.И.

*МГУ им М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия*

Известно, что Ю.П. Алтухов был уроженцем села Елань-Колено Воронежской области. Участвуя в экспедициях почвенного факультета МГУ (т.н. «зональные практики»), автор сообщения посетил «малую родину» Юрия Петровича, установил контакт с работниками школы, в которой он учился, составил представление об особенностях этого поселения и окружающей его местности. Из фондов школьного музея с любезной помощью его куратора – Людмилы Мещеряковой – мы получили ряд сведений, уточняющих ранние этапы биографии Ю.П. Алтухова. Так, в 1-й класс он поступил в сентябре 1944 г., хотя по правилам той поры должен был начать учёбу годом ранее. Задержка с началом учёбы вполне понятна, т.к. все лето 1943 г. менее чем в 100 км от села происходили напряжённые сражения Курской битвы, в которой Воронежский фронт играл не последнюю роль. Такая близость к фронту могла вызвать эвакуацию части местных жителей (особенно с детьми) в глубинные районы страны. Журналы с текущими оценками того времени, конечно, не сохранились. Но в школьном архиве был обнаружен рукописный журнал приказов, где приведен список выпускников 10 класса «А» Елань-Коленовской средней школы №1. Приказ №62 от 19.06.1954 гласит, что из школы выпускается 20 учащихся, среди которых первым по алфавиту приведена фамилия Ю.П. Алтухова. Характерно, что в те непростые времена требовательность к учащимся была довольно высокой – примерно треть от названного списка учеников была оставлена на повторное обучение («на второй год»). В наше распоряжение поступила и фотография длинного приземистого одноэтажного строения, где в середине прошлого века обучалась местная детвора (здание не сохранилось, современная школа работает в новом здании). По нашим представлениям детство и юность, проведённые в этих краях, как и непростая история семьи Алтуховых, могли сыграть существенную роль в формировании характера и научных интересов будущего учёного.

Современное село насчитывает около 4,5 тыс. жителей. Оно возникло на одном из притоков р. Хопёр в конце XVII – начале XVIII веков в 30 км от того места, где царь Пётр построил десятки судов для обеспечения военных действий на берегах Азовского моря. На месте кораблестроительных верфей впоследствии возник г. Новохопёрск. Деревня, а позднее село Елань-Колено (изначально – Коленовская Елань) получили название по особенностям местности. Речка Елань образует здесь ряд заметных петель – такую особенность в русском языке нередко называют «коленом», а «алань» или «ялант» с тюркского означает «луг или пастбище». Благодаря наличию рек и многочисленных прудов, природа этого района богата и разнообразна – неслучайно вблизи находится известный Хопёрский заповедник.

В предреволюционные годы село насчитывало до тысячи дворов, населённых почти 7 тыс. душ, относивших себя в большинстве своём к великороссам (потомки государственных крестьян из Ельца и Ефремова). В конце XIX в. возле села прошла железная дорога Харьков-Балашов. До революции имелись 2 церкви, 9 общественных зданий, многочисленные мелкие предприятия (два маслобойных, кирпичный завод, 6 кузниц), более 20 ветряных мельниц, земская и церковно-приходская школы, земская больница. Село энергично развивалось, в нём кипела активная общественная жизнь. В 1928-1963 гг. оно служило центром Елань-Коленовского района и славилось колхозными достижениями в скотоводстве, хлебопашестве и артельном ковроткачестве. Достигнув максимума в 1926 г. (8300 чел.), численность населения стала неуклонно снижаться до современной, что соответствует уровню середины XIX в. В 1930-е годы здесь были созданы два колхоза и ковроткацкое предприятие, но разрушена старинная белокаменная церковь. В послевоенный период возведён ряд каменных строений – две общеобразовательные школы, интернат и детские сады. Из уроженцев села вышел ряд известных людей, материалы о которых хранятся в музее школы №1 – преемнице старой земской школы. Общий вид Елань-Колена производит впечатление поселения с

невысоким материальным достатком. Может поэтому, как и во времена детства Юрия Петровича, на берегах Елани терпеливо сидят рыболовы. В трудные годы рыбалка на реке служила существенным подспорьем в выживании местного населения. Кто знает, не выйдет ли из стайки нынешней елань-коленовской ребятни ещё один известный ихтиолог-генетик?

### **The Homeland of Yu.P. Altukhov**

Voronetsky V.I.

*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia*

It is known that Yu.P. Altukhov was a native of the village of Elan-Koleno in the Voronezh region. Participating in the expeditions of the Soil department of the Moscow State University (so-called "zone practices"), the author visited the "small homeland" of Yuri Petrovich, established contact with the employees of the school, in which he studied, made an idea of the peculiarities of this settlement and its surrounding terrain. From the funds of the school museum with the kind help of its curator – Lyudmila Meshcheryakova – we received a number of information specifying the biography of Yu.P. Altukhov. So, in the first class he entered in September 1944, although by the rules of that time he had to start studying a year earlier. The delay with the beginning of studies is quite understandable, because during the summer of 1943, less than 100 kilometers from his village, there were intense battles of the Battle of Kursk, in which the Voronezh Front played an important role. Such proximity to the front could cause the evacuation of some of the local residents (especially children) to the interior of the country. School documentation with current grades of that time, of course, has not survived. But in the school archives a handwritten order journal was found, where the list of graduates of the 10th grade "A" of Elan-Kolenovskaya secondary school No. 1 is listed. By Order No. 62 of 19.06.1954 it is established that 20 students are being graduated from the school, among which the first by the alphabet is the surname Altukhov Yu.P. It is characteristic that in those difficult times, the demands on students were quite strict – about a third of students of the list were left for re-training ("for the second year"). At our disposal was a photograph of a long, squat one-story building, where in the middle of the last century, local children were trained (the building is not preserved, the modern school works in a new building). According to our ideas, the childhood and youth spent in these parts, as well as the difficult history of the Altukhov family, could play a significant role in shaping the character and scientific interests of the future scientist.

The modern village has about 4,500 inhabitants. It arose on one of the tributaries of the river Khopyor in the late 17th and early 18th centuries, 30 km from the place where Tsar Peter built dozens of ships to provide military operations on the shores of the Azov Sea. At the site of the shipbuilding yards, Novohopyorsk later emerged. The village of Elan-Koleno (originally – Kolenovskaya Elan) were named after the peculiarities of this area. The river Elan forms a number of notable loops here, a feature in Russian is often called a "koleno" ("knee"), and "alan" or "yalant" from Turkic means "meadow or pasture". Thanks to the presence of rivers and numerous ponds, the nature of this area is rich and diverse – it is no coincidence that the famous Khopyor Reserve is located nearby. In the pre-revolutionary years, the village counted up to a thousand households, populated almost 7 thousand souls, who in the majority belonged to the Great Russians (descendants of state peasants from Yelets and Efremov). In the late 19th century the Kharkov-Balashov railway passed near the village. Before the revolution, there were 2 churches, 9 public buildings, numerous small enterprises (two oil mills, brick factories, 6 smithies), more than 20 windmills, zemstvo and parochial schools, a zemstvo hospital. The village was vigorously developing, active public life was boiling in it. In the years 1928-1963 it served as the center of the Elan-Kolenovsky district and was famous for collective-farm achievements in cattle breeding, crop cultivation and art carpet making. Having reached a maximum in 1926 (8,300 people), the population began to decline steadily to the present day, current population number corresponds to the level of the mid-19th century. In the 1930s two collective farms and a carpet-weaving enterprise were created here, but an old white-stone church was destroyed. In the postwar period, a number of

stone buildings were erected – two general schools, a boarding school and kindergartens. A number of famous people are the natives of the village, materials about which are kept in the museum of school No. 1 – the successor of the old Zemstvo school. The general view of Elan-Kolen gives the impression of a settlement with a low material income. Maybe therefore, as in Yuri Petrovich's childhood, anglers are sitting patiently on the banks of Elan. In difficult years, fishing on the river served as a significant help in the survival of the local population. Who knows, will not another well-known ichthyologist-geneticist appear from the flock of the current Elan-Koleno children?

### **Таксономическая идентификация и филогенетические связи кишечных трематод рода *Nanophyetus***

Воронова А.Н., Челомина Г.Н.  
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, Россия

Нанофьетоз — одно из паразитарных заболеваний, вызываемое трематодами из рода *Nanophyetus*, попадающих в организм окончательного хозяина хищного млекопитающего (волк, собака, барсук, норка, росомаха) или человека с рыбой. Излюбленным местом локализации метацеркарий нанофьетусов являются мышцы плавников и почки рыб, чаще лососевых пород, таких как ленок, таймень, кета, горбуша, а также некоторые представители карповых, например голянь, при этом заражённость рыб изменяется от 6,6% до 100%. Нанофьетоз характеризуется явлениями энтерита, общим истощением организма. Нанофьетусы оказывают токсико-аллергическое и механическое воздействие на кишечник, провоцируя воспалительные процессы его слизистой оболочки, однако заметные симптомы у человека появляются лишь при заражении по меньшей мере 500 паразитами. Известно три вида нанофьетусов с разной приуроченностью к географическим локалитетам: *Nanophyetus schikhobalowi* (Skrjabin и Podiapolskaia, 1931) - очаги этого гельминтоза расположены в бассейнах Амура, рек Хоры и Уссури, *N. japonensis* (Saito et al., 1982), описанный для Японских островов, и распространённый в США гельминт *N. salmincola* (Chapin, 1926).

Идентификация видов является важным условием для успешной борьбы с паразитической инфекцией, зачастую морфологические данные оказываются не достаточно эффективными для решения проблем систематики. В данном исследовании генетическая изменчивость червей была описана с привлечением молекулярных маркеров двух видов: генов рибосомного кластера, включая internal transcribed spacer, ITS (ITS1+5.8S+ITS2) и первой субъединицы НАДФ митохондриальной ДНК (НАДФ1, NADP1, nad1). В общей сложности было проанализировано 36 особей *N. schikhobalowi*, 16 особей *N. japonensis* и 95 последовательностей *N. salmincola* было взято из Генбанка. Получены полноразмерные последовательности исследуемых генов: 1893 п.н. и 3884 п.н. для 18S и 28S рРНК соответственно, ~1200 п.н. для участка ITS1-5.8S-ITS2 и 622 п.н. для гена *nad1*.

На основании вычисленных генетических дистанций ( $d=0,1\%$  для 18S;  $d=0,5\%$  для 28S;  $d=14\%$  для ITS1-5.8S-ITS2;  $d=$  от 14,2 до 16,7% для *nad1*) было показано, что представители американской и русской популяций дивергировали на уровне вида, а *N. japonensis* вероятно подвид русской формы *N. schikhobalowi* - *N. schikhobalowi japonensis*. Так по данным маркера ITS+5.8S генетические дистанции между сравниваемыми популяциями из Японии и России и Японии и Америки составили 3% и 13%. Средние генетические дистанции между популяциями из Японии и России и Японии и Америки по данным *nad1* были  $d = 13\%$  и  $d = 22\%$ , соответственно. Результирующие деревья получены с чётким разрешением и продемонстрировали кластеризацию *N. japonensis*, в качестве отдельной субклады внутри клады *N. schikhobalowi*, в то время как *N. salmincola* и *N. schikhobalowi* всегда образовывали отдельные монофилетические линии.

Стоит отметить, что подобные исследования приобретают особенно большое значение во время глобального изменения климата, когда происходит смена флоры и фауны с интродукцией в сложившиеся экосистемы видов - пришельцев, чужеродных организмов,



для подтверждения и проверки гипотез о характере эволюции нанофийетусов, их исторической диверсификации, и паразит-хозяинных взаимоотношений.

### **Taxonomic identification and phylogenetic relationships of intestinal trematodes from genus *Nanophyetus***

Voronova A.N., Chelomina G.N.

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS, Vladivostok, Russia*

Human nanophyetiasis is a zoonotic disease caused by intestinal digenetic trematodes from genus *Nanophyetus*. Definitive hosts – almost piscivorous carnivores (wolf, dog, badger, mink, wolverine), the second intermediate hosts are usually salmons (lenok, chum, pink salmon) and rarely Cyprinidae (minnows). Favorite places of the metacercariae localization are fin muscles and kidney of fish, where the infestation level varies from 6.6% to 100%. Nanophyetiasis causes mucosal thickening in the duodenum and jejunum, accompanying by marked enteritis. Flukes provoke a toxic, allergic and mechanical effects on the intestine, causing inflammation of its mucous membrane, however, noticeable symptoms appear in humans only when infected by at least 500 parasites. The genus includes 3 nominal species, which distribution is restricted by geographic localities; *Nanophyetus schikhobalowi* (Skrjabin и Podiapolskaia, 1931) - foci of this helminthiasis are located in the basins of the rivers Amur and Ussuri and Khor River, *N. japonensis* (Saito et al., 1982), described for Japan, and *N. salmincola* (Chapin, 1926) is common in North America.

Identification of species is very important for successful control of parasitic infections, but morphology without the accompanying molecular data does not seem to resolve clearly the problem of the relationships of nanophyetus and lead to underestimation of species diversity. In this study, the genetic diversity of flukes has been described using two types of molecular markers: ribosomal genes, including internal transcribed spacer, ITS (ITS1 + 5.8S + ITS2) and mitochondrial gene- the first subunit of NADPH (*nad1*). All in all, 36 specimens of *N. schikhobalowi*, 16 specimens of *N. japonensis* and 95 sequences of *N. salmincola*, taken from GenBank were analyzed. The size of the obtained complete sequences of 18S and 28S rRNA genes was 1893 bp and 3884 bp, respectively, ~ 1200 bp for the ITS1-5.8S-ITS2 region and 622 bp for *nad1* gene.

On the bases of the estimated genetic distances ( $d=0.1\%$  for 18S;  $d=0.5\%$  for 28S;  $d=14\%$  for ITS1-5.8S-ITS2;  $d$  vary from 14.2 to 16.7% for *nad1*) was shown, that the flukes from the Russian population and from the American population diverged at the species level, and *N. japonensis* may probably be the subspecies of the Russian form *N. schikhobalowi* - *N. schikhobalowi japonensis*. Thus, pair-wise genetic distances obtained from the analyses of ITS+5.8S sequences between the Japan & Russian and the Japan & American populations were  $d=3\%$  and  $d=13\%$ , respectively. The average pair-wise genetic distances based on *nad1* gene between the Japan & Russian and the Japan & American populations were  $d=13\%$  and  $d=22\%$ , respectively. Phylogenetic trees based on different regions of nuclear rDNA and partial *nad1* gene produced similar topologies. Strong support for the monophyly of *Nanophyetus* was found in most trees. All analyses placed *N. japonensis* in one clade with *N. schikhobalowi*, *N. salmincola* usually clustered separately.

Currently, global climate change accompanied by significant changes in the faunistic complexes, including parasites of humans and animals. Therefore, different researches on the taxonomic identification of species, especially of major epidemiological importance are the state of the art. The findings are important for the prediction of the epidemiological situation and medical research, in particular the development of molecular diagnostics and new generation of anthelmintic drugs.

## Влияние полиморфных вариантов генов на физические качества спортсменов г. Перми, занимающихся карате

Гаврикова Е.П., Боронникова С.В., Пришнивская Я.В., Бурлуцкая М.Ю.

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

Известно, что успех в любой деятельности человека, в том числе и спортивной, на 75–80 % зависит от его генотипа, и лишь 15–20 % дают воспитание, обучение, тренировки и другие средовые факторы. Реакция организма на физическую нагрузку имеет особое значение для организации тренировочного процесса и соревновательной практики спортсменов высокой квалификации. Установлены также наследственные факторы, принимающие участие в обеспечении быстрых и адекватных ответов на физическую нагрузку. Спорт высших достижений направлен, прежде всего, на получение высоких результатов, рост спортивного мастерства в конкретном виде спорта. Генотипирование спортсменов в подростковом возрасте, занимающихся ациклическими видами спорта, такими как карате, ранее не проводилось.

Материалом для исследований служили образцы буккального эпителия спортсменов, занимающихся карате в МБОУ ДОД «СДЮШОР по карате» г. Перми, в возрасте от 12 до 16 лет. ДНК выделяли сорбентным методом с помощью коммерческого набора «Проба ГС» производства ДНК-Технология (Россия). С использованием ПЦР были исследованы полиморфизмы двух генов: *ACTN3* и *PPARG*. Ген *PPARG* локализован в локусе 3p25. Функции этого транскрипционного фактора заключаются в регуляции генов, связанных с аккумуляцией жира, дифференцировкой адипоцитов и миобластов, чувствительностью к инсулину, активностью остеобластов и остеокластов. Ген  $\alpha$ -актина-3 (*ACTN3*) — первый ген структурного белка скелетных мышц  $\alpha$ -актина-3, для которого показана связь с проявлением физических качеств спортсменов. Продукт гена *ACTN3* отвечает за синтез  $\alpha$ -актина-3, являющегося основным компонентом Z-линий мышечных саркомеров, который определяет развитие быстрых мышечных волокон II типа. Ген *ACTN3* находится в длинном плече 11 хромосомы (11q13-q14), состоит из 20 экзонов и 19 интронов. Анализ полиморфизма гена *ACTN3* выявил генотип R/R, при котором наблюдается высокая функциональная активность  $\alpha$ -актина-3 у 21 (58,3%) спортсмена. Генотип R/X – средняя функциональная активность  $\alpha$ -актина-3 – был обнаружен у 8 (22,2%) каратистов и генотип X/X – низкая функциональная активность  $\alpha$ -актина-3 – выявлен у 7 (19,5%) спортсменов. На основании полиморфизма гена *PPARG* генотип Ala/Ala, который ассоциирован со снижением активности PPAR $\gamma$ 2, отмечен у 15 (41,7%) спортсменов; средняя активность – генотип Ala/Pro – у 21 (58,3%) каратиста. Спортсменов, обладающих наименее благоприятным генотипом (Pro/Pro), не обнаружено. Анализ полиморфизма двух генов (*ACTN3* и *PPARG*) показал, что наиболее благоприятный генотип для занятия ациклическими видами спорта, например, карате (R/R, Ala/Ala) обнаружен у 11 спортсменов. Среди них один спортсмен является мастером спорта по карате. Генотип (R/X, Ala/Pro), который ассоциирован со средней спортивной успешностью, выявлен у 4 спортсменов. Различные сочетания аллелей двух изученных генов выявлены у 21 спортсмена. Наименее благоприятный генотип (X/X, Pro/Pro) в выборке не обнаружен. На основании результатов генотипирования группы каратистов отмечено, что полиморфизм генов *ACTN3* и *PPARG* оказывает влияние на успешность занятий карате. На основании данных генотипирования спортсменов разработаны рекомендации для их тренировочного процесса.

## **Influence of polymorphic variants of genes on the physical qualities of sportsmen of Perm involved in karate**

Gavrikova E.P., Boronnikova S.V., Presnenskaya Y.V., Burlutskaya M.Y.  
*Perm State National Research University, Perm, Russia*

It is known that success in any human activity, including sports, 75-80% depends on its genotype, and only 15-20 % yield education, training, exercise and other environmental factors. The body's response to physical activity is of particular importance for the organization of training process and competition practice of athletes of high qualification. Genetic factors involved in ensuring a quick and adequate responses to physical activity have been established. Elite sport is aimed primarily at getting high scores, the increase of sports skill in a particular sport. Genotyping of athletes in adolescence, engaged in acyclic kinds of sports, such as karate, has not previously been conducted.

The material for researches were samples of buccal epithelium of athletes engaged in karate in MBOU DOD "SDUSHOR karate" in Perm, at the age of 12 to 16 years. DNA was extracted by sorbent method using the commercial kit "Test HS" produced by DNA Technology (Russia). Using PCR, polymorphisms in two genes were investigated: *ACTN3* and *PPARG*. The *PPARG* gene is located in locus 3p25. The function of this transcription factor lies in the regulation of genes associated with the accumulation of fat, differentiation of adipocytes and myoblasts, insulin sensitivity, activity of osteoblasts and osteoclasts. The gene  $\alpha$ -actin-3 (*ACTN3*) is the first gene of a structural protein of skeletal muscle  $\alpha$ -actinin-3, which shows the relationship with the manifestation of physical qualities of athletes. The *ACTN3* gene product is responsible for synthesis of  $\alpha$ -actin-3, which is the main component of the Z-lines of muscle sarcomeres, which determines the development of fast muscle fibers of type II. The *ACTN3* gene is located in the long arm of chromosome 11 (11q13-q14), consists of 20 exons and 19 introns. Polymorphism analysis of the *ACTN3* gene revealed genotype R/R, in which there is high functional activity of  $\alpha$ -actin-3 in 21 (58.3%) athletes. The genotype R/X – the average functional activity of  $\alpha$ -actin-3 – was detected in 8 (22.2%) karate athletes and genotype X/X – low functional activity of  $\alpha$ -actin-3 - was detected in 7 (19.5 %) of athletes. On the basis of gene polymorphism in *PPARG* genotype Ala/Ala, which is associated with decreased activity of PPAR $\gamma$ 2, was observed in 15 (41.7%) athletes, the average activity – genotype Ala/Pro – in 21 (58.3%) of karatists. Athletes with the least favorable genotype (Pro/Pro) were not found. Polymorphism analysis of two genes (*ACTN3* and *PPARG*) showed that the most favorable genotype for classes of acyclic kinds of sports, such as karate, (R/R, Ala/Ala) was detected in 11 athletes. Among them, one athlete is a master of sports in karate. Genotype (R/X, Ala/Pro), which is associated with an average athletic success, has been revealed in 4 athletes. Different combinations of alleles of the two genes studied were detected in 21 of the athlete. The least favorable genotype (X/X, Pro/Pro) in the sample is not detected. Based on the results of genotyping of the karate group it was concluded that the polymorphism of *ACTN3* and *PPARG* genes influence the success in karate. On the basis of genotyping of athletes were developed recommendations for their training process.

## **Популяционные различия в показателях роста и развития детей и подростков России и сопредельных стран: факты и интерпретации**

Година Е.З.

*НИИ и Музей антропологии МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

По литературным и собственным данным проанализированы основные тенденции изменения физических параметров населения в прошлом и настоящем. Показано, что в 60—70-х годах XX столетия и дети, и взрослые становятся крупнее, в особенности по сравнению с людьми военных лет, периодов социально-политических кризисов и т.д. За последние 100-

150 лет в разных странах мира 5-7-летние дети за десятилетия в среднем вырастали примерно на 1-2 см, а 10-14-летние — на 2-3 см, ускорилось также время полового созревания и достижения фазы окончательного роста. В конце XX — начале XXI вв. в большинстве развитых стран процессы роста и полового созревания начали стабилизироваться. В то же время показатели массы тела и толщины жирового слоя непрерывно возрастали. Судя по нашим результатам, в России рост сильнее всего менялся в 1970—1980-х годах, а в течение 1990-х он стабилизировался. В последнем десятилетии XX в. у московских детей наблюдалось снижение веса, индекса массы тела, а также поперечных и обхватных размеров. Дети и подростки становились более «узкосложенными». В последние годы в некоторых регионах России, в частности, на Севере Европейской части, наблюдаются изменения в пропорциях тела (тенденция к относительной коротконогости), распределении подкожного жира (трункальный тип накопления жира). Особенно важно отметить, что у современных детей и подростков снижается физическая крепость организма. Это связано не только с переизбытком и недостатком физической активности, но и с качеством пищи: потреблением большого количества очищенных зерновых продуктов, рафинированного сахара, жиров, дающих высокую питательную ценность, наряду с недостатком витаминов и микроэлементов.

### **Population differences in growth parameters of children and adolescents of Russia and neighboring countries: facts and interpretations.**

Godina E.Z.

*Institute and Museum of Anthropology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Basing on the author's own and literary data, main trends in physical development of children and adolescents were analyzed both in the past and at present. It was shown that in the 60's and 70's of the 20<sup>th</sup> century children and adults were becoming taller and larger, particularly if compared with their peers living during wars and socio-economic crisis. For the last 100-150 years 5-7-year-old children were growing bigger by 1-2 cm for each generation, and 10-14-year-olds – by 2-3 cm. Dates of sexual maturation were achieved earlier, as well as the stages of final height. At the end of the 20<sup>th</sup> and the beginning of the 21<sup>st</sup> century in most of the developed countries the processes of growth and maturation began stabilized, while the values of body weight, skinfold thickness continued growing. According to the author's data, height was changing in Russian population with extreme intensity mostly in the 1970's-1980's. In 1990's stabilization of the values of this parameter was observed. Parallel to this trend, the decrease of weight, body mass index as well as some body diameters and circumferences was noted. Children and adolescents were characterized with more leptosomic body structure. In recent years in some areas of Russia including Moscow and Northern regions of the European part of Russia new trends, different from those observed in the neighboring countries were revealed. Among them, changes in body proportions (relatively short legs) and in subcutaneous fat topography (accumulation of fat in abdominal area and on the trunk) were most typical. Physical strength was decreasing (e.g., hand grip strength). It could be connected not only with the deficit of physical activity and abundance of caloric intake but also with the quality of food and with the intake of refined grains and sugar, along with the shortage of vitamins and micronutrients.

## Диссимметрическая и генотипическая неоднородность плюсовых деревьев ели европейской, *Picea abies* (L.) Н. Karst, в различных типах леса

Голиков А.М.<sup>1</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>2</sup>, Белоконь М.М.<sup>2</sup>, Политов Д.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Псков, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

В селекции на продуктивность ключевой проблемой является повышение точности идентификации выдающихся генотипов по фенотипу. Для разработки методов этой оценки наибольший интерес представляет эколого-диссимметрический и изоферментный анализ. Объектами исследования являлись 638 плюсовых деревьев ели европейской, *Picea abies* (L.) Н. Karst, отобранных в наиболее распространенных и хозяйственно значимых типах леса Псковской и Новгородской областях. Применение данного подхода позволило выявить влияние типов леса на формовую и генотипическую дифференциацию энантиоморф плюсовых деревьев ели. На хорошо дренированных почвах у плюсовых деревьев ели достоверно чаще встречаются левые энантиоморфы (57,3-72,1%) с характерной для них более светлой окраской семян. Во влажных условиях произрастания, наоборот, доминируют правые энантиоморфы (64,7-79,2%) и характеризуются в основном темной окраской семян. Для плюсовых деревьев в дренированных условиях произрастания наблюдается достоверно меньший угол заострения семенных чешуй ( $65,3^\circ \pm 0,9$ ) и более ранние сроки распускания. На влажных почвах у них существенно возрастает средний угол заострения семенных чешуй ( $73,6^\circ \pm 0,9$ ) и частота встречаемости генотипов с более поздними сроками распускания. Важно подчеркнуть, что у левых форм плюсовых деревьев ели средний угол заострения семенных чешуй в разных экологических условиях произрастания оказался существенно меньше, чем у правых форм и составил, соответственно,  $64,0^\circ \pm 0,9$  и  $70,7^\circ \pm 0,9$ . Выявлена также неодинаковая встречаемость энантиоморф плюсовых деревьев ели в связи с их уровнем гетерозиготности по аллозимным локусам и типами леса. В свежих типах леса низко- и среднегетерозиготные генотипы в 1,6-3,5 раза чаще встречаются у левых форм плюсовых деревьев ели, а у правых форм, напротив, обнаружено достоверное преобладание генотипов с высоким уровнем гетерозиготности. Во влажных типах леса проявляется обратная закономерность: у правых форм плюсовых деревьев достоверно чаще встречаются генотипы с низким и средним уровнем гетерозиготности, а у левых форм их пропорция в 1,9 - 3,9 раза меньше. Для левых форм плюсовых деревьев в этих условиях произрастания характерен более высокий уровень гетерозиготности. При этом у плюсовых деревьев независимо от условий произрастания обнаружено достоверное количественное преобладание генотипов со средним уровнем гетерозиготности над гомо- и высокогетерозиготными генотипами. Следовательно прямой фенотипический отбор плюсовых деревьев ели привел к нарушению нормального соотношения гомо-гетерозиготных генотипов в пользу деревьев со средним уровнем гетерозиготности. Важно указать на обратную зависимость уровня гетерозиготности у энантиоморф плюсовых деревьев в связи с углом заострения семенных чешуй. С увеличением его у левых форм уровень гетерозиготности повышается, а у правых – уменьшается. Об этом свидетельствует достоверная корреляционная связь между углом заострения семенных чешуй и уровнем гетерозиготности: у левых форм плюсовых деревьев она положительная ( $r=0,394$ ), а у правых – отрицательная ( $r=-0,384$ ). Без учета энантиоморфизма у плюсовых деревьев эта связь нивелируется и становится недостоверной ( $r=0,005$ ). Это указывает на разнонаправленное (от ели сибирской к ели европейской и наоборот) проявление гибридности у энантиоморф плюсовых деревьев ели. Полученные результаты указывают, что в различных типах леса под действием естественного отбора формируется специфичный генотипический состав энантиоморф плюсовых деревьев ели. Очевидно, что создание лесосеменных плантаций повышенной генетической ценности необходимо проводить на формовой и типологической основе. Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ 15-04-

07961, а также Программ фундаментальных исследований Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем” и “Эволюция органического мира и планетарных процессов”.

### **Dissymmetric and genotypic heterogeneity in Norway spruce *Picea abies* (L.) H. Karst plus trees in different forest types**

Golikov A.M.<sup>1</sup>, Belokon Yu.S.<sup>2</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Politov D.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Pskov, Russia*

<sup>2</sup>*Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia*

Fidelity of identification of elite genotypes by phenotype is a key problem in breeding forest tree species for productivity. Perspective method for such evaluation is a combination of ecological, dissymmetric and isozyme analysis. We studied 638 plus trees of Norway spruce, *Picea abies* (L.) H. Karst, selected in different forest types in Pskov and Novgorod Oblasts of Russia. The applied approach allowed to reveal the influence of forest type onto genotypic differentiation of enanthiomorphs in spruce plus trees. In plus trees growing on well-drained soils left (L) enanthiomorphs with typical light seed coloration were predominated (57.3-72.1%). Conversely, in humid conditions right (R) forms with darker seeds were more frequent (64.7-79.2%). In well drained conditions plus trees possessed lower angle of seed scale sharpening (ASSS) ( $65.3^\circ \pm 0.9$ ) and earlier budbreak. On humid soils mean ASSS was higher ( $73.6^\circ \pm 0.9$ ) and forms with later budbreak were more frequent. In L-forms mean ASSS in different conditions was lower than in R-forms ( $64.0^\circ \pm 0.9$  vs  $70.7^\circ \pm 0.9$ , respectively). Different frequency of enanthiomorphs was revealed in spruce plus trees in various forest types and was associated with heterozygosity level. In fresh forest types genotypes with low and medium heterozygosity appear 1.6-3.5 more frequently in L-forms while in R-forms highly heterozygous trees significantly predominated. In humid types of forest the reverse regularity was observed: in R-forms genotypes with low and medium heterozygosity were more common while in L-forms their rate was 1.9-3.9 times lower. L-forms were generally more heterozygous in these growth conditions. Independently of growth conditions, spruce plus trees demonstrated predominance of medium-heterozygous trees over homozygous and highly heterozygous. Therefore, direct phenotypic selection of plus trees resulted in excess of medium-heterozygous trees that is an evidence of optimal heterozygosity level. With respect to ASSS we observed reverse regularities in enanthiomorphs of plus trees. Increase of ASSS values leads to raise of heterozygosity in L-forms and decrease of H values in R-forms as it is indicated by significant correlation coefficients between ASSS and H ( $r=0.394$  in L-forms and  $-0.384$  in R-forms). Without taking enanthiomorphism into account this association disappears ( $r = 0.005$ ). This fact points to influence of hybridity (introgression between Norway and Siberian spruce species) in enanthiomorphs of plus trees. The results indicate that in different forest types under action of natural selection a specific composition of enanthiomorphs of spruce plus trees is formed. It is evident that establishment of elite forest plantations needs careful selection of forms by using different methods including combined genetic and dissymmetric analysis.

This study was supported by the RFBR project 15-04-07961 and Programs of Fundamental Research of the Presidium of Russian Academy of Sciences “Biodiversity of Natural Systems” and “The Evolution of the Organic World and Planetary Processes”.

## **Приспособленность и жизнеспособность популяций карпа, выращиваемого в радиационно – загрязненных прудах, и влияние антимутагена дилудина на эти показатели**

Гончарова Р.И.<sup>1</sup> Слуквин А.М.<sup>1</sup>, Дубурс Г.Я.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

<sup>2</sup>*Латвийский институт органического синтеза, Рига, Латвия*

Проблема биологической эффективности малых доз ионизирующих излучений является фундаментальной в радиобиологии и до настоящего времени изучена недостаточно, в том числе и на популяционном уровне. Жизнеспособность и приспособленность популяций прудового карпа, выращиваемых в радиационно-загрязненных прудах рыбхоза «Белое» Гомельской области, были изучены в 1988 – 1993 гг. Анализировались репродуктивные показатели производителей карпа, маточное стадо которых с 1986 г. находилось в радиационно-загрязненном пруду (2812 Бк/кг в донных отложениях), и качество их потомков по уровням цитогенетических нарушений и морфологических аномалий на эмбриональной и постэмбриональных стадиях развития. Были также изучены жизнеспособность, скорость роста (морфометрические показатели), морфологические аномалии и продуктивность популяций сеголеток карпа, получаемых от хронически облучаемых производителей, и выращиваемых в радиационно-загрязненных (6 опытных) и менее загрязненных (3 условно-чистых или контрольных) прудах. Обнаружено, что увеличение концентрации <sup>137</sup>Cs в половых продуктах самок и самцов сопровождается снижением репродуктивной способности производителей и повышением частот цитогенетических нарушений и морфозов у их потомков. Выявлена зависимость четырех важнейших репродуктивных показателей производителей (процент оплодотворения, количество предличинок и личинок, выживаемость личинок), а также aberrаций хромосом и морфозов у их потомков на стадии поздней бластулы и у 2-х суточных личинок от концентрации <sup>137</sup>Cs в половых продуктах самок и самцов. Расчетная мощность поглощенной дозы половыми клетками производителей от внутреннего и внешнего облучения составляла 4,7–5,4 мкГр/сутки.

Изучение частоты морфозов в популяциях сеголеток, являющихся потомками хронически облучаемых производителей и выращиваемых в 1988 – 1993 гг. в прудах с разной степенью радионуклидного загрязнения, показало зависимость уровня морфозов от величины мощности поглощенной дозы как от внутреннего облучения, так и от сочетанного внешнего и внутреннего облучения (1,48 – 5,5 мкГр/сутки). Дозовые зависимости лучше аппроксимируются нелинейными, чем линейными функциями. Уровни цитогенетической изменчивости в роговице глаз молоди карпа также зависели от удельной гамма-активности <sup>137</sup>Cs в теле рыб. Выживаемость сеголетка в радиационно-загрязненных прудах за период выращивания была снижена по сравнению с показателями условно-чистых прудов. Следовательно, очень низкие дозы хронического сочетанного облучения молоди карпа (мощность поглощенной дозы составляла 1,48 – 5,5 мкГр/сутки) вызывают повышенный уровень цитогенетической изменчивости, морфологических аномалий и сниженную выживаемость сеголеток, являющихся потомками хронически облучаемых родителей. Полученные данные свидетельствуют о биологической эффективности очень низких доз хронического облучения по ряду показателей, характеризующих приспособленность и жизнеспособность популяций прудового карпа. Применение антимутагена дилудина, используемого в качестве кормовой добавки для кормления производителей и молоди рыб, живущих в радиационно – загрязненных прудах, позволило улучшить репродуктивные параметры производителей, увеличить относительную скорость роста молоди карпа (ростостимулирующий эффект), снизить частоту морфологических аномалий в течение всего сезона выращивания и увеличить выживаемость сеголеток.

## **The fitness and viability of populations of carp (*Cyprinus carpio* L.), grown in radioactivity-contaminated ponds, and the impact of the antimutagen diludine on these traits**

Goncharova R.I.<sup>1</sup>, Slukvin A.M.<sup>1</sup>, Duburs G.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup>*Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga, Latvia*

The problem of biological efficiency of low-dose ionizing radiation is fundamental in radiobiology and it has been insufficiently studied including at the population level. The fitness and viability of carp populations grown in radioactivity-contaminated ponds of the “Beloe” fish farm in the Gomel region, were studied in 1988–1993. Reproduction parameters of carp spawners of which was in a radioactivity -contaminated pond (2812 Bq/kg in the bottom sediment), and quality of their offspring was analyzed by the level of cytogenetic injuries and malformations at embryonic and postembryonic stages. It was also studied viability, growth rate (morphometric traits), malformations and productivity of yearlings populations, obtained from irradiated spawners, and grown in radioactivity - contaminated ponds (6 experimental) and less contaminated ponds (3 control conditionally clean ponds).

It has been found that increasing <sup>137</sup>Cs concentration in germ cells of males and females is accompanied with decreasing reproductive ability of spawners and increasing the frequencies of cytogenetic injuries and malformations in their offspring. The dependence of four important reproductive indices (the percentage of fertilization, the quantity of pre-larvae and larvae, larval viability) as well as the frequencies of chromosome aberrations and malformations in their offspring at the stage of late blastula and 2-days larvae on <sup>137</sup>Cs concentration in germ cells of males and females was revealed. Calculated absorbed dose rate of germ cells from external and internal irradiation was 4.7–5.4 μGy/day. The assessment of malformation frequencies in populations of fry, which were the progeny of chronically irradiated spawners grown in the ponds with different extent of radionuclide contamination showed the dependence of the malformation level on the absorbed dose rate from internal irradiation and also from combined internal and external irradiation (1.48 – 5.5 μGy/day). Depending on the dose is better approximated by nonlinear equations. The frequencies of chromosome aberrations in the cornea of the eye also depended on the <sup>137</sup>Cs specific activity in the body. The yeings viability in radioactivity - contaminated ponds for the growing period was reduced as compared to conditionally clean ponds. Consequently, very low doses of chronic combined irradiation of yearlings (at the absorbed dose rate 1.48 – 5.5 μGy/day) cause the increased levels of cytogenetic injuries, malformations and reduced viability of yearling fish, which are the progeny of chronically irradiated parents. The data obtained indicate biological efficiency of very low doses of chronic irradiation with respect to a set of parameters, characterizing fitness and viability of pond carp populations. Applying the antimutagen diludine as a feed additive for spawners and yearlings inhabiting radioactivity - contaminated ponds allowed us to improve the reproductive indices of spawners, to increase the relative growth rate (the growth stimulating effect), and to reduce the frequencies of malformations for a growing season and to enhance the viability of yearlings.

## **Инверсионный полиморфизм в популяциях малярийных комаров (Diptera, Culicidae, Anopheles) в различных ландшафтно-климатических зонах**

Гордеев М.И., Москаев А.В.

*Московский государственный областной университет, Москва, Россия*

На территории Русской равнины, Урала и Западно-Сибирской равнины определяли зависимость географического распространения видов-двойников малярийных комаров и кариотипической структурой популяций от смены ландшафтно-климатических зон. В Европейской части России значительная часть ареалов малярийных комаров располагается



в бассейне реки Волги. Нами были изучены выборки личинок *Anopheles* из различных местообитаний, которые были разделены на 3 группы, в соответствии с ландшафтным зонированием региона: Верхнее Поволжье (Верхневолжье): области южной тайги и хвойно-широколиственных лесов (таежная и подтаежная зоны); Среднее Поволжье: зона широколиственных лесов и лесостепи; Нижнее Поволжье: степная и полупустынная зоны. Следует отметить, что границы указанных ландшафтных зон весьма условны и имеются переходные участки. В Поволжье обитает три вида-двойника комплекса *Anopheles maculipennis*: *An. beklemishevi* Stegn. et Kabanova, 1976; *An. maculipennis* Meig., 1818; *An. messeae* Fall., 1926. В Верхневолжье на востоке Московской области, в Мещерской низменности проходит южная граница ареала у малярийного комара *An. beklemishevi*. На территории Верхнего и Среднего Поволжья найдены местообитания малярийного комара *An. maculipennis*. Как правило, развитие личинок этого вида происходит вместе с особями *An. messeae*. Последний повсеместно доминирует, и только во временных биотопах можно обнаружить изолированные места выплода *An. maculipennis*. В Нижнем Поволжье преобладает *An. messeae*. В солоноватых озерах пустынной и полупустынной зон Нижнего Поволжья обитает еще один из представителей комплекса *maculipennis* – малярийный комар *An. atroparvus*. У комара *An. messeae*, в отличие от других видов, наблюдали высокий уровень инверсионного полиморфизма. Частоты инверсий сильно изменяются при движении от верховьев к нижнему течению Волги, от одной ландшафтной зоны к другой. Популяции Верхнего и Среднего Поволжья, находящиеся в таежной зоне, не отличаются по частотам инверсий половой хромосомы, за одним исключением: редкая инверсия XL2, которая появляется в Казани и других местообитаниях ниже по течению Волги. Особи с этой инверсией встречаются с повышенной частотой в популяциях Западной Сибири, и эта инверсия до настоящего времени считалась эндемичной для Сибири. В популяциях Нижнего Поволжья, по сравнению со Средним Поволжьем, происходит резкое, практически в 2 раза, увеличение частоты инверсии XL0, которая преобладает на юго-западе видового ареала ( $p < 0,001$ ). По нашему мнению, увеличение частоты этой инверсии в Нижнем Поволжье связано с переходом из лесостепной в степную ландшафтно-климатическую зону. При движении от верховий к нижнему руслу реки в популяциях *An. messeae* происходит значительное изменение состава аутосом 2R, 3R и 3L ( $p < 0,001$ ). Частота инверсии 2R1 последовательно снижается, и в Нижнем Поволжье доля альтернативной последовательности 2R0 достигает 100%. Очевидно, в Поволжье подтверждается клинальный характер изменчивости по инверсии 2R1 в направлении с юга на север, отмеченный в исследованиях В.Н. Стегния (1991). Доля комаров с инверсией 3R1 в верхнем и среднем течении Волги не изменяется, но значительно уменьшается в Нижнем Поволжье, при переходе в степную зону. Частота «южной» инверсии 3L1 минимальна в таежной зоне (в Верхнем Поволжье), но значительно возрастает в лесостепной и степной зонах (в Среднем и Нижнем Поволжье). Таким образом, при переходе из одной ландшафтно-климатической зоны в другую наблюдается перестройка кариотипической структуры популяций, которая затрагивает инверсии всех хромосом. Аналогичные изменения хромосомного состава комаров *An. messeae* отмечены в различных ландшафтных зонах в бассейне Дона и на юге Западной Сибири.

### **Inversion polymorphisms of malaria mosquitoes populations (Diptera, Culicidae, Anopheles) in different climatic zones**

Gordeev M.I., Moskaev A.V.  
*Moscow State Region University, Moscow, Russia*

On the territory of the Russian plain, the Urals and the West Siberian plain was determined the dependence of geographical distribution of several sibling species of malarial mosquitoes and karyotypic structure of populations from changing landscape-climatic zones. In the European part

of Russia, a significant part of the habitats of malarial mosquitoes is in the basin of the Volga river. We studied a sample of *Anopheles* larvae from different habitats, which were divided into 3 groups in accordance with the landscape zoning of the region: the Upper Volga (the Volga): the region of southern taiga and coniferous-deciduous forests (taiga and subtaiga zone); the middle Volga region: the zone of deciduous forests and forest steppe; the Bottom Volga region: the steppe and semidesert zones. It should be noted that the boundaries of these landscape areas are rather conventional and includes transitional areas. In the Volga region there are three species-double of the complex *Anopheles maculipennis*: *An. beklemishevi* Stegn. et Kabanova, 1976; *An. maculipennis* Meig., 1818; *An. messeae* Fall., 1926. In the upper Volga in the East of Moscow region, in the Meshchera lowlands is the southern boundary of the range from the malaria mosquito *An. beklemishevi*. In the Upper and Middle Volga region was found habitats of the malaria mosquito *An. maculipennis*. As a rule, the larval development of this species occurs together with specimens of *An. messeae*. Latest everywhere dominates, and only in temporary habitats it is possible to locate isolated breeding places of *An. maculipennis*. In the Lower Volga region is dominated by *An. messeae*. In the brackish lakes of the arid and semiarid zones of the Lower Volga region is inhabited by another of the representatives of the *maculipennis* complex – malaria mosquito *An. atroparvus*. The mosquito *An. messeae*, unlike other species, was observed a high level of inversion polymorphism. The frequency of inversions change much when moving from the headwaters to the lower reaches of the Volga, from one landscape to another. Populations of the Upper and Middle Volga region, located in the taiga zone, do not differ in the frequencies of inversions, sex chromosome, with one exception: a rare inversion of the XL2, which appears in Kazan and other habitats downstream of the Volga. Individuals with this inversion occur with increased frequency in populations of West Siberia, and this inversion had hitherto considered endemic to Siberia. In the populations of the Lower Volga region, compared with the Average Volga region, there is a sharp, almost 2-fold increase in the frequency of inversion XL0, which prevails in the South-West of the species range ( $p < 0.001$ ). In our opinion, the increase in the frequency of this inversion in the Lower Volga region is associated with a transition from steppe to forest-steppe landscape-climatic zone. When moving from the headwaters to the lower course of the river in the populations of *An. messeae* is a significant change in the composition of nectar 2R, 3R and 3L ( $p < 0.001$ ). Frequency inversion 2R1 consistently reduced, and in the Lower Volga region, the share of alternative sequences 2R0 reaches 100%. Obviously, in the Volga region is confirmed by clinal variation in inversion 2R1 in the direction from South to North, observed in studies of V. N. Stegne (1991). The proportion of mosquitoes with inversion 3R1 in the upper and middle reaches of the Volga river does not change, but significantly reduced in the Lower Volga region, in the steppe zone. The frequency of "southern" inversion 3L1 minimum in the taiga zone (in the Upper Volga region), but increases significantly in the forest-steppe and steppe zones (the middle and Lower Volga Region). Thus, during the transition from one landscape-climatic zone to another there is a restructuring of the karyotypic structure of populations, which affects the inversion of all chromosomes. The same change of the chromosomal composition of mosquitoes *An. messeae* noted in the various landscaped areas in the don basin and in the South of Western Siberia.

### **Проблема популяционной организации тихоокеанского лосося горбуши *Oncorhynchus gorbuscha***

Гордеева Н.В., Салменкова Е.А.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Способность возвращаться на нерест в родные реки из океана, или хоминг, является фундаментальным свойством лососевых рыб, которое обеспечивает сохранение в популяциях адаптаций к локальным условиям воспроизводства и одновременно является главным механизмом поддержания внутривидовой иерархической подразделённости (Ricker, 1972; Quinn, 1984, 2005; Taylor, 1991; Алтухов и др., 1997). Обратное явление – стрейнг,

также имеет важное эволюционное значение в качестве механизма предотвращения инбридинга и освоения пригодных мест обитания; возрастание стрейнга наблюдается в субоптимальных условиях, например, при искусственном разведении или интродукции (Withler, 1982; Quinn, 1993; Hard, Heard, 1999; Thedinga et al., 2000; Quinn et al., 2001). Оценки точности хоминга сильно варьируют не столько между разными видами лососей, сколько между отдельными популяциями внутри видов (Hendry et al., 2004). Распространенное мнение, что у тихоокеанского лосося горбуши, *Oncorhynchus gorbuscha*, хоминг сильно ослаблен, основывается на значительном генетическом единообразии популяций (Heard, 1991; Глубоковский, Животовский, 1986; Глубоковский и др., 1989), хотя имеющиеся оценки точности возврата не позволяют дать однозначный ответ (Омельченко, Вялова, 1990; Алтухов и др., 1997; Кляшторин, 2001; Hendry et al., 2004). Пример горбуши свидетельствует о том, что для выявления истинной картины внутривидовой структуры может потребоваться более тщательный выбор маркеров, позволяющих наиболее точно оценить генетические связи между популяциями. Хотя популяции лососевых рыб отличаются друг от друга комплексом адаптаций, поддерживаемых хомингом, для изучения популяционной структуры применяются, в основном, селективно-нейтральные маркеры, различия в которых накапливаются в результате случайных процессов (генетического дрейфа) и мутаций, т.е., в сущности, представляют побочный продукт изоляции популяций (например, Bernatchez, Landry, 2003). В некоторых случаях, нейтральные или близкие к нейтральности маркеры могут иметь ограниченную способность дифференцировать популяции и их группы – например, в случае высокой скорости мутаций самих маркеров, приводящих к сатурации и гомоплазии (конвергентному сходству аллельных вариантов), а в очень больших по численности популяциях действие генетического дрейфа может быть незначительным. У горбуши как самого многочисленного и короткоциклового вида лососевых, возможно, именно по этим причинам оценки межпопуляционной дифференциации, выявляемые с помощью микросателлитных маркеров, оказались ничтожно малыми даже на крупномасштабной географической шкале, проявляя при этом зависимость от средней численности популяций (Гордеева, 2014). Ослабленные эффекты дрейфа, высокая скорость мутации – для микросателлитов или давление стабилизирующего отбора, показанного ранее для аллозимных маркеров (Алтухов и др., 1987), нивелируют различия между популяциями и оказываются сходными по последствиям с генетической миграцией, что сильно затрудняет исследование популяционной структуры горбуши. В данном случае проблема может быть решена только с помощью маркеров на основе функционально значимых участков генома, находящихся под сильным воздействием разнообразящего отбора, обуславливающего адаптивную дивергенцию популяций на ареале - например, генов главного комплекса гистосовместимости (Гордеева, 2012; 2017).

### **The problem of population structure of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha***

Gordeeva N.V., Salmenkova E.A.

*Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia*

The ability to return for spawning to native rivers from the ocean, or homing, is a fundamental life history trait of salmonids, which preserve adaptations of population to local reproduction conditions and at the same time is the main mechanism for maintaining intraspecific hierarchical structure (Ricker, 1972; Quinn, 1984, 2005; Taylor, 1991, Altukhov et al., 1997). The opposite phenomenon - straying, also has an important evolutionary significance as a mechanism for preventing inbreeding and for colonization of suitable habitats; an increase of straying is observed under suboptimal conditions, for example, when artificial breeding or introductions (Withler, 1982; Quinn, 1993; Hard, Heard, 1999; Thedinga et al., 2000; Quinn et al., 2001). Estimates of homing accuracy vary greatly not so much between different species of salmon as between different populations within species (Hendry et al., 2004). The common opinion is that

Pacific salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, has much lower homing is based on a significant genetic uniformity of populations (Heard, 1991, Glubokovsky, Zhivotovsky, 1986, Glubokovsky et al., 1989), although the available estimates of the accuracy of the return do not allow to give an unambiguous answer (Omelchenko, Vyalova, 1990; Altukhov et al., 1997; Klyashtorin, 2001; Hendry et al., 2004). The case of pink salmon indicates that to clarify the true pattern of the intraspecific structure, a more careful choice of molecular markers that allow the most accurate assessment of the genetic relations between populations may be required. Although populations of salmonids differ from each other by a complex of adaptations supported by homing, selectively neutral markers are mainly used to reveal the population structure. Differences at these markers accumulated as a result of random processes (genetic drift) and mutations i.e. represent a by-product of population isolation (e.g., Bernatchez, Landry, 2003). In some cases, neutral or close to neutrality markers (as microsatellites) may have a limited ability to differentiate populations and their groups, because typical of them high rate of mutations lead to saturation and homoplasia (convergent similarity of allelic variants), and in very large populations genetic drift may be negligible. In pink salmon as the most abundant and short-life cycle salmon species, it is probably for these reasons that the estimates of inter-population differentiation detected with microsatellite markers turned out to be negligible even on a large-scale geographical scale, showing a dependence on the average population size (Gordeeva, 2014). The weakened gene drift effects and high mutation rate for microsatellites or the pressure of the stabilizing selection, shown earlier for allozyme markers (Altukhov et al., 1987), level the differences between populations and are similar to the consequences of genetic migration, which greatly complicates the study of the population structure of pink salmon. In this case, the problem can be solved only with using of markers connected with such parts of the genome, which are under the strong influence of positive selection, resulting in adaptive divergence of populations within the range, for example, by means of the genes of the main histocompatibility complex (Gordeeva, 2012, 2017).

### **Поиск дикорастущих форм винограда Крыма и характеристика разнообразия на основе SSR-PCR анализа**

Гориславец С.М.<sup>1</sup>, Волков Я.А.<sup>1</sup>, Колосова А.А.<sup>1</sup>, Володин В.А.<sup>1</sup>, Виноградова С.В.<sup>2</sup>,  
Камионская А.М.<sup>2</sup>, Рисованная В.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ВНИИ Виноградарства и Виноделия «Магарач» РАН, Ялта, Республика Крым

<sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

Почти "островное" географическое положение Крыма создает изолированность полуострова и заметно отражается на особенностях растительного и животного мира. Именно поэтому здесь встречается не только много редких видов, но и видов-эндемиков. Виноградарство Крыма насчитывает тысячи лет, о чем свидетельствуют археологические раскопки. Предполагается, что некоторые аборигенные сорта Крыма происходят от местных диких форм винограда. Считается, что на территории Крымского полуострова в диком виде произрастает виноград *Vitis vinifera* L., к которому относится одичавший виноград *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C. и настоящий дикий виноград *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel., сохранившийся с третичного периода и который рассматривают как прародитель культурного винограда. Начиная с 2015 года, были проведены экспедиционные обследования заповедников горного Крыма с целью поиска и изучения дикорастущего винограда. Были исследованы склоны русел рек, ущелья и склоны яйл заповедников Южного Берега Крыма. В результате обследования обнаружено 195 лоз дикорастущего винограда. Образцы были отобраны в местах, удаленных от населенных пунктов и насаждений культурного винограда. Обнаруженный виноград преимущественно произрастал до 600 м над уровнем моря, в местах с достаточным увлажнением почвы. Места произрастания были нанесены на карту с использованием GPS-координат. В основном состав дикорастущего винограда неоднороден. Выявлены образцы с мужским типом цветка, а также с разной формой листовой пластинки,

степенью ее рассеченности и опушения. Характеристика генетического разнообразия винограда выполнена на основе анализа 9 ядерных микросателлитных (SSR) локусов. Разделение микросателлитных фрагментов проводили на генетическом анализаторе ABI 3130. Стандартные генетические параметры были рассчитаны с использованием программы Popgene, v.1.32.

В результате анализа 35 образцов из Ялтинского и Алуштинского регионов были получены ДНК профили по 9 микросателлитным локусам. Все локусы были полиморфными. Количество выявленных аллелей на локус варьировало от 6 до 10, среднее число аллелей на локус составило 7.89. Всего детектировано 71 аллель. Средняя наблюдаемая гетерозиготность была 0.61 и варьировала от 0.43 (локус *VrZAG79*) до 0.80 (локус *VVMD25*). Наиболее часто встречались образцы дикорастущего винограда, в генотипе которых детектированы аллели 186 п.н. (локус *VVMD27*) – 66%, 235, 249 и 248 п.н. (локусы *VVMD28*, *VVMD32*, *VrZAG79*, соответственно) – 50%. Уровень полиморфности или эффективное число аллелей находилось в диапазоне 2.19 (локус *VVMD27*) – 5.33 (локус *VVMD25*) со средним значением 3.43. Отмечено большое количество редких аллелей для данной выборки генотипов (25.4%). Уровень генетического разнообразия и генетическая структура популяций дикорастущего винограда установлен с помощью информационного индекса Шеннона (Nei, 1987) по результатам SSR-ПЦР анализа. Индекс Шеннона составил от 1.44 и находился в диапазоне 1.18 (локус *VVMD32*) – 1.76 (локус *VVMD25*). Более полный анализ генетического разнообразия дикорастущего винограда будет получен после анализа по SSR локусам образцов из других регионов Крыма.

Исследования выполняются при поддержке РФФИ, гранта №15-29-02715.

### **Identification of wild growing Crimean vine forms and their varietal characteristics based on SSR-PCR analysis**

Gorislavets S.M.<sup>1</sup>, Volkov Y.A.<sup>1</sup>, Kolosova A.A.<sup>1</sup>, Volodin V.A.<sup>1</sup>, Vinogradova S.V.<sup>2</sup>,  
Kamionskaya A.M.<sup>2</sup>, Risovannaya V. I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” RAS,  
Yalta, Republic of Crimea

<sup>2</sup>Research Center of Biotechnology RAN, Moscow, Russia

Nearly insular geographical position of Crimea creates isolation of the peninsula and has a significant influence on the peculiarities of its flora and fauna. For this very reason there can be found not only abundance of rare species, but endemic species as well. As evidenced by archaeological excavations, viticulture in Crimea goes back thousands of years. It is assumed that some of the autochthonous Crimean varieties originate from local wild-growing vine forms. It is believed that there can be found wild growing *Vitis vinifera* L. vines on the Crimean peninsula to which belong *V. vinifera* ssp. *sativa* D.C. that fell out of cultivation and *V. vinifera* ssp. *silvestris* Gmel., which survived since the tertiary period and which is believed to be the progenitor of *Vitis vinifera*.

Since 2015, field surveys have been conducted in the Crimean mountain reserves with a view to find and study wild growing grapes. We have examined slopes alongside water gaps, gorges and yailas in reserves of the Southern Coast of Crimea. In the course of the survey we found 195 vines of wild grapes. The samples were selected in areas remote from populated localities and cultivated vineyards. The discovered vineplants primarily grew at 600 m above sea level, in areas with sufficiently moisturized soil. All habitats were mapped using GPS-coordinates. The composition of wild-growing grapes was for the most part heterogeneous. We identified samples with staminate flowers, as well as different leaf blade form, lobing degree and tomentosity. The genetic diversity description of vines was made based on analysis of 9 nuclear microsatellite (SSR) loci. Separation of microsatellite fragments was performed on ABI 3130 genetic analyzer. Standard genetic parameters were calculated using Popgene program, v.1.32. The analysis of 35 samples

from Yalta and Alushta regions produced DNA profiles for 9 microsatellite loci. All loci were polymorphic. The number of detected alleles per locus ranged from 6 to 10, the average number of allele per locus made 7.89. In total we detected 71 alleles. The average observed heterozygosity was 0.61 and ranged from 0.43 (locus *VrZAG79*) to 0.80 (locus *VVMD25*). The most commonly encountered samples of wild growing grapes were those in the genotype of which we detected alleles 186 b.p. (locus *VVMD27*) - 66%, 235, 249 and 248 b.p. (loci *VVMD28*, *VVMD32*, *VrZAG79*, respectively) - 50%. The polymorphism level or effective number of alleles ranged from 2.19 (locus *VVMD27*) to 5.33 (locus *VVMD25*) with a mean of 3.43. A large number of rare alleles was observed for the genotypes sample (25.4%). The genetic diversity level and genetic structure of wild grape populations was established using Shannon information index (Nei, 1987) based on SSR-PCR analysis data. Shannon index made 1.44 and ranged from 1.18 (locus *VVMD32*) to 1.76 (locus *VVMD25*). A more complete analysis of the genetic diversity of wild grapes will be obtained after analysis of samples on SSR loci from other regions of Crimea.

The research is being carried out with the support of the Russian Foundation of Basic Research, grant №15-29-02715.

### **О критериях вида и рода: опыт системного анализа проблемы**

Горошкевич С.Н.

*Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия*

Обычно считается, что генетическое взаимодействие между особями осуществляется лишь внутри вида как основной систематической категории, ибо основным критерием биологического вида является его нескрещиваемость с другими видами. Однако среди лесных древесных растений трудно найти даже несколько таких видов. Добрая половина видов (если не 2/3) имеют современные гибридные зоны. Остальные либо имели их в прошлом (сетчатая эволюция), либо могут иметь их в будущем (т.к. репродуктивно совместимы). Иными словами, большинство общепризнанных ныне видов не являются видами в общепризнанном значении этого термина. Как можно решить эту проблему?

Возможны два варианта. (1) Пользуясь основным критерием вида, объединить все репродуктивно совместимые отдельности в один вид. (2) Не рассматривать больше вид как основную систематическую категорию, основной продукт и основную единицу и эволюционного процесса, а считать таковыми совокупность репродуктивно совместимых видов. Мы выступаем за второй вариант и приглашаем ученое сообщество присоединиться к этой идее. Почему? Потому, что главным условием появления перспективных эволюционных новообразований является репродуктивная несовместимость новой филогенетической ветви с другими такими же ветвями. Из этой новой ветви при благоприятном стечении обстоятельств развивается новая система ветвления: совокупность существенно разных, но генетически совместимых отдельностей. Такая система ветвления и является главной единицей эволюции живой материи потому, что внутри ее «работают» популяционные процессы, а вне ее происходит дальнейшее расхождение репродуктивно несовместимых ветвей филогенетического древа.

От Линнея и доныне ботанические таксоны выделяются по произволу ботаников. Раньше для этого использовались нейтральные морфологические признаки, в настоящее время - нейтральные молекулярные маркеры разнообразия. Это правильно, если относится к высоким, «таксономическим» уровням разнообразия, где нет репродуктивной совместимости, соответственно, нет основанных на ней популяционно-адаптационных процессов. Перед биологией в целом стоит двуединая цель: (1) сохранить максимально устойчивыми природные экосистемы; (2) разработать максимально эффективные схемы селекции и технологии культивирования ее продуктов. Решение этих задач сильно затруднится, если нижние этажи системы будут основаны на преимущественно нейтральных элементах разнообразия, слабо связанных с популяционными процессами и адаптацией, с

возможностью межвидового скрещивания. Поэтому на генетическом уровне организации разнообразия ботаническая система должна быть построена именно на эколого-генетической основе.

Важнейший вопрос такой: Как назвать совокупность репродуктивно совместимых видов - главную, основную, центральную единицу биоразнообразия? В истории науки ее называли по-разному: компариум, сингамеон и т.д. Ни один из этих терминов не прижился как общепотребительный потому, что они находились за пределами кодексов ботанической номенклатуры (род – вид – подвид - разновидность), следовательно, считались узкоспециальными и, действительно, использовались лишь очень узкими специалистами. Сделать это важнейшее, центральное понятие общепотребительным можно только назвав его РОДОМ! Тогда на генетическом уровне биологического разнообразия два центральных таксономических подразделения – вид и род - наполнятся конкретным строго объективным содержанием. Мы предлагаем ученому сообществу сделать этот последний и решительный шаг к естественной системе природы.

### **On species and genus criteria: attempt of system analysis of a problem**

Goroshkevich S. N.

*Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems SB RAS, Tomsk, Russia*

It is usually assumed that the genetic interaction between individuals occurs only within a species as the main systematic category, because the main criterion for biological species is its inability to interbreed with other species. However, it is hard to find even a few of such species among the forest woody plants. More than half of the species (probably even 2/3) have modern hybrid zones. The rest either had them in the past (reticulate evolution) or can have them in the future (as they are reproductively compatible). In other words, the most universally recognized species are not species in a universally recognized meaning of this term. How can this problem be solved?

There are two possible solutions. (1) Unite all reproductively compatible individual aggregates in one species using the basic criterion of the species. (2) Do not consider species as a basic systematic category, the main product and the main unit of the evolutionary process. We offer to believe the totality of reproductively compatible species is the basic systematic category, the main product and the main unit of the evolutionary process. We stand for the second option and invite the scientific community to join this idea. Why? Because the main condition for the origin of perspective evolutionary novations is a reproductive incompatibility of a new phylogenetic branch with other related branches. Under favorable coincidence, this new branch gives rise to a new system of branching: a set of essentially different, but reproductively compatible individual aggregates. Such system of branching is the main unit of biological evolution. Because population processes "work" inside this system and outside there is a further divergence of reproductively incompatible branches of the phylogenetic tree.

From Linnaeus' time and to nowadays botanical taxa are delimited according to botanists' arbitrariness. Neutral morphological features were used for this before and now there are neutral molecular markers of diversity. It is right, if it refers to high "taxonomic" levels of diversity where there is no reproductive compatibility and respectively there are no population and adaptive processes based on this reproductive compatibility. There is a twofold purpose for modern biology: (1) to maintain natural ecosystems maximal stable; (2) to develop the most effective schemes of breeding and cultivation technologies of its products. Solving of these problems will greatly be hampered if the lower floors of the system are based on mainly neutral elements of a variety, weakly connected with the possibility of interbreeding, population processes, and adaptation. Therefore, at the genetic level of organization diversity, a botanical system should be built exactly on the ecological and genetic basis. The most important question is: how can we call a set of reproductively compatible species - main, basic, the central unit of biodiversity? In the history of

science, it was called differently: komparium, singameon etc. None of these terms was widely used because they were outside the Code of Botanical Nomenclature (genus - species - subspecies - variety) and therefore considered to be narrowly specialized and indeed used only by very narrow specialists. There is only one way to make this central conception widely used. It is to call it GENUS! Then at the genetic level of biological diversity these two central taxonomic units (species and genus) will fill with a concrete strictly objective content. We offer the scientific community to make this last and decisive step to the natural system of nature.

***Spiroplasma* - цитоплазматический симбионт *Harmonia axyridis* Pallas – разнообразие и вовлеченность в глобальную инвазию**

Горячева И.И.<sup>1</sup>, Блехман А.В.<sup>2</sup>, Андрианов Б.В.<sup>1</sup>, Романов Д.А.<sup>1</sup>, Захаров И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

*Harmonia axyridis* Pallas (1763) (Coleoptera: Coccinellidae) – крупная хищная кокцинеллида, широко использовавшаяся в конце прошлого века как агент биологического контроля тлей и кокцид. В целях биологического контроля этот вид начиная с 1916 года неоднократно интродуцировался в Северную Америку, с 1982 г. – в Европу и с 1986 г. – в Южную Америку. Несмотря на периодически повторяющиеся в целях акклиматизации выпуски насекомых из различных популяций нативного ареала в регионы-реципиенты, *H. axyridis* на протяжении десятилетий не натурализовалась в новых для нее местообитаниях. В конце XX-го века неожиданно началась глобальная экспансия азиатской божьей коровки, актуализировавшая вопросы причин приобретения видом способности к распространению и захвату новых территорий. В качестве специфического генетического фактора с позиций преадаптации к инвазиям могли рассматриваться симбиотические микроорганизмы насекомых.

*Spiroplasma* является облигатным репродуктивным симбионтом *H. axyridis* и детерминирует у вида-хозяина андроцид. При исследовании 8-ми популяций нативного ареала (5-ти из восточной группы популяций и 3-х из западной группы популяций) и 8-ми популяций нативного ареала бактерия была обнаружена только в 6-ти популяциях нативного ареала. Доля инфицированных *Spiroplasma* особей в нативных популяциях составила 0.082 (0.039-0.145). Сравнительный анализ выявил четыре молекулярные варианта, два из которых оказались новыми. Большинство самок – около 80% – заражено несколькими линиями. Одиночная инфекция была найдена по краю ареала. Анализ множественно инфицированных самок показал, что в большинстве случаев *Spiroplasma* представлена двумя линиями, количественно они распределяющимися в соотношениях, от близких 1:1 до 7:1, причем одна из линий, как правило, представлена с большей плотностью. Кроме основных, были обнаружены редкие варианты последовательностей, которые могут возникать при рекомбинации двух основных. Существование рекомбинантных форм *Spiroplasma* в индивидуальных образцах может свидетельствовать в пользу древности заражения бактерией хозяина – *H. axyridis*. Множественная инфекция является функционально значимой, поскольку именно такой вариант распространен по ареалу хозяина. Плотность бактерии при множественной инфекции в 10 раз выше бактериальной плотности в случае единичного инфицирования. Поскольку бактериальные эффекты являются плотностнозависимыми, можно предполагать, что именно при множественной инфекции *Spiroplasma* способна детерминировать у *H. axyridis* андроцид. Отсутствие в инвазивных популяциях *Spiroplasma*, достаточно широко распространенной в нативной части ареала – до 49%, позволяет предполагать наличие отрицательной связи этого эндосимбионта с формированием способности к инвазии у *H. axyridis*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-07466



## ***Spiroplasma* - cytoplasmic symbiont of *Harmonia axyridis* Pallas - diversity and involvement in global invasion**

Goryacheva I.I.<sup>1</sup>, Blekhman A.V.<sup>2</sup>, Andrianov B.V.<sup>1</sup>, Romanov D.A.<sup>1</sup>, Zakharov I.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology of RAS, Moscow, Russia*

*Harmonia axyridis* Pallas (1763) (Coleoptera: Coccinellidae) is a large carnivorous ladybird, widely used at the end of the last century as an agent for the biological control of aphids and coccids. As a biological control agent, this species has been introduced to North America many times since 1916, to Europe since 1982 and to South America since 1986. Despite periodically releases of insects from different populations of the native range to the recipient regions, *H. axyridis* has not been naturalized in new habitats for decades. At the end of the 20th century, the global expansion of the Asian ladybird unexpectedly began, which actualized the discussion about the reasons for the acquisition by the insect species the ability to spread and colonize new territories. As a specific genetic factor of preadaptation to invasions symbiotic microorganisms may be considered.

*Spiroplasma* is the obligate reproductive symbiont of *H. axyridis* and determines male killing in the host species. In the study of 8 populations of the native range (5 from the eastern group of populations and 3 from the western group of populations) and 8 populations of the invasive range, the bacterium was detected only in 6 populations of the native range. The proportion of *Spiroplasma* infected individuals in native populations was 0.082 (0.039-0.145). Comparative analysis revealed four molecular variants, two of which turned out to be new. Most females - about 80% - are infected with several *Spiroplasma* lines. A single line infection was found on the periphery of the range. Analysis of multiple infected females showed that in most cases *Spiroplasma* is represented by two lines, quantitatively distributed in ratios, from 1:1 to 7:1. In addition to the main *Spiroplasma* lines, rare variants of *Spiroplasma* were found which can arise due to recombination. The existence of recombinant forms of *Spiroplasma* in some individual samples may indicate long evolutionary times of this symbiosis. Multiple infection is functionally significant, since this variant is widely distributed in the host's range. Density of the bacterium in the case of multiple infection is 10 times higher than bacterial density in case of single infection. Since bacterial effects are density-dependent, it can be assumed that only multiple *Spiroplasma* infection is able to determine male killing in *H. axyridis*. The absence of *Spiroplasma* in invasive populations, while this bacterium is fairly widespread in the native part of the range and infects up to 49% of the individuals in the native populations, suggests the presence of a negative relationship of this endosymbiont with the ability of *H. axyridis* for invasion.

The work is supported by grant RFBR №15-04-07466

### **Challenges in European wolf population management**

Granlund K.

*Lestijärvi, Finland*

After centuries of intense persecution, wolves (*Canis lupus*) were regarded as being practically extinct in Europe. Today the wolf is granted highest protection status in many EU countries and wolf populations are growing at an annual rate of 30 – 35 %. As wolf territories were established in settled areas, fragmentation was an increasingly important problem in the conservation of wolves. The sparse and fragmented wolf populations may have interbred with feral dogs during the early 1970's causing introgression and resulting in a complex mixture of parental genes from both dogs and wolves. Genetic monitoring of wolves started in the 1990's and the quality of the reference data constructed for populations analysis solely relied upon the expertise of

the sampling personal. As the wolves were exterminated in Europe one century earlier, less efforts were put on separating hybrids from pure wolves due to the lack of knowledge and education.

As wolf population recovery had higher priority than wolf conservation, this led to large scale introgression resulting in a huge variety of wolves' phenotypes within limited areas. When genetic methods developed, more effort was put on conservation issues. This, in turn, has led to several interesting studies. Ettore Randi et al found extensive introgression (87 %) in the Italian wolf population. According to his research team hybridization happened during the early phases of population re-expansion in Italy. Zhenxin Fan et al came to the conclusion that 25 % of the European wolf population carries traces of dog introgression.

Large scale introgression has most likely polluted the reference populations in different countries making it impossible to separate pure wolves from wolves with dog genes. This, in turn, has led into a situation, where genetically pure wolves do not meet the morphological requirements defined when systematics as the science for classifying organisms was created. In order to turn wolf conservation back on the track I will present experienced problems with SNP and microsatellites, and encourage the scientific society to use genetic markers and methods connected to phenotypic traits in order to verify the results of traditional population analysis.

### **Факторы подразделенности городской популяции**

Грачева А.С., Победоносцева Е.Ю., Курбатова О.Л.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Рассмотрены два фактора, нарушающие генетическую целостность городской популяции: 1) **пространственно-территориальная подразделенность**, вызванная неоднородностью расселения на городской территории представителей разных этнических групп или выходцев из различных регионов, и 2) **положительная брачная ассортативность**, вызванная стремлением заключать браки по принципу «подобное с подобным».

Пространственно-территориальная подразделенность (параметр  $F_{ST}$ ) городской популяции по социально-демографическим признакам, рассматриваемым как «квазигенетические» маркеры, проанализирована на примере Москвы на основе данных переписей населения 1882-2010 гг. Показано, что в конце XIX в. значения  $F_{ST} \times 10^2$  для признаков «национальность» (1,04), «конфессия» (1,14) и «сословие» (1,11) почти одинаковы. В советский период этническая топография города заметно сгладилась (0,30). Новые волны мигрантов, порожденные социально-экономическими преобразованиями последних десятилетий, создают в российских городах новую неравномерность расселения этнических групп. Компактное расселение в мегаполисе характерно в основном для представителей коренного населения Кавказа, Средней Азии и стран Юго-Восточной Азии. В 2002 г. для признака «национальность»  $F_{ST} = 0,70$ . В 2010 г. стратификация московского мегаполиса по этническому признаку ниже, чем по уровню образования, что в определенной степени отражает неоднородность расселения по имущественному и профессиональному признакам.

Было проведено сравнение уровня подразделенности населения Москвы по «квазигенетическим» и «настоящим» генетическим маркерам: по данным о распределении групп крови системы *ABO* у 44 тыс. первичных доноров, собранным в результате выезда на 100 предприятий города Москвы (Курбатова, 1975, 1977; Рычков, 1979)  $F_{ST} = 0,24 \times 10^{-2}$  – значение, близкое к уровню подразделенности по признаку «национальность» в 2010 г., но значительно ниже, чем по уровню образования.

Уровень положительной брачной ассортативности по количественному (возраст) и качественным (национальность, место рождения, профессия, уровень образования) признакам проанализирован по материалам ЗАГС и церковно-приходских книг Москвы. Показано, что по сравнению с концом XIX в. снизилось предпочтительное заключение

браков с земляками, представителями своей этноконфессиональной и профессиональной группы. Однако для «молодых» национальных общин, еще не вполне интегрировавшихся в иноэтническую городскую среду, и в XIX в. характерны высокие индексы брачной ассортативности. Они являются индикаторами заметных этнокультурных барьеров, которые в то же время способствуют сохранению этнических меньшинств и их генофондов, иначе обреченных на быстрое «растворение» в больших популяциях.

Таким образом, компактность расселения на территории мегаполиса и положительную брачную ассортативность по этнотерриториальному признаку можно рассматривать как адаптивную стратегию «дальних мигрантов», которая облегчает их адаптацию в новой этнокультурной среде, но в то же время приводит к эффектам, аналогичным инбридингу. Рассмотренные данные говорят о том, что население мегаполиса имеет сложную инфраструктуру и не соответствует модели «большой панмиксной популяции». Этот вывод важно учитывать при формировании популяционных выборок и генетических баз данных в целях здравоохранения и криминалистики.

Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: Современное состояние и проблемы развития» Подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов».

### **Factors of subdivision of an urban population**

Gracheva A.S., Pobedonostseva E.Yu., Kurbatova O.L.  
*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Two factors, breaking the genetic integrity of an urban population, have been considered: 1) ***spatial-territorial subdivision*** caused by the settlement heterogeneity of representatives of different ethnic groups or migrants from different regions on the urban territory, and 2) ***positive assortative mating***, caused by the marriage preferences on the principle of "like with like".

Spatial-territorial subdivision (parameter  $F_{ST}$ ) of an urban population with respect to socio-demographic characteristics, considered as quasi-genetic markers, has been analyzed on the example of Moscow on the basis of 1882-2010 census data. It was shown that in the late 19 century values of  $F_{ST} \times 10^2$  for such characteristics as "nationality" (1.04), "confession" (1.14) and "estate" (1.11) are almost equal. In the Soviet period, ethnic topography of the city had noticeably smoothed (0.30). New waves of migrants, generated by social and economic transformations of the recent decades, create new nonuniformity of ethnic groups settlement in Russia's cities. Compact settlements in megalopolis are characteristic mainly for the representatives of indigenous ethnic groups of the Caucasus, Central Asia and South-East Asia. In 2002, for the characteristic "nationality"  $F_{ST} = 0.70$ . In 2010, the Moscow megalopolis stratification based on ethnicity was lower than that based on the level of education, which reflects to some extent settlement differentiation with respect to income level and professional status.

The level of subdivision of the Moscow population by "quasi-genetic" and "real" genetic markers has been compared: according to the data on the distribution of *ABO* blood groups in 44 thousand primary donors, collected as a result of visits to 100 Moscow enterprises (Kurbatova, 1975, 1977, Rychkov, 1979),  $F_{ST} = 0.24 \times 10^{-2}$ , the value close to the level of subdivision in 2010 with respect to "nationality", but significantly lower than for the level of education. The level of positive assortative marriage for quantitative (age) and qualitative (nationality, place of birth, occupation, education level) traits was analyzed using Moscow registry office marriage certificates and parish books. It was shown that as compared with the late 19 c. preferential marriage with compatriots, representatives of the same ethnic, religious and professional groups has reduced. However, the "new" ethnic communities which are not yet fully integrated into the foreign ethnic and cultural urban environment, are still characterized by high indices of assortative mating, even in the 21 c. They are indicators of significant ethnic and cultural barriers, which at the same time contribute to the preservation of ethnic minorities and their gene

pools, otherwise doomed to a rapid "dissolution" in large populations.

Thus, the compact settlement on the urban territory and positive assortative mating for ethno-territorial characteristics can be considered as an adaptive strategy of "distant migrants", which facilitates their adaptation to the new ethno-cultural environment, but at the same time leads to effects similar to inbreeding. The above data suggest that the population of megalopolis has a complex infrastructure and does not match the model of the "large panmictic population". This conclusion is important to consider in the formation of population samples and genetic databases for the purposes of public health care and criminology.

The work is partly supported by the Program of Fundamental Researches of RAS Presidium «Alive nature: Modern state and problems of development» Subprogram «Dynamics and conservation of gene pools».

### **Генетическое разнообразие мелких млекопитающих в условиях воздействия малых доз радиации в зоне влияния Восточно-Уральского радиоактивного следа**

Григоркина Е.Б.<sup>1</sup>, Ракитин С.Б.<sup>1</sup>, Оленев Г.В.<sup>1</sup>, Тарасов О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ФГУП ПО «Маяк», Озерск, Россия

Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС) – результат Кыштымской радиационной аварии 1957 года на Южном Урале – уникальный природный полигон для исследования аккумуляции радионуклидов и отдаленных последствий радиационного воздействия в малых дозах у живых организмов. Зона ВУРСа специфична по конфигурации и размерам – узкая протяженная территория с резко падающим в поперечном сечении градиентом радиоактивного загрязнения. Основным загрязнителем в зоне ВУРСа – <sup>90</sup>Sr, который накапливается в костной ткани позвоночных животных и служит источником внутреннего облучения, способным индуцировать геномную нестабильность. Согласно современным данным, облучение приводит к увеличению частоты возникновения мутаций в соматических и половых клетках человека и мышей (Dubrova et al., 2006; Дуброва, 2016). Генетические исследования в радиационном заповеднике показали увеличение интенсивности мутационного процесса у грызунов из зоны ВУРСа и сопредельных территорий (Шевченко, Померанцева, 1985; Гилева и др., 1996; Yalkovskaya et al., 2011; Ракитин и др., 2016).

В настоящей работе впервые с помощью двух молекулярно-генетических маркеров (микросателлитная ДНК и фрагмент гена цитохрома *b* (*cyt b*) митохондриальной ДНК) было обнаружено увеличение генетического разнообразия у красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) из головной части зоны ВУРСа (поставарийная плотность радиоактивного загрязнения почвы <sup>90</sup>Sr – 18.5 МБк/м<sup>2</sup> = 500 Ки/км<sup>2</sup>), по сравнению с удаленной референтной территорией. Актуальные дозовые нагрузки на биоту в зоне ВУРСа относятся к диапазону малых доз. Удельная бета-активность <sup>90</sup>Sr в скелете полевок составляла 105.5±92.1 Бк/г, максимальное и минимальное значения различались в 41 раз. Особо отметим факт увеличения параметров внутривидового генетического разнообразия, оцененного с использованием локусов микросателлитной ДНК (аллельное разнообразие, число уникальных аллелей) и фрагмента гена *cyt b* мтДНК (нуклеотидное разнообразие, среднее число парных различий между гаплотипами), у полевок на сопредельном зоне ВУРСа участке, где уровень радиоактивного загрязнения соответствует фоновому. Полученные результаты свидетельствуют о генетической эффективности миграционных процессов – «эффективной» миграции (по Ю.П. Алтухову, 2003), результатом которой является формирование генофонда популяций в зоне влияния ВУРСа за счет генных потоков, создаваемых мигрантами, включая наследуемую геномную нестабильность. Прямые экспериментальные данные мечения животного населения в зоне ВУРСа тетрациклином (Григоркина, Оленев, 2013) показали, что доля мигрантов на сопредельных территориях

варьирует от 5 % до 30 %. Сходные оценки получены нами по радиоактивной метке ( $^{90}\text{Sr}$ ) в разные по численности годы и сезоны отлова. Рассмотрение структуры выборки мигрантов показывает наличие в ней особой всех половозрастных и функциональных групп животных (индивидуумов разных типов онтогенеза) (Оленев, 2002).

Таким образом, суммарный эффект малых доз радиации приводит к повышению нестабильности генома, следствием которой является увеличение генетического разнообразия у подвижных видов грызунов из зоны ВУРСа, несмотря на их высокую миграционную активность, и, следовательно, постоянно меняющийся состав населения. Результаты работы позволяют рекомендовать использование молекулярно-генетических маркеров для оценки отдаленных последствий радиационного воздействия у модельных видов мелких млекопитающих, в том числе, на сопредельных территориях.

Работа частично поддержана Программой УрО РАН (№ 15-2-4-21, 15-3-4-49).

### **Genetic diversity of small mammals inhabiting the Eastern-Urals Radioactive Trace zone exposed to low-dose radiation**

Grigorkina E.B.<sup>1</sup>, Rakitin S.B.<sup>1</sup>, Olenev G.V.<sup>1</sup>, Tarasov O.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology UrB RAS, Yekaterinburg, Russia*

<sup>2</sup>*FGUP PO "Mayak", Russia*

The East Urals Radioactive Trace (EURT) zone has appeared in the result of Kyshtym Accident (1957), which took place in the Urals, Russia. Nowadays, EURT zone might be considered as a unique test range where comprehensive studies of both radionuclide accumulation and long-term biological consequences of low dose radiation could be carried out in living organisms. The EURT zone is specific because of its configuration and dimensions – it is a narrow, extended territory where levels of soil pollution in the both cross directions falls quite sharply.  $^{90}\text{Sr}$  – the main pollutant in the EURT zone which is accumulated in the bone tissue of vertebrates. So radiostrontium is a source of internal irradiation which can induce genome instability. According to new data, irradiation results in increase of somatic and germline mutation rate in both – men and mice (Dubrova et al., 2006; Dubrova, 2016). Genetic researches in Radiating Reserve have revealed a substantial increase of mutation process intensity in rodents from both the head part of EURT zone and adjacent area (Shevchenko, Pomerantzeva, 1985; Gileva et al., 1996; Yalkovskaya et al., 2011, Rakitin et al., 2016).

In the present work we firstly have shown that actually levels of radioactive contamination in the head part of EURT zone are induced an increased genetic diversity in the model species – northern red-backed voles (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) estimated by two molecular markers: microsatellite DNA loci and fragment of *cyt b* gene of mitochondrial DNA, as compared to distant reference area. Initial (after incident) density of soil pollution by  $^{90}\text{Sr}$  in the head part of EURT zone is – 18.5 MBq/m<sup>2</sup> (500 Ci/km<sup>2</sup>). Actual dose loads in non-human biota in the EURT zone are low doses of radiation. The mean value of specific radiostrontium  $\beta$ -activity deposited in the bone tissue of voles from impact site was 105.5±92.1 Bq/g. The maximum and minimum values differed by 41 times (329 and 7.94 Bq/g, respectively). Special attention should be payed to an increase in some indices of genetic diversity estimated by both – loci of microsatellite DNA (allelic diversity, number of unique alleles) and fragment of *cyt b* gene of mitochondrial DNA (nucleotide diversity, mean number of pairwise differences between haplotypes) in voles from the contiguous to the EURT zone site, where the level of radioactive pollution corresponds to those in the background territories. Received data testify to genetic importance of rodent's migrations – "effective migration" (on J.P. Altuhov, 2003), which results in formation of population's genepool in the EURT zone due to gene flows brought by migrants, including genetic instability inherited from them. High migration mobility of rodents in the zone of local radioactive contamination was proved by direct experimental data of a large-scale labeling of small mammals population with tetracycline hydrochloride label. The share of migrants on adjacent territories varies from 5% up to 30%

(Grigorkina, Olenev, 2013). Similar estimations of a migrant's share are received by usage of radioactive label ( $^{90}\text{Sr}$ ) in different monitoring years and seasons (our data). Presence of individuals belonging to different sex and functional status (types of ontogeny development) (Olenev, 2002) in migrant's structure was shown.

Thus, summarizing the data obtained, one can conclude: (1) The cumulative effect of low radiation doses induce increase of genome instability, consequence of which is increase of genetic variety of mobile small mammals in the EURT zone, despite of their high migratory activity and, hence, constantly varying population set. (2) Results of work allow using these molecular-genetic markers for estimation of remote radiation-induced effects in rodents, including the contiguous areas.

The work was partly supported by the Program of Basic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Science (projects 15-2-4-2, 15-3-4-49).

### **Новые данные по филогеографии обыкновенной летяги *Pteromys volans* (Linnaeus, 1758) и происхождение популяции на юго-западе Московского региона**

Грицьшин В.А.<sup>1</sup>, Артющин И.В.<sup>1</sup>, Белоконов М.М.<sup>2</sup>, Захаров Е.С.<sup>3</sup>, Авилова К.В.<sup>1</sup>,  
Абрамов А.В.<sup>4</sup>, Низовцев Д.С.<sup>5</sup>, Гашев С.Н.<sup>5</sup>, Политов Д.В.<sup>2</sup>, Банникова А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

<sup>4</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup>Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

В настоящее время опубликовано уже несколько работ, посвященных филогеографии обыкновенной летяги. Ошида с соавторами (Oshida et al., 2005) по результатам секвенирования гена *cytb* выявили три группы. Их распространение приурочено к 1) континентальной части Дальнего Востока, 2) острову Хоккайдо и 3) остальной части ареала, простирающегося на всю таёжную зону Евразии, соответственно. Исследовано генетическое разнообразие этого вида на Дальнем Востоке (Lee et al., 2008) и Урале (Yalkovskaya et al. 2015). В составе группы «Северная Евразия» выделяют подгруппы «Восток» и «Запад», последняя самая молодая и заселяет территорию от Иркутской области до Прибалтики и Финноскандии. Она слабо структурирована, что также предполагает её недавнее расселение. Восточная подгруппа выделяется не всеми авторами, возможно из-за более выраженной географической структуры. Дальневосточные популяции характеризуются наибольшим разнообразием и древностью линий.

В окрестностях Звенигородской биостанции МГУ (ЗБС) летяга известна с 70-х годов прошлого века. Как отмечают многие исследователи, а также по личным сообщениям московских зоологов, местная популяция была непреднамеренно интродуцирована. Летяги содержались на ЗБС в вольерах до начала 80-х годов, и известны случаи их побегов из неволи. Завоз производился из Сихоте-Алинского заповедника, из Саян и, возможно, Печоро-Илычского заповедника. В последние годы на биостанции изредка содержатся в вольерах животные, пойманные в окрестностях.

В данной работе мы исследовали выборку летяг, пойманных на ЗБС в 2010 и 2012 годах (n=21), а также животное, добытое недалеко от г. Наро-Фоминска (Московская обл.). Также мы использовали экземпляры (n=21) из коллекции ЗИН РАН, включая часть проб из работы Ошиды с соавторами (Oshida et al., 2005). Кроме того, мы исследовали выборки из Уватского района Тюменской области (n=11) и из Ленского (n=2), Нюрбинского (n=1) и Алданского (n=6) районов Республики Саха (Якутия). Секвенировали последовательность митохондриального гена *cytb* (801-1140 п.о.) и проводили анализ семи микросателлитных локусов. Все образцы летяг с ЗБС (n=13), для которых получены последовательности *cytb*, несут единственный гаплотип, описанный ранее из Троицкого округа Москвы (Бабенко,

Мещерский, 2016). Разнообразие звенигородской популяции по микросателлитным маркерам меньше природных популяциях из Тюменской области и Якутии. По аллельному составу популяция ЗБС отличается от них обеих и содержит аллели, обнаруженные только у дальневосточных летяг. Наши данные не противоречат версии о единственном основателе звенигородской популяции по материнской линии.

Отдельную ценность представляют последовательности *cytb* 6 особей из Тюменской области и 9 особей из Якутии. Микросателлитный анализ проводился для 8 и 9 особей из этих регионов, соответственно. В Тюменской области было обнаружено 2 гаплотипа. Один соответствует PV25, описанному Ошидой с соавторами, и обнаруженному в Кировской области и на Среднем Урале. Второй соответствует Pt6, обнаруженному на Среднем Урале. Наши данные полностью подтверждают отсутствие барьерной роли Уральских гор в филогеографии обыкновенной летяги. Важно отметить, что гаплотип PV25 был обнаружен во всех относительно репрезентативных выборках из этого региона, на протяжении более чем тысячи километров от Кировской области до Тюменской. Он является наиболее многочисленным во всех выборках из данного региона. Все остальные гаплотипы из этих выборок являются производными от него с 1-2 заменами.

Генетическое разнообразие якутской популяции по микросателлитам сопоставимо с тюменской, но по митохондриальной ДНК эта популяция значительно разнообразнее. Мы обнаружили представителей подгруппы «Запад» основной евроазиатской группы с 2 гаплотипами в Ленском и Нюрбинском районах, а в Алданском – подгруппы «Восток» с 5 гаплотипами. Северо-западная подгруппа представлена широко распространенным PV25, и гаплотипом, описанным нами впервые, который занимает в подгруппе самое базальное положение. Ближайшая находка этой линии была сделана ранее более чем в семистах километрах юго-западнее, в Иркутской области. Гаплотипы из восточной подклады подразделены следующим образом: 4 особи и 3 гаплотипа формируют обособленный кластер, и по одному гаплотипу представлено из кластеров, относимых к Читинской области, по данным Ли с соавторами, и северной части Якутии, из данных Ошиды с соавторами. Эти данные подчеркивают филогеографический контраст между западной и восточной подгруппами евразийской группы летяг. Для первой характерна чрезвычайно слабая структура. Второй, наоборот, свойственна четкая географическая приуроченность гаплотипических кластеров, хотя имеются и следы генетического перемешивания. На территории Якутии обитают летяги обеих подгрупп, что говорит о сложном механизме её заселения.

Авторы выражают благодарность А.А. Панютиной и О.Г. Ильченко за предоставленный материал. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №15-29-02771офи-м).

### **New data on Siberian flying squirrel (*Pteromys volans*) phylogeography and the origin of population in the southwest of Moscow region**

Gritsyshin V.A.<sup>1</sup>, Artyushin I.A.<sup>1</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Zakharov E.S.<sup>3</sup>, Aviolve K.V.<sup>1</sup>, Abramov A.V.<sup>4</sup>, Nizovtsev D.S.<sup>5</sup>, Gashev S.N.<sup>5</sup>, Politov D.V.<sup>2</sup>, Bannikova A.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia

<sup>4</sup>Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

<sup>5</sup>Tyumen State University, Tyumen, Russia

There is a number of papers addressing Siberian flying squirrel (*Pteromys volans*) phylogeography, mainly based on mtDNA *cytb* gene sequencing data. Three haplogroups were found previously: 1) in the continental Far East, 2) on Hokkaido Island, and 3) spread over all the rest of the species range, respectively. Local studies were published regarding the Far East and the

Ural mountains. Eurasian haplogroup is subdivided into 'Eastern' and 'Western' subgroups, the later being found from Fennoscandia to Irkutsk region with a very weak geographical structure. We sequenced mtDNA *cytb* gene and genotyped by 7 microsatellite loci samples from Tyumen region (Western Siberia, n=11), Sakha (Yakutia) Republic (n=9) and from vicinities of Zvenigorod Biological Station (Moscow region, n=21), where population is thought to be inadvertently introduced. Also we re-analyzed haplotypes from the samples earlier studied (Oshida et al., 2005; Lee et al., 2008; Yalkovskaya et al., 2015.). In Zvenigorod population, we found only 'Far Eastern' haplotype and a very low microsatellite diversity. Tyumen population is closely related to the one from Ural mountains and shows moderate diversity. Both 'Eastern' and 'Western' haplotypes were found in the samples from southern Yakutia, which suggests a complex expansion pattern of flying squirrels in that region.

### **Генетическая и историческая дифференциация автохтонных популяций Южной Сибири**

Дамбуева И.К.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>, Базаров Б.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия*

<sup>2</sup>*ЦКП «Геномика» Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*Институт монголоведения, буддологии и тибетологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия*

В последние годы изучение генетической истории автохтонных народов Центральной Азии и Сибири стало самостоятельной научной проблемой (Деренко, Малярчук, 2010; Xing et al., 2013; Tateno et al., 2014) в связи с появлением новых технологий полногеномного секвенирования, позволяющих точнее выявлять характерные гаплотипы, соответственно, устанавливать филогенетические связи, как между группами этносов, так и их отдельными представителями. Цель нашего исследования – изучить связь между этническими группами бурят (подразделенная популяция) с помощью этноисторических и геномных исследований. Из племенных объединений бурят в исследование были вовлечены представители таких крупных групп как булагаты, эхириты, хори, хонгодор. Из состава булагатов были вовлечены представители малых групп, таких как ашибагат, готол, бубай, харанут, из состава эхиритов – шоно, хэнгэлдэр, хойбо, из состава хори – хубдут, галзут, бодонгут, саган. Кроме того, в анализ включили представителей не крупных племен: шаранут, тэртэ, зунгар, хурумши, замот, цонгол. Так как исследование касалось как Y-ДНК так и мтДНК, учитывались происхождение как по отцовской, так и по материнской линии. Анализ социальной и этнической структуры, а также митохондриальных геномов 20 представителей бурятского этноса указывает на то, что высокое разнообразие племенных групп среди современной популяции бурят обусловлено генетической структурой. Полногеномное секвенирование проводилось на платформе SOLID 5500xl (Life Technologies) с длиной прочтения 60+60 нт. в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск). Геномный анализ выявил наиболее характерные гаплогруппы митохондриальной ДНК (A, D, G, R), а также C, H, K, M, X, Y-хромосомы (C,R), также сделаны оценки времени их появления в генофонде изученных представителей этноса. Результаты свидетельствуют о высоком генетическом разнообразии этнических групп бурят, относящихся не только к крупным племенным объединениям, но и к малым племенам, указанным выше, обусловленном разнообразием материнского генетического субстрата. Полученные оценки времени появления гаплогрупп митохондриальной ДНК имеют большое значение в плане реконструкции процессов заселения Сибири. Уточнены составы наборов ключевых мутаций, определяющих группы и подгруппы митохондриальной ДНК, характерных для этнотерриториальных групп бурят. Филогенетический анализ данных об изменчивости митохондриальной ДНК и Y-хромосомы позволил реконструировать генетические взаимоотношения между этническими группами бурят и популяциями Центральной, Восточной Азии, Европы и Южной Сибири.



Исследование выполнено при поддержке проекта СО РАН №92, Российского гуманитарного научного фонда №15-01-00317»Исследование исторической и генетической дифференциации коренных народов Южной Сибири»

## **Genetic and historical differentiation of the autochthonous populations of Southern Siberia**

Dambueva I.K.<sup>1</sup>, Kabilov M.R.<sup>2</sup>, Bazarov B.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia*

<sup>2</sup>*Centre «Genomika» Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Institute of Mongolian, Buddhist and Tibetan Studies SB RAS, Ulan-Ude, Russia*

In recent years studying of genetic history of the autochthonic people of Central Asia and Siberia became an independent scientific problem (Derenko, Malyarchuk, 2010; Xing et al., 2013; Tateno et al., 2014) in connection with emergence of the new technologies of a full-genomic sequencing allowing to reveal more precisely characteristic haplotypes, respectively, to establish phylogenetic connections, both between groups of ethnoses and their certain representatives. Attraction of methods of genomic researches for studying the problem of historical differentiation of ethnic groups will help to research in a new way microevolution of the Buryats. The purpose of our research was to study connections between ethnic groups of the Buryats (the subdivided population) by ethnohistorical and genomic methods. Representatives of large groups as Bulagats, Ekhirits, Khory, Khongodors were involved in a research. From Bulagat representatives there were Ashibagat, Gotol, Bubay, Kharanut, from Ekhirits – there were Shone, Khengelder, Khoybo, from Khori there were Khubdut, Galsut, Bodongut, Tsagan. Besides, the representatives of medium-sized tribes were included in the analysis such as: Sharanut, Terte, Zungar, Khurumshy, Zamot, Tsongol. As the research concerned as Y-DNA and mtDNA, there were considered an origin both on fatherly, and on the maternal line. The analysis of social and ethnic structure, and also mitochondrial genomes of 20 representatives of the Buryat ethnos specifies that a high variety of ethnic groups among modern population the Buryat is caused by genetic structure. The full-genomic sequencing was carried out on the SOLID 5500xl (LifeTechnologies) platform with a length of reading of 60+60 np. (centre "Genomics" Institute of Biological Chemistry and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Science, Novosibirsk). The genomic analysis revealed the most characteristic haplogroups of mitochondrial DNA (A, D, G, R), and also C, H, K, M, X, Y-chromosomes (C, R), time estimates of their emergence in a gene pool of the studied representatives of ethnoses are also made. Results testify to a high genetic variety of the ethnic groups the Buryat belonging not only to large ethnic associations, but also to the small tribes stated above, caused by a variety of a maternal genetic substratum. The received emergence of time estimates of the mitochondrial DNA is of great importance in the rebuilding plan of processes of settling of Siberia. Structures of sets of the key mutations determining groups both the subgroups of mitochondrial DNA characteristic of ethnoterritorial groups were specified. The phylogenetic analysis of data on variability of mitochondrial DNA and Y-chromosome of the Buryats and other populations of Central, East Asia, Europe and Southern Siberia allowed to reconstruct genetic relations between ethnoses.

Study was supported by SB RAS project N92, by Russian foundation for humanity N15-01-00317 "Investigation of genetic and historical differentiation of the indigenous populations of southern Siberia".

## Молекулярно-генетическое исследование бета-талассемии в России

Демидова Е.Ю., Селиванова Д.С., Цветаева Н.В., Сурин В.Л.  
ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ, Москва, Россия

Бета-талассемия – рецессивное наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене бета-глобина. Талассемические мутации имеют, как правило, древнее происхождение и являются генетическими характеристиками для различных этнических групп. Данная работа посвящена установлению спектра мутаций в гене бета-глобина у гетерозиготных носителей бета-талассемии из России. Мы анализировали ДНК, выделенную из клеток периферической крови. Все функционально важные участки гена амплифицировали и секвенировали в виде двух фрагментов, один из которых содержал промоторную область и два первых экзона, а второй – экзон 3, энхансер и сайт полиаденилирования. Определены мутации в гене бета-глобина у 120 неродственных гетерозиготных носителей бета-талассемии (малая талассемия), относящих себя к русской популяции. Общий спектр выявленных генетических дефектов представлен 24 мутациями. Три из них являются новыми для мировой популяции. Это микроинсерция CD46insG, сочетанное нарушение CD49delC+CD50ACT→ATT (Thr→Ile) и микроделеция с-4\_2delCACCAT. Наиболее распространенной является замена IVSII+654C→T (22.3%). Данное нарушение приводит к образованию аномального донорного сайта сплайсинга, следствием чего является включение в зрелую мРНК бета-глобина фрагмента интронной последовательности длиной 73 п.н. (Cheng et al, 1984), и ассоциируется с фенотипом бета(0)/бета(+). В отличие от остальных, она практически не встречается в Средиземноморье (единственный случай в Сирии) и очень широко распространена в Китае (21.4%), Японии (12.0%) и странах Юго-Восточной Азии (5.1- 46.3%). Вполне вероятно, что в Россию она проникла через Дальний Восток или Среднюю Азию (аналогичный мутантный аллель был найден нами у пациента из Казахстана). Мутация CD8delAA (12.7%), скорее всего, пришла в Россию с Ближнего Востока через Кавказ. По нашим данным она является мажорной в Азербайджане и Армении (35.8% и 52.4% соответственно), а также в Грузии и Дагестане (малые выборки, нет статистики). С достаточно высокой частотой встречаются в России мутации IVSI+110G→A (10.3%), IVSII+745C→G (7.9%), VSI+6T→C (7.1%) и IIVSI+1G→A (5%). Все они имеют средиземноморское происхождение и могли прийти на территорию России через Кавказ или Балканы. Из 4-х последних наиболее интересной представляется мутация IVSII+745, которая у всех российских пациентов, в отличие, например, от пациентов из Азербайджана или стран Ближнего Востока, сочетается с очень редким полиморфизмом CAP+20C→T, имеющим, по всей вероятности, более позднее происхождение. Аналогичное сочетание до настоящего времени было найдено только в Болгарии и Испании.

### Molecular genetic research of beta thalassemia in Russia

Demidova E.Y., Selivanova D.S., Tsvetaeva N.V., Surin V.L.  
*National Research Center for Hematology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation,  
Moscow, Russia*

Beta thalassemia is a hereditary recessive disorder, caused by mutations in beta globin gene (HBB). Thalassemic mutations mostly have ancient origin and can be a genetic characteristic of different ethnic groups. This research was focused on the description of HBB gene mutation spectrum in heterozygous carriers of beta thalassemia in Russia. We analyzed the DNA extracted from peripheral blood cells. All functionally important regions of the gene were amplified and sequenced as two fragments, one containing the promoter region and the first two exons, the second – the exon 3, an enhancer and a polyadenylation site. We revealed mutations in the HBB gene for

120 heterozygous carriers of beta thalassemia (thalassemia minor), self-identified as Russians. Altogether 24 genetic defects were found, 3 of them being new and never reported previously. These are microinsertion CD46insG, combined mutation CD49delC+CD50ACT→ATT (Thr→Ile) and microdeletion c.-4\_2delCACCAT. The most widespread mutation appeared to be IVSII+654C→T (22.3%) which was previously found in Russia only once (1.6% according to Curuk et al, 1994). This mutation is almost absent in Mediterranean (found only once in Syria), but widespread in China (21.4%), Japan (12.0%) and across the Southeast Asia (5.1-46.3%). It is possible that this mutation came to Russia through the Far East or Central Asia, as it was found also in one Kazakhstan patient. Mediterranean microdeletion CD8delAA (12.7%) may come to Russia from the Middle East through the Caucasus. It is common in Azerbaijan and Armenia (35.8% and 52.4%). Mutations IVSI+110G→A (10.3%), IVSII+745C→G (7.9%), VSI+6T→C (7.1%) and II VSI+1G→A (5%) were also shown to be major. All of them have Mediterranean origin and could have come to Russia through the Caucasus or the Balkans. Most interesting appears to be the mutation IVSII+745, which in all Russian patients was combined with a very rare polymorphism CAP+20C→T, a combination not met in Azerbaijan or the Middle East. This polymorphism has probably a more recent origin, and the combination is previously found only in Bulgaria and Spain.

### **Генетическая характеристика межвидовых гибридов крабов-стригунов бэрди (*Chionoecetes bairdi*) и опилио (*Chionoecetes opilio*)**

Денисенко А.Д., Косицына А.И., Пильганчук О.А., Иванов П.Ю., Пучнина Е.В., Шпигальская Н.Ю.

*Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Петропавловск-Камчатский, Россия*

На шельфе Западной Камчатки при изучении и мониторинге состояния запасов крабов-стригунов отмечено существенное количество особей, имеющих морфологические признаки двух видов — краба-стригуна бэрди и краба-стригуна опилио. Оценка запаса, прогнозирование динамики численности и ежегодное обоснование величины оптимально допустимых уловов (ОДУ) для каждого вида производится отдельно. В связи с существенной долей «гибридных» (имеющих морфологические признаки обоих видов) особей, видовая принадлежность которых на генетическом уровне не определена, увеличивается погрешность прогнозных оценок запаса и рекомендуемых величин ОДУ. В данной работе представлены результаты анализа трех выборок крабов-стригунов (краб-стригун бэрди — 100 экз., краб-стригун опилио — 100 экз. и «гибридные» особи — 200 экз.), собранных в период проведения донной траловой съемки на западнокамчатском шельфе в июне–июле 2014 г. на НИС «ТИНРО». Были проанализированы 2 фрагмента (COI и 16S) мтДНК с использованием восьми рестриктаз и исследована аллельная изменчивость четырех микросателлитных локусов ядерной ДНК.

Данные, полученные в результате анализа полиморфизма длин рестриктных фрагментов мтДНК, позволили выявить 9 комбинированных гаплотипов у 400 исследованных особей крабов-стригунов. Для краба-стригуна опилио и для «гибридных» особей оказался характерен один и тот же гаплотип (G1), частота которого составила 98%, и 93,5%, соответственно. У особей краба-стригуна бэрди был выявлен другой доминирующий гаплотипический вариант, условно обозначенный как G2 (частота встречаемости — 89%). Комбинированные гаплотипы G3–G9 встречались в исследованных выборках единично, их частота составила 0,5%–5,5%.

В результате анализа аллельной изменчивости двух микросателлитных локусов (*Cor4*, *Cor10*) было выявлено наличие видоспецифичных аллелей, с высокой частотой отмеченных в соответствующих выборках крабов-стригунов бэрди или опилио и позволяющих с высокой достоверностью дифференцировать оба вида. По двум другим локусам (*Cor3-4II*, *Cor111*) набор аллелей был намного шире, основной аллель не обнаружен, но в тоже время ряд

аллельных вариантов также оказался характерен для каждого из видов. Статистический анализ, выполненный в программах STRUCTURE и GenAlex 6, позволил получить графическое отражение генетических различий между двумя видами крабов-стригунов — исследованные особи, в соответствии с выявленными индивидуальными наборами аллельных вариантов, образовали два неперекрывающихся облака. При включении в анализ «гибридных» особей было отмечено, что большинство «гибридов» располагается в области признаков, характерных для краба-стригуна опилио. Относительно малая доля соответствует характеристикам, характерным для краба-стригуна бэрди.

На основании вероятностной оценки принадлежности всех исследованных особей к одному из двух генетических кластеров показано, что особи из выборок крабов-стригунов бэрди и опилио отнесены к каждому кластеру строго в соответствии с видовой принадлежностью, определенной по морфологическим признакам. Большая часть условно «гибридных» особей с вероятностью близкой к 100% отнесены крабу-стригуну опилио, что соответствует результатам, полученным при анализе мтДНК. Только 11 из 200 особей с вероятностью более 50% были отнесены к крабу-стригуну бэрди, на основе аллельной изменчивости, причем 3 из них имеют признаки данного вида и по результатам ПДРФ-анализа митохондриальной ДНК, наследуемой, как известно, по материнской линии. Остальные 8 особей, вероятно, следует отнести к «истинным» межвидовым гибридам, имеющим генетические признаки краба-стригуна опилио (гаплотипический вариант мтДНК) и бэрди (набор аллелей микросателлитной ДНК).

Таким образом, можно заключить, что крабы-стригуны, имеющие внешние признаки обоих видов, по генетическим признакам в подавляющем большинстве случаев (94,5%) являются крабом-стригуну опилио, а межвидовые гибриды встречаются среди таких особей с частотой всего 4%. С учетом того, что в естественной среде доля крабов, имеющих внешние характеристики присущие одновременно двум видам, как правило, невелика и не превышает 10% (Слизкин, Кобликов, Шагинян, 2000), и только 4% из них являются настоящими межвидовыми гибридами, то доля последних составляет, в целом, относительно несущественную величину 0,4%.

### **Genetic characterization of interspecific hybrids between bairdi crab (*Chionoecetes bairdi*) and snow crab (*Chionoecetes opilio*)**

Denisenko A.D., Kositsina A.I., Pilganchuk O.A., Ivanov P.Yu., Puchnin E.V.,  
Shpigalskaya N.Yu.

*Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography, Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia*

Crabs with morphological traits of two species - bairdi crab (*C. bairdi*) and snow crab (*C. opilio*) - have been observed in the course of monitoring of stock abundance condition of *Chionoecetes* on the shelf of West Kamchatka. Making an assessment of stock abundance and forecasting the stock abundance dynamics and the annual optimal allowed catch is provided now for each species separately. In view of visible frequency of mentioned «hybrid» individuals (with morphological traits of both species), although their status was not identified genetically, the forecasts can be rather uncertain. In this paper we demonstrate results of analysis of three samples of *Chionoecetes* (100 bairdi crabs, 100 snow crabs and 200 suspected hybrid individuals) collected in the course of bottom trawl survey by the R/V «TINRO» on the shelf of West Kamchatka in June–July of 2014. We had analyzed two fragments of mtDNA (COI и 16S) with using eight restriction enzymes and examined allele variety of four microsatellite loci of the nuclear DNA.

The data obtained after the analysis of the polymorphism of mtDNA restricted fragments allowed us to figure out 9 combined haplotypes for 400 crabs examined. There was the same one haplotype (G1) observed in snow crab and hybrid individuals with the frequency 98% and 93,5% respectively. Bairdi crabs had another dominant haplotype variant, conventionally named G2 (the

frequency 89%). Combined haplotypes G3–G9 were sporadic in the samples examined, the frequency was only 0,5%–5,5%.

Analysis of the allele variety of two microsatellite loci (*Cop4*, *Cop10*) revealed highly frequent species-specific alleles in samples of bairdi crab and snow crab, what makes differentiation of these two species reliable. The number of suitable alleles on two other loci (*Cop3-4II*, *Cop111*) was much higher, although there was no a main allele discovered, several allele variants were typical for each of the species. Statistical analysis, made in the programs STRUCTURE and GenAlex 6, allowed us to build graphic reflection of the genetic differences between two mentioned species of *Chionoecetes*. According to individual sets of the allele variants all examined crabs can be distributed in two nonoverlapping plots. When suspected hybrids were included into the analysis, majority of them joined the plot with the traits of snow crab. Relatively small part of hybrids demonstrated characteristics of bairdi crab.

Based on probability assessment for the membership of examined crabs in one of two genetic clusters, we demonstrated that the taxonomic membership of the crabs from the bairdi or snow crab samples was identified reliably as if it was made according to morphological description. Most of suspected «hybrid» crabs were identified as snow crabs with almost 100% likelihood, what is almost identical to results obtained from analysis of the mtDNA. Based on the allele variety, only 11 of 200 individuals were identified as bairdi crabs with the likelihood over 50%, and only 3 of them had the taxonomic traits of *Chionoecetes bairdi* at the results of the RFLP-analysis of the mtDNA inherited from maternal line. The other 8 individuals were, most likely, «true» interspecific hybrids, having genetic traits of both - snow crab (haplotype variant of the mtDNA) and bairdi crab (set of the mtDNA alleles).

It can be concluded, that crabs with the morphological traits of both *Chionoecetes* species in most cases (94,5%) would have genetic traits of snow crab. Interspecific hybrids can occur (4%) too. As the part of crabs with the traits of both *Chionoecetes* species in nature is normally low and it does not exceed 10% (Slizkin, Koblikov, Shaginyan, 2000), where only 4% are true hybrids, the final number of the hybrids should be 0,4%.

### **Использование однонуклеотидного полиморфизма в характеристике и дифференциации диких видов рода *Ovis***

Доцев А.В.<sup>1</sup>, Денискова Т.Е.<sup>1</sup>, Охлопков И.М.<sup>2</sup>, Виммерс К.<sup>3</sup>, Рейер Х.<sup>3</sup>, Брем Г.<sup>1,4</sup>,  
Зиновьева Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Всероссийский институт животноводства им. Л.К.Эрнста,  
Дубровицы, Московская обл., Россия*

<sup>2</sup>*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия*

<sup>3</sup>*Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Mecklenburg-  
Vorpommern, Dummerstorf, Germany*

<sup>4</sup>*Institut für Tierzucht und Genetik, University of Veterinary Medicine, Austria, Vienna*

Анализ однонуклеотидного полиморфизма (SNP) привел к большим успехам в изучении генетической структуры сельскохозяйственных животных. В настоящее время доступны чипы средней и высокой плотности для крупного рогатого скота, свиней, овец, лошадей и т.д. Создание чипов для изучения диких животных является экономически не выгодным, поэтому для их изучения стали использовать чипы, созданные для родственных им сельскохозяйственных видов.

Целью нашей работы являлось изучение применения чипа средней плотности разработанного для овец (OvineSNP50 BeadChip), содержащего информацию по более чем 54 тысячам однонуклеотидных полиморфизмов, в исследовании оценки биоразнообразия и генетической характеристики диких видов рода *Ovis*. Для исследования были использованы генетические профили животных из SNP библиотеки Всероссийского научно-исследовательского института животноводства имени академика Л.К. Эрнста (ВИЖ им. Л.К.

Эрнста) и профили животных, полученные из общедоступных источников (Ciani et al., 2015): снежный баран (*Ovis nivicola* Eschscholtz, 1829) (n=20), архар (*Ovis ammon* L., 1758) (n=14) и европейский муфлон (*Ovis orientalis musimon* Pallas, 1811) (n=14). Также в качестве контрольных групп в работу были включены несколько пород домашних овец (*Ovis aries*, L., 1758): романовская (n=14), цыгайская (n=14) и советский меринос (n=14). Для обработки данных использовались программы PLINK 1.07, Structure 2.3.4, R пакеты «diveRsity», «inbreedR», «VennDiagram». После проведения контроля качества и фильтрации SNP, количество полиморфных локусов у снежного барана составило 910, у архара 8066, у европейского муфлона 19721. Для домашних овец эти показатели составили 29671, 30555 и 31191, соответственно для пород романовской, цыгайской и советского мериноса.

Вследствие того, что количество полиморфных локусов значительно отличается у разных видов, использование данного чипа приведет к искаженным результатам. Поэтому для дифференциации и характеристики генетического разнообразия диких видов нами был отобран набор SNP, являющихся полиморфными у всех исследованных видов. Количество таких локусов составило 212. Индивидуальная гетерозиготность при этом наблюдалась для снежного барана на уровне от 36 до 70 локусов (в среднем  $55.6 \pm 1.9$ ), для архара от 26 до 56 ( $47.2 \pm 2.1$ ), для муфлона от 59 до 83 ( $68.7 \pm 2.0$ ) и для домашней овцы от 59 до 104 ( $83.4 \pm 1.5$ ). С использованием данного набора маркеров были успешно рассчитаны такие важные популяционные показатели как ожидаемая ( $H_E$ ) и наблюдаемая ( $H_O$ ) гетерозиготность, аллельное разнообразие ( $A$ ), попарные генетические дистанции ( $F_{ST}$ ). Таким образом, наши исследования показали, что маркеры на основе однонуклеотидного полиморфизма из чипа средней плотности могут быть использованы для изучения и характеристики диких видов рода *Ovis*. При этом для сравнения разных видов необходимо отбирать полиморфные маркеры, являющиеся для них общими.

Исследования выполнены при поддержке РФФ, проект № 14-36-00039

### **The usage of single nucleotide polymorphisms in characterization and differentiation of wild species of genus *Ovis***

Dotsev A.V.<sup>1</sup>, Deniskova T.E.<sup>1</sup>, Okhlopov I.M.<sup>2</sup>, Wimmers K.<sup>3</sup>, Reyer H.<sup>3</sup>, Brem G.<sup>1,4</sup>,  
Zinovieva N.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>L.K. Ernst Institute of Animal Husbandry, Podolsk, Dubrovitzky-60, Moscow region, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia

<sup>3</sup>Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Mecklenburg-Vorpommern, Dummerstorf, Germany

<sup>4</sup>Institut für Tierzucht und Genetik, University of Veterinary Medicine, Austria, Vienna

Analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) has led to great advances in the study of farm animals' genetic structure. Currently, medium and high-density SNP arrays are available for cattle, pigs, sheep, horses, etc. Creation of specific chips for wild animals is not economically profitable, but the successful use of chips designed for their related farm species was demonstrated in different studies.

The aim of our work was to investigate the use of medium-density chip developed for domestic sheep (OvineSNP50 BeadChip), containing information on more than 54 thousand of single nucleotide polymorphisms in the study of biodiversity and genetic characterization of wild species of the genus *Ovis*. Genetic profiles of bighorn sheep (*Ovis nivicola* Eschscholtz, 1829) (n=20), argali (*Ovis ammon* L., 1758) (n=14) and European mouflon (*Ovis orientalis musimon* Pallas, 1811) (n = 14) were taken from L.K.Ernst Institute of animal husbandry SNP Library and publicly available sources (Ciani et al., 2015). Several breeds of domestic sheep (*Ovis aries* L., 1758) were included in the work as control groups: Romanov (n = 14), Tzygai (n=14) and Soviet Merino (n=14). Statistical analysis was performed using PLINK 1.07, Structure 2.3.4 software, and R packages: «diveRsity», «inbreedR», «VennDiagram». After quality control and pruning of the

SNPs, the number of polymorphic loci in bighorn sheep was 910, in argali – 8066 and 19721 in European mouflon. For domestic sheep, these numbers were 29671, 30555 and 31191 for Romanov, Tzygai and Soviet merino breeds, respectively. Due to significant difference in the numbers of polymorphic loci across the species, the use of the entire chip will lead to distorted results. Therefore, only loci that are polymorphic in all the studied groups were selected for the set of SNPs for differentiation and characterization of genetic diversity of wild species. The amount of such loci was 212. Individual heterozygosity was observed at a level of 36 to 70 loci (mean  $55.6 \pm 1.9$ ) for bighorn sheep, from 26 to 56 ( $47.2 \pm 2.1$ ) for the argali, from 59 to 83 ( $68.7 \pm 2.0$ ) for mouflon, and from 59 to 104 ( $83.4 \pm 1.5$ ) for domestic sheep. Using this set of markers such important population genetics parameters as expected ( $H_E$ ) and observed ( $H_O$ ) heterozygosity, allelic richness ( $A$ ), pairwise genetic distances ( $F_{ST}$ ) were successfully calculated. Thus, our work has shown that the set of SNP markers derived from the medium density chip can be used to study the wild species of the genus *Ovis*. It should be noted that for comparison of different species the set of markers that are polymorphic in all of them must be used.

The research was conducted under financial support of Russian Scientific Foundation (project № 14-36-00039)

### **Индукция мутаций в половых клетках млекопитающих**

Дуброва Ю.Е.

*Кафедра генетики Университета г. Лестер, Великобритания*

Изучение генетических последствий воздействия мутагенов на половые клетки человека является одной из важнейших задач современной генетики. Однако, проведенные до настоящего времени исследования не позволили оценить генетические последствия воздействия мутагенов, включая радиацию, у человека. Поэтому, существующие в настоящее время оценки генетического риска воздействия радиации на половые клетки человека были получены при экстраполяции данных ряда исследований, в которых изучалась индукция мутаций в половых клетках мышей.

В докладе будут рассмотрены и сопоставлены результаты ряда работ, посвященных изучению индукции мутаций в половых клетках мышей, выполненных с привлечением новых методов обнаружения мутаций. В частности, будут представлены результаты работы, в которой, используя методы сиквенирования ДНК нового поколения и сравнительной геномной гибридизации, мы провели первое исследование индукции мутаций в половых клетках облученных самцов мышей. Используя метод сравнительной геномной гибридизации, мы обнаружили у потомков облученных самцов практически восьмикратное увеличение встречаемости *de novo* мутаций, приводящих к крупным перестройкам ДНК. Кроме того, при сиквенировании геномов потомков облученных родителей было выявлено статистически-значимое увеличение частоты встречаемости небольших инсерций или делеций, затрагивающих 1 – 50 пар оснований. Вопреки всем ожиданиям, среди потомков облученных самцов частота встречаемости *de novo* мутаций, приводящих к нуклеотидным замещением, практически не отличалось от таковой в контроле. В тоже время, среди потомков облученных самцов наблюдалось значительное увеличение встречаемости носителей множественных *de novo* кластеров мутационных замен (2-3 замены на сайт). Результаты нашего исследования показали, что использование методов сиквенирования ДНК нового поколения следует рассматривать как важнейший шаг на пути дальнейшего развития работ в области мутагенеза.

## **Radiation-induced mutation in the mouse germline: A genome-wide perspective**

Dubrova Y.E.

*Department of Genetics, University of Leicester, Leicester, UK*

The ability to predict the genetic consequences for humans of exposure to ionizing radiation and chemical mutagens has been one of the most important goals of human genetics in the past fifty years. However, despite numerous efforts, little is known about the genetic effects of radiation exposure in humans and the only definitive evidence for germline mutation induction *in vivo* in mammals comes from mouse studies.

Recent advances in genetic technologies have provided new microarray-based and next generation sequencing-based tools for the genome-wide analysis of genetic variation, which have the potential for characterizing germline mutation in humans and mice. Using microarray-based comparative genomic hybridisation and high depth (>22X) whole genome HiSeq sequencing we have recently carried out a matched case control experiment to investigate the effects of ionizing radiation on germline mutation in mice. We found that the frequency of *de novo* Copy Number Variants (CNVs) and insertion/deletion events indels was significantly elevated in offspring of exposed fathers. We also showed that the spectrum of induced *de novo* SNVs is strikingly different; with clustered mutations being significantly over-represented in the offspring of irradiated males. Our study highlights the specific classes of radiation-induced DNA lesions that evade repair and result in germline mutation and paves the way for similarly comprehensive characterizations of other germline mutagens.

## **Эпигенетика и наследование приобретенных признаков**

Дуброва Ю.Е.

*Кафедра генетики Университета г. Лестер, Великобритания*

Трансгенерационная нестабильность генома проявляется в повышенной частоте возникновения мутаций среди необлученных потомков облученных родителей. Согласно результатам наших исследований, облучение самцов мышей приводит к существенной дестабилизации геномов их потомков, которая обусловлена увеличением общего объема эндогенных повреждений ДНК, включая одно- и дунитевые разрывы. Помимо облучения, воздействие химических мутагенов (алкилирующего агента этилнитрозомочевины и ряда антираковых препаратов) также приводит к трансгенерационной дестабилизации геномов потомков.

Полученные результаты позволяют предположить, что трансгенерационная дестабилизация генома может оказывать влияние на показатели приспособленности потомков, и, таким образом, вносить свой вклад в генетические факторы риска воздействия мутагенов среды на популяции человека. Следует отметить, что полученные до настоящего время результаты анализа потомков облученных родителей являются крайним образом противоречивыми и не позволяют однозначно установить проявление феномена трансгенерационной дестабилизации генома у человека. В наших работах на мышах было проведено изучение проявления дестабилизации генома у потомков мышей, подвергавшихся воздействию доз облучения или концентрации антираковых препаратов, совпадающие с таковыми при лечении онкологических заболеваний. Согласно результатам проведенных исследований, трансгенерационная дестабилизация геномов наблюдалась среди потомков самцов, подвергавшихся воздействию трех распространенных антираковых препаратов. В тоже время, облучение самцов мышей в дозе 0,1 Гр, являющейся максимальной однократной дозой для нераковых тканей, не оказало влияния на частоту возникновения мутаций в половых и соматических клетках среди потомков облученных самцов мышей. Кроме того, хроническое облучений на протяжении 2 недель с дозой 1 Гр также не оказало значимого



влияние на частоту возникновения мутаций среди потомков облученных самцов. Таким образом, результаты наших работ позволяют заключить, что рассматриваемый феномен возникает как ответ на острое облучение их родителей относительно высоким дозами ионизирующего облучения. При этом существуют некая пороговая доза родительского облучения, по достижении которой происходит дестабилизация геномов их потомков. Наши данные также указывают, что у человека феномен трангенерационной дестабилизации генома может наиболее часто проявляться среди потомков родителей, подвергавшихся воздействию ряда антираковых препаратов. В докладе будет рассмотрена возможность проявления трангенерационных эффектов в природных популяциях.

### **Epigenetics and inheritance of acquired traits**

Dubrova Y.E.

*Department of Genetics, University of Leicester, Leicester, UK*

The phenomenon of transgenerational instability is defined as an increased mutation rate observed in the non-exposed offspring of irradiated parents. According to our data, paternal acute exposure to ionising radiation can significantly destabilise the genomes of their offspring, which is attributed to the presence of a subset of endogenous DNA lesions, including single- and double-strand DNA breaks. We have recently shown that paternal treatment by the alkylating agent ethylnitrosourea and anticancer drugs also results in the transgenerational effects.

The abovementioned results may imply that transgenerational destabilisation could potentially affect a number of health-related traits in the offspring, thus representing another component of the genetic risk of human exposure to environmental mutagens. It should be stressed that further elucidation of the impact of transgenerational instability in humans is currently limited because the results of recent publications of the transgenerational effects of parental irradiation are highly controversial. To this end we designed two studies aimed to establish whether relatively moderate doses of ionising radiation or doses of anticancer drugs, both similar to those used to treat cancer patients can result in transgenerational destabilisation. According to our data, paternal exposure to clinically-relevant doses of mutagenic anticancer drugs results in transgenerational destabilisation observed among their first-generation offspring. In contrast, exposure to 0.1 Gy of  $\gamma$ -rays, the maximum dose to normal tissues per single radiotherapy procedure, does not affect mutation rates in the germline and somatic tissues of their offspring. In addition, chronic paternal exposure to 1 Gy delivered over the period of 2 weeks also failed to destabilise the genomes of their offspring. Taking together the results of these studies imply that the manifestation of transgenerational instability is triggered by a threshold dose of acute paternal irradiation. They also indicate that the manifestation of transgenerational effects in humans may more often be found among the children of cancer survivors treated by mutagenic anticancer drugs than those therapeutically exposed to ionising radiation. The possibility of manifestation of transgenerational effects in populations will be discussed.

### **Полиморфизм гена *Got2* и внутривидовая дивергенция *Aegilops tauschii***

Дудников А.Ю.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*Aegilops tauschii* Coss. – единственный из всех диплоидных видов рода *Aegilops*, который достиг эволюционного успеха: его локальные популяции "разбросаны" по обширной территории в центральной Евразии, от Турции до Киргизии. Географические паттерны аллозимного полиморфизма гена *Got2* у *Ae. tauschii* были изучены у 322 образцов, представляющих весь ареал вида. У 60 из этих образцов ген *Got2* был просеквенирован (всего в сумме около 200000 п.н.), и филогенетическое древо *Ae. tauschii* было построено на

основе этих данных. Проведённые исследования позволили реконструировать особенности процесса внутривидовой дивергенции и географической экспансии *Ae. tauschii*.

Изначально *Ae. tauschii* был представлен своим подвидом *strangulata*, при этом линидж t-9(1)s (Taul3) является наиболее древним, реликтовым. Подвид *Ae. tauschii* subsp. *tauschii* - относительно "молодой". Внутривидовая дивергенция *Ae. tauschii* в основном имела адаптивный характер: различные филогенетические линиджи вида существенно различаются экологически. Для *Ae. tauschii* характерен очень низкий уровень перекрёстного опыления. Когда различные линиджи "встречаются" в локальном местообитании, они не формируют "гибридную" популяцию: как правило, линидж, который лучше адаптирован к данным условиям среды, вытесняет остальные линиджи из местообитания. На протяжении эволюционной истории *Ae. tauschii* имел место целый ряд "волн" его географической экспансии, во время которых "молодые", более успешные в эволюционном плане линиджи, вытесняли более древние линиджи из их ареала, а также расширяли ареал вида.

Изначально, *Ae. tauschii* subsp. *tauschii* был представлен своим линиджем, маркированным аллозимными аллелями *Acph1(100)* и *Got2(105)*. Этот линидж смог занять ареал от Кавказа до Пакистана, но впоследствии был почти полностью вытеснен более "молодыми" линиджами подвида *tauschii*, маркированными аллелями *Acph1(100)*, *Got2(100)*, которые расширили континентальную часть ареала вида на восток до Киргизстана. В то же время, ни один из линиджей *Ae. tauschii* subsp. *tauschii* не смог сколько-нибудь заметно проникнуть в при-Каспийскую область, занятую *Ae. tauschii* subsp. *strangulata*.

По-видимому, эволюционный успех *Ae. tauschii* связан с оптимальными уровнями значений таких характеристик как подразделённость популяции вида, миграционная способность (относительно низкая, чтобы сохранялась существенная дифференциация локальных популяций, и происходило независимое происхождение и эволюция линиджей вида, но - при этом достаточная для эффективного расселения "успешных линиджей" по ареалу), уровень перекрёстного опыления (очень низкий, позволяющий различным линиджам конкурировать между собой, сохраняя свою идентичность, но при этом достаточный для того, чтобы новые линиджи возникали не только мутационным путём, но и в результате "гибридизации").

### **Polymorphism of *Got2* sheds light on *Aegilops tauschii* intraspecies divergence**

Dudnikov A.Ju.

*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

*Aegilops tauschii* Coss. is the only one from all diploid *Aegilops* species which attained evolutionary success: its local populations "are scattered" through the vast area in Central Eurasia, from Turkey to Kirgizstan. Geographic patterns of *Got2* allozyme variation in *Ae. tauschii* were investigated: 322 accessions representing all the species area were studied. In 60 of these accessions *Got2* DNA was sequenced (about 200000 b.p. in total) and *Ae. tauschii* phylogenetic tree was built using the data obtained. These investigations enabled to reconstruct peculiarities of *Ae. tauschii* intraspecies divergence and geographic expansion. It was found that originally *Ae. tauschii* was presented by its subspecies *strangulata*, and t-9(1)s (Taul3) lineage is the most ancient, a relict one. Subspecies *tauschii* - is relatively "young".

*Ae. tauschii* intraspecies divergence was mostly an adaptive process: different phylogenetic lineages essentially differ ecologically. According to the data obtained, the level of cross-pollination in *Ae. tauschii* is very low, and when different lineages "meet" in some local habitat they do not form a "hybrid" population: as a rule, the lineage which is adopted better to the local environmental conditions forces out another one. During evolutionary history of *Ae. tauschii* there were several waves of geographic expansion, during which "younger" and evolutionary more successful lineages forced out "older" lineages from their area and extended the species area.

Initially, *Ae. tauschii* subsp. *tauschii* was presented by its lineage marked by *Acph1(100)* and *Got2(105)* allozyme alleles. It "managed" to occupy the area from Caucasia to Pakistan but later on it was almost completely forced out by "younger" lineages of subsp. *tauschii*, marked by *Acph1(100)*, *Got2(100)*, which extended the continental part of the species area up to Kirgizstan. At the same time neither of *Ae. tauschii* subsp. *tauschii* lineages were actually able to penetrate into pre-Caspian area, occupied by *Ae. tauschii* subsp. *strangulata*.

It seems that *Ae. tauschii* evolutionary success is due to optimum balance of such characteristics as subdivision of the species population, migration capacity (relatively low, permitting local populations differentiation to be high enough for different lineages could originate and evolve independently; and at the same time - sufficient to enable new, "successful", lineages effectively occupy the area), and the level of cross pollination (very low, permitting different lineages to come in contact and to compete effectively with each other without losing their identity; and at the same time - sufficient for the new lineages could originate not only by mutations, but via hybridization as well).

### **Level of genetic diversity in the Bulgarian populations of silver fir (*Abies alba* Mill.)**

Evtimov I.<sup>1</sup>, Zhelev P.<sup>1</sup>, Gagov V.<sup>1</sup>, Bergmann F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*University of Forestry, Sofia, Bulgaria*

<sup>2</sup>*Georg-August University, Gottingen, Germany*

Genetic diversity was studied in eleven natural populations of Silver Fir in Bulgaria by means of isozyme gene markers. Populations represent southeastern limit of the species' natural distribution. The level of genetic diversity was within the range reported in other studies. Mean number of alleles per locus varied from 2.1 to 2.6, and effective allele number – from 1.19 to 1.55. With three exceptions, all loci were polymorphic (0.95 criterion). Observed heterozygosity was high, ranging from 0.16 to 0.34, and the expected one – from 0.187 to 0.358. Genetic differentiation among populations was low and only 3.6 % of the total variation was due to inter-population differences. The results could be of use for gene conservation and forest management practices.

### **Популяционная структура вида: эко-географические единицы и единицы запаса**

Животовский Л.А.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Единица запаса – это группировка особей данного вида, состоящая из одной или нескольких соседних популяций, объединённых общими условиями среды и сходными биологическими признаками; единица запаса может управляться единым планом воспроизводства, промысла, охраны. Чтобы выделить единицу запаса данного вида, теоретически следует оценить насколько её популяции биологически сходны друг с другом и насколько они отличаются от других популяций по адаптивным признакам.

Однако мало что известно о генетике адаптаций даже для хорошо изученных видов. Поэтому для исследования популяционной структуры вида и выделения единиц запаса мы вынуждены довольствоваться косвенными данными об адаптивных наследственных различиях между популяциями, их «суррогатами». В качестве таких суррогатов можно взять:

(1) **экологические маркёры** (такие как параметры среды обитания, а также жизненные стратегии и другие биологические характеристики популяций); их плюс в том, что они предположительно связаны с факторами адаптации популяций, а минус – что мало что известно об их генетических ассоциациях;

(2) **генетические маркёры** (ДНК-маркёры и др.), плюс которых в том, что они представляют фрагменты генома, а минус в том, что в подавляющей своей массе они не связаны с адаптацией популяций, т.е. селективно нейтральны или почти нейтральны.

Выделять и сравнивать популяции только по экологическим маркерам, как правило, недостаточно, так как редко можно доказать, что выявляемые по ним различия между популяциями наследственно обусловлены. Исследовать же только по генетическим маркерам также недостаточно из-за нередких смещений в оценках популяционно-генетических параметров из-за особенностей популяционно-генетической динамики и нередко низкой представительности выборок на генетику по отношению к популяционной структуре вида.

Предлагается двухступенчатый подход к изучению популяционной структуры вида и выделению единиц запаса, основанный на совместном использовании экологических и генетических данных (Zhivotovsky et al. 2015, *Conservation genetics* 16: 431-441; Животовский 2016, *Биология моря* 42: 323-333):

(1) вначале выделяют на ареале вида **эко-географические единицы** (eco-geographic units, EGU), как предварительные единицы запаса, соответственно средовым градиентам в исследуемой части ареала, типам жизненных стратегий и иным биологическим характеристикам, предположительно ассоциированным с градиентами адаптаций и межпопуляционными генными потоками;

(2) выделенные эко-географические единицы **генетически тестируют** по данным о множественных выборках, репрезентативно представляющих разные популяционные сегменты в каждой из этих EGU, путём сравнения генетической дифференциации между популяциями внутри EGU и между популяциями разных EGU, а также на основе других генетических параметров.

Этот двухступенчатый подход к изучению популяционной структуры вида и выделению единиц запаса демонстрируется на данных по лососевым рыбам. Он требует проведения широких и детальных многолетних полевых исследований с участием генетиков, ихтиологов, экологов, зоогеографов, геоботаников, специалистов других профилей.

Работа поддержана Программой «Генофонды живой природы» и РФФИ 15-04-02511.

### **Population structure of species: Eco-geographic units and management units**

Zhivotovsky L.A.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Management unit is a part of a given species that consists of one or several neighboring populations integrated together by a common environmental conditions and akin biological features. The populations of such a unit can be regulated by a common strategy of reproduction, fisheries, and protection. To determine the management unit, one should estimate how its populations are similar to each other in adaptive traits and how they differ from the populations of other management units.

However, little is known about the genetics of adaptations, even for well-studied species. Therefore, to study the population structure of a species and management units we must rely on indirect data on the adaptive genetic differences between populations, on their "surrogates". The following can be taken as surrogates:

(1) ecological markers (such as habitat parameters, life strategies, and other features of populations); their advantage is that they presumably relate with the factors of population adaptation, their disadvantage is that little is known about their genetic associations;

(2) genetic markers (DNA markers, etc.); their advantage is that they represent the genome, their disadvantage is that they are almost negligibly associated with population adaptations, i.e. they are selectively neutral or nearly neutral.

Using ecological markers only, without genetic ones, for detecting and comparing populations is usually not sufficient as it is hard to prove that the differences between populations are inheritable. Using only genetic markers may be also insufficient because of possible biases in the estimates of population-genetic parameters due to the complexity of genetic dynamics, and because the population samples may under-represent the species structure.

We suggest a two-step approach to study the population structure of species and determine management units based on the combined use of ecological and genetic data (Zhivotovsky et al. 2015, Conservation genetics 16: 431-441; Zhivotovsky 2016, Russian J. Marine Biology 42: 323-333):

(1) first, subdivide the species range into **eco-geographic units** (EGU), as preliminary management units, based on the environmental gradients in the target part of the species range, the types of life strategies, and other biological characteristics that are presumably associated with the gradients of the adaptation and inter-population gene flows;

(2) second, **test genetically** the eco-geographic units based on multiple population samples that represent various population segments within each of these EGUs via comparing genetic differences between populations within EGU and between populations of different EGU, as well as using other population genetics parameters.

This, two-step approach for studying species population structure and portraying management units requires extensive and detailed long-term field studies involving geneticists, fisheries scientists, ecologists, zoogeographic, geobotanists, and specialists in other fields. The approach is applied to salmonid fishes.

The work is supported by the Programme “Genofonds of living nature” and RFBR 15-04-02511.

### **Экологические испытания серии картирующих популяций от скрещиваний разных видов *Populus L.***

Жигунов А.В.<sup>1</sup>, Лебедева М.В.<sup>1</sup>, Ульянич П.С.<sup>1</sup>, Потокина Е.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Проведена серия контролируемых скрещиваний разных видов *Populus L.* «на срезанных ветках», получено более 3 тыс. жизнеспособных гибридных семян. В результате созданы три гибридные популяции F1; одна из них от скрещивания *P.tremula L.* и *P. alba L.*, представлена 1300 однолетними сеянцами в контейнерах. Среди гибридного потомства этой популяции описаны гибриды с выраженным гетерозисным эффектом, перспективные для патентования по результатам наблюдений в ходе дальнейших экологических испытаний. Еще две популяции F1, численностью 729 и 405 контейнеризированных сеянцев каждая, получены от контролируемого скрещивания родительских генотипов осины, контрастных по признаку устойчивости к сердцевинной гнили (*Phellinus tremulae*). Эти созданные популяции F1 представляют собой исследовательский ресурс, позволяющий в дальнейшем перейти к работам по картированию и идентификации генов устойчивости к патогену.

Важным является тот факт, что в первых двух гибридных популяциях F1 материнским растением является один и тот же генотип осины, в одном скрещивании он опылен пыльцой тополя белого, в другом – осины. Таким образом, появляется возможность оценить, как проявляются признаки гетерозиса, или изменяются адаптивные характеристики растения при замене аллелей определенных генетических локусов на аллели близкородственного вида.

Значительное количество полученного посадочного материала с закрытой корневой системой гибридов F1 позволило заложить экспериментальные популяции в полевых условиях для проведения эколого-географических испытаний. Каждая из популяций F1, ранее полученных в результате межвидовых скрещиваний тополя и осины, и осин, контрастных по признаку устойчивости к стволовым гнилям, была разделена на группы. Одна группа посадочного материала были использована для закладки экспериментальных плантаций в Ханты-Мансийском автономном округе (г. Сургут), а также в Полярно-альпийском ботаническом саду-институте (г. Апатиты, Мурманская область) для проведения испытаний на морозостойкость. Вторая группа посадочного материала была использована

для закладки экспериментальных плантаций в засушливых условиях лесостепи (Воронежская обл.) для испытаний на засухоустойчивость. Третья группа саженцев была высажена на территории учебно-опытного хозяйства СПбГЛТУ в Ленинградской обл. (п. Дружная Горка). В каждом пункте испытаний высажено не менее 100 шт. посадочного материала каждого гибридного потомства. Пункты закладки экспериментальных плантаций значительно удалены друг от друга и сильно различаются по характеристикам среднемесячных температур и количества осадков.

Такая схема закладки плантации гибридных популяций F1 в различных эколого-географических зонах России выполнена с целью выявления в их составе гетерозисных и наиболее стрессо-устойчивых генотипов, которые могут быть рекомендованы к промышленному возделыванию. Заложенные географические плантации сибсового потомства в настоящее время проходят процедуру генотипирования, с тем, чтобы для каждого скрещивания была составлена и опубликована генетическая карта, с использованием которой планируется разработать молекулярные маркеры для генетических локусов (QTL), влияющих на морозостойкость, засухоустойчивость и устойчивость к патогенам.

Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта MaRussiA Министерством продовольствия и сельского хозяйства Германии в 2015-2016 годах.

### **Development and ecological trials of two aspen/poplar mapping populations**

Zhigunov A.V.<sup>1</sup>, Lebedeva M.V.<sup>1</sup>, Ulianich P.S.<sup>1</sup>, Potokina E.K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Saint Petersburg State Forest Technical University, Saint Petersburg, Russia*

<sup>2</sup>*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*

A series of controlled between different species of *Populus* L. on “cut branches” have been carried out. Over 3 thousand viable hybrid seeds have been obtained. As a result, three F1 hybrid populations have been created: one of them, from the crossing between *P. tremula* L. and *P. alba* L., is represented by 1300 one-year-old seedlings in containers. Some hybrids of the hybrid progeny in this population have a distinct heterosis effect, which makes them prospective for acquisition of patent, if we take into consideration the results of observations in subsequent environmental trials. Two other populations of F1, including 729 and 405 containerized seedlings, were obtained from controlled crossing of parental aspen genotypes, contrast in tests of resistance to heart rot (*Phellinus tremulae*). These new populations of F1 can serve as a research resource for future work on mapping and identification of genes for resistance to pathogen.

It is significant that in the first two F1 hybrid populations, the mother plant is the same aspen genotype: in one of the crossings it was pollinated from white poplar, whereas in the other one, from aspen. Thus, it is possible to assess how heterotic features manifest themselves or how adaptive parameters of plants change in the case when alleles of certain genetic loci are replaced by alleles of a closely related species.

The availability of a considerable quantity of F1 hybrid containerized planting material made it possible to establish the experimental populations in field conditions for ecological and geographical trials. Each of the F1 populations previously obtained from interspecific crosses of poplar and aspen, as well as aspens in test of resistance to heart rot was divided into groups. One group of the planting stock was used to establish experimental plantations in the Khanty-Mansiysk Autonomous District (Surgut) and also, in the Polar-Alpine Botanical Garden-Institute (Apatity, Murmansk region) to test plants for frost resistance. The second group of the planting stock was used to establish the experimental plantations in the arid wooded steppe (Voronezh region) to test plants for drought resistance. The third group of the seedlings was planted on the training and experimental farm of Saint Petersburg State Forest Technical University in Druzhnaya Gorka, Leningrad region. Each test plot includes no less than 100 plants of each hybrid progeny. The plots

are located at a considerable distance from each other. All the places are quite different in their average monthly temperatures and precipitation.

This scheme of establishing plantations with F1 hybrid populations in different eco-geographical zones of Russia is aimed at identifying heterotic and most stress-resistant genotypes in the plantations, the ones that can be recommended for commercial cultivation. The established geographical plantations of sib progeny are currently undergoing genotyping, the aim being to create and publish a genetic map that can be used to develop molecular markers for genetic loci (QTL) affecting frost resistance, drought tolerance and resistance to pathogens.

The research within the MaRussiA project was supported by the Ministry of Food and Agriculture of Germany during 2015–2016.

### **Сравнительная филогеография тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus***

Зеленина Д.А., Сошникова В.А., Минеева Т.М., Стоклицкая Д.С.

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия*

Тихоокеанские лососи рода *Oncorhynchus* обитают в Северной Пацифике, ареалы большинства видов этого рода в значительной степени перекрываются, и в первую очередь это относится к американской части ареалов. В Азии, напротив, области распространения видов в ряде регионов не соответствуют друг другу. Все тихоокеанские лососи моноцикличны, некоторые виды строго анадромны, другие образуют также жилые формы. Как виды, так и популяции различаются продолжительностью пресноводного и морского периодов и жизненного цикла в целом. Для тихоокеанских лососей характерен «хоминг», т.е. возвращение после морского нагула на нерест в родную реку, однако уровень хоминга существенно различается от вида к виду. Собственно, это явление и способствовало формированию у лососей достаточно выраженной популяционной структуры.

Наши филогенетические и филогеографические построения основаны на сравнительном анализе последовательности гена *CytB* у более, чем двух тысяч особей, относящихся к семи видам рода *Oncorhynchus* (горбуше, кете, нерке, кижучу, чавыче, симе и микиже). Уровень внутривидового митохондриального полиморфизма значительно отличался у разных видов. Различная топология гаплотипных сетей и неодинаковое распространение гаплогрупп на ареале свидетельствуют в пользу не только разной эволюционной истории видов, но и разных путей и направлений расселения тихоокеанских лососей по окончании последнего ледникового максимума.

В двух линиях горбуши – четных и нечетных лет нереста – был выявлен принципиально различающийся состав гаплотипов. Как было показано ранее (Churikov and Gharrett, 2002) дивергенция двух линий горбуши произошла до последнего оледенения, и в дальнейшем обе линии эволюционировали независимо. Полученные данные по пространственному распределению гаплотипов подтверждают независимое распространение горбуши из одних и тех же рефугиумов в каждой из линий.

### **Comparative phylogeography of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*)**

Zelenina D.A., Soshnina V.A., Mineeva T.M., Stoklitskaya D.S.

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Pacific salmon of the genus *Oncorhynchus* inhabit the northern part of the Pacific Rim. The areas of distribution of most of them vastly overlap, and this primarily applies to the American part of the range. In Asia, on the contrary, the areas of distribution do not correspond each other in some regions. All Pacific salmon are semelparous, some of them are strictly anadromous, others may be resident too. Both species and populations differ in the duration of the freshwater and marine

periods as well as their life cycle entirely. One of the main features specific to Pacific salmon is "homing", i.e returning after the sea period for spawning to the native river, however, the level of homing varies considerably from species to species.

Our phylogenetic and phylogeographical constructs are based on a comparative analysis of the CytB gene sequences of more than two thousand individuals belonging to seven species of the genus *Oncorhynchus* (pink salmon, chum salmon, sockeye salmon, coho salmon, chinook, cherry salmon and steelhead). The level of intraspecific mitochondrial polymorphism is significantly different among these species. The different topology of haplotype networks and the unequal distribution of haplogroups on the range point to different evolutionary history of the species and to various directions of recolonization after the last glacial maximum throughout the contemporary area of distribution.

In two lines of pink salmon – even-year and odd-year - fundamentally different compositions of haplotypes were revealed. As it was shown earlier (Churikov and Garrett, 2002), the divergence of the two pink salmon lines occurred prior to the last glaciation, and subsequently both lines evolved independently. The obtained data on the spatial distribution of haplotypes confirm the independence of the distribution of pink salmon from the same refugia in each of the lines.

### **Оценка современного состояния аллелофонда пород сельскохозяйственных животных с использованием полногеномного анализа: российские породы крупного рогатого скота**

Зиновьева Н.А.<sup>1</sup>, Сермягин А.А.<sup>1</sup>, Доцев А.В.<sup>1</sup>, Денискова Т.Е.<sup>1</sup>,  
Виммерс К.<sup>2</sup>, Рейер Х.<sup>2</sup>, Брем Г.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Всероссийский институт животноводства им. Л.К.Эрнста,  
Дубровицы, Московская обл., Россия*

<sup>2</sup> *Институт геномной биологии института биологии домашних животных  
Лейбница, Германия*

<sup>3</sup> *Институт животноводства и генетики,  
ветеринарно-медицинский университет Вены, Австрия*

Программы разведения крупного рогатого скота предусматривают активное использование современных селекционных методов. Внедрение полногеномных исследований открывает большие перспективы для применения SNP маркеров для решения множества генетических вопросов: от оценки и прогнозирования племенных качеств до характеристики аллелофонда животных и лучшего понимания происхождения пород. В настоящее время в России драматические темпы приобретает сокращение численности животных локальных пород скота. Это может привести к снижению биоразнообразия, потере ценных аллелей, ассоциированных с адаптационными способностями животных к условиям среды. В связи с этим, целью нашей работы являлось изучение генетической архитектуры российских пород крупного рогатого скота на основании данных полногеномного анализа. Выборка включала 195 образцов девяти пород: бестужевская (BEST, n=26), черно-пестрая (BLWT, n=21), калмыцкая (KALM, n=14), холмогорская (KHLM, n=25), костромская (KSTR, n=20), красная горбатовская (RGBT, n=23), суксунская (SKSN, n=20), якутская (YAKT, n=25), ярославская (YRSL, n=21). Для полногеномного генотипирования был использован ДНК-чип средней плотности Bovine SNP50 BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA). Проводили расчет наблюдаемой ( $H_O$ ) и ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ), индекса фиксации  $F_{IS}$ , аллельного разнообразия ( $A_R$ ). Дефицит гетерозигот наблюдался только для BLWT ( $H_E = 0,346$ ,  $H_O=0,341$ ,  $F_{IS}=0,010$ ). Вне зависимости от породной принадлежности и географического местоположения было установлено, что система спаривания внутри каждой популяции носила аутбредный характер. Значения аллельного разнообразия у всех пород были выше 1,900, за исключением YAKT ( $A_R = 1,781$ ), при этом максимум по показателю отмечался для KALM ( $1,958 \pm 0,001$ ), BEST ( $1,956 \pm 0,001$ ) и SKSN ( $1,953 \pm 0,001$ ). Наибольшие



значения индекса фиксации  $F_{st}$  как меры оценки дивергенции пород были получены для ЯАКТ (от 0,159 до 0,187), что характеризует данную популяцию как крайне удаленную от локальных пород местной селекции, испытавших давление отбора по хозяйственным признакам. На основе моделирования эффективного размера популяции по уровню неравновесия по сцеплению (LD) были показаны крайние границы по каждой из пород в разрезе 50 поколений назад. Число животных в изученных породах при условии свободного спаривания и отсутствия отбора на всем протяжении исторического развития было минимальным для ЯАКТ (от 25 до 170 гол.). Для RGBT, YRSL и KHLM, KSTR эффективная численность находилась в пределах 220 – 240 гол. 50 генераций назад. Для SKSN и KALM аналогичный показатель составлял около 270 гол., в то время как по BLWT и BEST были показаны максимальные значения – 288 и 353 гол. соответственно. На эффективную численность BEST оказало влияние его скрещивание с голштинами. Согласно племенному учету в настоящий момент наиболее подвержены угрозе полного исчезновения или находятся на грани следующие породы: KSTR ( $N_E=28$ ,  $\Delta F=1,79\%$ ), SKSN ( $N_E=28$ ,  $\Delta F=1,79\%$ ) при условии скрещивания с красными датскими быками, RGBT ( $N_E=55$ ,  $\Delta F=0,90\%$ ) при условии скрещивания с англескими быками-производителями, ЯАКТ ( $N_E=80$ ,  $\Delta F=0,63\%$ ). Менее критическими значениями эффективной численности характеризуются KALM, BLWT и KHLM. Заметим, что по двум последним породам, в их современном состоянии, имеется полное право утверждать о значимом влиянии скота голштинского происхождения на размер и величину воспроизводства в стадах. Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-36-00039.

#### **A study of the contemporary allele pool of livestock using whole-genome analysis: Russian native cattle breeds**

Zinovieva N.A.<sup>1</sup>, Sermyagin A.A.<sup>1</sup>, Dotsev A.V.<sup>1</sup>, Deniskova T.E.<sup>1</sup>,  
Wimmers K.<sup>2</sup>, Reyer H.<sup>2</sup>, Brem G.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*L.K. Ernst Research Institute of Animal Husbandry, Dubrovitzky, Moscow region, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany*

<sup>3</sup>*Institute for Animal Husbandry and Genetics, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria*

Modern selection methods are integral part of the breeding programs for cattle. Whole genome studies create great perspectives for the application of SNP markers to address many genetics issues from assessment and prediction of breeding values to characterization of the allele pool of livestock as well as for better understanding the breed's origin. Nowadays a trend to dramatic decline in populations of local breeds is observed in Russia. That can lead to a diversity reduction and to the loss of valuable alleles, associated with animal adaptation abilities to certain environmental conditions. In this context, the aim of our study was to investigate the genetic architecture of Russian cattle by using whole-genome analysis. The samples were collected from nine cattle breeds ( $n=195$ ), including Bestuzhev (BEST,  $n=26$ ), Black and White (BLWT,  $n=21$ ), Kalmyk (KALM,  $n=14$ ), Kholmogor (KHLM,  $n=25$ ), Kostromsky (KSTR,  $n=20$ ), Red Gorbатов (RGBT,  $n=23$ ), Suksun (SKSN,  $n=20$ ), Yakut (YAKT,  $n=25$ ) and Yaroslavl breeds (YRSL,  $n=21$ ). We used medium density Bovine SNP50 BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA) for the genome-wide genotyping. We estimated the values of observed ( $H_O$ ) and expected heterozygosity ( $H_E$ ), fixation index ( $F_{IS}$ ), allelic richness ( $A_R$ ). The deficiency of heterozygotes was observed only in BLWT ( $H_E=0.346$ ,  $H_O=0.341$ ,  $F_{IS}=0.010$ ). Regardless of the breed origin and the geographical location, the mating system was outbred within each population. The allelic richness was greater than 1.900 in all the breeds, except YAKT ( $A_R=1.781$ ), while the maximum values were observed for KALM ( $1.958 \pm 0.001$ ), BEST ( $1.956 \pm 0.001$ ) and SKSN ( $1.953 \pm 0.001$ ). The highest  $F_{st}$  values, as a measure of the breed's divergence, were obtained for YAKT (from 0.159 to 0.187). That characterizes this population as extremely diverged from the other native breeds, which had been under the selection pressure by economic traits. Based on modeling of effective population

size by linkage disequilibrium (LD), we determined the limit boundaries of each breed by 50 generations ago. We found, that under free mating conditions and no selection pressure, the minimum number of animals was in YAKT (from 25 to 170 heads) among the studied breeds. For RGBT, YRSL, KHLM, KSTR effective population size ranged from 220 to 240 heads 50 generations ago. For SKSN and KALM those was around 270 heads, while BEST and BLWT showed the maximum values that were 288 and 353 heads, respectively. Crossbreeding with Holstein influenced the effective population size of BEST. According to the breeding records, presently the most endangered with extinction or balancing on the edge are KSTR ( $N_E=28$ ,  $\Delta F=1.79\%$ ), SKSN ( $N_E=28$ ,  $\Delta F=1.79\%$ ) under the crossbreeding with Danish red bulls, RGBT ( $N_E=55$ ,  $\Delta F=0.90\%$ ) under the crossbreeding with angler sires, YAKT ( $N_E=80$ ,  $\Delta F=0.63\%$ ). KALM, BLWT and KHLM were characterized by less critical effective population size. We would like to highlight the great Holstein influence on the effective population size and on the reproduction level in the BLWT and KHLM herds. We performed the research under the financial support of the Russian Science Foundation, the project № 14-36-00039.

### Популяционно-генетическое разнообразие и гибридизация ежей *Erinaceus europaeus* и *E. roumanicus* в Восточной Европе и Западной Сибири

Золотарева Е.И.<sup>1</sup>, Белоконь М.М.<sup>2</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>2</sup>, Рутовская М.В.<sup>3</sup>, Хляп Л.А.<sup>3</sup>,  
Лебедев В.С.<sup>4</sup>, Банникова А.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Известны две контактные зоны *Erinaceus europaeus* (европейский еж) и *E. roumanicus* (южный еж), причем центрально-европейский стык их ареалов изучен достаточно хорошо, а восточно-европейский, напротив, – крайне слабо. Исследование вероятности гибридизации этих видов в контактной зоне Западной Европы дало отрицательный результат. Наоборот, наши исследования в подмосковной популяции показали, что в восточно-европейской зоне перекрытия ареалов встречаются гибридные особи.

Для типирования образцов использовали секвенирование полной последовательности митохондриального гена *cytb*, фрагмента 1-го интрона *TTR*, фрагментов экзонов *BRCA1* и *RAG1*, а также анализ 11-и микросателлитных локусов. Микросателлитный анализ выборки выявил два кластера, которые соответствуют двум видам, причем некоторые особи из популяции Московской области имели смешанные генотипы. Филогеографический и демографический анализ гаплотипов *cytb* показал, что история заселения ареала этими видами была различной. Низкие показатели генетической изменчивости и результаты тестов на нейтральность указывают на рост современной популяции *E. roumanicus* в восточной части ареала – на Урале и в Западной Сибири. В европейской России напротив наблюдается повышенное гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие, тесты на нейтральность указывают на стабильность популяции. Для *E. europaeus* в центральной части Западной Европе отмечается высокое генетическое разнообразие и стабильная эффективная численность, в то время как в европейской России наблюдается достоверный рост популяции. Это может указывать на больший эволюционный возраст центрально-европейской популяции *E. europaeus*, по сравнению с восточно-европейской, и недавнее расселение обыкновенного ежа в восточном направлении. Наоборот, гипотеза недавнего заселения европейской России южным ежом не находит подтверждения в нашем исследовании. Полученные данные указывают на быстрое вселение *E. europaeus* в ареал *E. roumanicus*. Вследствие недавней симпатрии этих видов в контактной зоне европейской России в настоящее время здесь идет интенсивная гибридизация, с преимущественной интрогрессией мтДНК *E. europaeus* в геном *E. roumanicus*. В Центральной Европе контактная

зона, вероятно, существует давно, и гибридизации уже не отмечается. Результаты исследования не подтверждают гипотезу направления интрогрессии мтДНК от оседлых видов к расселяющимся.

Работа поддержана проектами РФФИ 17-04-00065 а и 15-29-02771 офи-м.

### **Population genetics and hybridization of the hedgehogs *Erinaceus europaeus* and *E. roumanicus* in Eastern Europe and Western Siberia**

Zolotareva E.I.<sup>1</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Belokon Yu.S.<sup>2</sup>, Rutovskaya M.V.<sup>3</sup>, Hlyap L.A.<sup>3</sup>,  
Lebedev V.S.<sup>4</sup>, Bannikova A.A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Rostov Research Institute of Oncology, Rostov, Russia

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>A.N.Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia

<sup>4</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The distribution of *E. europaeus* (European hedgehog) and *E. roumanicus* (Northern white-breast hedgehog) is parapatric, two contact zones are situated in Central Europe and north-eastern Europe. The Central European contact zone is well studied, while the north-eastern one is less known. In Central Europe no evidence of recent hybridisation or introgression was detected. On the contrary, our study of the north-eastern contact zone revealed signals of interspecific hybridization and/or introgression in populations of Moscow region.

Our sample was genotyped at 11 microsatellite loci and also with sequencing of the complete mitochondrial cytochrome b (*cytb*) gene, intron 1 of transthyretin (*TTR1*), exon 11 of the breast cancer type 1 susceptibility protein (*BRCA1*) and a fragment of recombination activation gene 1 (*RAG1*). Two groups corresponding to the species *E. europaeus* and *E. roumanicus* were identified with the microsatellite analysis using Structure 2.3.4. About 30% of all specimens from the Moscow sample have mixed genotype. The results of phylogeographic and demographic analyses of *cytb* data suggested different colonization history for the two species. A signature of population growth is clearly evident from the results of the neutrality tests and low molecular diversity in *E. roumanicus* from the Urals and Western Siberia. On the contrary, the population of the European Russia is characterized by a higher level of nucleotide and haplotypes diversity with neutrality tests suggesting constant population size. *E. europaeus* in Central Europe is characterized by a higher level of nucleotide and haplotypes diversity and constant population size, whereas in European Russia a signature of population growth is found. This may be explained by a recent colonisation of the northeastern- part of the range of *E. europaeus* compared with the central-European part, and its recent expansion eastwards. On the contrary, the hypothesis of a recent colonisation of European Russia by *E. roumanicus* is not confirmed by our study. The data indicate a rapid expansion of *E. europaeus* into the range of *E. roumanicus*. As a result of the young age of the contact between these species in European Russia, intensive hybridization with predominant introgression of the mtDNA of *E. europaeus* into the genome of *E. roumanicus* is detected at present. Probably, the Central European zone of sympatry is much older, hence, no footprints of hybridisation and introgression are evident there. Our results do not corroborate the hypothesis suggesting that the predominant direction of the mtDNA introgression is from a resident species into a coloniser.

The work was supported by the RFBR, projects 17-04-00065a and 15-29-02771ofi-m.

## **Возможность ведения селекции на скороспелость у самок соболей клеточного содержания**

Зотова А.А.<sup>1</sup>, Орлова Е.А.<sup>1</sup>, Чекалова Т.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, пос. Родники, Московская обл., Россия*

Основной проблемой современного клеточного соболеводства является низкая воспроизводительная способность соболей, выражающаяся в большом количестве пропустований среди самок 1-3-летнего возраста (Бекетов С.В., Каштанов С.Н., 2002, Чекалова Т.М., 2015). Административным распоряжением соединение пар в большинстве хозяйств начинают 1 июля, и заканчивают 1 августа. При этом сроке соединения пар самки 4 лет и старше дают приплод в 95 % случаях, трехлетки в 75%, двухлетки в 60%, однолетки в 16% случаев (Чекалова Т.М., 2015). Для повышения воспроизводительной способности самок соболей в 1-3 летнем возрасте необходимо увеличить количество рано покрываемых самок в данном возрасте. Для этого необходимо узнать природу таких признаков как сроки первого и последнего спаривания.

Задачи исследования - установить повторяемость сроков спаривания в возрасте 1-3 и 4-6 лет у одних и тех же самок соболей, способных к регулярному размножению. Биологическими особенностями размножения соболей является наличие нескольких периодов охоты во время течки, только последний из которых заканчивается овуляцией, провоцируемой спариванием. Исследовательскую работу провели с помощью статистического анализа данных по гону и ценению самок соболей 2008 и 2010 годов рождения, предоставленных ОАО «Зверосовхоз «Салтыковский» Московской области. Были взяты две группы самок для учета силы влияния паратипических факторов. Показатели гона одних и тех же самок 2008 года рождения за 6 лет, самок 2010 года рождения за 4 года были обработаны с использованием общепринятых методов вариационной статистики в программе Excel. Были определены средние даты покрытий, коэффициенты корреляции (повторяемости сроков покрытий одних и тех же самок в смежные годы), проведен однофакторный дисперсионный анализ.

По результатам работы были сделаны следующие выводы:

1. Календарные сроки первого спаривания одних и тех же самок соболей клеточного разведения одного-двухлетнего возраста по мере взросления сдвигаются к началу срока соединения пар, а в возрасте трех-шести лет остаются стабильными из года в год и приходятся на начало июля.
2. Календарные сроки последнего спаривания также сдвигаются с возрастом, поскольку имеют биологическую связь со сроками первого спаривания (повторное спаривание наблюдается через 8-10 дней). Сроки последнего спаривания у самок соболей клеточного содержания становятся стабильными к трехлетнему возрасту и приходятся на середину июля.
3. Степень повторяемости сроков спаривания самок соболей клеточного разведения во взрослом состоянии генетически обусловлена, и относительно мало подвержена влиянию паратипических факторов, что является обоснованием возможности ведения селекции по этим признакам.
4. Статистическая характеристика сроков первого и последнего спариваний самок соболей разного возраста представлена впервые и требует дополнительного изучения на материале других хозяйств.

## **The possibility of breeding for precocity in sable females of cell contents**

Zotova A.A.<sup>1</sup>, Orlova E.A.<sup>1</sup>, Chekalova T.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology by K.I. Skryabin,  
Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Research Institute of Fur Farming and Rabbit Breeding n.a. V.A. Afanasyev,  
Rodniki, Moscow reg., Russia*

The basic problem of modern sable cage farming is the low reproductive ability of sables, which is expressed in a large number of empty females of 1-3 years of old (Beketov, Kashtanov, 2002, Chekalova, 2015). Administrative order pairs' connection in most farms begins in July 1 and ends in August 1. In this pairs' connection females of 4 years old and elder have a litter in 95 % of cases, the 3 years old at 75%, 2 years old 60%, 1 years old in 16% of cases (Chekalova, 2015). For increasing of reproductive ability of sable females of 1-3 years of old, it needs to increase the amount of early mating females at this age. It is necessary to know the nature of such features as the timing of the first and the last mating.

The objectives of the study are to reveal the repeatability of the timing of mating at the age of 1-3 and 4-6 years for the same sable females, capable of regular reproduction. Biological characteristics of the sable breeding is the presence of several rutting periods in estrus, only the last of which results in ovulation provoked by mating. Our research was conducted through statistical analyses of data on estrus and whelping females of 2008 and 2010 years of birth, provided by JSC «state fur farm «Saltykovsky», Moscow region. Two groups of females were made to account for the influence of paratypical factors. Indicators of the estrus of the same females born in 2008 for 6 years, females of 2010 year of birth for 4 years were processed using conventional methods of variation statistics in Excel. We determined the average dates of the coatings, the coefficients of correlation (repeatability of timing coatings of the same females in adjoining years) and conducted one-way ANOVA.

The results of the work lead to the following conclusions:

1. The calendar dates for the first mating of the same sable females of one to two years of old in cage breeding when they grow up move to the beginning of the pairs' connection, and at the age of three to six years remain stable from year to year and begin in early July.
2. The calendar deadline for the last mating also shifts with age, because it has a biological relationship with the timing of the first mating (repeated mating is observed after 8-10 days). The dates of the last mating in sable females of cell contents become stable to three-year age and occur in mid-July.
3. The degree of repeatability of the timing of mating of sable females of cell cultivation in adulthood is genetically determined and relatively little exposed to the influence of paratypical factors, what let the opportunity of selection according to these characteristics.
4. The statistical characteristics of the timing of the first and the last mating of female of different ages are presented for the first time and require further study on the material of the other farms.

### **Выключение механизма, инактивирующего мужской пронуклеус в оплодотворенных яйцеклетках серебряного карася триплоидной гиногенетической формы, ведет к образованию двуполого потомства**

Иванёха Е.В., Дума Л.Н., Дума В.В., Рекубратский А.В.

*Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства,  
пос. Рыбное, Московская обл., Россия*

Многие виды разных семейств рыб имеют тетраплоидное происхождение, тетраплоидные виды известны также среди рептилий и амфибий (Боркин, Даревский, 1980;

Васильев, 1985; Боркин, Литвинчук, 2013). Возникновение тетраплоидных видов является достаточно распространенным явлением в эволюции низших позвоночных. Согласно гипотезе сетчатого видообразования, тетраплоидные бисексуальные виды возникли в результате гибридизации бисексуальных диплоидных видов с триплоидными однополыми формами. Полиплоидия является следствием нередукции хромосом в гаметах, продуцируемых гибридными диплоидными и триплоидными формами.

У серебряного карася *Carassius gibelio* Bloch гиногенетической триплоидной формы (число хромосом около 150) ядро спермия в яйцеклетке изолируется от цитоплазмы мембранными структурами, которые препятствуют воздействию факторов, ответственных за формирование мужского пронуклеуса (Саат, 1983). В результате мужские хромосомы в развитии не участвуют, изогенное потомство представлено только самками. Однако появляются данные, что в отдельных случаях отцовские гены передаются потомству гиногенетических самок и что в их популяциях встречается небольшое количество самцов (Boron et al., 2011; Jakovlić, Gui, 2011; Tóth et al., 2005).

В наших опытах при получении потомства от триплоидных гиногенетических самок серебряного карася икру осеменяли спермой карпов с доминантными аллелями гена чешуйного покрова *N* и гена рисунка *D*, которые обуславливают появление у рыб соответственно редких крупных чешуй и светло-желтой полосы вдоль основания спинного плавника и узора на голове. В полученных потомствах носителями аллеля *N* оказались 55,6% особей, отличающихся крупной чешуей, носителями аллеля *D* 34,7 % рыб с рисунком на спине и голове, самцами – 6,9%. Число хромосом на метафазных пластинках самок с отцовскими генами варьировало от 145 до 153, у самцов без генов *N* и *D* – от 150 до 180. У двух самцов с геном *D* число хромосом было триплоидным (149-158) и тетраплоидным (191-201). Ранее при исследовании серебряного карася из этого же стада выключения инактивирующего механизма в яйцеклетках гиногенетической триплоидной формы не наблюдалось (Головинская и др., 1965). При прудовом выращивании этих потомств в отсутствие других половозрелых групп рыб имел место двукратный нерест (масса сеголетков от 10 до 50 г), что говорит о физиологической полноценности возникших *de novo* самцов серебряного карася. Таким образом, наличие у гиногенетических форм рыб специальных механизмов, исключающих из развития мужской пронуклеус, в определенных условиях не является препятствием к образованию тетраплоидных бисексуальных форм, что подтверждает гипотезу сетчатого видообразования.

### **Disturbance of mechanism for inactivation of male pronucleus in fertilized eggs of gynogenetic triploid crucian carp results in bisexual progeny**

Ivanekha E.V., Duma L.N., Duma V.V., Recoubratsky A.V.

*All-Russian Research Institute of Freshwater Fisheries, Rybnoe, Moscow region, Russia*

Many species of different fish families have tetraploid origin, tetraploid species are also known among reptilians and amphibians (Borkin, Darevsky, 1980; Vasil'ev, 1985; Borkin, Litvinchuk, 2013). Formation of tetraploid species is fairly common event in lower vertebrate evolution. According to the hypothesis of reticulate speciation, tetraploid bisexual species arose as a result of hybridization of bisexual diploid species with triploid unisexual forms. Polyploidy is a consequence of chromosome nonreduction at gametes produced by hybrid diploid and triploid forms. Sperm nuclei in the eggs of crucian carp *Carassius gibelio* Bloch gynogenetic triploid form (chromosome number nearly 150) are isolated from cytoplasm by membrane structures that prevent the influence of factors responsible for male pronucleus formation (Saat, 1983). As a result, male chromosomes fails to participate in development and produced isogenic offspring consists of females only. However, in some cases paternal genes were reported can be transmitted to the offspring of gynogenetic females and a number of males occurred in their progenies (Boron et al., 2011; Jakovlić, Gui, 2011; Tóth et al., 2005).

In our experiments the eggs obtained from triploid gynogenetic females of crucian carp were inseminated with sperm of common carps bearing dominant alleles of scale gene *N* and drawing gene *D*, that determine appearance of rare large scales on the body and a light yellow stripe along dorsal fin and a drawing on the head, subsequently. In the produced progenies 55,6% of fishes manifested allele *N* and 34,7% manifested allele *D*, 6,9% was determined to be males. Chromosome numbers in females with paternal genes varied from 145 to 153, in males without genes *N* and *D* – from 150 to 180. In two males manifested gene *D* chromosome number was triploid (149-158) and tetraploid (191-201). In previous study of the same crucian carp population the male pronucleus inactivation mechanism operated properly, no disturbances were occurred (Golovinskaya et al., 1965). Males arisen *de novo* in the experimental progenies proved to be functionally competent producing twice natural spawning with their female siblings when they were reared in ponds (weight of fingerlings varied 10 to 50 g). Thus, it has been demonstrated that male pronucleus inactivation mechanism, which operates in the eggs of gynogenetic fish, in certain conditions does not prevent tetraploid bisexual form to be arise confirming hypothesis of reticulate speciation.

**Модель расселения краснощеких сусликов (*Spermophilus erythrogegnys sensu lato*), относящихся к различным гаплогруппам, построенная с помощью пакета программ BEAST v 1.8.0**

Иванова А.Д.<sup>1</sup>, Соловьёва Е.Н.<sup>1</sup>, Сурин В.Л.<sup>2</sup>, Ермаков О.А.<sup>3</sup>, Формозов Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ ГНЦ Минздрава РФ, Москва, Россия

<sup>3</sup>Пензенский государственный университет, Пенза, Россия

Под краснощеким сусликом в широком смысле (*Spermophilus erythrogegnys sensu lato*) мы понимаем *S. erythrogegnys*, *S. brevicauda* и др., с подвидами. Границы между различными формами строго не определены, и их таксономический статус остается до сих пор дискуссионным. Поскольку для сусликов этой группы характерна клинальная изменчивость морфологических признаков на большей части ареала, целесообразно исследовать их дифференциацию с помощью молекулярного маркера. Нами исследованы образцы из большей части ареала группы, расположенной в России и Казахстане. Источниками материала послужили коллекция Зоологического музея Алма-Аты, а также сборы из наших экспедиций 2013-2015гг. Последовательности других видов взяты из базы данных Genbank. Всего использовано 157 наших образцов и 42 последовательности из базы данных Genbank. В качестве маркера использован фрагмент контрольного региона мтДНК длиной 307-313пн (327 в выравнивании). Нуклеотидные последовательности и географические координаты точек сбора образцов обработаны в программе BEAST v1.8.0. с настройками: модель HKY+G для нуклеотидной партиции, часы strict clock и модель Homogenous Brownian для партиции координат, 50 млн. генераций; модель – HKY, часы strict clock, LRRW модель, tree prior - Coalescent: constant size, число генераций - 200 млн. Сходимость оценивали по ESS в программе Tracer v1.6. На основе полученных в программе BEAST данных в программе SPREAD v1.0.6 строилась модель расселения, затем визуализированная с помощью Google Earth. По маркеру контрольного региона внутри краснощёкого суслика в исследованном ареале выделены 6 подгрупп: типичный и кемеровский *S. erythrogegnys* с разных берегов Оби, суслики южного берега оз. Зайсан и восточного берега оз. Алаколь, и три, условно названные нами *iliensis*, *brevicauda*, и *carruthersi*, обитающие вокруг оз. Балхаш. С помощью пакета программ BEAST удалось обнаружить исходный ареал краснощёких сусликов и построить модели распространения гаплотипов этой группы. Из области севернее оз. Балхаш расселение шло по трём направлениям: 1) на северо-восток, образуя популяции левого берега Оби; 2) на восток вдоль северного берега оз. Балхаш, далее разветвление на 3 ветви: а) на северо-восток – популяция правого берега Оби; б) на восток – популяции берегов озёр Зайсан и Алаколь; в) вокруг восточной оконечности озера Балхаш – *carruthersi*; 3) на запад

вдоль северного берега оз. Балхаш и далее разветвляется на многочисленные ветви по территории Бетпак-Далы и Казахского мелкосопочника, одна из которых поворачивает назад и образует популяции северного берега озёр Балхаш и Зайсан - *brevicauda*, а другая огибает оз. Балхаш с запада – в составе последней расселились, в основном, гаплотипы *iliensis*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 12-04-01804-а, № 15-34-20589

### **Model of resettlement in red-cheeked ground squirrel (*Spermophilus erythrogegens sensu lato*), belonging to different haplogroups, built using BEAST software package v 1.8.0**

Ivanova A.D.<sup>1</sup>, Solovyeva E.N.<sup>1</sup>, Ermakov O.A.<sup>2</sup>, Surin V.L.<sup>3</sup>, Formozov N.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Lomonosov MSU, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Hematological Research Center, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Penza State University, Penza, Russia*

By red-cheeked ground squirrel (*Spermophilus erythrogegens sensu lato*), we understand *S. erythrogegens*, *S. brevicauda* et al., and subspecies. As for the ground squirrels of this group are characterized by clinal variability of morphological characteristics in the most part of the area, it was appropriate to examine their differentiation by using a molecular marker. We have samples from a large group of the area from Russia and Kazakhstan. The sources of material were the collection of the Zoological Museum of Alma-Ata, and the samples from our expeditions in 2013-2015. Sequences of other species were collected from the Genbank data-base. 307-313bp (327 in sequences) of C-region fragment of mtDNA were analyzed. A total of 157 were used and images of our 42 base sequence from Genbank database. The nucleotide sequence and the geographical coordinates of sampling points have been processed in the program BEAST v1.8.0. settings: substitution model HKY+G for nucleotide partition and Homogenous Brownian model for coordinates partition, 50 million generations; substitution model – HKY, strict clock, LRRW model, tree prior - Coalescent: constant size, 200 million generations. According to the marker in the C-region in the *Spermophilus erythrogegens sensu lato* habitat we marked out 6 subgroups: typical and Kemerovo *erythrogegens*, are living on the right and left banks of the Ob' River, one lives on the southern shore of Lake Zaisan and the eastern shore of Lake Alakol', three others: *iliensis*, *brevicauda* and *carruthersi* are located around Lake Balkhash. Names of sub-groups assigned arbitrarily, the first finding of this haplotype in the area of the same name described species. With BEAST software package we were able to discover the source area of *Spermophilus erythrogegens sensu lato* and build a distribution model of this group. From area located to the north of the lake Balkhash settling was going in three directions: (1) From the north-east, forming the left bank of the Ob River population; (2) On the east along the north shore of the lake Balkhash, then branching into 3 branches: a) in the north-east - the population of the right bank of the Ob; b) to the east - a population of the shores of lakes Zaysan and Alakol; c) around the eastern end of the Lake Balkhash - *carruthersi*; (3) To the west along the north shore of the lake Balkhash and further divides into numerous branches on the territory of the Betspak Dala and Kazakh Upland, one of which turns back and gives the population of the northern shore of the lakes Balkhash and Zaisan *brevicauda*, and the other one goes around the lake Balkhash from the west - as part of the latter settled mainly haplotypes *iliensis*.

Supported by RFBR grants № 12-04-01804-а, № 15-34-20589



## Эндосимбионт *Wolbachia* в популяциях насекомых: горизонтальный перенос и рекомбинация штаммов

Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>, Юдина М.А.<sup>1,2</sup>, Быков Р.А.<sup>1</sup>, Суслов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Наследуемые бактерии (НБ) – это группа неродственных эндосимбиотических микроорганизмов беспозвоночных, для которых характерно наследование по материнской линии вида-хозяина через ооцит или матротрофно. НБ классифицируют по эволюционному возрасту, распространенности среди таксонов хозяев, влиянию на хозяина, облигатности и др. У НБ выражена редуцированная эволюция генома, сопровождающаяся утратой генов и биохимических путей, накоплением слабывредных мутаций, снижением ГЦ-состава генома.

Бактерии рода *Wolbachia* занимают особое место среди НБ, поскольку имеют крайне широкую распространенность у членистоногих и влияют на биологию хозяев разнообразными способами. Генетическое разнообразие бактерий включает несколько филетических линий (супергрупп). Супергруппы А и В *Wolbachia* наиболее распространены у членистоногих, особенно у насекомых. Исследования, проводимые нашим коллективом совместно с коллабораторами, лежат в русле современных ключевых направлений исследования *Wolbachia*: анализ паттерна распространенности и генетического разнообразия бактерии у членистоногих, поиск следов, путей и механизмов горизонтального переноса симбионта между видами-хозяевами, изучение молекулярных механизмов взаимодействия с хозяевами и роли бактерии в их эволюции. Для этого мы обращаемся: 1) к малоисследованным и неисследованным в отношении этого симбионта таксономическим группам насекомых, 2) к видам насекомых, имеющим широкую распространенность и характеризующимся вспышками численности, многие из них имеют экономическое значение. В наших исследованиях используются насекомые из отрядов Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Odonata, Orthoptera, Siphonaptera. Популяционные исследования проводятся для видов из родов *Aporia*, *Dendolimus*, *Erebia*, *Leptidea*, *Lymantria* и *Ostrinia* (Lepidoptera), *Drosophila* и *Chironomus* (Diptera), *Bombus* (Hymenoptera), а также некоторых видов блох и прямокрылых насекомых. Для установления генетического разнообразия бактерии используется от пяти до девяти локусов генома *Wolbachia*. Мы выявили ряд новых случаев горизонтального переноса бактерии между филетически далекими видами насекомых, присутствие в популяциях хозяина нескольких штаммов *Wolbachia*, а также факты мультиинфекции насекомых. Анализ наших данных о генетическом разнообразии *Wolbachia* с привлечением результатов других исследователей указывает на неслучайное распределение симбионта среди таксонов насекомых. Мы демонстрируем высокий уровень рекомбинации штаммов *Wolbachia*, принадлежащих одной супергруппе, и факты рекомбинации между штаммами разных супергрупп. Это 1) свидетельствует о более высокой горизонтальной мобильности *Wolbachia*, чем представлялось ранее, 2) указывает, что скорость редуцированной геномной эволюции для некоторых филетических линий *Wolbachia* замедлена в силу интенсивного обмена генов, и 3) подтверждает, в рамках бактериальной концепции вида, идею “одна супергруппа – один вид”, связанную с балансом рекомбинаций штаммов внутри и между супергруппами.

Поддержано РФФИ № 16-04-00980 и БП № 0324-2016-0002.

## ***Wolbachia* symbionts in insect populations: horizontal transmission and strain recombination**

Ilinsky Yu.Yu.<sup>1,2</sup>, Yudina M.A.<sup>1,2</sup>, Bykov R.A.<sup>1</sup>, Suslov V.V.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*  
<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Inherited bacteria (IB) are a group of unrelated endosymbiotic microorganisms of invertebrate hosts that pass from mother to offspring via oocyte or in matrotrophic manner. IB are classified by the evolutionary age of lineage, host-taxa distribution, effect on hosts, dependence on symbioses etc. These symbionts are characterized by reductive genome evolution, that implies loss of genes and biochemical ways, accumulation of nearly neutral mutations, rapid sequence evolution, shift toward higher A+T genome content. *Wolbachia* genus has a special place among members of IB, since *Wolbachia* symbionts have wide distribution in arthropods and some nematodes and they effect on hosts by different manners. Here we review the biology of *Wolbachia*, consider the pattern of symbiont genetic variants in arthropods and observe on the phenomenon of *Wolbachia* horizontal transmission. Based on original data we came to the conclusion that the rate of reductive genome evolution in some *Wolbachia* lineages was decreased due to rampant gene exchange of different strains. This work was supported by the RF Basic Project No. 0324-2016-0002 and the RFBR grant No.16-04-00980.

### **Оценка уровня генетического разнообразия плюсовых насаждений и на клоновой лесосеменной плантации сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. Карелии**

Ильинов А.А., Раевский Б.В.

*Институт леса Карельского научного центра РАН, Лаборатория лесных биотехнологий, Петрозаводск, Россия*

Лесосеменные плантации – ключевая категория объектов в структуре постоянной лесосеменной базы лесообразующих видов. Главная задача ЛСП - обеспечение лесного хозяйства улучшенными семенами лесных пород, обладающими ценными наследственными свойствами и высокими посевными качествами. Важным аспектом является сохранение и поддержание на ЛСП уровня генетического разнообразия, свойственного природным популяциям основных лесообразующих пород того или иного региона.

Основой для создания клоновых ЛСП являются лучшие естественные или искусственные насаждения, выделяемые при селекционной инвентаризации. При отборе плюсовых насаждений и деревьев главное внимание уделяется следующим признакам: прямоствольность, полнодревесность, хорошее очищение стволов от сучьев, устойчивость к неблагоприятным факторам среды, вредителям и болезням. Однако до сих пор не выяснена роль генетической составляющей в продуктивности насаждений и отдельных деревьев.

В Карелии при реализации системы плюсовой селекции основных лесообразующих видов (сосны обыкновенной и ели финской) были созданы 6 прививочных ЛСП I порядка общей площадью около 454 га, в том числе сосны – 365 га. На этих объектах произрастают сотни вегетативных потомств плюсовых деревьев. Однако до настоящего времени работ по изучению состояния генофондов плюсовых насаждений и клоновых плантаций не проводилось. Объектами исследования явились четыре природных популяций сосны обыкновенной (Водлозеро, Заонежье, Кивач, Сортавала), два плюсовые насаждения (Великая Губа и Заозерье), а также географически близкая к ним Петрозаводская клоновая лесосеменная плантация (ЛСП).

Цель работы – изучение на основе использования ядерных микросателлитных (simple sequence repeats – SSR) локусов генетического разнообразия природных популяций, плюсовых насаждений и клоновой лесосеменной плантации сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. Для анализа были отобраны SSR-локусы: *PtTX2123*, *PtTX2146* и *Spac11*.

Разделение и определение микросателлитных фрагментов осуществляли с помощью капиллярного электрофореза на приборе CEQ 8000 Genetic analysis System (Beckman Coulter).

В результате исследования с помощью микросателлитных ядерных локусов проведено сравнительное исследование генетической структуры двух плюсовых насаждений (Великая Губа, Заозерье) и четырех естественных карельских популяций (Водлозеро, Заонежье, Кивач, Сортавала) сосны обыкновенной, а также ЛСП сосны, дана оценка уровня их генетического разнообразия. Анализ основных параметров генетической изменчивости показал, что плюсовые насаждения сосны обыкновенной, характеризующиеся лучшими условиями произрастания по сравнению с естественными популяциями, отличаются средним уровнем генетического, в том числе аллельного разнообразия. Значения индекса фиксации Райта ( $F = 0.340 - 0.348$  для Великой Губы и Заозерья соответственно) свидетельствуют о наличии значительного дефицита гетерозигот в плюсовых насаждениях сосны обыкновенной. Среднее значение  $F_{ST}$  указывает на невысокий уровень межпопуляционной дифференциации в исследованной части ареала сосны обыкновенной, около 90% приходится на изменчивость в пределах популяций. Количественный анализ межпопуляционной дифференциации сосны обыкновенной с помощью вычисления генетических расстояний по Неи,  $D_N [0.03; 0.13]$ , показал, что плюсовые насаждения генетически близки к основной группе южнокарельских популяций.

### **Assessment of genetic diversity levels in *Pinus sylvestris* L. plus stands and grafted seed orchard in Karelia**

Ilynov A.A., Raevsky B.V.

*Forest Research Institute, Karelian Research Centre RAS, Laboratory of forest biotechnologies, Petrozavodsk, Russia*

Forest seed orchards are the key-category objects within the permanent forest-seed establishment structure. The main task of them is to provide forestry with genetically improved seed material. To do it properly they ought to maintain the level of genetic diversity on the rate typical for native populations of a certain region. Grafted seed orchards consist of a number of the best (plus) trees vegetative progenies chosen within the best (plus) and normal stands. Plus trees and stands are distinguished by their high productivity level, good stem form and straightness, superior self-pruning ability, sustainability against harmful insects and diseases. But still there is a great lack of information concerning genetic background of all these important features. There are 6 grafted seed orchards in Karelia with the total area of 454 ha, including 365 ha of pine fields. Hundreds of pine vegetative progenies (clones) are growing there. But still their gene pool characteristics have not been investigated.

The main goal of our investigation was to reveal the levels of genetic diversity of *Pinus sylvestris* native populations, plus stands and clone seed orchards using SSR analysis. Four native populations of pine (Vodlozero, Zaoneshye, Kivach, Sortavala), two plus stands (Velikaya Guba and Zaozerye) and Petrozavodsk seed orchard have been investigated. The said objects were studied using three microsatellite loci (*Spac11*, *PtTX2123*, *PtTX2146*). Separating and identifying of microsatellite fragments were done by means of capillary electrophoresis using CEQ 8000 Genetic analysis System (Beckman Coulter). As a result of our research it was found that plus stands were characterized by medium levels of genetic and allele diversity. Wright's index ( $F = 0.340-0.348$  for Velikaya Guba and Zaozerye stands) was evidence of sufficient heterozygote deficiency in plus stands investigated. Medium value of  $F_{ST}$  reflected the medium level of interpopulation differentiation within the investigated area, where the major part of the variety (90%) was allocated inside population. The Nei genetic distances,  $D_N [0.03; 0.13]$ , calculated showed that the above mentioned plus stands are closely genetically related to South Karelia group of *Pinus sylvestris* populations.

**Ю.П. Алтухов и Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики  
им. Н.И. Вавилова РАН**

Инге-Вечтомов С.Г., Иовлева О.В., Галкин А.П.

*СПб Филиал Института общей генетики им Н.И.Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия  
Кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия*

Директор Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН – академик Юрий Петрович Алтухов организовал в 2005 г. в Петербурге Филиал руководимого им института, идя навстречу предложениям кафедры генетики и селекции (как она тогда называлась) СПбГУ. Это было научно-организационное решение, знаменательное в нескольких аспектах. Прежде всего оно символизировало восстановление исторических традиций: как известно, первый Институт генетики АН СССР был основан Н.И. Вавиловым в 1933 г. на базе Лаборатории генетики АН, организованной как Бюро по евгенике при КЕПС в 1921 г. зав. кафедрой генетики и экспериментальной зоологии ЛГУ проф. Ю.А. Филипченко. С переездом Института в Москву в 1934 г. в Ленинграде не осталось ни одного академического подразделения генетики. Организация СПб Филиала способствовало укреплению связи академической и университетской науки в С.-Петербурге. К тому времени ИОГен уже имел позитивный опыт работы с кафедрой генетики МГУ в составе единого Научно-Образовательного Центра (НОЦ). СПб Филиал стал интегральной частью НОЦ при кафедре генетики и селекции СПбГУ.

В составе СПб Филиала в момент его образования было две лаборатории:

Лаборатория генетики и биотехнологии растений (зав. - А.В. Войлоков), развивающая частную генетику растений (ржи), исследующая проблемы автофертильности, генетический контроль мейоза, синтеза антоциана, работающая над насыщением групп сцепления ржи полиморфными молекулярными маркерами.

Лаборатория генетического моделирования болезней человека (рук. – А.П. Галкин – зам. директора Филиала), исследующая механизмы образования амилоидов (и прионов) у млекопитающих и человека с использованием модельного объекта – дрожжей-сахаромицетов и разрабатывающая оригинальные методы идентификации амилоидов.

Позже была организована третья Лаборатория - мутагенеза и генетической токсикологии (зав. – Е.И. Степченкова), разрабатывающая проблему фенотипического проявления и последующей судьбы первичных (предмутационных) повреждений генетического материала у дрожжей с использованием оригинальной тест-системы (альфа-тест), учитывающей также широкий спектр генетических событий при использовании в генетической токсикологии. Все эти исследования также расширили возможности подготовки и исследовательской работы студентов кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ.

**Yu.P. Altukhov and Sankt-Petersburg Branch of N. I. Vavilov Institute of General Genetics**

Inge-Vechtomov S.G., Iovleva O.V., Galkin A.P.

*SPb Branch N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Saint-Petersberg, Russia  
Department of Genetics and Biotechnology SPBSU, Saint-Petersberg, Russia*

Director of N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS – academician Yu.P. Altukhov accepted the initiative of Dept of Genetics and Breeding (as it was named than) of SPb University and organized the SPb Branch of his institute in 2005. This scientific-organizational decision was remarkable in several aspects. The event symbolized revival of some historical traditions: as we know, the first Institute of Genetics of USSR Academy of Science had been organized by N.I. Vavilov on the basis of Laboratory of Genetics of Academy of Science. The laboratory had been initiated as an Office (Bjuro) for Eugenics at Commission for Natural Productive Forces at

1921 by prof. Yu.A. Filipchenko, chairman of Dept of Genetics and Experimental Zoology, Leningrad State University. When the Institute moved to Moscow at 1934 there was left no any academic division for genetics in Leningrad. Establishment of the SPb Branch of Institute of General Genetics promoted good contacts between academic and university science in SPb. Institute of General Genetics already had a good experience of interaction with Dept of Genetics of the Moscow University within a single Research-Education Centre (REC). SPb Branch of the Institute was integrated into REC of Dept of Genetics of the SPb University.

There were two laboratories at the SPb Branch, when it was organized:

The Laboratory of Plant Genetics and Biotechnology (chair by A.V. Voylovkov), developing particular genetics of plants (rye), studying self-compatibility, genetic control of meiosis, antocian biosynthesis and saturation of rye linkage groups with polymorphic molecular markers.

The Laboratory of Genetic Modeling of Human Sicknesses (chair by A.P. Galkin – vice director of the SPb Branch), studying the mechanisms of amyloidogenesis (prionogenesis) in mammals and humans, utilizing a model object – *Saccharomyces* yeast and developing new authentic methods of amyloid identification.

Later on the third – Laboratory of Mutagenesis and Genetic Toxicology (chair by E.I. Stepchenkova) was organized. It is studying a problem of phenotypic expression and the further processing of primary (pre-mutational) lesions of genetic material in yeast, utilizing authentic test-system (alpha-test), which can score also a wide spectrum of genetic events, when it is utilized in genetic toxicology. All these researches also extended possibilities for study and research work for the students of Dept of Genetics and Biotechnology in SPb University.

### **Река как фактор относительной изоляции хромосомных рас обыкновенной бурозубки**

Калинин А.А., Щипанов Н.А., Павлова С.В.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Рассматривается распределение двух хромосомных рас обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus* L. 1758). Расы Сок (*go, hn, ip, jl, kq, mr*) и Серов (*go, hn, ip, jl, km, qr*) имеют общую протяженную границу (Shchirpanov, Pavlova, 2013), в зоне контакта встречаются межрасовые гибриды. Границы между хромосомными расами обычно не связаны с географическими барьерами, в частности, водные преграды в большинстве случаев не ограничивают распространение хромосомных рас (Щипанов, Павлова, 2016). Существует несколько точек зрения на барьерную роль рек. Река может стать «экологической ловушкой», притягивающей к себе гибридную зону (Barton, Hewitt, 1985), хотя она и не полностью ограничивает миграцию землероек (Lugon-Mouline, et al., 1999; Pavlova, Shchirpanov, 2013). Водные барьеры могут способствовать сокращению ширины гибридной зоны (Narain, Fredga, 1996) или увеличивать ширину клины за счет «карманных эффектов» (Moska, 2003).

Работа выполнена в верхнем течении р. Печора выше г. Троицко-Печорск. Ширина реки составляет 140-200 м выше пос. Усть-Илыч и 300-350 м ниже. Нами прослежена граница хромосомных рас Сок и Серов по р. Печора на протяжении 90 км. Выше этого участка на обоих берегах встречалась только раса Серов. Всего в гибридной зоне кариотипировано 55 особей обыкновенной бурозубки (35 на левом и 20 на правом берегу). На правом берегу преобладала раса Серов (90%), но было отмечено 2 межрасовых гибрида  $F_1$ . На левом берегу кроме расы Серов в 20,8% случаев кариотипирована чистая раса Сок и в 20% гибриды  $F_1$  Сок-Серов. Таким образом, даже такая достаточно крупная река не является непреодолимым препятствием для обыкновенной бурозубки. Количественная оценка миграции землероек через водные препятствия позволяет оценить величину межрасового потока генов.

В течении четырех лет в августе в этом же регионе проводили учеты мелких млекопитающих при переправе через водные преграды. Ловушки выставляли на плотиках на

расстоянии 10-25 м от берега (Калинин, Куприянова, 2015). Всего за это время на воде отловлено 44 экземпляра мелких млекопитающих 8 видов. По результатам учетов на воде проведен расчет величины потока мигрантов. Интенсивность миграции значительно менялась по годам, в среднем составив 11,4 особи на 1 км за сутки. У обыкновенной бурозубки этот показатель в среднем за 4 года составил 0,75 особи на 1 км за сутки. Таким образом за месяц на 1 км реки может переплыть около 20 особей обыкновенной бурозубки, что вполне может обеспечить обмен между берегами. При расчете интенсивности миграции через реки необходимо учитывать риски гибели зверьков из-за переохлаждения, потери ориентации или хищников, в том числе хищных рыб (Калинин, Куприянова, 2016).

Водные преграды, ограничивая дисперсию мелких млекопитающих, могут являться популяционными барьерами. Проницаемость их зависит от величины миграционной активности видов в отдельные годы и рисков гибели при переправе, прежде всего связанными с шириной реки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№15-04-02531-а и № 15-04-04759-а).

### **River as a factor of relative isolation of chromosomal races of the common shrew**

Kalinin A.A., Shchipanov N.A., Pavlova S.V.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

We studied distribution of two chromosomal races of the common shrew *Sorex araneus* L. 1758. The races Sok (go, hn, ip, jl, kq, mr) and Serov (go, hn, ip, jl, km, qr) have long borders (Shchipanov, Pavlova, 2013). At the area where they meet these races can hybridize. The major extent of the border between the races is not related with any environmental obstacles, riverine barriers in particular (Щипанов, Павлова, 2016). There are several perspectives in studying riverine barriers. A river could become an environmental trap which can snap the center of a zone (Barton, Hewitt, 1985). Although a river is not completely intercept migration of shrews (Lugon-Mouline, et al., 1999; Pavlova, Shchipanov, 2013) it may both contribute to shrinking of a cline width (Narain, Fredga, 1996) and to extend the width of a cline due to “pocket effect” (Moska, 2003).

Our study was made in the upstream of the Pechora river, above the Troitsk-Pechorsk town. The width of the river is about 140-200 above the Ust-Ilych settlement and 300-350 m below the town. The border between the Sok and Serov races was studied at the extent of 90 km, where it follows the Pechora river. The only Serov race dwells on both banks of the river above this district. In total the karyotypes of 55 common shrews were studied, of them 35 on the left and 20 on the right bank. The Serov race predominates on the right bank (90%) but also 2 hybrids were found here. On the left bank the Sok race comprised 20.8% and hybrids made 20% of the all studied individuals. Therefore even such rather big river was not insurmountable obstacle for the common shrew. The quantitative estimation of the flux of shrews across the river could contribute to evaluation of the interracial gene flux.

Four years in August in this region we studied migration of small mammals across the river. The traps were installed on rafts anchored at the distances of 10-25 m from the bank (Калинин, Куприянова, 2015). In total 44 individuals of 8 species were caught. The results were used for calculation of the migration. Migration rate substantially changed in different years, and on average made 11,4 individuals per 1 km/day. In the common shrew this index was 0.75 individuals. And so, 20 common shrews can traverse the river at the extent of 1 km per month. However the number of shrews that have traversed the river successfully could be diminished due to supercooling, disorientation, and predators, fish in particular (Kalinin, Kupriyanova, 2016).

Thus riverine barrier which limit dispersal could become a “population barrier”. The transparence of such barriers depends on the migration rate of a species in a particular year and risk

of death under traversing the water space. The latter is principally dependent on the width of the river.

The study was supported by RFBR (№15-04-02531-а и № 15-04-04759-а).

### **Генетико-экологические параметры признаков общей продуктивности дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) популяции «Шипов лес»**

Камалов Р.М., Камалова И.И.

*Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия*

Для повышения эффективности лесного семеноводства и мероприятий по сохранению биоразнообразия основных лесообразующих видов необходимо иметь объективную оценку генетико-экологических параметров испытательных культур и естественных популяций. Впервые для дуба черешчатого нами получены оценки генетико-экологических параметров для признаков общей продуктивности. Для этого были использованы три выборки полусибсовых потомств материнских деревьев дуба черешчатого из популяции «Шипов лес» (Воронежская обл.). Три секции испытательных культур с разной густотой посадки общей площадью 6 га были заложены под руководством Ю.П. Ефимова на территории бывшего Семилукского селекционного лесного питомника Воронежской области. На секции №1 испытывается 52 семьи, размещение посадочных мест 5x5 м, возраст 38 лет, естественное изреживание насаждения отсутствует. На секциях №2 и №3 испытывается соответственно 10 и 26 семей, размещение посадочных мест 2.5x1 м, естественный отпад растений к возрасту 28 лет 78%, относительная полнота древостоев 1.0 и 1.1, продолжается естественное изреживание насаждений. Размещение семей на участке №1 – полностью рандомизированный блок, повторность 5-ти кратная, на 1 делянке 1 дерево. Схема размещения на участках №2 и №3 – рандомизированные повторения, повторность 3-х кратная, на делянке 36 посадочных мест. Рельеф участков ровный, бонитет древостоев 1А, состояние культур хорошее.

Данными для дисперсионного анализа служили средние по делянкам. При отрицательном значении оценки величины генетической дисперсии, значение коэффициента генетической вариации также принималось отрицательным. Как показали ранее проведенные исследования игнорирование отрицательных оценок генетической дисперсии или приравнивание их к нулю ведет к существенной систематической ошибке. Коэффициент аддитивной генетической вариации вычислялся как удвоенная величина коэффициента семейной генетической вариации. Оценка величины коэффициента аддитивной генетической вариации высоты ствола на секции №1, значительно отличались от оценок на секциях №2 и №3, составив соответственно  $6.0 \pm 3.0\%$  против  $-2.00 \pm 2.45\%$  и  $-2.01 \pm 2.11\%$ . Это может объясняться наличием процесса естественного изреживания древостоев на участках №2 и №3. Коэффициенты аддитивной генетической вариации диаметра ствола по участкам №1, №2, №3 составили соответственно  $15.8 \pm 4.3\%$ ;  $-12.0 \pm 12.1\%$ ;  $10.4 \pm 8.5\%$ . Коэффициент экологической (неконтролируемой) вариации запаса древесины на 1 га для участка №3 составил 57.9%. Большая экологическая (неконтролируемая) изменчивость в опытах с лесообразующими видами вызвана объективными причинами и не может быть значительно уменьшена.

Таким образом, для испытательных культур дуба черешчатого, характеризующихся наличием естественного изреживания, оценка эффекта отбора по потомству по признакам общей продуктивности близка к нулю. Следует подчеркнуть, что изученные испытательные культуры дуба черешчатого являются лучшими в Российской Федерации. Большой разброс оценок величины генетико-экологических параметров требует в дальнейшем расширения исследований и разработки специальной методики метаанализа серий объектов лесного семеноводства. По результатам проведенного анализа можно сделать предварительный вывод, что проведение испытания потомств плюсовых деревьев дуба черешчатого для

создания лесосеменных плантаций повышенной генетической ценности и второго порядка нецелесообразно. Имеющиеся ограниченные ресурсы лучше сосредоточить на сохранении генофонда дубрав и проведении испытаний существующих популяций. Это тем более актуально на фоне общего сокращения насаждений дуба черешчатого в Российской Федерации. Например, в Татарстане за последние 50 лет площадь дубрав сократилась в 2 раза.

### **Genetic and environmental parameters of traits of overall productivity of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) population "Shipov Forest"**

Kamalov R.M., Kamalova I.I.

*All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russia*

To improve the efficiency of forestry seed and conserving plant diversity is necessary to have estimates of genetic and environmental parameters of the test cultures and natural populations. The first time we have obtained estimates of genetic and environmental parameters for characteristic of overall productivity for the pedunculate oak. Three samples of half-siblings families of the pedunculate oak parent trees from the population "Shipov Forest" (Voronezh region) were used. In the Voronezh region three sections of the test cultures with different planting density with total area of 6 hectares were laid under the direction of U. P. Efimov. On section №1 tested 52 families, placement of seats 5x5 m, the age 38 years, natural thinning stand is absent. At section №2 and №3 tested 10 and 26 families, placement of seats 2.5x1 m, natural losses of plants by the age of 28 years are 78%, the relative completeness of the stands are 1.0 and 1.1, the natural thinning of stands is continued. A randomized complete block design was chosen for the experiment to section №1, repeated experience – 5, one tree plots. A randomized repetition design was chosen for the experiments to section №2 and №3, repeated experience – 3. Thirty-six seats plots were used. Bonitet of the stands is 1A, the state of stands is good.

Data for the analysis of variance were average for the plot. With negative value estimates of the genetic variance, coefficient of genetic variation also takes a negative. As shown by previous studies ignore negative evaluation of genetic variance or equating them to zero leads to significant bias. The coefficient of additive genetic variation was calculated as twice the value of the coefficient of family genetic variation. An estimate of the coefficient of additive genetic variation of tree trunk height at section №1 was significantly different from those of the sections №2 and №3, reaching respectively  $6.0 \pm 3.0$  vs.  $-2.00\% \pm 2.45\%$  and  $-2.01 \pm 2.11\%$ . This can be explained by the presence of natural thinning stand process at sections №2 and №3. The coefficients of additive genetic variation of tree trunk diameter in sections №1, №2, №3 amounted to  $15.8 \pm 4.3\%$ ;  $-12.0 \pm 12.1\%$ ;  $10.4 \pm 8.5\%$ , respectively. The coefficient of environmental variation in stock of wood per 1 ha at №3 section was 57.9%. Most environmental (uncontrolled) variability in experiments of the forest-forming species is a consequence of objective reasons and cannot be significantly reduced.

Thus for the test cultures of *Quercus robur*, characterized by the presence of natural thinning, assessment of the effect of selection for progeny is close to zero. It should be emphasized that the studied test culture of pedunculate oak are the best in the Russian Federation. The large spread estimates of genetic and environmental parameters requires further expansion of research and development of a special technique of meta-analysis of a series of objects of forest seed. According to the results of the analysis can make a preliminary conclusion that the conduct of the test progenies of *Quercus robur* plus trees for creating seed orchards higher genetic value and the second order is inappropriate. The limited resources are better focused on the preservation of the gene pool of *Quercus robur* and testing of existing populations. This is especially true in connection with the general area decreased of *Quercus robur* in Russian Federation. For example, in Tatarstan for the past 50 years, oak area decreased by 2 times.



## Особенности генетической структуры пулов зародышей в урожаях деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) разной засухоустойчивости

Камалова И.И., Внукова Н.И., Сердюкова А.П.

Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия

В урожаях семян деревьев сосны обыкновенной различающихся устойчивостью к засухе анализировали генетическую структуру локуса кодирующего ферментную систему глутаматдегидрогеназы (GDH). Выбор ферментной системы обусловлен тем, что ранее нами было показано, что аллель *Gdh-1*<sup>1</sup>, характеризующийся наибольшей электрофоретической подвижностью, является у сосны обыкновенной эмбриональным полулетаем. Согласно В.А. Струнникову, эмбриональный полулетальный ген в гомозиготном состоянии, вызывая гибель одних зародышей, у других способен формировать комплекс генов повышенной жизнеспособности. В литературе имеются сведения о роли этого фермента и продуктов, катализируемых им реакций, в устойчивости к гербицидам, увеличении параметров роста и продуктивности у сельскохозяйственных растений.

С использованием изоферментного анализа изучали урожаи 2013, 2014 и 2015 гг. групп деревьев сосны обыкновенной острогожской популяции Воронежской области, сформированных по признаку засухоустойчивости Н.Ф. Кузнецовой. Трёхлетнее изучение генетической структуры популяции по локусу *Gdh-1* у потомств на этапе зародышей показало, что независимо от степени засухоустойчивости деревьев, наименьшая доля аномалий изоферментных спектров наблюдается у них в годы, когда закладка и формирование урожая происходит при влагообеспеченности и температуре близких к норме для региона.

В пулах зародышей от засухоустойчивых деревьев соотношение генотипов сохранялось стабильным из года в год, тогда как у потомства чувствительных деревьев частоты генотипов сильно варьировали по годам. Ежегодные различия частот генотипов локуса между пулами зародышей от устойчивых и чувствительных к засухе деревьев были статистически значимы. Устойчивые деревья продуцировали в два-три раза больше гомозиготных генотипов *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> (в среднем – 18.0 и 7.3%, соответственно). При увеличении числа зародышей от каждого модельного дерева достоверные на 5%-ном уровне различия были получены как для генотипических, так и для аллельных частот этого локуса. Частота генотипа *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> у зародышей семян устойчивых к засухе деревьев составила 19%, у чувствительных – 11%. Частота аллеля *Gdh-1*<sup>1</sup> соответственно – 0.470 и 0.380.

В четырёх естественных насаждениях сосны обыкновенной из лесостепной зоны Воронежской (острогожская популяция, Усманский и Хреновской островные боры) и Самарской (Красноярский р-н) областей частота генотипов *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> варьирует от 4.3 до 10.4%, а частота аллеля *Gdh-1*<sup>1</sup> от 0.261 до 0.420. В материнской популяции соответственно – 4.5% и 0.420. Отмечено увеличение доли гомозиготных генотипов *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> в выборках деревьев с более высокими показателями продуктивности. В эталонном насаждении (участок в Усманском бору) эта доля была равна 9.7%, в выборке плюсовых деревьев из этого бора она была уже почти в два раза выше – 17.6%, у клонов плюсовых деревьев, повторно отобранных по хозяйственно-важным признакам роста и продуктивности – 19.1%. Таким образом, анализ сосны обыкновенной разной засухоустойчивости и разной хозяйственной ценности подтвердил, что комплекс генов, сформированный под неблагоприятным воздействием эмбрионального полулеталя *Gdh-1*<sup>1</sup>, может обеспечивать неспецифическую устойчивость, в том числе к засухе, повышенную жизнеспособность и продуктивность. Это делает перспективным использование деревьев с гомозиготным генотипом *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> в селекционных программах.

## Features of the genetic structure of embryo pools in crops of Scots pine trees (*Pinus sylvestris* L.) of different drought resistance

Kamalova I.I., Vnukova N.I., Serdyukova A.P.

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology,  
Voronezh, Russia

The genetic structure of the enzyme locus *Gdh-1* encoding the glutamate dehydrogenase was analyzed in the embryo pools of Scots pine trees differing resistance to drought. The choice of enzyme locus was funded because we have previously shown that *Gdh-1*<sup>1</sup> allele is embryonic semi-lethal in Scots pine. This allele is encoding allozyme with high electrophoretic mobility. According to V.A. Strunnikov, embryonic semi-lethal gene in the homozygous state causes the death of some embryos, but others capable of forming a complex of genes more vitality. The research articles contain information about the role of this enzyme and the products of reactions catalyzed by it, in the resistance to herbicides, growth parameters, and increase the productivity of plants.

Using isozyme analysis for seeds of 2013, 2014 and 2015 we studied groups of trees from the Ostrogzhsk stand (Voronezh region) with difference of drought tolerance. The groups were formed by N.F. Kuznetsova. A three-year study of the genetic structure of *Gdh-1* locus in offspring at a stage embryo found no correlation between drought resistance of the tree and the number of abnormal isozyme spectra of embryos. The lowest proportion of that anomaly was observed when laying and formation of a crop take place at the norm for the region of moisture and temperature.

Genotypic locus structure of embryos pools of drought-resistant trees there is a constant from year to year, while the genotype frequencies of the offspring of sensitive trees vary greatly from year to year. There are the annual statistical significant differences of genotypic structures of *Gdh* locus between embryo pools of drought-resistant and susceptible trees. The drought-resistant trees produce 2-3 times more homozygous genotypes *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> than susceptible trees (average, respectively 18.0 and 7.3%). When the number of embryos from each tree was more, differences significant at the 5% level were obtained for genotypic and allelic frequencies. The frequency of *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> genotype in the embryo pool of drought-resistant trees was 19%, in the embryo pool of sensitive trees - 11%. The frequencies of *Gdh-1*<sup>1</sup> allele were 0.470 and 0.380, respectively. The *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> genotype proportion in the four stands of natural forest-steppe zone Voronezh (Ostrogzhsk, Usmanskiy and Khrenovoe forests) and Samara (Krasnoyarsk forest) ranged from 4.3 to 10.4%, frequency of *Gdh-1*<sup>1</sup> allelic - from 0.261 to 0.420. (In the parent pine Ostrogzhsk population the genotypic frequency was 4.5%, allelic – 0.420).

There is an increasing proportion of homozygous genotypes *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> in the samples of trees with higher productivity. In the etalon plot of Usmanskiy pine forest the frequency of *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> genotypes was 9.7%; in the sample of plus trees of this stand the proportion of these genotypes was almost twice as high - 17.6%; at clones of plus trees, re-selected on growth and productivity - 19.1%. Thus, analysis of different drought resistance of Scots pine and different economic value confirmed that embryonic semi-lethal gene *Gdh-1*<sup>1</sup> in the homozygous state forms the gene complex that can provide a non-specific resistance (including drought), increased vitality and productivity. This property determines the prospects of using pine trees with homozygous genotype *Gdh-1*<sup>1</sup>/*Gdh-1*<sup>1</sup> in breeding programs.

## Современная эволюционно-генетическая парадигма: разрешение вызовов Нео-Дарвинизму, молекулярной филогенетике и ДНК-штрихкодированию

Картавец Ю.Ф.

Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток, Россия  
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Данные о возможном влиянии интрогрессии генов на эволюцию видов, эволюционную судьбу таксонов, включая ретикуляции филогенетических деревьев, а также согласованность современных молекулярно-генетических данных в целом с главной текущей парадигмой, Нео-Дарвинизмом, рассматривались в многих публикациях (Barton, Hewitt, 1985; Campton, 1987; Avise, 2000; Gerber, 2001; Arnold, 2009; Arnold, Fogarty, 2009; Kartavtsev, 2013). В данном кратком обзоре рассматриваются в основном животные, но многие идеи относятся и к другим группам организмов.

Главные положения представляемого доклада таковы: 1. Какие методы обнаружения гибридов и генетической интрогрессии или потока генов являются наиболее подходящими? 2. О чем свидетельствуют факты, полученные на основе яДНК и мтДНК маркеров? 3. Имеются ли в литературе данные о соответствии молекулярной изменчивости в филетических линиях или таксонах с Биологической Концепцией Вида (БКВ)? 4. Насколько часто встречаются ретикуляции генных деревьев, а также, какой главный информационный сигнал выявляет их топология?

1. Для идентификации гибридов и оценки интрогрессии или потока генов наиболее подходит комбинация яДНК и мтДНК маркеров. 2. Имеющиеся факты об изменчивости яДНК и мтДНК делают как будто очевидной генетическую интрогрессию во многих таксонах животных и растений, хотя даже для широких гибридных зон, например, комплекса мидий *Mytilus* ex. group *edulis*, интрогрессия может быть весьма ограниченной для большей части ареала или асимметричной, таким образом, сохраняя нетронутыми по меньшей мере некоторые «таксоны-источники». 3. Если принять, что бисексуальные морские и наземные виды имеют интрогрессивные гены, как это обнаружено для довольно большого числа видов, то соответственно надо согласиться с тем, что ортодоксальная БКВ, в понимании полного отсутствия потока генов между видами, является не адекватной; в том смысле, что многие зоологические виды не являются еще в настоящий момент биологическими видами. Однако очевидно также, что раньше или позже, но они становятся таковыми. Это заключение поддерживается увеличенными генетическими расстояниями в иерархии таксономических категорий и наименьшей дивергенцией на внутривидовом уровне по отдельным генам мтДНК, по полным митогеномам, а также по генам яДНК (Kartavtsev, 2013; Kartavtsev et al., 2016; Hedges et al., 2015). 4. Недавнее исследование генетической дивергенции среди рыб (Kartavtsev, 2017) с использованием обширной базы данных BOLD ([www.boldsystem.org](http://www.boldsystem.org)) обнаружило, что генные деревья для таксонов до уровня семейства являются преимущественно монофилетическими, а межвидовые ретикуляции, соответственно, редки для большинства генных деревьев.

Все вышеперечисленные обобщения имеют огромное значение для парадигм Общей Биологии, Эволюционной Генетики, а также для научной составляющей программы iBOL ([www.ibol.org](http://www.ibol.org)) и, в частности, для практики идентификации видов при ДНК-штрихкодировании. Очевидно, что встречающаяся в подавляющем большинстве таксонов успешная идентификация видов на основе подхода ДНК-штрихкодирования, возможна благодаря преобладанию географического способа видообразования, позволяющего накопление стохастических мутаций/замен при формировании дочерних популяций/таксонов в условиях изоляции, что выявляется посредством молекулярных маркеров (ДНК-штрихкодов). С этих позиций кажутся неоправданными заявления о несостоятельности существующей парадигмы ввиду обширной интрогрессии и ретикуляции в природе (Arnold, Fogarty, 2009). Наоборот, имеющиеся данные позволяют заключить. Что молекулярно-

генетические данные в целом хорошо согласуются с БКВ и Нео-Дарвинизмом.

## **The modern evolutionary-and-genetic paradigm: resolving challenges to Neo-Darwinism, molecular phylogenetics, and DNA barcoding**

Kartavtsev Yu.Ph.

*National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok, Russia*

*Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

The evidences of possible impact of gene introgression on species evolution, evolutionary fate of taxa, including reticulations in phylogenetic trees, and consistency of the latest molecular genetic data with the main modern paradigm, Neo-Darwinism, are considered in many of works (Barton, Hewitt, 1985; Campton, 1987; Avise, 2000; Gerber, 2001; Arnold, 2009; Arnold, Fogarty, 2009; Kartavtsev, 2013). In this assignment, the author will focus on animals, although many ideas suit other phyla too.

The main issues of the report are as follows: (1) What methods are most appropriate for the hybrid detection and estimation of genetic introgression or gene flow? (2) What facts, obtained on gene introgression by nDNA and mtDNA markers, are the evidence for? (3) Is there in the literature any data on correspondence of molecular diversity in lineages or in taxa with Biological Species Concept (BSC). (4) How frequently are reticulations in gene trees observed, and what is a major signal from their topology?

(1) A combination of nDNA and mtDNA markers best suits the hybrid identification and estimates of genetic introgression or gene flow. (2) The available facts for both nDNA and mtDNA diversity seemingly make the introgression among many taxa of animals and plants obvious, although even in wide hybrid zones of *Mytilus* ex. group *edulis*, for example, introgression may be quite restricted or asymmetric, thus holding at least the “source” taxon (taxa) intact. (3) If we accept that sexually reproducing species in marine and terrestrial realms are introgressed, as it is still evident for many cases, then we should recognize that the orthodoxal BSC, in terms of complete lack of gene flow among species, is inadequate due to the fact that many zoological species are not biological species yet. However, sooner or later they definitely become biological species. This conclusion is supported by the genetic distance increasing with taxa rank and by the lowest diversity at intraspecies level as for single mtDNA genes, for complete mitogenome, and for nDNA data (Kartavtsev, 2013; Kartavtsev et al., 2016; Hedges et al., 2015). (4) The recent investigation of fish taxa divergence (Kartavtsev, 2017) using vast BOLD ([www.boldsystem.org](http://www.boldsystem.org)) database shows that gene trees for taxa up to the family level are basically monophyletic, and interspecies reticulation are rare for most of gene trees.

All the four above-listed outcomes have a great importance to the paradigms of General Biology, Evolutionary Genetics, and to iBOL ([www.ibol.org](http://www.ibol.org)) science policy, and to the practice of species identification in particular. Evidently, the most common successful delimiting of species based on barcoding technique is possible due to the prevailing species origin throughout geographic speciation mode that allows random accumulation of numerous mutations/substitutions after isolation of sister populations/taxa, which are detectable with molecular markers (barcodes). It seems that claims on the invalidity of the modern BSC paradigm (Arnold, Fogarty, 2009) due to the large-scale gene introgression and phylogeny reticulation are too premature. Contrary to that, the evidences available in the literature shows that molecular genetic data are concordant in general with the BSC and Neo-Darwinism.

This research is supported by Russian Science Foundation grant no. 14-50-00034, and Russian Foundation for Basic Research grant no. 15-29-02456.

## Генетический анализ косули юга России на основании полиморфизма мтДНК (cyt b) и микросателлитных локусов

Кашинина Н.В.<sup>1</sup>, Баранова А.И.<sup>1</sup>, Коломейцев С.Г.<sup>2</sup>, Куликов В.В.<sup>2</sup>, Холодова М.В.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия  
<sup>2</sup>ФГБУ «Ростовское ГООХ», Ростов-на-Дону, Россия

Во многих регионах России и сопредельных территориях была произведена масштабная реинтродукция сибирской (*Capreolus pygargus* Pall.) и европейской (*C. capreolus* L.) косули. Ранее исследования показали, что Поволжье и Предуралье населяет косуля, генетически принадлежащая к «сибирскому» типу, а центральные области Европейской части России – и к «сибирскому», и к «европейскому». Неисследованной в этом отношении оставались косули, обитающие в южной части России. На основании анализа митохондриальной (ген цитохрома *b*, 500–800 п.н.) и ядерной (микросателлитные локусы) ДНК 65 образцов тканей косули, обитающей на территории Ростовской области и в прилегающих регионах юга России, мы описали их генетический состав. Анализ полученных последовательностей гена цитохрома *b* выявил существенную неоднородность состава исследованных косуль по мтДНК. По структуре цитохрома *b* все образцы разделились на два кластера. В первый вошли гаплотипы (15 образцов, 23%), принадлежащие к виду *C. capreolus*, близкие к ранее описанным гаплотипам европейской косули юго-запада Украины и Сочинского национального парка, во второй – гаплотипы (50 образцов, 77%), характерные для *C. pygargus*. Близкие гаплотипы были обнаружены у сибирской косули из разных частей ареала – Казахстана, Алтайского края, Свердловской области, Бурятии, Монголии.

Для микросателлитного анализа было выбрано по 15 особей, относящихся как к европейскому, так и к сибирскому типу по мтДНК. Дополнительно было проанализировано по четыре образца сибирской и европейской косули из Казахстана и юго-запада Украины, соответственно. Анализ проведен по 10 микросателлитным локусам, один из них оказался мономорфным, по остальным описано от 7 до 13 аллелей. Отмечен высокий уровень гетерозиготности ( $H_E$ ), значение которого по разным локусам колебалось от 0.4 до 0.9. Характер распределения аллелей в большинстве случаев был сходным у косуль, относящихся по мтДНК как сибирскому, так и европейскому виду. Таким образом, в исследованном регионе население косуль преимущественно представлено линиями, характерными для *C. pygargus*. Очевидно, это связано с реинтродукцией в данный регион сибирской косули, являющейся, по мнению А.А. Данилкина, более пластичным видом, который со временем вытеснит европейскую из районов совместного обитания.

Работа выполнена по договору №16 от 06.06.2016 НИР «Создание экспериментальных и методологических основ определения видовой принадлежности косули в Ростовской области на базе ФГБУ «Ростовское ГООХ» и частичной поддержке программы фундаментальных исследований президиума РАН «Биоразнообразие природных систем».

### Genetic analysis of Roe Deer from the southern part of Russia, on the basis of mtDNA polymorphism (cyt b) and microsatellite loci

Kashinina N.V.<sup>1</sup>, Baranova A.I.<sup>1</sup>, Kolomeytsev S.G.<sup>2</sup>, Kulikov V.V.<sup>2</sup>, Kholodova M.V.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia  
<sup>2</sup>FGBU "Rostov GOOH" 344018, Rostov-on-Don, Russia

The large-scale reintroduction of the Siberian (*Capreolus pygargus* Pall.) and European (*C. capreolus* L.) Roe Deer took place in many regions of Russia and adjacent territories. The earlier studies showed, that the Volga region and the Urals region are inhabited by Roe Deer, which are genetically belongs to the "Siberian" type, and the central regions of the European part of

Russia, inhabited by Roe Deer, which belongs to the "Siberian" and the "European" type. Roe Deer from the southern part of Russia remained unexplored in this relation. We have analyzed the mitochondrial (cytochrome *b* gene, 500-800 bp) and nuclear (microsatellite loci) DNA of 65 samples of Roe Deer from the Rostov region and the adjacent regions of southern Russia, and described their genetic structure. Analysis of the cytochrome *b* gene sequences revealed the significant heterogeneity of mtDNA in the studied group of Roe Deer. By the structure of cytochrome *b* gene all samples were divided into two clusters. The first cluster includes haplotypes (15 samples, 23%), belonging to the species *C. capreolus*. They were close to the haplotypes, which have been described earlier for the European Roe Deer from southwest Ukraine and Sochi National Park. The second cluster included haplotypes (50 samples, 77%), typical of *C. pygargus*. The closest haplotypes were found in different parts of the native range of the Siberian Roe Deer – Kazakhstan, the Altai Territory, Sverdlovsk region, republic of Buryatia and Mongolia.

We selected 15 individuals belonging to the European mtDNA type and 15 individuals - to the Siberian type for microsatellite analysis. Additionally, we analyzed four samples of Siberian and four samples of European Roe Deer from Kazakhstan and south-west of Ukraine, respectively. We analyzed 10 microsatellite loci. One of the microsatellite loci proved to be monomorphic, for the rest loci 7-13 alleles were described. These demonstrated the high level of heterozygosity ( $H_E$ ). Its value in different loci ranged from 0.4 to 0.9. The character of the distribution of the alleles in the majority of cases was similar in Roe Deer with the Siberian and European types of mtDNA. Thus, the Roe Deer population in the studied region is mainly represented by the genetic lines typical to *C. pygargus*. Probably, this is a result of reintroduction of the Siberian Roe Deer to this region. According to A.A. Danilkin, Siberian Roe Deer is more ecologically plastic species, which will eventually replace the European Roe Deer from areas of cohabitation.

The work was performed under the contract from 06.06.2016 №16 NIR "Creation of experimental and methodological basis of species determination of Roe Deer in the Rostov region and in FGBU "Rostov GOOH" and due to partial support of basic research program of the Presidium of RAS "Biodiversity of natural systems".

### **Интрогрессия генов в зоне симпатрии видов соболь (*Martes zibellina* L.) и лесная куница (*Martes martes* L.)**

Каштанов С.Н.<sup>1</sup>, Левенкова Е.С.<sup>2</sup>, Мещерский И.Г.<sup>2</sup>, Рожнов В.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

Зона симпатрии двух близких видов куниц – соболя *M. zibellina* и лесной куницы *M. martes* на стыке их ареалов включает оба макросклона Уральского хребта с бассейнами рек Печора и Кама на западе, Тобола и Оби на востоке. Данные сортировки пушнины за исторический период добычи этих промысловых видов показали существование гибридных особей, названных кидусами. Многолетний мониторинг популяций соболя и лесной куницы на территории Печеро-Ильчского заповедника выявил активное взаимопроникновение этих видов на ареалы друг друга, расширение района совместного обитания, их постоянную гибридизацию (Юргенсон, 1047; Монахов, 2014). Доля особей, по фенотипическим признакам определяемых как гибридные, в этой зоне составляет 25-30% от общего количества куниц и соболей (Симакин, 2016). Восстановление ареала соболя и продвижение предела обитания лесной куницы на юго-восток сформировало в конце XX – начале XXI века еще одну зону симпатрии этих видов в Омской (Кассал, Сидоров, 2013) и Томской областях. Доля фенотипических гибридов здесь очень мала и составляет около 0,1-0,2% от добываемых куниц и соболей.

Сравнительный анализ изменчивости ядерной и мтДНК исходных видов и гибридов куниц «старой» зоны симпатрии на Северном Урале подтвердил факт гибридизации, показал взаимопроникновение генетических вариантов соболя и куницы в геномы друг друга,

отсутствие корреляции видовой (или гибридной) принадлежности, определяемой по выбранным генетическим маркерам, с фенотипом особей (Рожнов и др., 2010; 2013). Статистическая обработка значений фенотипических признаков видов и гибридов выявила у кидусов промежуточные показатели по отношению к соболю и кунице и значительную индивидуальную изменчивость проявления различий (Монахов, Успенская, 2013). Отметим, что последнее не позволяет дифференцировать гибридов первого поколения от таковых возвратных скрещиваний.

При экспериментальной гибридизации (Граков, 1974, 1976) было получено потомство от скрещивания самки куницы и самца соболя, остался открыт вопрос о результативности реципрокного варианта. Разделение в первом поколении гибридов по признаку фертильности (самцы стерильны, самки частично плодовиты) позволяет предполагать участие гибридных самок в дальнейшем размножении при скрещивании с самцами исходных видов, и восстановление плодовитости не только самок, но части самцов – возвратных гибридов. Однако в эксперименте показано только одно направление возвратного скрещивания – при участии самца куницы (Портнова, 1941; Граков, 1981). К сожалению, данных экспериментальной гибридизации двух видов куниц, а также их фенотипического и генетического анализа, недостаточно для определения межвидового вектора интрогрессии. Отсутствие достоверных различий по фенотипическим признакам для кидусов и соболей Урала, а также выявление по некоторым генетическим маркерам с помощью программы Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) четкой кластеризации выборок соболя, куницы, и обнаружение гибридных особей только в выборках «соболиного кластера», по-видимому, свидетельствует о наибольшей близости генофонда кидусов из природных популяций к генофонду соболя. Расширение географии исследований на зону симпатрии двух видов куниц в юго-восточной части Западно-Сибирской равнины может внести новую информацию в данную тему.

### **The introgression of genes in the sympatric zone of sable *Martes zibellina* L. and forest marten *Martes martes* L.**

Kashtanov S.N.<sup>1</sup>, Levenkova E.S.<sup>2</sup>, Mescherskii I.G.<sup>2</sup>, Rozhnov V.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

The sympatric zone of two closely related species of martens – sable *M. zibellina* and forest marten *M. martes* are at the juncture of their areas and includes both two macro slopes of the Ural ridge with the pools of Pechora and Kama rivers in the West and the pools of Tobol and Ob rivers in the East. Fur sorting data for the whole historical period of these species commercial production have shown the existence of hybrid individuals, called kidus. Long-term monitoring of sable and forest marten populations on the territory of the Pechero-Ilychsky reserve have revealed active interpenetration of these species on the other's area, expansion of the common habitat area, their permanent hybridization (Jurgenson, 1947; Monakhov, 2014). There were about 25-30% of hybrid individuals (by phenotype) in this zone (Simakin, 2016). Restoring of the sable areal and promoting the forest marten's habitat to the Southeast have formed - in the late XX - early XXI century - another sympatric zone of these species in the regions of Omsk (Kassal, Sidorov, 2013) and Tomsk. Here, proportion of phenotypic hybrids is very small - about 0.1-0.2% of martens and sables production.

The comparative analysis of the nuclear and mtDNA variability of the martens' original species and hybrids from the "old" sympatric zone in the Northern Urals confirmed the hybridization, and showed the interpenetration of the sable and marten genetic variants in other's species genomes, as well as lack of correlation of individual phenotype and species (or hybrid) affiliation revealed by selected genetic markers (Rozhnov et al, 2010, 2013). Statistical analysis of indicators of species and hybrids phenotype characteristics revealed intermediate values for kiduses

according to sable and marten, and significant individual variability of indices (Monakhov, Uspenskaya, 2013). It should be noted that the latter does not allow the hybrids differentiateion from those of the first backcrossing generation.

In experimental hybridization (Grakov, 1974, 1976) an offspring was obtained from the marten female and sable male crossing, but the effectiveness of the reciprocal variant is still an open question. Separation of the first generation hybrids according to fertility (males are sterile, females are partially fertile) permits to assume the participation of hybrid females in further reproduction while crossing with males of the parent species, and fertility restoring of females and even part of males - hybrids of backcrossing. However, only one direction of backcrossing is shown experimentally - with the participation of the marten male (Portnova, 1941; Grakov, 1981). Unfortunately, the data is insufficient to determine the interspecies vector of introgression by experimental hybridization of two species of martens, as well as their phenotypic and genetic analysis. Absence of significant differences in the phenotypic characteristics for Uralian kiduses and sables, as well as clear clusterization of sables and martin samples according to certain genetic markers (used by the program «Structure 2.3.4», Pritchard et al., 2000), and detection of hybrid samples only in «sable cluster», apparently, appear to indicate the close relation of kidus' natural population's gene pool to the sables gene pool. Expanding the geography of research into two martens' sympatric zone - to the southeastern part of the West Siberian Plain – may produce new information into this topic.

### **Геногеография и особенности таксономической структуры вида соболь (*Martes zibellina* L.)**

Каштанов С.Н.<sup>1</sup>, Свищёва Г.Р.<sup>1,2</sup>, Сомова М.М.<sup>1</sup>, Мещерский И.Г.<sup>3</sup>, Рожнов В.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Ареал соболя занимает огромную территорию от северных областей Предуралья до Дальнего Востока, включая острова Тихого океана. Географические популяции соболя значительно различаются по ряду количественных признаков, выделено несколько подвидов. Из-за бесконтрольного промысла за период XVII-XIX веков численность соболя значительно сократилась. Однако уже к середине XX века, благодаря интродукции и другим масштабным мероприятиям, поголовье вида было восстановлено; повсеместно был открыт промысел. Важный фактор для сохранения генетических ресурсов вида – проведение исследований, позволяющих оценить генетическое разнообразие популяций. Организация мониторинга внутривидового генетического разнообразия промысловых животных жизненно необходима для определения перспектив сохранения и рационального использования вида.

Проведенный нами комплексный анализ по распределению изменчивости генетических маркеров (микросателлитные локусы и гаплотипы мтДНК) в популяциях соболя стал возможным по мере накопления выборок (23 выборки) из различных частей ареала, что позволило сделать ряд обобщений и выводов. Выявлены регионы с максимальным уровнем изменчивости популяций и уникальным аллельным составом: Приморье (Сихотэ-Алинь), западная часть Восточного Саяна и Северный Урал. Для каждой популяционной выборки была вычислена «степень близости» к прапопуляции, включающей все аллельное разнообразие исследуемых локусов. Высокое аллельное разнообразие и присутствие значительного количества собственных аллелей в изучаемой выборке могут служить признаками «древности» популяции, населяющей данный регион. По результатам кластерного анализа, выборки юго-западного края ареала (Алтай-Саянский регион) выделены в отдельный кластер: вероятно, степень изоляции популяций этого края ареала значительна, а генные потоки либо отсутствуют, либо носят случайный характер. Эти результаты подтверждают исследования, основанные на количественных признаках и



выделяющие соболя этого региона в подвид (Монахов, 2014). Впервые таксономическое положение соболя Алтая было установлено В. Бажановым в 1943 году, выделившим алтайского соболя (*Martes zibellina averini* Bazhanov). Что касается центральной части ареала соболя (Среднесибирское плоскогорье), то попарные значения степени генетической дифференциации (*Fst*) между выборками самые низкие среди всех исследуемых популяций, хотя расстояние между выборками около 500 км, что говорит о существующих в регионе миграционных процессах. Таким образом, существующий мониторинг численности вида и плотности населения дополнены методом индивидуальной идентификации особей и популяций географических регионов, позволяющим оценить процессы, происходящие как под действием антропогенных факторов, так и природных.

### **Genogeography and features of the taxonomic structure of the sable (*Martes zibellina* L.)**

Kashtanov S.N.<sup>1</sup>, Svishcheva G.R.<sup>1,2</sup>, Somova M.N.<sup>1</sup>, Meshchersky I.G.<sup>3</sup>, Rozhnov V.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Severtsov Institute for Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

The sable (*Martes zibellina* L.) range occupies vast territories from the northern areas of the Ural to the Far East and includes some of the Pacific Ocean islands. The geographical populations of the sable significantly differ by many quantitative traits; several subspecies have been identified. Because of the uncontrolled sable hunting in the first half of the 20th century, the number of sables fell to a critical state. However, to the middle of the 20th century, the stock of the species has been restored due to the artificial resettlement of animals and other large-scale measures to restore numbers. Hunting has been allowed everywhere. The genetic diversity of the sable species as a whole and its components is an important factor for the conservation of species genetic resources. The monitoring of the intraspecific genetic diversity of game animals is vital to determine the perspectives of conservation and rational use of the species.

We carried out the complex analysis on the distribution of the variability of genetic markers (microsatellite loci and mtDNA haplotypes) in sable populations. This analysis became possible as 23 samples were collected from different parts of the sable range. It allowed us to make several important generalizations and conclusions. We identified the regions with the maximum level of variability of the sable populations and private allelic composition: Primorye (Sikhote-Alin), western part of East Sayan and Northern Urals. For each population sample, we calculated the "degree of proximity" to the population-progenitor, which includes all the allelic diversity of the loci under study. High allelic diversity and the presence of a significant number of own alleles in the sample can serve as trait of the "antiquity" of the population inhabiting the region. Based on the results of the clustering analysis, the samples of the southwestern edge of the range (the Altai-Sayan region) were presented as separate cluster: their population isolation degree in the region is probably significant, and the gene flow is absent or very weak. These results are confirmed by studies based on quantitative traits and assigning the sable from this region as the subspecies (Monakhov, 2014). For the first time the taxonomic position of the sable of Altai was established by V. Bazhanov in 1943: the Altai sable (*Martes zibellina averini* Bazhanov).

As for the central part of the sable range (the Central Siberian plateau), the pairwise *Fst*-values of genetic subdivision between the samples are the lowest among all the populations studied, although the between-sample distances are about 500 km. This fact indicates the migration processes in the region. Thus, the existing monitoring of the population size and population density is supplemented by the method of individual identification of individuals and populations of geographic regions, which makes it possible to evaluate the processes occurring under the influence of both anthropogenic and natural factors.

**Использование биоинформатических алгоритмов для анализа генетических данных массового параллельного секвенирования (NGS-технологии) для поиска полиморфных вариантов (SNP), имеющих практическое значение для оценки генетического разнообразия особей дикого кабана в Республике Беларусь**

Кипень В.Н.<sup>1</sup>, Цыбовский И.С.<sup>1</sup>, Мельнов С.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз

Республики Беларусь», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>РУП «БелНИЦ «Экология», Минск, Республика Беларусь

Одной из основных причин современных изменений в генетической структуре кабана европейского (*Sus scrofa scrofa*) является антропогенное воздействие. Изменение генофонда происходит путем истребления особей в ходе охоты или гибридизации диких животных с домашними во время свободного выпаса скота. Гибридизация диких кабанов с домашней свиньей как фактор, который вносит существенные изменения в генетический состав популяции, носит спорный характер (Karlsson A., 2007; Lin Y., 2014).

Изучение генетического разнообразия вида *Sus scrofa scrofa* на территории Республики Беларусь, а также оценка уровня интрогрессии аллелей домашних животных *Sus scrofa domesticus* в геном дикого кабана может иметь существенное значение для решения природоохранных задач. Оценка генетического разнообразия возможна путем исследования полиморфизма мтДНК, STR или SNP-локусов. Исследователи все чаще обращаются к анализу SNP. Это связано, в первую очередь, с наличием коммерческих чипов средней и высокой плотности для исследования генетических изменений в контексте всего генома. Одним из предложений на рынке полногеномных исследований является чип PorcineSNP60 DNA Analysis Kit v2 компании Illumina<sup>©</sup> с количеством анализируемых SNP более 60 тысяч. Однако стоимость анализа для одного образца все еще остается весьма высокой. В этом разрезе актуальной становится задача по созданию целевых таргетных панелей с ограниченным количеством SNP со значением  $MAF \geq 10-15\%$  ( $MAF$  – Minor allele frequency) – порядка 100-150. Как было первоначально показано в исследовании Ramos et al. (2011) и впоследствии подтверждено нами (Кипень В.Н., 2016) с помощью биоинформатического анализа данных полногеномных проектов по секвенированию образцов вида *Sus scrofa*, существует достаточно большое количество высокополиморфных SNP, пригодных для решения данной задачи.

Цель и задачи. С учетом ранее полученных результатов (Ramos et al., 2011; Кипень В.Н. и др., 2016) по анализу полиморфных вариантов, представленных в чипе Pig\_Illu60K (Illumina), для полногеномных сиквесных проектов по анализу генома дикого кабана из Европы (24 шт.) и домашней свиньи (породы крупная белая, ландрас, дюрок, пьетрен, мейшань – 91 шт.), оценить дифференцирующий потенциал 193 SNP, описанных Ramos et al. (2011). Анализ был выполнен с помощью алгоритма SRA Nucleotide BLAST и программы BioEdit v.7.2.5. Количество включенных в анализ SNP – 193. Отдельно дополнительное внимание было уделено участку X-хромосомы, на котором нами ранее было выявлено два полиморфных локуса с предположительно высоким дифференцирующим потенциалом для различения особей дикого кабана от домашней свиньи – было исследовано генотипическое разнообразие для 25 SNP в диапазоне X:58911107-X:60656889 (rs80801780, rs80817425, rs81473227, rs80903635, rs80891217, rs321949235, rs80924261, rs80985865, rs80987186, rs81473228, rs330095107, rs80936726, rs81473257, rs80803330, rs80981028, rs80998473, rs80979282, rs321294367, rs80925206, rs339458440, rs331950236, rs80980235, rs80843461, rs80862185, rs81473281). Число полногеномных прочтений для дикого кабана – 24, для коммерческих пород домашней свиньи – 91 (крупная белая – 19, ландрас – 23, пьетрен – 6, дюрок – 28, мейшань – 15). Общее количество проанализированных сиквенса >16,0 млрд.

Из 193 проанализированных SNP только для 16 была показана строгая специфичность в отношении дикого кабана. Для всех коммерческих пород в рамках исследования 16 SNP

было показано наличие только одного генотипа. Для двух локусов, расположенных на X-хромосоме, частота специфического аллеля составила более 80%. Дополнительный анализ с использованием алгоритма MDR (Multifactor dimensionality reduction, (Moore J., 2006)), направленный на оценку возможного совместного наследования выявил наличие строгой сцепленности между локусами (вероятность рекомбинации локусов в мейозе составляет менее 2 %). Один из этих локусов – полиморфный вариант rs81473228 (H3GA0051811), – расположен в интронной области гена *HEPH* (Gene ID: 100512938). Функция ортолога *HEPH* у человека сходна с функцией церулоплазмينا, белок гефестин содержит гомологичный церулоплазмину активный центр и участки связывания меди. Гефестин участвует в метаболизме железа, активизируя окисление  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$ , является ферментом ферроксидазой и содержит 6 ионов меди.

Используя современные алгоритмы анализа «сырых» данных (SRA) проектов полногеномного секвенирования, нам удалось выявить SNP, которые отличаются строгой специфичностью в отношении особей дикого кабана: общее количество SNP – 16, локализация – 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 15, X-хромосомы; частота специфического аллеля – 4,2-87,5%. Полученные результаты предстоит проверить на практике ввиду возможного наличия межпопуляционных различий по частоте распространенности того или иного SNP. На основании полученных данных представляется возможным формирование таргетной панели для оценки генетического разнообразия особей дикого кабана на территории Республики Беларусь на современном этапе его эволюционного развития.

**Bioinformatics algorithms to analyze genetic data of next-generation sequencing (NGS technology) to search for polymorphic variants (SNP) of practical importance for assessment of genetic diversity of wild boar in Belarus**

Kipen V.N.<sup>1</sup>, Tsybovsky I.S.<sup>1</sup>, Melnov S.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Expertises, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup>*Republican Research Unitary Enterprise «Belarusian Research Center «Ecology»»,  
Minsk, Belarus*

One of the main causes of contemporary change in the genetic structure of European wild boar (*Sus scrofa scrofa*) is an anthropogenic impact. The changes in the gene pool occur through the extermination of animals in hunting or hybridization with domestic animals during free grazing. As originally shown in the study by Ramos et al. (2011) and subsequently confirmed by us (Kipen V. N., 2016) with bioinformatics analysis of genome-wide data projects for sequencing of *Sus scrofa*, there is a number of pedigree SNP to assess genetic diversity. Taking into account the previously obtained results (Ramos et al., 2011; Kipen V. N. etc., 2016) for the analysis of the polymorphic variants represented in the Pig\_Illu60K chip (Illumina) for genome-wide sequence projects on genome analysis of wild boar from Europe (24) and domestic pigs (breed: Large white, Landrace, Duroc, Pietrain, Meishan – 91), the goal of this study is estimation of differentiating potential of 193 SNP described by Ramos et al. (2011).

Of the 193 analyzed SNP only 16 displayed strict specificity for wild boar. For two loci located on the X chromosome, the frequency of a specific allele was more than 80%. One of these loci is the polymorphic variant rs81473228 (H3GA0051811), located in intron region of the gene *HEPH* (Gene ID: 100512938). Using modern algorithms for the analysis of raw data (SRA) projects of whole genome sequencing, we were able to identify SNP that have a strict specificity in relation to species wild boar: the total number of SNP – 16, localization – 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 15, X chromosomes; the frequency of specific allele – 4.2-87.5%. The results obtained to be tested in practice because of possible presence of interpopulation differences in the frequency distribution of a particular SNP. Based on these data it is possible to form a targeted panel for evaluation of genetic diversity among individuals of a wild boar on the territory of Belarus at the present stage of his evolutionary development.

## Использование двухлокусных SNP-систем для дифференциации в семействе Свиные при проведении судебно-экспертных исследований

Кипень В.Н.<sup>1</sup>, Рябцева А.О.<sup>1</sup>, Котова С.А.<sup>1</sup>, Журина Н.В.<sup>2</sup>, Ганджа А.И.<sup>2</sup>, Цыбовский И.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству», Жодино, Республика Беларусь

Наиболее распространенным объектом, в отношении которого фиксируются факты незаконной охоты на территории Республики Беларусь, является кабан европейский (*Sus scrofa scrofa*). В то же время, в стране активно ведется разведение домашних свиней высококачественных пород, в отношении которых совершаются преступления имущественного характера, связанные с кражами животных или мясопродуктов. Наконец, в пищевой промышленности актуальны вопросы разработки современных и высокоточных методик проверки соответствия продукции и, как следствие, исключения мошенничества с составом и истинным происхождением мяса и продуктов его переработки (фарш, колбасы и др.). На данный момент в экспертной практике задача по дифференциации дикого кабана от домашней свиньи может быть решена с помощью анализа однонуклеотидного полиморфизма (SNP) в белок-кодирующих генах, полиморфизм в которых напрямую связан с фенотипом животных – *MC1R*, идентификационный номер в базе данных NCBI\_Gene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) 494018 (Fajardo V., 2007) и *NR6A1* – 100038028 (Fontanesi L., 2014).

Цель и задачи – оценить дифференцирующий потенциал полиморфных вариантов с.367G>A (*MC1R*), с.729G>A (*MC1R*) и g.299084751\_C/T (*NR6A1*) для решения экспертной задачи по различению особей дикого кабана (*Sus scrofa scrofa*) и домашней свиньи (*Sus scrofa domestica*) в Республике Беларусь. В исследование были включены следующие группы: выборка образцов биологического материала (ушная раковина или мясная вырезка) дикого кабана общей численностью 719 шт. (в Гомельской области количество отобранных образцов дикого кабана составило 67 шт., в Минской обл. – 98, в Витебской обл. – 133, в Могилевской обл. – 141, в Гродненской обл. – 132, в Брестской обл. – 148); выборка образцов ДНК домашней свиньи – 304 шт. (50 – породы «Белорусская крупная белая», 53 – «Белорусская мясная», 20 – «Белорусская черно-пестрая», 72 – «Дюрок», 54 – «Ландрас», 55 – «Йоркшир»). Определение генотипа было произведено с использованием метода ПЦР-ПДРФ (использованы три эндонуклеазы рестрикции – *VspHI* для полиморфного варианта с.367\_G>A (*MC1R*), *BstUI* – для с.729\_G>A (*MC1R*) и *MspI* – для g.299084751\_C>T (*NR6A1*). Поиск значимых комбинаций генотипов, способных с высокой точностью дифференцировать дикого кабана от домашней свиньи, проводили с использованием программы MDR (Multifactor-Dimensionality Reduction) (Ritchie M.D., 2001). На основании результатов генотипирования трех полиморфных вариантов: с.367\_A/G (*MC1R*), с.729\_A/G (*MC1R*) и g.299084751\_C/T (*NR6A1*), – в двух выборках – «Дикий кабан» (n=719) и «Домашняя свинья» (n=304), – с использованием MDR-анализа был проведен сравнительный анализ характеристик моделей по дифференциации дикого кабана от домашней свиньи. Если принять уровень допустимых ложноотрицательных заключений (т.е. когда происхождение неизвестного образца будет отнесено к домашней свинье, в то время как он принадлежит дикому кабану) не более 1,0%, то наиболее оптимальной по времени схемой проведения SNP-генотипирования образцов к материальным затратам будет модель «с.367\_A/G (*MC1R*) / g.299084751\_C/T (*NR6A1*)».

В результате, при наличии следующих генетических профилей: g.299084751\_CC (*NR6A1*) / с.367\_AG (*MC1R*); g.299084751\_CC (*NR6A1*) / с.367\_GG (*MC1R*); g.299084751\_TC (*NR6A1*) / с.367\_GG (*MC1R*), – происхождение неизвестного образца с точностью не менее 99,99% (уровень статистической значимости  $p < 0,01$ ) должно быть отнесено к дикому кабану

(*Sus scrofa scrofa*). При наличии генетических профилей: g.299084751\_TT (*NR6A1*) / c.367\_AA (*MC1R*); g.299084751\_TT (*NR6A1*) / c.367\_GG (*MC1R*), – происхождение неизвестного образца с точностью не менее 99,99% (уровень статистической значимости  $p < 0,01$ ) должно быть отнесено к домашней свинье (*Sus scrofa domesticus*). При наличии других генетических профилей должен быть сделан вывод о невозможности дать заключение, используя только методы SNP-генотипирования по предложенной схеме. Для точного решения задачи по дифференциации дикого кабана и домашней свиньи методом SNP-генотипирования необходимо определить генотип по двум полиморфным вариантам: c.367\_A/G (*MC1R*) и g.299084751\_C/T (*NR6A1*), – сбалансированная точность предсказания в этом случае составит не менее – 98,5% ( $p < 0,001$ ).

### **The use of two-locus SNP-systems for differentiation of species in the family of Swine in conducting forensic expert examinations**

Kipen V.N.<sup>1</sup>, Rabtsava A.A.<sup>1</sup>, Kotova S.A.<sup>1</sup>, Zhurina N.V.<sup>2</sup>, Gandzha A.I.<sup>2</sup>, Tsybovsky I.S.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Expertises, Minsk, Belarus*  
<sup>2</sup>*Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences on Animal Husbandry, Zhodino, Belarus*

The most common object of illegal hunting on the territory of Belarus is the European wild boar (*Sus scrofa scrofa*). At the moment, in expert practice the task to differentiate wild boar from domestic pigs can be solved through the analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in *MC1R* and *NR6A1* genes. The study included the following groups: «Wild boar» – total number 719 (in the Gomel region the number of samples of wild boar was 67, in Minsk reg. – 98, in Vitebsk reg. – 133, in Mogilev reg. – 141, in Grodno reg. – 132, in Brest reg. – 148); «Domestic swine» – 304 (50 – to breed «Belarusian large white», 53 – «Belarusian meat», 20 – «Belarusian black-motley», 72 – «Duroc», 54 – «Landrace», 55 – «Yorkshire»). Genotyping was performed using PCR-RFLP (used three restriction enzymes – BspHI for the polymorphic variant c.367\_G>A (*MC1R*), BstUI – c.729\_G>A (*MC1R*) and MspI – g.299084751\_C>T (*NR6A1*). Search for significant combinations of genotypes capable of high accuracy to differentiate wild boar from domestic pig was carried out using the program MDR (Multifactor-Dimensionality Reduction) (M. D. Ritchie, 2001).

In the presence of the following genetic profiles: g.299084751\_CC (*NR6A1*) / c.367\_AG (*MC1R*); g.299084751\_CC (*NR6A1*) / c.367\_GG (*MC1R*); g.299084751\_TC (*NR6A1*) / c.367\_GG (*MC1R*), – the origin of an unknown sample with an accuracy of not less than 99.99% (the level of statistical significance  $p < 0.01$ ) should be assigned to the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). In the presence of genetic profiles: g.299084751\_TT (*NR6A1*) / c.367\_AA (*MC1R*); g.299084751\_TT (*NR6A1*) / c.367\_GG (*MC1R*), – the origin of an unknown sample with an accuracy of not less than 99.99% (the level of statistical significance  $p < 0.01$ ) should be attributed to the domestic pig (*Sus scrofa domesticus*). In the presence of other genetic profiles it must be concluded that it is impossible to give an opinion using only methods of SNP genotyping by the proposed scheme.

For the exact solution for differentiation of wild boar and domestic swine by the method of SNP genotyping is necessary to determine the genotype of two polymorphic variants: c.367\_A/G (*MC1R*) and g.299084751\_C/T (*NR6A1*), is a balanced prediction accuracy in this case will be not less than 98,5% ( $p < 0.001$ ).

## **Изучение полиморфизма генов *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) в выборке населения Украины**

Кобец М.Н., Кобец Ю.Н., Тимошина И.А., Филипцова О.В.  
*Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина*

Изучение полиморфизма генов *CYP1A2*, *CYP2B6* системы биотрансформации лекарственных средств и гена *IL-6* в населении Украины носит важный медико-социальный характер и имеет практическое значение для оказания безопасной и качественной фармакотерапии. *Целью исследования* является изучение полиморфизма генов *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) у населения Украины. Исследование является пилотным для полиморфизмов *CYP1A2* (rs762551) и *CYP2B6* и уточняющим для полиморфизма *IL-6* (rs2069840). Участниками исследования были 102 добровольца, жители Украины, не состоящие в родстве. Биологическим материалом служил буккальный эпителий. Генотипирование на полиморфизм *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) проводили с использованием полимеразной цепной реакции.

В ходе исследований установлено распределение генотипов в данной группе для *CYP2B6* (rs3745274): 57% GG, 38% GT, 7% TT, для *CYP1A2* (rs762551): 37% AA, 50% AC, 15% CC и для *IL-6* 174G/C (rs2069840): 47% CC, 50% CG, 5% GG. Популяционная структура населения не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга. Показан генетический полиморфизм, который свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований. Выявленный среди украинского населения генетический полиморфизм является основанием для рекомендации проведения генетического тестирования полиморфизма генов *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) при назначении соответствующих лекарственных средств.

### **The study of *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) and *IL-6* (rs2069840) gene polymorphism in the sample of Ukraine population**

Kobets M.N., Kobets Yu.N., Timoshyna I.A., Filiptsova O.V.  
*National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine*

The study of drugs biotransformation system *CYP1A2*, *CYP2B6* and *IL-6* gene polymorphisms in the sample of Ukraine population has an important medical and social character and is of practical importance for the provision of safe and quality pharmacotherapy. *The aim* of the research is to study *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) and *IL-6* (rs2069840) gene polymorphism in the population of Ukraine. The study is pilot for *CYP1A2*, *CYP2B6* gene polymorphisms and clarifying for *IL-6* gene polymorphism. Participants in the study were 102 volunteers, residents of Ukraine, which are not relatives. Biological material was buccal epithelium. Genotyping for polymorphisms *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) and *IL-6* (rs2069840) was performed using the polymerase chain reaction.

The studies found the distribution of genotypes in this group for *CYP2B6* (rs3745274): 57% GG, 38% GT, 7% TT, for *CYP1A2* (rs762551): 37% AA, 50% AC, 15% SS and for *IL-6* (rs2069840): SS 47%, 50% CG, 5% GG. The population structure of the population does not deviate from the Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic polymorphism has been revealed, that demonstrates the need for further research. The genetic polymorphism, revealed in the Ukrainian population, is the basis for the recommendation of genetic testing *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) and *IL-6* (rs2069840) gene polymorphism when prescribing respective drugs.

## **Гены VDR и LCT как детерминанты минерального обмена в кости в различных экологических условиях**

Козлов А.И.<sup>1,2</sup>, Вершубская Г.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ и музей антропологии им.Д.Н.Анучина МГУ, Москва, Россия

<sup>2</sup> Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

Состояние костной ткани зависит от поступления кальция и способности его усваивать. Последнее во многом определяется 1) синтезом в организме эргокальциферола D2; 2) поступлением холекальциферола D3 с пищей; 3) чувствительностью органов-мишеней к витамину D. Для внутриматериковых популяций Северной Европы факторы (1) и (2) ограничивались недостаточным для стабильного синтеза D2 уровнем инсоляции и малым содержанием D3 в продуктах охоты и рыболовства. Это могло компенсироваться отбором наиболее эффективных аллелей гена рецептора витамина D (VDR), обеспечивающих чувствительность тканей; а также носительством аллеля T гена LCT, детерминирующего стабильную выработку лактазы и сохранение у взрослых способности к употреблению в пищу содержащего кальций молока. Если это так, в популяциях бореальной зоны можно ожидать наличия связей между частотами аллелей гена рецептора витамина D (VDR) FokI (rs10735810) и BsmI (rs1544410); аллельным состоянием гена LCT (rs4988235); и показателями D-витаминного статуса.

Мы обследовали коренное население Приуралья – пермских финнов (коми, коми-пермяки, удмурты; n=226). Группы объединены, поскольку предварительные исследования не выявили значимых межэтнических различий ни по частотам ассоциированного с первичной гиполактазией генотипа C/C гена LCT (Боринская и др., 2006), ни по полиморфизму FokI и BsmI гена VDR (Козлов и др., 2016). Установлено, что по генотипу FokI VDR носители аллеля T гена LCT отличаются от гомозигот C/C LCT (p=0,037; точный критерий Фишера). Кроме того, проведя мета-анализ собственных данных и зарубежных публикаций, на материале 36 популяций Европы мы выявили негативную корреляцию между частотой первичной гиполактазии (фенотипическое проявление гомозиготности C/C LCT) и D-витаминным статусом группы, определённым по концентрации 25(OH)D в сыворотке крови (Rsp=-0,375, p=0,04). Результаты подтверждают наличие связей между показателями D-витаминного обмена и частотами генов VDR и LCT в экологических условиях, неблагоприятных для нормального роста и развития костной ткани.

### **VDR and LCT genes as bone mineral metabolism determinants in various ecological circumstances**

Kozlov A.I.<sup>1,2</sup>, Vershubskaya G.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Anuchin Research Institute and Museum of Anthropology,  
Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>2</sup> *Perm State Humanitarian-Pedagogical University, Perm, Russia*

Bone health depends on calcium intake and absorbtion. The latter is largely determined by 1) the synthesis of ergocalciferol D2 in the body; 2) the availability of dietary cholecalciferol D3; 3) the sensitivity of target organs to vitamin D. In the inland populations of Northern Europe, the insufficient insolation and low vitamin D3 content in the produce of hunting and fishing diminish factors (1) and (2). This could be offset by selection of the most effective allelic variations in vitamin D receptor gene (VDR), which ensure tissue sensitivity, and also the T allele of the LCT gene associated with lactase persistence and thus the ability to consume calcium-rich milk in adulthood. If so, in boreal populations, one should expect to see relationship between the frequencies of VDR gene FokI (rs10735810) and BsmI (rs1544410) polymorphisms, LCT (rs4988235) gene allelic variants, and D-vitamin status.

We studied the indigenous people of the Cis-Urals the Permian Finns (Komi, Komi-Permyaks, Udmurts; n=226). As previous investigations did not show significant inter-ethnic differences in the LCT C/C genotype prevalence (Borinskaya et al., 2006), as well as in the frequencies of VDR gene FokI and BsmI polymorphisms (Kozlov et al., 2016), we merged the samples from the ethnic groups in our analysis. It was found that the VDR FokI genotype differ in LCT T allele carriers from that in the LCT C/C homozygous subjects ( $p=0.037$ ; Fisher exact test). In addition, a meta-analysis of data from 36 European populations revealed a negative correlation between the frequency of primary hypolactasia (associated with the LCT C/C variant) and the vitamin-D status in a group, measured by 25(OH)D blood serum concentration ( $R_{sp}=-0.375$ ,  $p=0.04$ ). Our results confirm an association between the vitamin D status and the polymorphisms of VDR and LCT genes in environmental conditions unfavorable for the normal growth and development of bone tissue.

### **Вариабельность микросателлитных локусов восточно-европейской овчарки**

Коптев В.В.<sup>1,2</sup>, Калашников А.Е.<sup>3</sup>, Калашникова Л.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Ярославский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства, Ярославль, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, Ярославль, Россия*

<sup>3</sup>*Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела, Лесные Поляны, Московская обл., Россия*

Широкое разнообразие генетических ресурсов является важнейшим фактором для развития системы служебного собаководства. Необходимость сохранения этого потенциала обусловлена тем, что несколько десятилетий селекции в племенном собаководстве привели к быстрому перерождению пользовательных пород собак в декоративные и, как следствие, утрате ряда физических, физиологических и психических качеств. Важнейшей задачей в этой связи является как характеристика генофонда разводимых в России пород, так и генетическая оценка каждого племенного животного с целью дальнейшего использования его генетического потенциала. Нами было проведено генотипирование собак породы восточно-европейская овчарка ( $n=150$ ), разводимых в Вологодской, Московской, Ярославской, Ленинградской, Челябинской, Свердловской областях, по полиморфизму 10 микросателлитных маркеров (*FHC2010*, *FHC2054*, *FHC2079*, *PEZ1*, *PEZ3*, *PEZ5*, *PEZ6*, *PEZ8*, *PEZ12*, *PEZ20*). В результате получены данные о частоте встречаемости аллелей анализируемых локусов у животных, принадлежащих разным генеалогическим группам, охарактеризован уровень их генетического разнообразия.

### **Variability of microsatellite loci in East-European shepherd**

Koptev V.V.<sup>1,2</sup>, Kalashnikov A.E.<sup>3</sup>, Kalashnikova L.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Yaroslavl Scientific Research Institute of Livestock And Fodder Production, Yaroslavl, Russia*

<sup>2</sup>*Yaroslavl-State Agricultural Academy Yaroslavl, Russia*

<sup>3</sup>*All-Russian Research Institute of Breeding, Lesnye Polyany, Moscow region, Russia*

A wide variety of genetic resources is the most important factor for the development of the service dog breeding system. The need to preserve this potential is due to the fact that several decades of selection in dog breeding have led to a rapid degeneration of the breeds of dogs in decorative ones and, consequently, the loss of a number of physical, physiological and mental qualities. The most important task in this regard is both the characterization of the gene pool of dog breeds in Russia, and the genetic evaluation of each pedigree animal for the purpose of further utilization of its genetic potential. We carried out genotyping of dogs of the East European



Shepherd breed (n = 150), bred in Vologda, Moscow, Yaroslavl, Leningrad, Chelyabinsk, Sverdlovsk regions, by polymorphism of 10 microsatellite markers (*FHC2010*, *FHC2054*, *FHC2079*, *PEZ1*, *PEZ3*, *PEZ5*, *PEZ6*, *PEZ8*, *PEZ12*, *PEZ20*). As a result, data on the frequency of occurrence of alleles of the analyzed loci in animals belonging to different genealogical groups were obtained; the level of their genetic diversity was characterized.

## **Практикоориентированные задачи популяционной генетики по сохранению природных ресурсов России**

Корнилова Т.И.

*Якутская государственная сельскохозяйственная Академия, Якутск, Россия*

Популяционный уровень организации живой природы крайне важен с экологической и эволюционной точек зрения. Сокращение популяционно-видового разнообразия в мире, антропогенные перегрузки экосистем, провоцирует экологические риски и экологические катастрофы. Эффективное решение задач по сохранению и восстановлению природных ресурсов России, включая естественные генофонды животных и растений, а также генофонды древних сельскохозяйственных пород животных и сортов растений, может быть обеспечено лишь на основе законов и механизмов популяционной генетики. Отсюда следует:

1. Работы отечественных исследователей (Ю.П. Алтухов и его школа) убедительно доказывают необходимость реформирования отечественной нормативно-правовой базы в области охраны генофондов как естественных популяций так и древних пород животных и сортов растений. Существующие в РФ правовые основы рыбоохранного, лесного, сельскохозяйственного законодательства входят в противоречие с «Конвенцией о биологическом разнообразии» (Так, ст.8 п.1 настаивает на необходимости защиты экосистем от инвазий, в то время как в Якутии на уровне региональных властей финансируются скрещивание пеляди *Coregonus peled* и чира *Coregonus nasus* с последующим выпуском гибридов в естественные водоемы, «подпитка» малочисленных местных популяций кеты *Oncorhynchus keta* в р. Колыма кетой с о-ва Сахалин, поддерживается как достижение якутских ученых скрещивание горных баранов чубуку с овцами и др.).

Вывод: необходимо отменить ряд статей в Федеральных законах (ст.46 Федерального закона от 20.12.04 № 166-ФЗ «О рыболовстве и сохранении водных биологических ресурсов» и ст.18 Федерального Закона от 24.07.09 № 209-ФЗ «Об охоте и сохранении охотничьих ресурсов»).

2. Обязательное привлечение ведущих представителей отечественной школы генетики популяций к профессиональной разработке и экспертизе отечественной нормативно-правовой базы по природным ресурсам.

3. В РФ открытый потребительский подход в стиле академика Т.Д. Лысенко в вопросах сохранения популяций стал возможным благодаря отсутствию профессиональных знаний в области популяционной генетики у работающих специалистов – от руководителей высокого уровня до рядовых исполнителей. Для предотвращения «экспериментов» с природными ресурсами следует повысить уровень профессиональной подготовки обучающихся в агровузах бакалавров и магистрантов (за исключением Дальнего Востока, где работал Ю.П. Алтухов и оставил после себя высококвалифицированные научные кадры) за счет введения в образовательные программы курсов «Основы популяционной генетики» и «Сохранение биоразнообразия». Изучение курса «Основы популяционной генетики» обеспечит: получение современных теоретических знаний, формирование базовых представлений о законах генетики и последствиях их нарушений, адаптирует к обучению в магистратурах ведущих вузов РФ и Дальнего Востока.

4. Через курсы повышения квалификации обеспечить овладение основами профессиональных знаний в области популяционной генетики специалистов и техников,

работающих в агросекторе и в области охраны окружающей среды. Используя факультеты повышения квалификации обучать преподавателей агровузов и агротехникумов.

5. Стимулирование выпуска учебной литературой нового поколения - от печатных учебников и учебных пособий до электронных образовательных ресурсов (ЭОР) и тестов online, для обеспечения требуемого ФГОС 3+ качества обучения, способности к самообучению, активности в приобретении и передаче знаний в области популяционной генетики.

### **Practice-oriented tasks of population genetics for the conservation of natural resources of Russia**

Kornilova T.I.

*Yakutsk state agricultural Academy, Yakutsk, Russia*

The population level of organization of nature is extremely important from ecological and evolutionary points of view. The reduction in population and species diversity in the world, anthropogenic overloading of the ecosystems, provoking environmental risks and ecological disaster. Effective solutions for the conservation and restoration of natural resources of Russia, including the natural gene pools of animals and plants, and the gene pools of the ancient agricultural animal breeds and plant varieties can be achieved only on the basis of laws and mechanisms of population genetics. It follows:

1. The work of Russian researchers (Yu. P. Altukhov and his school) convincingly prove the need to reform the domestic regulatory framework in the field of protection of natural gene pools as populations and ancient breeds of animals and varieties of plants. Existing in the Russian Federation, legal bases of conservation, forestry, agricultural legislation are in conflict with "the Convention on biological diversity". Thus, article 8 of p. h insists on the need to protect ecosystems from invasions, while in Yakutia in the level of regional authorities is financed by crossing peled *Coregonus peled* and broad whitefish *Coregonus nasus*, with subsequent release of hybrids in natural waters, "feeding" a small local populations of chum salmon *Oncorhynchus keta* in the Kolyma keta from Sakhalin island, served as the attainment of the Yakut scientists crossing the shank of mountain sheep with sheep, etc.). Hence the need for the abolition of several articles of the Federal laws (article 46 of the Federal law of 20.12.04 № 166-FZ "On fisheries and conservation of aquatic biological resources" and p. 18 of the Federal Law of 24.07.09 № 209-FZ "About hunting and preservation of hunting resources").

2. Mandatory involvement of leading representatives of the Russian school of population genetics to the professional development and examination of domestic normative-legal framework on natural resources.

3. In Russia outdoor consumer approach in the style of academician T. D. Lysenko in the conservation of populations became possible due to the lack of professional knowledge in the field of population genetics have working professionals – from high-level executives to ordinary performers. To prevent "experiments" in natural resources should increase the level of professional training of students in higher schools bachelors and masters (with the exception of the Far East, where he worked, Yu. P. Altukhov and left behind highly qualified scientific personnel) and to enter into the educational program courses «Foundations of population genetics» and «Biodiversity Conservation».

The study of the course «Fundamentals of population genetics» will provide: a modern theoretical knowledge, the formation of the basic ideas about the laws of genetics and the consequences of their violations will increase the success of learning in graduate programs of leading universities of the Russian Federation and the Far East;

4. Through refresher courses to ensure mastery of basic professional knowledge in the field of population genetics professionals and technicians working in the agricultural sector and in the field of environmental protection. Using the faculty training to teach the teachers of the higher schools and agro techniques.

5. Stimulation of the release of the educational literature of new generation - from printed textbooks to electronic educational resources (EER) and tests on-line, ensure the required quality of the FSES 3 plus learning ability to self-education, active in the acquisition and transfer of knowledge in the field of population genetics.

**Ретикулярная эволюция на выраженном высотном градиенте в горных тропиках (на примере узкоголовых крыс рода *Stenocephalemys*)**

Костин Д.С.<sup>1,2</sup>, Брыя Й.<sup>3</sup>, Лавренченко Л.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт Биологии Позвоночных Академии Наук Чешской Республики Наук, Брно

Разделенные Рифтовой долиной горные плато Эфиопии представляют собой подходящий полигон для верификации различных моделей видообразования. Предполагается, что эволюцию ряда групп организмов горных тропиков можно описать не классической географической (рефугиальной) моделью видообразования, а так называемой градиентной моделью. Последняя предсказывает высокий уровень морфологической дивергенции сестринских таксонов, а также обитание их в смежных высотных поясах единого горного массива (Лавренченко, 2011). Одной из таких групп является эндемичный для Эфиопии род узкоголовых крыс *Stenocephalemys*. В ранних исследованиях филогенетические отношения между ними были реконструированы с помощью анализа последовательностей митохондриального гена *cytb* (Lavrenchenko, Verheyen 2006). В последнее время для некоторых групп млекопитающих показано несоответствие между филогениями, построенными на основе митохондриальных и ядерных маркеров, что объясняется процессами межвидовой гибридизации. Выполненный нами филогенетический анализ взаимоотношений между представителями рода *Stenocephalemys* с использованием как митохондриальных (*cytb*), так и ядерных (*Rag 1*, *IRBP*, *Dhcr24-7*, *Wls-7*, *Smo-9* и *Nadsyn1-4*) маркеров позволил предложить намного более сложный, чем предполагалось ранее, сценарий эволюции этого рода. Предложена реконструкция эволюции видов *Stenocephalemys*, предполагающая чередование процессов градиентного и аллопатрического видообразования, а также разновозрастные процессы межвидовой гибридизации. Предварительный анализ аминокислотных последовательностей гена *cytb* позволяет предположить адаптивный характер обнаруженных случаев интрогрессии митохондриальной ДНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-04-03801).

**Reticulate evolution along a strong environmental gradient in tropical mountains: a case study on narrow-headed rats of the genus *Stenocephalemys***

Kostin D.S.<sup>1,2</sup>, Bryja J.<sup>3</sup>, Lavrenchenko L.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup>N.K. Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Institute of Vertebrate Biology of the Czech Academy of Sciences, Brno

The Ethiopian montane plateau divided by the Rift Valley represents very suitable polygon for the verification of the alternative speciation models. Assumed, that evolution of number of groups of organisms can be described not by the classical geographical (refugia model) model of speciation but by the so-called gradient (parapatric) models. The latter ones predict significant level of the morphological divergence between sister taxa and their inhabitation in adjacent altitudinal belts of the single montane massif (Lavrenchenko, 2011). One of such groups is narrow-headed rats from the *Stenocephalemys* genus endemic to Ethiopia. Earlier, phylogenetic relationships between

them were reconstructed based on sequences of the mitochondrial gene *cytb* (Lavrenchenko, Verheyen 2006). Discordance between mitochondrial and nuclear phylogenies was showed for some mammals, which can be explained by interspecific hybridization. Performed analyses of phylogenetic relationships within the genus with using both mitochondrial (*cytb*) and nuclear (*Rag 1*, *IRBP*, *Dhcr24-7*, *Wls-7*, *Smo-9* и *Nadsyn1-4*) markers allowed to suggest more complex evolutionary scenario than supposed before. The reconstruction of *Stenocephalemys* evolution assumes combination of the gradient and allopatric speciation and also allochronous processes of the interspecific hybridization. Preliminary analysis of the amino acid sequences of the *cytb* gene allowed us to suggest an adaptive character of the revealed cases of mitochondrial introgression.

This work was supported by the RFBR (Project № 15-04-03801).

### Генетическая структура вида кабан европейский в Республике Беларусь

Котова С.А.<sup>1</sup>, Рябцева А.О.<sup>1</sup>, Кипень В.Н.<sup>1</sup>, Журина Н.В.<sup>2</sup>, Ганджа А.И.<sup>2</sup>, Рембала К.<sup>3</sup>,  
Цыбовский И.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз  
Республики Беларусь», Минск, Беларусь

<sup>2</sup>РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству»,  
Жодино, Беларусь

<sup>3</sup>Гданьский медицинский университет, кафедра судебной медицины, Гданьск, Польша

В популяциях диких кабанов (n=719) и домашних свиней (n=304) проведено изучение двух типов генетического полиморфизма – 20 STR-локусов и 3 сайтов однонуклеотидных замен (SNP-полиморфизм) в генах рецептора меланокортина 1 (*MCR1*) и ядерного рецептора *NR6A1*. Массив образцов диких кабанов сформирован из выборок, полученных из 51 места обитания диких животных (из 51 административного района Беларуси). Массив домашних свиней представлен 6 породами из 8 агропромышленных организаций Беларуси.

Показано, что популяции диких кабанов несут гены домашних свиней. Уровень интрогрессии домашних генов в дикую популяцию составляет  $6,8 \pm 0,9\%$  для гена *MCR1* и  $1,5 \pm 0,5\%$  для гена *NR6A1*, что значительно меньше, чем у животных из Центральной и Южной Европы.

Полиморфизм 16 STR-локусов в популяциях дикого кабана имеет территориальные особенности. Дикие кабаны не формируют единой популяции: массивы образцов, сформированные на территории 6 административных областей страны, статистически достоверно различаются между собой. Многомерное шкалирование массивов генотипов, сформированных по типу лесных насаждений, по климатическим особенностям (глубине снежного покрова), по пунктам отбора проб и др. также выявляет неоднозначную картину, что может быть отражением антропогенной деформации генетических структур популяций на местах. Частоты встречаемости аллелей у дикого кабана и домашних свиней статистически достоверно различаются. Для судебно-экспертного использования необходимо формировать банки данных частот аллелей отдельно для диких и для домашних животных. Частоты встречаемости аллелей между отдельными породами свиньи домашней также различаются, что может быть использовано для определения породы. Экспериментально доказано, что панель из 16 STR-локусов пригодна для достоверной идентификации образцов дикого кабана и домашней свиньи. При этом показано, что генотипы всех сибсов первого поколения у домашних свиней различаются. Это дает возможность решения задачи о генетическом родстве особей, как диких, так и домашних животных. Экспериментально установлено, что с использованием 16 STR-локусов можно определять принадлежность неизвестного генотипа к массиву генотипов диких или домашних животных. На основе SNP-полиморфизма генов *MCR1* и *NR6A1* также можно дифференцировать биологические образцы по происхождению. С точностью  $98,83 \pm 0,33\%$  при заявленном уровне статистической значимости  $p < 0,01$  для дифференциации дикого

кабана от домашней свиньи методом ПЦР-ПДРФ достаточно исследования полиморфных вариантов двух сайтов – с.367A>G (ген *MC1R*) и g.299084751\_C/T (ген *NR6A1*).

### **The genetic structure of the wild boar in Republic of Belarus**

Kotova S.A.<sup>1</sup>, Rabcava A.A.<sup>1</sup>, Kipen V.N.<sup>1</sup>, Zhurina N.V.<sup>2</sup>, Gandzha A.I.<sup>2</sup>, Rebala K.<sup>3</sup>,  
Tsybovsky I.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Examination, Minsk, Belarus*

<sup>2</sup>*Scientific and Practical Centre of the National Academy of Sciences on Animal Husbandry,  
Zhodino, Belarus*

<sup>3</sup>*Department of Forensic Medicine, Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland*

We investigated two types of genetic polymorphism – 20 microsatellite loci and 3 SNP sites – in the genes of melanocortin receptor 1 (*MC1R*) and nuclear receptor *NR6A1* in populations of wild boar (n=719) and domestic pig (n=304). The wild boar specimen set was assembled from selections obtained from 51 sites of natural habitat (51 administrative districts of Belarus). The domestic pig specimen set comprised 6 breeds from 8 agricultural organizations in Belarus. Domestic pig genes were detected in the wild boar populations. The level of introgression of domestic genes in the wild population was 6.8±0.9% for *MC1R* and 1.5±0.5% for *NR6A1*, which is significantly less than in animals from central and southern Europe. The polymorphism of 16 STR loci in the wild boar populations was region-specific. Wild boars do not form a single population, with the sample sets obtained from the 6 administrative regions statistically significantly different from each other. Multidimensional scaling of genotype subsets formed according to forest types, climate (snow cover depth), sites of sample collection, etc., produced equivocal results, which may reflect anthropogenic deformation of genetic structures of the local populations.

The allele frequencies in the wild boar and domestic pig were significantly statistically different. Therefore, forensic applications will require separate databases of allele frequencies for wild and domestic animals. The allele frequencies in different domestic pig breeds were also different, which may be used for breed identification. We provide an experimental proof that the panel of 16 STR loci can be used for reliable discrimination between specimens from the wild boar and domestic pig. Moreover, the genotypes of all first-generation sibs of domestic pigs were also different. This opens a possibility to determine paternity testing of both wild and domestic animals. We showed experimentally that the 16 STR loci can be used to assign an unidentified genotype to the pool of wild or domestic animals. Based on SNP polymorphism of the *MC1R* and *NR6A1* genes, it is also possible to differentiate biological specimens according to their origin. Thus, for differentiation between the wild boar and domestic pig using PCR-RFLP with an accuracy of 98.83±0.33% at the level of statistical significance of p<0.01, it is sufficient to analyze polymorphic variants of two sites, c.367A>G (*MC1R* gene) and g.299084751\_C/T (*NR6A1* gene).

### **Мономорфизм, гетерозиготность и эволюция:**

#### **Работы Ю. П. Алтухова в свете новейших полногеномных данных**

Крутовский К. В.

*Отделение лесной генетики и селекции, Гёттингенский университет, Гёттинген, Германия;*

*Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва, Россия;*

*Лаборатория лесной геномики, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии,*

*Научно-образовательный центр геномных исследований, СФУ, Красноярск, Россия;*

*Отделение по изучению и управлению экосистем, Техасский АМ университет,*

*Колледж Стейшин, Техас, США*

Благодаря развитию новых высокопроизводительных технологий секвенирования ДНК (т.н. технологий секвенирования следующего поколения), начиная примерно с 2005-

2006 годов, появилась возможность полногеномного секвенирования популяционных выборок любых, не только модельных организмов. Полученные данные буквально революционизировали популяционную и эволюционную генетику, позволяя сравнивать полногеномную генетическую и эпигенетическую изменчивость в кодирующих и некодирующих последовательностях ДНК между отдельными особями, популяциями и видами. Появилась возможность в полной мере проверить высказанные выдающимся генетиком-популяционистом Юрием Петровичем Алтуховым оригинальные идеи и гипотезы, в частности о роли мономорфных генов в видообразовании и эволюции, а также об уровне оптимальной гетерозиготности в популяциях и связи популяционной и индивидуальной гетерозиготности с важными адаптивными и видовыми признаками. В предложенном докладе будут также кратко представлены наиболее перспективные методы и подходы для изучения полногеномной изменчивости, используемые автором в его популяционно-геномных исследованиях хвойных видов.

**Monomorphism, heterozygosity and evolution:  
Yu. P. Altukhov's works in the light of the modern genome-wide data**

Krutovsky K. V.

*Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding,  
Georg-August University of Göttingen, Germany*

*Laboratory of Population Genetics, N. I. Vavilov Institute of General Genetics RAS,  
Moscow, Russia;*

*Laboratory of Forest Genomics, Genome Research and Education Center,  
Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia;*

*Department of Ecosystem Science and Management, Texas A&M University,  
College Station, TX, USA*

Due to the development of new high-throughput massively parallel DNA sequencing technologies (the so-called „next-generation sequencing“ or NGS technologies), beginning from 2005-2006 complete genome or genome-wide sequencing has become possible for population samples of practically any organism, not only model species. The obtained data literally revolutionized population and evolutionary genetics, allowing to compare genome-wide genetic and epigenetic variation in both coding and non-coding sequences between individuals, populations and species. Now we can validate original ideas and hypotheses formulated by an outstanding population geneticist Yuri P. Altukhov, in particular the role of monomorphic genes in speciation and evolution, as well as the optimal level of heterozygosity in populations and relationship of an individual heterozygosity with important adaptive and species-specific traits. The proposed presentation will also briefly demonstrate the most promising methods and approaches for the study of genome-wide variation used by the author in his population genomic studies of conifers.

**Генетическая структура популяций сортов винограда вида *Vitis vinifera* L. в  
Нахичеванской Автономной Республике Азербайджана**

Кулиев В.М.

*Институт Биоресурсов Нахичеванского Отделения НАН Азербайджана*

В Нахичеванской Автономной Республике в естественных условиях встречается разных типов популяций вида винограда *Vitis vinifera* L. Дикие популяции *Vitis vinifera* ssp. *silvestris* C.C. Gmel. Размножаются в природных условиях семенами и черенками. Выявлены следующие вариации: 1. *V. silvestris* Gmel.- дикий виноград и формы, вырастающие из его семян; 2. Дикорастущие формы, вырастающие из семян возделываемых сортов. В популяции ssp. *silvestris* C.C. Gmel. выявлено шесть биотипов генетического разнообразия. Важно

отметить, что все биотипы подвида *V. sylvestris* Gmel. характеризуются определенной уникальностью генетической структуры и могут являться донорами генов устойчивости против грибковых болезней, а также важным источником для селекции иммунных сортов винограда. Нами выделены особые разновидности *V. v. silvestris* Gmel. var. *Naхcivan* Var., не имеющие аналогов, листья которых почти целые (без боковой вырезки), края отогнуты вниз, с очень мелкими широко куполовидными краевыми зубчиками, а также с мужскими цветками. В ходе исследования проводилось скрещивание в 20-ти комбинациях между дикими виноградами *V. v. silvestris* Gmel. и их биотипов со столовыми и техническими сортами. По результатам гибридологического анализа 20 тысяч новых сеянцев по основным генетическим признакам, полагаем, что основные аборигенные возделываемые сорта в регионе произошли от диких популяций *ssp. silvestris* Gmel.

*Естественная популяция сортов винограда.* Совокупность генетических особей, сформировавшихся под действием естественных факторов. В регионе имеется более 150 сортов и форм винограда, которые носят хозяйственно-ценные доминантные гены, которые представляют исходный генетический и селекционный материал для создания новых сортов. В популяции генофонда имеются: Сортогруппы: столовых - 41.2% (*subconvarietas antasiatica* Negr.), технических - 39.7 % (*subconvarietas caspica* Negr.), а также универсальных сортов – 19.6%. Сортотипы: - кишмишных (*concultha apirineae* Negr.), мускатных (*concultha apiana* Negr.), коринки (*concultha corinthiaca* Negr.) крупноплодных (*concultha macrocarpa* Negr.). Подгруппы по продолжительности вегетационного периода: сверхраннего периода созревания (до 105 дней), очень раннего (106-115 дней), раннего (116-125 дней), ранне-среднего (126-135 дней), среднего (136-145 дней), средне-позднего (146-155 дней), позднего (156-165 дней), очень позднего периода созревания (более 165 дней). В популяции имеются сорта с различным содержанием сахаров и кислотности в сусле; по окраске ягоды - зеленовато-белая, розовая, красная, темно-красно-фиолетовая, сине-черная; по урожайности - очень малая (до 4 т/га), малая (5.0 - 8.0 т/га), средняя (9.0 - 12.0 т/га), высокая (12.0 - 16.0 т/га), очень высокая (17.0 т/га и больше); по окраске мякоти - неокрашенная, окрашенная. В популяции существует сорта с различными генетическими параметрами и формами листьев, гроздей и ягод.

*Гибридная популяция.* Естественные и селекционные гибриды - совокупность наследственно различающихся сортов, полученная в результате естественных и экспериментальных скрещиваний, гибриды с положительной трансгрессией.

*Клоновая популяция.* Возникшие в естественных и экспериментальных условиях у различных сортов клоны Арнагырна, Аг алдара, кишмишных сортов и др., мутанты, интродуцированные полиплоиды (2n=57; 76, новые селекционные сорта).

В регионе многовековой народной селекции были получены прославленные, высококачественные, урожайные, очень хорошо приспособленные к местным условиям сорта винограда.

## **Genetic structure of the populations of *Vitis vinifera* L. type vine sorts in Nakhchivan Autonomous Republic of Azerbaijan**

Guliyev V.M.

*Institute of Bioresources Nakhchivani Autonomous Republic, Republic of Azerbaijan*

We can meet different population types of vine of *Vitis vinifera* L. sort in natural conditions in Nakhchivan Autonomous Republic. Wild populations *Vitis vinifera ssp. silvestris* C.C. Gmel. They propagate in natural conditions by means of seeds and cuttings. The following variations are found: 1. *V. silvestris* Gmel. – wild vine and forms are grown from its seeds, 2. Wild forms, growing from the cultivated sorts. Six biotypes of genetic variety were found in *ssp. silvestris* C.C. Gmel. population. It's important to notice that all the biotypes of *V. silvestris* Gmel. subtype is characterized by certain unique of genetic structure and are able to be the donor of the genes for the

stability against the fungal diseases, as well the important source for the selection of immune vine sorts. We chose the special varieties *V. silvestris* Gmel. var. *Naxcivan Varis.*, without any analogue. They leaves are nearly intact (without side cutting) the edges are turned back, with very petty wide arched edge denticles, as well male flowers. During the research the interbreeding in 20 combinations between the *V. silvestris* Gmel. wild vines and their technical sorts was carried out. In accordance with the results of hybridological analysis of 20 thousand new seedlings on the main genetic features we consider that main local sorts in the region was grown from the wild ssp. *silvestris* Gmel. populations.

*Natural population of vine sorts.* The totality of the genetic individuals, formed under the natural factors. There are more than 150 sorts and forms of vine, with economically important prepotent genes, which are the initial and selective material for the creation of new sorts. There are the following in the population gene pool: Sortgroups: catering - 41.2% (*subconvariates antasiatica* Negr.), technical – 39.7% (*subconvariates caspica* Negr.), as well universal sorts – 19.6%. Sorttypes: seedless grapes (*conculata apirineae* Negr.), nutmeg (*conculata apiana* Negr.), currants (*conculata corinthiaca* Negr.), large-fruited (*conculata macrocarpa* Negr.). Subgroups on the duration of vegetation period: of overearly maturation period (up to 105 days), of very early (106-115 days), of early (116-125 days), of early-medium (126-135 days), of medium (136-145 days), of medium-late (146-155 days), of late (156-165 days), of very late maturation period (more than 165 days). There are the sorts with different sugar level and acidity in the worth in the population, on the berry color – greenish-white, pink, red, dark-red-purple, blue-black; on the productivity – very small (up to 4 t/ha), small (5.0-8.0 t/ha), medium (9.0-12.0 t/ha), high (12.0-16.0 t/ha), very high (17.0 t/ha); on the pulp color – achromatic, chromatic. There the sorts with different genetic parameters and forms of leaves, fascicles and berries.

*Hybrid population.* Natural and selective hybrids, totality of hereditarily different sorts, got as a result of natural and experimental interbreeding, hybrids with positive transgression.

*Clonal population.* Formed at different sorts in natural and experimental conditions (Arnagirna clones, Ag aldar, Seedless sorts, mutants, introduced polyploids (2p=57; 76), new selective sorts).

Famous, high quality, productive, very well adapted to local conditions vine sorts were got in the region of centuries-old people's selection.

## Генетически-значимые параметры миграции в мегаполисах

Курбатова О.Л.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Среди генетически-значимых параметров миграции, важных для прогнозирования динамики генофонда мегаполиса, выделяют количественные (коэффициент миграции, миграционные и брачные расстояния, индекс эндогамии) и качественные (этнический и половозрастной состав мигрантов, состояние в браке, уровень образования, социально-профессиональный состав). Эти параметры можно рассчитать на основе данных переписей населения, материалов ежегодной демографической статистики Росстата и ФМС, материалов ЗАГС или данных анкетирования городских жителей. По итогам генетико-демографического исследования нескольких мегаполисов России и СНГ параметры миграции в настоящее время варьируют в следующих пределах: коэффициент миграции – 0,35–0,55 (что предопределяет почти полное обновление генофонда за 6-8 поколений), средний радиус миграции 500-1200 км, среднее брачное расстояние – 300-900 км, индекс эндогамии – 30-50%. Гендерные особенности миграции предопределяют неодинаковую скорость динамики частот генов разной локализации (в связи с преобладанием мигрантов-мужчин чаще она выше для маркеров Y-хромосомы). Образовательный и социально-профессиональный уровень выбывающих (особенно в страны «дальнего зарубежья») из мегаполиса выше, чем прибывающих в мегаполис. К сожалению, начиная с 2000-х годов, данные о наиболее



генетически-значимом качественном параметре миграции – этническом составе мигрантов становятся все более скудными, а потом и вовсе исчезают из текущей демографической статистики, вынуждая ориентироваться на косвенные данные о распределении мигрантов по странам и регионам выхода. Этнорегиональный состав прибывающих в мегаполисы РФ мигрантов подвержен значительным временным колебаниям в зависимости от экономических и социально политических процессов на постсоветском пространстве, что предопределяет необходимость постоянного мониторинга генетико-демографических параметров миграции и разработки разнообразных актуальных сценариев динамики генофондов населения мегаполисов.

### **Genetically-significant parameters of migration in megalopolises**

Kurbatova O.L.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Among the genetically-significant parameters of migration, important for predicting the dynamics of the megalopolis gene pool, quantitative (migration coefficient, migration and marital distances, endogamy index) and qualitative (ethnic and sex-age composition of migrants, marital status, educational level, socio-professional composition). These parameters can be evaluated on the basis of data from population censuses, the annual demographic statistics of the Federal State Statistics Service and the Federal Migration Service, materials of the registry offices or questionnaire of urban residents. According to the results of study of the genetic demography of several megacities of Russia and the CIS, the migration parameters currently vary within the following limits: the migration coefficient from 0.35 to 0.55 (which predetermines almost complete renewal of the gene pool for 6-8 generations), the average migration radius – 500-1200 km, the average marital distance – 300-900 km, the endogamy index from 30 to 50%. The gender peculiarities of migration predetermine the unequal rate of dynamics of the frequency of genes of different localization (in connection with the predominance of male migrants, it is often higher for Y-chromosome markers). The educational and socio-professional level of migrants departing from the megacity (especially to the "far abroad" countries) is higher than of those arriving in it. Unfortunately, since the 2000s, data on the most genetically-significant qualitative parameter of migration – the ethnic composition of migrants – are becoming scarce and then disappear altogether from the current demographic statistics, forcing us to rely on indirect data on the distribution of migrants by countries and regions of departure. The ethnoregional composition of migrants arriving in Russia's megacities is subject to significant temporary fluctuations depending on economic and social-political processes in the post-Soviet space, which predetermines the need for constant monitoring of genetic-demographic parameters of migration and the development of various actual scenarios of the gene pool dynamics in the population of megacities.

### **Популяционная генетика как основа изучения генетики многофакторных заболеваний**

Кучер А.Н.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия*

Неблагоприятные генетические и/или средовые факторы, или несоответствие генетического адаптационного потенциала организма условиям среды обитания лежат в основе развития различных заболеваний многофакторной природы. Поскольку популяционный уровень организации жизни имеет основополагающее значение для формирования структуры генофондов, определяющих, среди прочего, устойчивость к заболеваниям и способность адаптироваться к факторам среды обитания (Алтухов Ю.П., 2003), понимание закономерностей формирования генетического разнообразия этно-

территориальных групп населения имеет существенное значение при изучении генетической основы данных патологий.

На протяжении многих веков популяции представляли собой самоорганизующиеся системы, стремящиеся поддержать оптимальный уровень генетического разнообразия, достаточный для обеспечения адекватного адаптационного потенциала в определенных условиях среды обитания. В результате сформировались уникальные генофонды этно-территориальных групп, с широкой генетической изменчивостью, в том числе и по полиморфным вариантам, определяющим предрасположенность к различным заболеваниям. В настоящее время наблюдается стремительное преобразование структуры популяций и разрушение эволюционно-сложившихся адаптивных генных комплексов, что происходит на фоне резкой смены среды обитания (меняется характер питания, увеличивается число синтетических веществ, с которыми сталкиваются индивиды, в том числе - пищевые добавки, лекарственные препараты и т.д.). В результате таких преобразований наблюдается распространение заболеваний многофакторной природы. Данные положения подтверждают следующие факты.

(1) Доказано, что предрасполагающие к патологиям варианты генов в ходе эволюции испытывали давление отбора, а в качестве селективных факторов выступали природно-климатические условия, характер диеты и т.д. (2) Некоторые варианты генов, предрасполагающие к заболеваниям, в ряде случаев широко распространены в популяциях. (3) В современных популяциях соотносительная роль факторов популяционной динамики существенно отличается от таковой, имевшей место на протяжении длительного эволюционного периода (характерны нестабильность популяционной структуры, высокий уровень миграционной активности, изменение структуры естественного отбора). (4) Уровень заболеваемости патологиями многофакторной природы выше в наиболее социально развитых государствах. (5) Влияние полиморфных вариантов генов на риск развития заболеваний может модифицироваться в зависимости от диетических предпочтений в обследуемых выборках. (6) Потребности в жизненно необходимых нутриентах (в том числе – микро- и макроэлементы, витамины и др., уровень которых различен в разных регионах) находятся под генетическим контролем; к развитию одного и того же заболевания предрасполагают варианты генов, отвечающие за поддержание оптимального уровня таких веществ, и/или дефицит нутриентов в организме. (7) Изменение характера питания может оказывать существенное влияние на уровень экспрессии генов, задействованных в поддержании гомеостаза различных систем органов. (8) Регуляция экспрессии на уровне транскрипции (в том числе посредством метилирования CpG-сайтов) и трансляции, как и функциональная активность белковых продуктов, могут модифицироваться при приеме лекарственных препаратов, употреблении пищевых добавок и при воздействии неблагоприятных средовых факторов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10150).

### **Population genetics as a basis for studying the genetics of common diseases**

Kucher A.N.

*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, Tomsk, Russia*

Adverse genetic and/or environmental factors or non-conformity of genetic adaptive capacity of the organism to environmental conditions may be the cause of the development of various common diseases. A population level of life organization is fundamental to the formation of structure of gene pools, which, among other things, define resistance to disease and ability to adapt to the environment (Altukhov Y.P., 2003). Because of this, understanding of the regularities of formation of the genetic diversity of ethnic groups and territorial populations is essential in the study of the genetic basis of these pathologies.

For many centuries, the populations were self-organizing systems, tending to maintain an optimal level of genetic diversity that was sufficient to ensure an adequate adaptive capacity under certain environment. As a result, unique gene pools with a broad genetic variability (including polymorphic variants determining susceptibility to various diseases) were formed in ethnic and territorial groups. Now, there is a rapid transformation of the structure of populations and the destruction of evolutionarily formed adaptive gene complexes. These processes occur on the background of a sharp change of the habitat (the diet has changed; people are using a lot of synthetic substances, including dietary supplements, drugs, etc.). As a result of these changes, common diseases became widespread. These points are confirmed by the following facts.

(1) It is proved that the genetic variants predisposing to pathologies experienced the selection pressure during evolution, where the natural and climatic conditions, the diet features, etc. acted as selective factors (2) In some cases certain gene variants predisposing to diseases are widespread in the populations. (3) In the modern populations, the relative role of factors of population dynamics is significantly different from that, which took place over a long evolutionary period (instability of the population structure, high level of migration activity and changes in the structure of natural selection). (4) The prevalence of common diseases is higher in the most socially developed countries. (5) Effects of polymorphic gene variants on disease's risk can be modified by the dietary preferences of examined population. (6) The requirements for essential nutrients (including micro and macro elements, vitamins, etc., which are characterized by different level in different regions) are controlled by genetic factors; and polymorphic variants of genes that are responsible for the maintenance of optimal levels of nutrients and/or deficiency of these nutrients in the body can lead to the development of the same disease. (7) Changes of diet at the population can have a significant influence on the expression level of genes involved in maintaining homeostasis of various organ systems. (8) Regulation of the expression at the transcription level (including the methylation of CpG-sites) and at the translation level, as well as the functional activity of protein products, may be modified by drugs, dietary supplements and adverse environmental factors.

The study was supported by the Russian Science Foundation (№ 16-15-10150).

### **Архитектоника субэтнотосов и поколений тоболо-иртышских татар по данным фонда фамилий**

Лавряшина М.Б.<sup>1</sup>, Ульянова М.В.<sup>1</sup>, Тычинских З.А.<sup>2</sup>, Имекина (Долинина) Д.О.<sup>1</sup>,  
Тхоренко Б.А.<sup>1</sup>, Схаляхо Р.А.<sup>3</sup>, Романов А.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Кемеровский государственный университет, Россия*

<sup>2</sup>*Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Россия*

<sup>3</sup>*Медико-генетический научный центр, Россия*

Тоболо-иртышские татары – группа сибирских татар, коренное население Западной Сибири. Для оценки взаимоотношений субэтнотосов и поколений тоболо-иртышских татар собран и проанализирован их фонд фамилий. Изучено пять групп: тобольские татары (искеро-тобольские и иштякско-тогузские) Вагайского и Тобольского района, ясколбинские татары (заболотные) Тобольского района, тюменско-туринские (ялуторовские, бухарские) Ялуторовского и Тюменского района. Источником информации послужили записи книг похозяйственного учета сельского населения 6 сельских муниципальных поселений, 4 районов Тюменской области. Суммарный объем скопированных данных о тоболо-иртышских татарах и членах их семей за три временных интервала (1950-е, 1980-е, 2010-е гг.) составил 22014 записей (в том числе, 20570 татар, 1557 фамилий).

Исследование фонда фамилий – подход, хорошо зарекомендовавший себя в генетике человека. Фамилии, в данном случае, выступают как аналог генетических маркеров и позволяют анализировать структуру популяций в ряду поколений (через показатель генетических расстояний  $d$ , метод Нея), а также сравнивать сходство отдельных субпопуляций (через коэффициент родства по изонимии  $Ri$ , метод Ласкера).

Анализ показал, что спектр частых фамилий (топ-5) у тоболо-иртышских татар в целом за весь исследованный период времени включал следующие варианты: Файзуллин, Назыров, Каримов, Садыков, Халилов. Однако в каждом из пяти субэтносов фамилии этнообразующего блока и разнообразие фонда фамилий существенно различались. Так, среди татар-бухарцев наиболее распространенными оказались фамилии Файзуллин, Яминов, Шарипов, Халимов, Фатхуллин (всего 694 фамилии у 5413 чел.). У ялutorовских татар, этнический ареал которых граничит с ареалом татар-бухарцев, спектр частых фамилий уже иной – Халилов, Исмагилов, Хуснутдинов, Давлетшин, Калеев, Кабиров (357 фамилий у 4515 чел.). Также своеобразны фамилии (топ-5) у двух других территориально соседствующих субэтносов тоболо-иртышских татар Тюменской области: у искеро-тобольских – Каримов, Азисов, Муслимов, Речапов, Аюпов (397 фамилий у 3847 чел.) и иштыякско-тогузских – Садыков, Шамратов, Мухаматуллин, Фаттаков, Шарипов (261 фамилия у 2615 чел.). Ожидаемо уникальным оказался фонд фамилий у территориально изолированной группы заболотных татар. Наиболее распространенными у них оказались фамилии – Назыров, Баширов, Абдуллин, Ишкулов, Тимергалиев (294 фамилии у 4183 чел.).

Генетические расстояния между поколениями (три поколения, период с 1950-х по 2015 г.) отражают разную интенсивность изменений популяционно-генетической структуры каждого из исследованных субэтносов тоболо-иртышских татар. Наиболее сильной трансформации оказалась подвержена структура популяций у иштыякско-тогузских татар: генетические расстояния ( $d$ ) между поколениями варьируют в интервале от 0.307 до 0.980. Минимальные значения отмечены у татар-бухарцев –  $0.120 < d < 0.364$ . Основной вклад в это процесс, по-видимому, вносят такие факторы как миграция, смешанные браки и рождаемость.

Сравнение сходства фамильных составов субэтнических групп тоболо-иртышских татар выявило в целом низкие значения коэффициента родства по изонимии ( $R_i$ ). Для искеро-тобольской и иштыякско-тогузской групп величина коэффициента составила  $1.21 \cdot 10^{-5}$ , а в паре татары-бухарцы и заболотные татары –  $0,70 \cdot 10^{-5}$ . Полученные данные характеризуют своеобразие фамильной структуры субэтнических групп тоболо-иртышских татар.

Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ № 14-06-00272-а и 17-06-00513-а, программы фундаментальных исследований РАН «Генофонды живой природы» и «Молекулярная и клеточная биология»

### **Architectonics of subethnoses and generations of Tobol-Irtysh Tatars according to the pool of surnames**

Lavryashina M.B.<sup>1</sup>, Ulyanova M.V.<sup>1</sup> Tychinskih Z.A.<sup>2</sup>, Imekina (Dolinina) D.O.<sup>1</sup>

Tkhorenko B.A.<sup>1</sup>, Skhalyaho R.A.<sup>3</sup> Romanov A.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Kemerovo State University, Russia*

<sup>2</sup>*Tobolsk Complex Scientific Station UB RAS, Russia*

<sup>3</sup>*Research Centre of Medical Genetics, Russia*

Tobol-Irtysh Tatars are a group of Siberian Tatars; native population of Western Siberia. Pool of surnames of Tobol-Irtysh Tatars was collected and analyzed to assess the relationship between subethnoses and generations. Five groups were examined: Tobolsk Tatars of Vagayskogo and Tobolsk districts (Isker-Tobolsk and Ishtyaksko-Toguzsk), Yaskolbinsk Tatars from Tobolsk region (Zabolotnov), Tyumen-Turin (Yalutorovsk, Bukhara) Yalutorovsk and Tyumen regions. Household recordings were a primary source of information, recording the rural population of 6 rural municipal settlements in 4 districts of the Tyumen region. Total volume of the copied data on Tobol-Irtysh Tatars and their families covering three time intervals (1950s, 1980s, 2010s) Amounted to 22014 records (including 20570 Tatars, 1557 surnames).

Examination of surname pool - is a well-proven approach in human genetics. In this case, the names, act as an analog of genetic markers and allow us to analyze the structure of the population in a number of generations (through genetic distance measure  $d$ , Ney method), as well as to compare the similarity of individual subpopulations (through kinship coefficient by isonymy  $R_i$ , Lasker method).

The analysis showed that the spectrum of common names (top 5) in Tobol-Irtysh Tatars as a whole for the entire studied time period included the following options: Faizullin, Nazyrov, Karimov, Sadykov, Khalilov. However, in each of five surname subethnoses of ethnoformational block, diversity of fund names varied significantly. Among the most common surnames in Bukhara Tatars were Fayzullin, Yaminov, Sharipov, Halimov, Fatkhullin (of 694 surnames in 5413 people.). Yalutorovsk Tatars, an ethnic area of which borders with the Bukhara Tatars, have a different range of common surnames - Khalilov, Ismagilov, Khusnutdinov, Davletshin, Caleev, Kabirov (357 surnames in 4515 people.). Also, we found peculiar surnames (top 5) in the other two geographically adjacent subethnoses of Tobol-Irtysh Tatars of Tyumen region: in Isker-Tobolsk: Karimov, Azisov, Muslimov, Rechapov, Ayupov (397 surnames in 3847 people.) And Ishtyaxsk-Toguzsk: Sadykov, Shamratov, Muhamatullin, Fattakov, Sharipov (261 surnames in 2615 people.). Expectedly, the most unique pool of surnames was found in geographically isolated group: Zabolotny Tatars. The most common among them were the following surnames: Nazyrov, Bashirov, Abdullin, Ishkulov, Timergaliev (294 surnames in 4183 people).

Genetic distances between the generations (three generations, the period from 1950s to 2015) reflect the variable intensity of changes in population-genetic structure of each of the studied subethnoses of Tobol-Irtysh Tatars. Ishtyaxsk-Toguzsk Tatars endured the strongest transformation : genetic distance ( $d$ ) between generations can vary in the range of 0.307 to 0.980. The minimum values were observed in Bukhara-Tatars ( $0.120 < d < 0.364$ ). The main contributors to this process seem to be: migration, mixed marriages and birth rates.

Comparison of the similarities of family compositions in sub-ethnic groups of Tobol-Irtysh Tatars showed generally low values of kinship coefficient by isonymy ( $R_i$ ). For Isker-Tobolsk and Ishtyaxsk-Toguzsk groups the coefficient was  $1.21 * 10^{-5}$  and in Bukhara and Zabolotnie Tatars -  $0.70 * 10^{-5}$ . These data characterizes the uniqueness of the family structure within the sub-ethnic groups of Tobol-Irtysh Tatars.

The study was financially supported by RFBR № 14-06-00272-a and 17-06-00513-a, Basic Research Program of the RAS "gene pool of wildlife" and "Molecular and Cellular Biology"

### **Распределение частоты *B*-аллеля гена *κ*-казеина у представителей вида *Bos taurus* как возможный коррелированный ответ на отбор по увеличению объёма молока**

Лазебная И.В.<sup>1</sup>, Лазебный О.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

С учетом исторических данных, изготовление кисломолочных продуктов, произведенных из коровьего молока для длительного хранения, главным образом, сыров разной твердости, традиционно было характерно для населения Европы, где распространен преимущественно подвид крупного рогатого скота *Bos taurus taurus* и практически отсутствует зебувидный скот подвита *Bos taurus indicus*. В Азии использовали сыры, приготовленные из овечьего молока.

Среди основных белков молока крупного рогатого скота, казеинов ( $\alpha$ 1-казеин,  $\beta$ -казеин,  $\alpha$ 2-казеин и  $\kappa$ -казеин), для сыроделия наиболее важным является каппа-казеин, кодируемый *B*-аллелем гена каппа-казеина (*CSN3*), поскольку он ассоциирован с высокой скоростью формирования белковой мицеллы и определяет ее плотную консистенцию. Учитывая, что до последнего времени в мировом масштабе селекция на повышение частоты *B*-аллеля гена *CSN3* не проводилась, остается открытым вопрос, является ли наблюдаемое

внутривидовое распределение частоты этого аллеля результатом коррелированного ответа на отбор по увеличению выхода молока.

Для прояснения данного вопроса нами были проанализированы собственные данные (646 образцов) по российским породам и данные других авторов по породам из Европы, Азии и Африки, общей численностью более 8000 животных, представляющих 56 выборок из 29 пород. Установлена широкая внутри- и межпородная изменчивость по данному локусу. Показано, что частота *B*-аллеля гена *CSN3* варьирует от 0,017 (порода Гуг зебувидного скота) до 0,846 (порода Мареммана). Распределение частот генотипов соответствует равновесию Харди-Вайнберга у большинства пород. Диапазон значений ожидаемой гетерозиготности составил от 0.033 (порода гир) до 0.500 (ярославская порода). Общее значение  $F_{ST}$  равно 0,146,  $P=0,001$ , попарные значения варьируют на внутривидовом уровне с крайними значениями  $F_{ST}$  0.009 ( $P=0.014$ ) и 0.145 ( $P=0.001$ ) у голштинской породы (выборки из пяти стад общей численностью 1104 животных), на межпородном уровне – максимально до 0,600 ( $P=0.001$ ) для пары пород Мареммана и Gyzerat. Отметим, что частота *B*-аллеля гена *CSN3* в группе мясо-молочных пород находится в интервале от 0,226 до 0,673, мясных пород – от 0,183 до 0,846, у высокоспециализированных молочных – от 0,154 до 0,500. При наблюдаемом пересечении границ интервалов частоты *B*-аллеля в разных группах пород, выявляется тенденция более высоких максимальных значений при переходе от пород молочного направления к породам двойного направления селекции и мясным. Возможно, это является следствием коррелированного ответа на отбор по увеличению объема продуцируемого коровами молока.

#### **Frequency distribution of the *B*-allele of the $\kappa$ -casein gene in representatives of *Bos taurus* as a possible correlated response to selection for increased milk yield**

Lazebnaya I.V.<sup>1</sup>, Lazebny O.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

For the population of Europe in view of the historical data, the tradition was to preserve fermented cow's milk products for long-term storage mainly in the form of cheeses of different hardness. In Europe, the subspecies *Bos taurus taurus* is mainly distributed, whereas subspecies *Bos taurus indicus* is virtually non-existent. In Asia, cheese made from sheep's milk was used.

Among the caseins ( $\alpha 1$ -casein,  $\beta$ -casein,  $\alpha 2$ -casein, and  $\kappa$ -casein) that are the main proteins of cow's milk, kappa-casein, encoded by the *B*-allele of the *CSN3* gene, is the most important for cheese production. The fact is that this protein is associated with a high rate of formation of the protein micelle and determines its dense consistency. Given that, until recently, no selection for increasing the frequency of *B*-allele of the *CSN3* gene has been conducted globally, the question remains whether the observed intraspecific distribution of the *B*-allele frequency reflects a correlated response to the selection for increased milk yield.

To clarify this issue, we analyzed our own data on some Russian breeds (646 samples) and the data of other authors on breeds from Europe, Asia, and Africa, with a total number of more than 8000 animals representing 56 herds from 29 breeds.

A wide intra- and inter-breed variability was established for this locus. The frequency of *B*-allele of *CSN3* gene varied from 0.017 (in the Gyr Zebu breed) to 0.846 (in the Maremmana breed). The distributions of genotype frequencies in almost all herds and breeds were in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium. The expected heterozygosity ranged from 0.033 (in the Gyr breed) to 0.500 (in the Yaroslav breed). The total  $F_{ST}$  value was 0.146 ( $P=0.001$ ), at the intra-breed level, the pairwise values varied from 0.009 ( $P=0.014$ ) to 0.145 ( $P=0.001$ ) both in the Holstein breed (samples from five herds of the total size of 1104 animals), and, at the inter-breed level, the fixation index varied up to 0.600 ( $P=0.001$ ) for the pair of Maremmana and Gyzerat breeds. Note that the frequency of the *B* allele varied from 0.226 to 0.673 in the dual purpose breeds, from 0.183

to 0.846 in the beef breeds, and from 0.154 to 0.500 in the highly specialized dairy breeds. In spite of the overlap of the frequency ranges of the given breed groups, a tendency of more high maximum values in the group of dual purpose breeds comparing to the group of dairy breeds, and in the group of beef breeds comparing to the other two groups can be seen. It might be possible that this tendency is the result of a correlated response to selection for increasing of the milk yield.

### **Формообразование у карповых в речных условиях на примере крупных африканских усачей *Labeobarbus* (Cyprinidae) из реки Генале, Восточная Африка (Эфиопия)**

Лёвин Б.А.<sup>1</sup>, Голубцов А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
Борок, Ярославская обл., Россия

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

Крупные африканские усачи рода *Labeobarbus* – гексаплоидная ( $2n=150$ ) ветвь преимущественно тетраплоидных усачей Torini (Vreven et al., 2016). В состав рода входят более 100 видов, распространенных по всему африканскому континенту. Усачи *Labeobarbus* отличаются высокой фенотипической пластичностью, которая, в ряде случаев, реализуется в виде полиморфизма. Некоторые виды и популяции представлены несколькими морфологически хорошо различимыми формами, обитающими совместно. В Восточной Африке помимо достаточно известного случая озерного симпатрического видообразования африканских усачей в оз. Тана (Эфиопия), где описано до 16 симпатрических форм (Nagelkerke et al., 1994; Mina et al., 1996; Nagelkerke, Sibbing, 2000), были обнаружены симпатрично обитающие формы усачей в нескольких речных системах (Golubtsov, 1993; Mina et al., 1998; Голубцов, 2011). В реках найдено меньше форм, чем в оз. Тана. Так, в р. Генале из речной системы Джубы (бас. Индийского океана) обнаружено 6 форм *Labeobarbus*, различающихся по форме тела, строению рта и головы. Лишь две из этих форм имеют таксономический статус: генерализованная и наиболее часто встречающаяся – *L. gananensis* и наиболее дивергировавшая скребущая – *L. jubae* (Banister, 1973, 1984; Levin et al., 2013). Признаки, по которым различаются формы, указывают на разделение трофических ресурсов. Цели нашего исследования – тестирование гипотезы о монофилетическом происхождении симпатрических форм усачей в р. Генале и проверка гипотезы о разделении этими формами трофических ресурсов (trophic resource partitioning).

В ходе полевого исследования 2009 г. был собран обширный материал по морфологии, стабильным изотопам азота и углерода и генетике усачей из р. Генале (притока Джубы), тогда же и позднее – сравнительный материал из других участков большой системы рек Джубы и Ваби-Шебелле, обозначенной в дальнейшем тексте ДВШ и принадлежащей бассейну Индийского океана. В результате филогенетического анализа (BI/ML) уникальных гаплотипов цитохрома *b* *L. gananensis* из ДВШ и бассейнов севера Восточной Африки, было установлено, что усачи ДВШ образуют монофилетическую группу, кластеризующуюся отдельно от усачей из бассейнов Эфиопской рифтовой долины, Нила, Омо-Туркана и кенийских усачей из бассейна Индийского Океана. Однако тест на монофилию усачей из р. Генале при сравнении их с усачами из других ДВШ показал наличие полифилии. Анализ усачей из ДВШ по более вариабельному маркеру мтДНК (контрольный регион - филогенетический анализ и сеть гаплотипов,  $n=221$ ) показал, что усачи из Генале представляют собой сложную систему форм как местного происхождения, так и мигрировавших из других участков обширной и достаточно фрагментированной речной сети ДВШ, изобилующей водопадами высотой до 20-25 м. Четыре формы (генерализованная, две скребущих и большеротая) оказались генетически хорошо изолированными друг от друга ( $F_{st} = 0.757-0.925$ ), в то время как между генерализованной, губастой и короткотелой формами отмечены низкие значения  $F_{st}$  (0.005-0.014), что говорит о высоком уровне потока генов между ними.

Анализ морфологических признаков, ассоциированных с трофической радиацией показал, что пять форм из шести отличаются между собой строением рта, количеством и морфологией жаберных тычинок, а также по относительной длине кишечника. Анализ соотношений стабильных изотопов  $^{15}\text{N}$  выявил достоверные различия также между пятью формами – генерализованной (всеядная), губастой (всеядная с большей долей животной пищи), скребущей *jubae* (детрит и водоросли), скребущей широкооротой (водоросли и прикрепленный бентос) и большеротой (рыбоядная). Таким образом, несмотря на то, что часть форм была симпатрического происхождения, а часть аллопатрического, фактически, все формы заняли определенные трофические ниши. Одна форма, короткотело-высокотелая, не отличается по трофической нише от генерализованной всеядной формы. Ее короткотелость (следствие укороченных, сжатых тел позвонков) – аномалия строения позвоночника, известная в лососевой аквакультуре под названием «short-tail» фенотип (Witten et al., 2005). Является ли высокая встречаемость (более 10%) короткотело-высокотелой формы адаптацией для снижения пресса хищников или лишь следствием релаксации отбора, пока не известно.

Отметим, что предварительный анализ состава форм в других речных бассейнах Эфиопии и их генетические отношения с усачами из разных рек ДВШ позволяют предполагать, что специализированные формы не-генальского происхождения (рыбоядная и скребущая) происходили в симпатрии от других локальных популяций генерализованной (всеядной) формы. При этом скопление форм в р. Генале – не что иное как результат нескольких случаев симпатрического формообразования в разных полуизолированных участках речной сети, произошедшего в рамках разделения трофических ресурсов.

Авторы благодарны всем участникам экспедиции, выполненной в рамках Совместной Российско-Эфиопской биологической экспедиции (JERBE-IV), а также А.В. Тиуну за проведение изотопного анализа. Исследование поддержано РНФ, проект №15-14-10020.

### **Speciation in cyprinids in riverine conditions as exemplified from large African barbs *Labeobarbus* (Cyprinidae) from the Genale River, East Africa (Ethiopia)**

Levin B.A.<sup>1</sup>, Golubtsov A.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavl reg., Russia*

<sup>2</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia*

Sympatric adaptive speciation is one of the important processes leading to increase of diversity and to speciation without geographic isolation. We studied eco-morphological and genetic diversity of an assemblage of six sympatric forms of large African barbs (*Labeobarbus*, Cyprinidae) from the Genale River, Indian Ocean drainage (Ethiopia). According to trophic morphology and data on stable isotopes  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$ , five of six forms are trophically diverged. Molecular markers (cytochrome *b* and control region) showed that four forms are genetically isolated from each other. An assemblage of the Genale barbs is of combined origin: some forms were sympatrically originated while others migrated to Genale from other parts of extended riverine system of Juba-Shebelle.



## Полногеномный анализ SNP в популяциях Волго-Уральского региона России

Литвинов С.С.<sup>1,2</sup>, Трофимова Н.В.<sup>1,3</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>1,3</sup>, Ахметова В.Л.<sup>1</sup>, Хидиятова И.М.<sup>1,3</sup>,  
Карунас А.С.<sup>1,3</sup>, Джаубермезов М.А.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

<sup>2</sup>*Эстонский биоцентр, Тарту, Эстония*

<sup>3</sup>*Башкирский государственный университет, кафедра генетики и фундаментальной медицины, Уфа, Россия*

Проведён биоинформатический анализ генетической структуры и взаимоотношений в популяциях Северной Евразии с использованием полногеномных данных о 600 000 SNP. Основными объектами исследования являются 7 популяций Волго-Уральского региона России (башкир, татар, чувашей, марийцев, удмуртов, коми, мордвы), а также расширенные выборки башкир, татар и русских Урала, генотипирование которых на чипах Illumina проводилось в ходе выполнения гранта Евросоюза GABRIEL. Изученные выборки башкир включали индивидов из Баймакского (13), Бурзянского (21), Стерлибашевского (5) и Архангельского (10) районов Республики Башкортостан, Оренбургской области (19) и гетерогенную выборку башкир из Уфы (41). Татары были представлены гетерогенной выборкой казанских татар (16) и татар из Республики Башкортостан (96), мишарей Буинского района Республики Татарстан (10). Популяции русских представлены индивидами из Республики Башкортостан (76) и Свердловской области (66). Применение расширенных выборок по трём популяциям позволяет более полно, чем это было сделано ранее, оценить генетическую структуру популяций Волго-Уральского региона. Биоинформатический анализ описанными ранее методами (ADMIXTURE, SmartPCA, BEAGLE, ChromoPainter, fineSTRUCTURE) был выполнен в контексте всей Евразии для получения более полной картины.

Было показано, что популяции Волго-Уральского региона демонстрируют сходство друг с другом. Исключение составляют башкиры, демонстрирующие близость к популяциям Сибири и близкая к русским северной части России мордва. При этом генетические взаимоотношения представителей расширенных выборок указывают на их более тесные связи. Также было выявлено, что русские из Республики Башкортостан и Свердловской области преимущественно ближе к русским Северной части России, хотя часть индивидов по данным анализа в программе fineSTRUCTURE оказалась внутри крупной славянской ветви, включающей русских центральной и южной части России, белорусов, украинцев и поляков. Немаловажно отметить, что анализ расширенных выборок более ярко иллюстрирует тот факт, что этническая самоидентификация зачастую не соответствует генетической близости к той или иной группе, что немаловажно учитывать при интерпретации полученных результатов и формировании контрольных групп при изучении медико-генетических проблем.

## Genome-wide SNPs study in the populations of the Volga-Ural region of Russia

Litvinov S.S.<sup>1,2</sup>, Trofimova N.V.<sup>1,3</sup>, Khusainova R.I.<sup>1,3</sup>, Akhmetova V.L.<sup>1</sup>, Khidiyatova I.M.<sup>1,3</sup>,  
Karunas A.S.<sup>1,3</sup>, Dzhaubermезov M.A.<sup>3</sup>, Khusnutdinova E.K.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia*

<sup>2</sup>*Estonian Biocentre, Tartu, Estonia*

<sup>3</sup>*Bashkir State University, Department of Genetics and Fundamental Medicine, Ufa, Russia*

Bioinformatic analysis of the genetic structure and relationships in the North Eurasia populations using genome-wide 600 000 SNPs data was carried out. The main objects of this study are 7 populations of the Volga-Ural region of Russia (Bashkirs, Tatars, Chuvashes, Maris, Udmurts, Komis, Mordvins) as well as extended samples of Bashkirs, Tatars and Russians from the Ural

region which were analyzed using Illumina chip during work on EU grant application GABRIEL. The studied samples of the Bashkirs included individuals from Baimaksky (13), Burzyansky (21), Sterlibashevsky (5) and Arkhangel (10) regions of the Republic of Bashkortostan, Orenburg oblast (19) and a heterogeneous sample of the Bashkirs from Ufa (41). Tatars were represented by the heterogeneous sample of the Kazan Tatars (16) and Tatars from the Republic of Bashkortostan (96), Mishars from Buinsky region of the Republic of Tatarstan (10). Populations of the Russians are represented by the individuals from the Republic of Bashkortostan (76) and Sverdlovsk oblast (66).

Use of the extended samples on three populations allows for better evaluation of the genetic structure of the Volga-Ural region populations comparing to the earlier results. Bioinformatic analysis using methods described earlier (ADMIXTURE, SmartPCA, BEAGLE, ChromoPainter, fineSTRUCTURE) was performed in the whole Eurasia context to get the whole picture more full.

It was shown that the populations of the Volga-Ural region show similarity to each other. There are exceptions though: the Bashkirs who are closer to Siberian populations and Mordvins showing relatedness to Northern Russians. Genetic relationships of the representatives of extended samples point on their closer relations. It was shown also that Russians from the republic of Bashkortostan and Sverdlovsk oblast are predominantly closer to Northern Russians although fineSTRUCTURE analysis showed that some of them are a part of the major Slavic branch also including Russians from the central and southern parts of Russia, as well as Belorussians, Ukrainians and Poles. It is noteworthy that the extended samples analysis illustrates more vividly the fact that ethnic self-identification often does not fit the genetic proximity to certain group which is important to consider during interpreting the results and forming the control groups when dealing with the medical genetics studies.

#### **Лактация и феномен биоразнообразия (эпигенетика минерального обмена у грызунов)**

Любашевский Н.М.<sup>1</sup>, Стариченко В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Israeli Independent Academy for Development of Sciences, Ashdod, Israel*

<sup>2</sup>*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

Показано, что метаболизм  $^{90}\text{Sr}$  и  $\text{F}^+$  в пометах разных самок инбредных мышей достоверно отличается (Стариченко, 2011; Любашевский, Стариченко, 2011). Испытанные вещества объединены свойством кумулироваться преимущественно в кости (остеотропностью), но по химическим свойствам выражено контрастны. Они являются представителями 2-й и 7-й групп системы Менделеева: радионуклид – стабильный элемент, металл – неметалл, катион – анион, двухвалентный – одновалентный, в метаболизме  $^{90}\text{Sr}$  (по сравнению со стабильным фтором) существенна роль сорбции и изо- и гетероионного обмена, поскольку его концентрация ниже коэффициента растворимости. Можно полагать, что представленные результаты репрезентативны для большей части остеотропных веществ. Эксперименты проведены на мышах CBA, BALB/c и BC разного возраста, в том числе при экспериментальных нагрузках. Различия метаболизма  $^{90}\text{Sr}$  и  $\text{F}^+$  между инбредными линиями (а также аутбредными мышами) в наших и известных нам публикациях не обнаружены. Высокая статистическая вероятность эпигенетической природы детерминации метаболизма  $^{90}\text{Sr}$  и  $\text{F}^+$  следует из корреляции их депонирования у помета одной матери при достоверном отсутствии межлинейных различий (эффект фактора «помет» выше влияния фактора «линия» в 2-3 раза). Правомерность такой интерпретации подтверждается сопоставимостью корреляции удельной активности  $^{90}\text{Sr}$  и концентрации фтора ( $r = 0.4-0.5$ ;  $p < 0.0001$ ) с реперной корреляцией морфологических признаков. И среди них – с минеральной плотностью кости (Стариченко, 2007) – одним из морфологических, физиологических и физико-химических факторов (МФФ), образующих функциональную систему обмена остеотропных веществ (Любашевский, 1980; Стариченко и др., 1993). Например, показано, что коэффициент корреляции минеральной плотности костной ткани в помете одной матери

составляет 0.4 ( $p < 0.0001$ ). Эта же величина получена для корреляции массы тела экспериментальных животных, наиболее наследственно детерминированной характеристики.

При этом вариации характерных для каждого помета показателей МФФ (миллионы вариантов из перестановки 11 известных на сегодняшний день) обеспечивает своеобразие динамики обмена остеотропных веществ у особей каждого помета. Нет других факторов, кроме молока различных матерей, которые отличают мышей одного помета от содержащихся рядом в таких же условиях пометов той же инбредной линии, и которые приводят к разному метаболизму  $^{90}\text{Sr}$  и  $\text{F}^+$ . В обзоре (Melnic, 2015) имеется указание, что лактация как способ не только питания, но и регуляции развития потомства, появилась в эволюции и развилась исключительно у млекопитающих. И это, очевидно, генетическая система трансфекции, введения, наряду с ферментами и другими макромолекулами, РНК в клетки новорожденного для активации mTORC1 сигнализации к постнатальному росту. То есть молоко несёт в себе химический эпигенетический сигнал. Оно содержит значительные количества микроРНК. Показано, что более 30% генов регулируются микроРНК. Комплексы РНК молока видоспецифичны и индивидуализированы, молоко обеспечивает программное обеспечение сигнализации микроРНК и приводит к включению функционально важных белков в процессе постнатального развития. Во время лактации происходит эпигенетическое перепрограммирование и в то же время транскгенерационное эпигенетическое наследование. Таким образом, совокупность данных литературы не противоречит нашему заключению об определяющей роли эпигенетических эффектов молока матери в формировании метаболического своеобразия взрослых потомков. Но нет и прямых указаний на аналогичные результаты исследований. Доказано, что период беременности и первые месяцы жизни наиболее важны в жизни млекопитающих. Успешная модель мышей агути служит примером эпигенетического «биосенсора» на эмбриональной стадии развития. Мы рассматриваем эпигенетическую модель влияния на метаболизм новорожденного в течение следующего этапа – постнатальное молочное вскармливание и адаптация потомства к внешней среде при переходе на самостоятельное питание. Предстоит ещё определить, насколько эпигенетический сигнал матери сохранён или изменён по сравнению с полученным от её родительницы. Для эволюционной теории и экологии важно, что устойчивая метаболическая общность особей, вскормленных молоком одной матери, является неиссякаемым источником биологического разнообразия. Из полученных данных следует, что в медицинских целях стабилизирующий, модифицирующий и корригирующий эффекты молочного вскармливания должны быть использованы более эффективно. В частности, очевидна профилактическая роль разобщения новорожденного с молоком наследственно неблагополучной матери и положительное влияние молока здоровой женщины. Эмпирически описанное частично известно. В данной работе обоснована эпигенетическая природа эффекта и показаны механизмы возникновения особенностей метаболизма остеотропных веществ у потомства одной матери. Приведенные сведения требуют подтверждения и развития.

### **Lactation and the phenomenon of biodiversity (epigenetics of the mineral metabolism of rodents)**

Lyubashevsky N.M.<sup>1</sup>, Starichenko V.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Israeli Independent Academy for Development of Sciences, Ashdod, Israel*

<sup>2</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology, UrB RAS, Yekaterinburg, Russia*

Hereditary determination of  $^{90}\text{Sr}$  and fluorine metabolism is proved by intrafamily correlations, i.e., correlations of each litters' siblings indices (correlation coefficient is 0.4-0.5,  $p < 0.0001$ ). The representativeness of this phenomenon was verified by the results of a study of the metabolism of  $^{90}\text{Sr}$  and fluorine as representatives of chemically contrasting substances that accumulate in the bones. Different modes and conditions of experiments were tested.  $^{90}\text{Sr}$  and  $\text{F}$ , respectively: Standard periodic table, II group, radionuclide, cation vs Standard periodic table, VII

group, stable, anion; inbred mice (CBA, BALB/c, BC) of different ages, with a single administration and with chronic exposure, at the background level or under drug loading. A functional system that controls metabolism in the bone tissue includes bone morphological structures and mineral density parameters, the correlation coefficient of which in litters is 0.4 ( $p < 0.0001$ ). Comparison of the contributions of factors to the general hereditary component of the variations showed that the influence of the litter factor is 2-3 times greater than the effect of the line factor. This fact excluded the influence of genetic factors. The progeny of the same litter can be unified only by the mother's breast milk. Milk contains significant amounts of microRNA (Melnik, 2015). More than 30% of the genes are regulated by microRNA. It's evidently an epigenetic effect of milk that induces RNA.

Milk is used for epigenetic programming of offspring. Thus, it was found that natural lactation is an inexhaustible source of biodiversity. The consequences of the epigenetics of mother's breast milk last a lifetime and can be both a medical problem and an instrument for solving health problems.

### **Могли ли популяции дикого ячменя *Hordeum spontaneum* С. Koch из Юго-Восточной Турции быть прародителями культурного ячменя *Hordeum vulgare* L.?**

Лялина Е.В., Болдырев С.В., Поморцев А.А.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Прародителем культурного ячменя, согласно доказательствам, представленным в мировой литературе, является дикий ячмень *H. spontaneum* С. Koch. Вопрос же о центре происхождения культурного ячменя широко дискутируется, но однозначного ответа на него до сих пор не существует. О центре (центрах) происхождения культурного ячменя имеется не менее десяти различных гипотез, предложенных различными авторами в разное время на основе археологических, ботанических и генетических исследований. Одни авторы помещали центр происхождения культурного ячменя в различные регионы Северной и Северо-Восточной Африки, другие – в страны Ближнего Востока, Передней, Средней или Восточной Азии. В соответствие с одной из гипотез, основанной на археологических данных, доместикация ячменя могла произойти в Юго-Восточной Турции/ Северной Сирии в верховьях рек Тигр и Евфрат, в центральном районе Дуги Плодородия в 9000 – 8000 годах до н.э. Для проверки этой гипотезы методом электрофореза в крахмальном геле проведено изучение полиморфизма гордеинов – запасных спирторастворимых белков ячменя, контролируемых двумя высоко полиморфными локусами *Hrd A* и *Hrd B*. В исследование включили 93 местных образца культурного ячменя из 17 древних провинций Турции и 37 образцов дикого ячменя из Юго-Восточной Турции. У *H. vulgare* и *H. spontaneum* для локуса *Hrd A* было идентифицировано 45 и 32 аллеля, соответственно, а для локуса *Hrd B* – 51 и 49 аллелей, соответственно. У культурного ячменя частоты аллелей локусов *Hrd A* и *Hrd B* варьировали в пределах 0,0011 – 0,2934 и 0,0011 – 0,0807 соответственно, у дикого ячменя – в пределах 0,0089 - 0,2434 и 0,0068 - 0,0766, соответственно. Для принятия исходной гипотезы необходимо как наличие у образцов культурного и дикого ячменя одних и тех же аллелей для исследуемых локусов, так и присутствие у дикого ячменя представителей самых широко распространенных аллелей у местных образцов культурного ячменя Турции и других стран мира. Однако, как для локуса *Hrd A*, так и для локуса *Hrd B*, эти условия не были выполнены. Из 74 аллелей локуса *Hrd A*, обнаруженных у турецких образцов *H. spontaneum* и *H. vulgare*, обнаружено только три общих аллеля, а из 98 аллелей локуса *Hrd B* – два общих аллеля. Сравнение частот «культурных» аллелей локуса *Hrd A* и *Hrd B*, обнаруженных у образцов *H. spontaneum* из Юго-Восточной Турции и у исследованных образцов местных культурных ячменей из 21 страны мира, входящих в центры разнообразия ячменя и сопредельных с ними, показало, что самые распространенные из них, встречающиеся с высокими частотами у образцов из стран Центральной и Восточной

Азии, а также у образцов из стран Северной, Северо-Восточной Африки и Южной Аравии, не были найдены у культурного ячменя из Турции. Аллели, частота которых была максимальной у образцов *H. spontaneum*, не были выявлены у культурного ячменя из Турции, и с низкими частотами встречались в некоторых других странах мира. Кроме этого, по археологическим данным самое раннее использование зерна ячменя на Ближнем Востоке зафиксировано в Охало II около Галилейского моря и датируется 17 тысячелетием до н.э., тогда как использование ячменя в Юго-Восточной Турции датируется 9 – 8 тысячелетиями до н.э. Сделан вывод, что район Юго-Восточной Турции вряд ли можно рассматривать как центр доместикации ячменя. При этом *H. spontaneum* из Юго-Восточной Турции мог являться донором отдельных аллелей гордеин-кодирующих локусов *H. vulgare* в результате интрогрессии вследствие спонтанной гибридизации при распространении культурного ячменя.

### **Could the population of wild barley *Hordeum spontaneum* C. Koch from Southeastern Turkey be the progenitor of cultivated barley *Hordeum vulgare* L.?**

Lyalina E.V., Boldyrev S.V., Pomortsev A.A.  
*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

According to evidences presented in world literature, cultivated barley has originated from its wild progenitor *H. spontaneum* C. Koch. Possible center(s) of the origin of cultivated barley are widely debated, but still there is no clear answer on this question. At least ten different hypotheses based on archaeological, botanical and genetic studies have been put forward by different authors at different time. Some of them placed barley domestication center within various regions of the North and Northeast Africa, other - in the Near East, Western, Central, or East Asia. One of these hypothesis that was built based on archaeological data, suggested that domestication of barley could have occurred 9000–8000 BC in Southeastern Turkey/Northern Syria, at the upper Tigris and Euphrates, i.e. in the central region of the Fertile Crescent. To test this hypothesis, we analyzed polymorphism of hordeins - alcohol-soluble proteins of barley, encoded by two highly polymorphic loci *Hrd A* and *Hrd B* using starch gel electrophoresis. Altogether we studied 93 landraces of cultivated barley from 17 ancient provinces of Turkey and 37 accessions of wild barley from Southeastern Turkey. Forty five and 32 alleles of *Hrd A* locus and 51 and 49 alleles of *Hrd B* locus have been identified in *H. vulgare* and *H. spontaneum*, respectively. For *H. vulgare*, the allele frequencies ranged from 0.0011 to 0.2934 for the *Hrd A* locus and from 0.0011 to 0.0807 for the *Hrd B* locus. In the case of *H. spontaneum* the allele frequencies for these loci varied from 0.0089 to 0.2434 and from 0.0068 to 0.0766, respectively. Hypothesis of Turkish domestication center can be accepted only if the same alleles of the *Hrd A* and *Hrd B* loci will be found in cultivated and wild barley, and if the most widespread *Hrd A* and *Hrd B* alleles of wild barley will be detected not only in cultivated barley from Turkey, but also in other countries of the world. However, the situation was different both for *Hrd A* and *Hrd B* loci. Only three of 74 *Hrd A* alleles and two of 98 *Hrd B* alleles were common between Turkish *H. vulgare* and *H. spontaneum*. “Cultivated” alleles of the *Hrd A* and *Hrd B* loci found in accessions of *H. spontaneum* from Southeastern Turkey, could occur with high frequencies in accessions from countries of Central and East Asia, as well as in accessions from North and Northeast Africa and South Arabia, but they were not found in cultivated barley from Turkey and countries of the Near East. Most widespread alleles of Turkish *H. spontaneum* were absent from Turkish cultivated barley and were recorded with low frequencies in *H. vulgare* accessions from some other countries. In addition, according to archaeological data, the earliest use of barley grains in the Near East was documented in Ohalo II near the Sea of Galilee and dated back to the 17th millennium BC, while use of barley in Turkey dated back to the 9th–8th millennium BC. We concluded that the southeast region of Turkey cannot be considered as the domestication center of barley; however, *H. spontaneum* from Southeastern Turkey could have been

the donor of some hordein-coding alleles for *H. vulgare*. This could have been due to spontaneous hybridization between *H. vulgare* and *H. spontaneum* during expansion of cultivated barley.

### **Оценка параметров генетического разнообразия в популяциях сосны обыкновенной, произрастающих на радиоактивно загрязнённых территориях**

Макаренко Е.С., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.

*Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии,  
Обнинск, Россия*

В результате аварии на Чернобыльской АЭС в наибольшей степени подверглись радиоактивному загрязнению территории Республики Беларусь и Украины, а в Российской Федерации – Брянской области. Среди древесных растений хвойные породы наиболее чувствительны к действию ионизирующего излучения. Сосна включена в число референтных растений, рекомендованных Международной комиссией по радиационной защите (МКРЗ) в качестве опорных для проведения оценки радиационного воздействия на окружающую среду. Сосна является хорошей моделью для изучения генетики адаптации из-за высокого уровня генетического разнообразия, выраженной стрессовой реакции и долгой истории экологических и генетических исследований.

Целью настоящей работы являлась оценка параметров генетического разнообразия в популяциях сосны обыкновенной в условиях хронического радиационного воздействия. Исследование проводили в Новозыбковском, Клинцовском, Красногорском и Унечском районах Брянской области, а также в Хойникском и Брагинском районах Гомельской области Республики Беларусь. Импактные площадки Гомельской области характеризуются высокими концентрациями  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучающих радионуклидов  $^{238,239,240,241}\text{Pu}$ ,  $^{241}\text{Am}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ . Согласно проведённым в 2016 г. измерениям, средняя мощность экспозиционной дозы (МЭД) на радиоактивно загрязнённых участках меняется в пределах 34-359 мкР/ч, на референтном участке – 12 мкР/ч. Расчётные значения мощности поглощённой дозы в кронах сосновых деревьев составили 0.23 (К1), 10.0 (ВИУА), 19.4 (СБ), 33.1 (ЗП), 38.6 (ЗК) мГр/год в Брянской области, 18.7 (Кож), 101.7 (Кул) и 128.5 (Мас) мГр/год в Гомельской области. Все пробные площадки характеризуются гомогенным древостоем и однородными климатическими условиями.

Хвою сосны отбирали в 2015 г. по 5 хвоинок с 15-20 деревьев в каждой из 8 популяций. Для оценки генетического полиморфизма природных популяций использовали метод AFLP – оценка полиморфизма длины амплифицированных фрагментов ДНК. При выделении ДНК 100 мг хвои гомогенизировали в жидком азоте с помощью гомогенизатора SuperFastPrep-1, затем использовали набор для колоночного выделения ДНК DNeasy Plant Kit (Qiagen). Концентрацию и степень очистки ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000. Исследование генетического полиморфизма амплифицированных фрагментов проводили по методике Vos et al. (1995) с модификациями. Использовали пары праймеров E01 и M03 для реакции преамплификации и E35 и M63-C для второй амплификации (номенклатура Keygene). Анализ ПЦР продуктов осуществляли с помощью капиллярного электрофореза ABI Prism Genetic Analyzer. 135 образцов были успешно амплифицированы, и выявлено 184 фрагмента ДНК, пригодные к использованию в дальнейшем анализе. Анализ хроматограмм проводили с использованием программного обеспечения Peak Scanner v1.0. Идентификация пиков и проверки их качества были выполнены в среде R CRAN в RawGeno v2.0-2. Рассчитывали различия между популяциями среднего генетического разнообразия на локус по Неи для выборок небольшого размера в Statistica 8.0. Процент полиморфных локусов и генетические расстояния между популяциями были оценены с использованием AFLPsurv v1.0. Дендрограмма была создана в POPGENE v1.32. Данные были проверены на нормальность распределения с помощью W-теста

Шапиро-Уилка. Статистическая значимость отличия между участками по проценту полиморфных локусов была проверена с помощью критерия хи-квадрат в Statistica 8.0.

В результате проведенного исследования было обнаружено, что число полиморфных локусов в популяциях варьировало от 90 до 148 и имело незначимое увеличение при росте годовой дозы ( $r=0.65$ ;  $p>0.05$ ). Среднее генетическое разнообразие на локус по Неи не имело значимой корреляции с уровнем радиационного воздействия ( $r=0.62$ ;  $p>0.05$ ). Однако, наблюдались статистически значимые различия данного параметра с контрольным уровнем на участках СБ, ЗП, Кул ( $p<0.01$ ), Кож ( $p<0.05$ ). Данные результаты могут свидетельствовать об адаптации исследуемых популяций к стрессовым условиям за счет увеличения генетического разнообразия. На основе матрицы генетических расстояний по Неи была построена дендрограмма, демонстрирующая выраженную кластеризацию исследуемых популяций по Брянской и Гомельской области, но в пределах данных географических подгрупп экспериментальные участки четко подразделяются по уровням радиационного воздействия. Таким образом, радиационное воздействие в малых дозах вносит вклад в кластеризацию популяций, хотя географический фактор, очевидно, играет более существенную роль в генетическом подразделении популяций. Данная работа позволяет оценить генетические процессы в популяциях растений, много лет произрастающих в условиях хронического радиационного воздействия, и вносит вклад в разработку принципов и норм радиационной защиты биоты. Анализ связей генетического полиморфизма признаков и факторов внешней среды также является перспективным с точки зрения разработки новых методов оценки состояния окружающей среды. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект №14-14-00666).

### **Evaluation of the genetic diversity in populations of Scots pine growing on radioactively contaminated territories**

Makarenko E.S., Volkova P.Yu., Geras'kin S.A.

*Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia*

Conifers are particularly vulnerable to radiation exposure; therefore pine has become one of the reference species for the newly developing concept for protecting environment against radiation, created by International Commission on Radiological Protection (ICRP). The aim of this work was to estimate the genetic diversity of pine trees experiencing chronic radiation exposure. Investigations were carried out in the most contaminated districts of Bryansk region of Russia, and Gomel' region of Republic of Belarus. Doses absorbed in reproductive organs of pine trees were 0.23 (Ref 1), 10.0 (VIUA), 19.4 (SB), 33.1 (ZP), 38.6 (ZK) mGy/y in the Bryansk region, 18.7 (Kozh), 101.7 (Kul) and 128.5 (Mas) mGy/y in Gomel' region. Experimental sites are similar in climate characteristics; stands of trees are homogeneous. Needles were collected in 2015 from 15 to 20 trees at each of 8 experimental sites. We estimated the genetic diversity using amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique. A total of 135 samples were successfully amplified. We selected 184 dominant markers that were used for the further analysis.

The analysis of chromatograms was done using Peak Scanner Software v1.0. Identification of peaks and their quality check were performed with R CRAN library RawGeno v2.0-2. The percentage of polymorphic loci and the genetic distances between populations were estimated using AFLPsurv v1.0. The dendrogram was created in POPGENE v1.32. Data from all experimental sites was checked to normal distribution using Statistica 8.0 and Shapiro-Wilk's W-test.

In the present study, number of polymorphic loci varies from 90 to 148, but there was no significant dependence on the level of radiation exposure ( $r=0.65$ ;  $p>0.05$ ). Nei's gene diversity index also did not depend on the level of radiation exposure ( $r=0.62$ ;  $p>0.05$ ). However, this parameter was significantly higher as compared with the reference value on the sites SB, ZP, Kul ( $p<0.01$ ), Kozh ( $p<0.05$ ). These results may indicate adaptation of impacted populations to stress conditions by the increase of gene diversity. The dendrogram of populations' subdivision was based

on Nei's genetic distances. It showed clustering by populations from Bryansk and Gomel' regions, but within geographical subgroups experimental sites were clearly subdivided according the level of radiation exposure. This work contributes to evaluation of the genetic processes in populations are growing under chronic radiation exposure and the development of norms of radiation protection of biota.

### **Состояние генофонда и жизнеспособность естественных популяций и лесопосадок ели европейской, *Picea abies* (L.) Karst., в Москве и Подмоскowie**

Макеева В.М.<sup>1</sup>, Смуров А.В.<sup>1</sup>, Политов Д.В.<sup>2</sup>, Белоконов М.М.<sup>2</sup>, Белоконов Ю.С.<sup>2</sup>,  
Сулова Е.Г.<sup>3</sup>, Русанов А.В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Музей землеведения Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Географический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>4</sup>*Некоммерческая организация Природоохранный фонд «Верховье», р.п. Новоивановское, Московская обл., Россия*

Устойчивое сохранение лесных ресурсов в урбанизированных ландшафтах, составляющих 60% территории планеты, во многом зависит от сохранения разнообразия (качества) генофонда популяций охраняемых и эксплуатируемых видов растений. Задача исследования – оценить состояние генофонда и жизнеспособность лесокультур ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.), посаженных в конце 20 века в московских парках, и сравнить их генофонд с генофондом лесопосадок, заложенных в начале 20 века в Подмоскowie. Метод оценки состояния генофонда городских популяций заключается в сравнении стандартных показателей генетической изменчивости городских популяций с показателями природных (эталонных) популяций.

Всего исследовано восемь популяций ели европейской: четыре – из парков города Москвы (лесопосадки возрастом 15-35 лет), четыре – из Подмоскowie (в том числе два условно коренных ельника, возрастом до 170 лет, лесопосадки, возрастом более 90 лет и короткопроизводный еловый лес). Из каждой популяции обследовано не менее 37 деревьев по 13 ферментным системам, контролируемым 22 аллозимными локусами. Результаты исследования выявили резкое сокращение генетического разнообразия (до 60%) трех городских лесопосадок из четырех по сравнению с условно коренными лесами. Доля полиморфных локусов (при 95% уровне полиморфизма) в городских лесопосадках снижена до 40.9 по сравнению с 63.6 в условно коренных, в лесопосадках из Подмоскowie она такая же, как в условно коренных лесах. Сравнение условно коренных лесов с городскими лесопосадками по средним значениям наблюдаемой гетерозиготности выявило достоверное различие, однако сравнение их с подмосковскими лесопосадками достоверных различий не обнаружило. Выявлена пониженная жизнеспособность московских лесопосадок с уменьшенным разнообразием генофонда (обследованы в 2003 году): две из трех популяций погибли, и к 2014 году были заменены новыми лесокультурами. Очевидна экономическая необходимость генетического контроля состояния саженцев при лесовосстановлении.



## Gene pool state and viability of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., natural populations and planted stands in Moscow Region

Makeeva V.M.<sup>1</sup>, Smurov A.V.<sup>1</sup>, Politov D.V.<sup>2</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Belokon Y.S.<sup>2</sup>,  
Suslova E.G.<sup>3</sup>, Rusanov A.V.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Earth Science Museum of Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Department of Biogeography, Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>4</sup>*Nonprofit Organization Nature Conservation Foundation Verkhov'e, Novoivanovskoe working village, Moscow oblast, Russia*

Sustainable conservation of forest resources in urbanized landscapes that account for 60% of the territory of the planet depends on preservation of the gene pool diversity (quality) of populations of protected and exploited plant species. The objective of the study is to analyze the gene pool state and viability of sample plantations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.), planted in the late 20th century in Moscow's parks, and compare their gene pool with the gene pool of forests planted in the early 20th century in the Moscow region. The method for assessment of the gene pool state in urban populations consists in comparison of the standard indices of genetic variation in urban populations with the indices of natural (reference) populations.

Totally, 8 populations of Norway spruce have been studied: 4 of them are situated in Moscow parks (planted stands, 15-35 years old), 4 – in the Moscow region (2 conditionally native spruce forests, under 170 years, a forest stand over 90 years old and a short-term spruce forest). As many as 37 trees in each population were studied using 13 enzymatic systems controlled by 22 genetic loci. The results of the study revealed a sharp reduction in genetic diversity (up to 60 %) in three of the four urban planted stands in comparison with the conditionally native forests. The proportion of polymorphic loci (95% polymorphism) decreased to 40.9 in the urban forest plantations, compared to 63.6 in the conditionally native forests; the proportion was the same for the plantations of the Moscow region and the conditionally native forests. The comparison of the conditionally native forests and the urban planted stands by average values of observed heterozygosity showed a significant difference, however, no difference between the conditionally native forests and the Moscow region's planted stands was found. The study revealed a reduction in viability and diversity of the gene pool of the Moscow planted stands (studied in 2003): two of the three populations died and were replaced by new ones by 2014. Thus, economic necessity of genetic control over the state of saplings in reforestation is obvious.

## Внутривидовая хромосомная изменчивость у рыжих лесных полевок рода *Clethrionomys* (Arvicolinae, Rodentia)

Малыгин В.М.<sup>1</sup>, Дмитриев С.Г.<sup>2</sup>, Баскевич М.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Биологический факультет Московского государственного университета, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва, Россия*

На огромной территории Голарктики современные рыжие полевки представлены всего 10-12 видами, причем по числу ( $2n=56$ ) и форме хромосом ( $NF=58$ ) эти виды практически не различаются. В их диплоидном наборе - 26 пар акроцентрических- и 1 пара самых мелких метацентрических аутосом. X-хромосома - один из самых крупных акроцентриков, а Y-хромосома, мелкий элемент набора. Однако, начиная с обзора Н.Н. Воронцова с соавторами (1978), рассматривающего изменчивость Y-хромосомы у 3-х видов рыжих полевок, и до настоящего времени были накоплены сведения о вариабельности кариотипов этих видов. Назрела необходимость обзора кариологических сведений о соотношении изменчивости и стабильности видов р. *Clethrionomys*, так как кариотип часто

рассматривается как таксономический признак, а изменение формы половых хромосом, как показатель заселения островов Тихого океана и других территорий. Отметим, что в филогенетических построениях и в определении изолирующих механизмов также используют кариологические маркеры, поэтому вопрос их изменчивости актуален. Кроме того, в настоящее время активно исследуются молекулярно-генетические маркеры популяций палеоарктических видов этого рода (Абрамсон, Родченкова, 2007; Родченкова и др., 2011). Сопоставление этих маркеров с цитогенетическими позволит глубже и объективнее выяснить филогенетические взаимоотношения рыжих лесных полевок, имеющих огромное зоомедицинское значение.

В этом обзоре подведены итоги исследований наших коллег по кариологии: красно-серой *C. rufocanus*; шикотанской, *C. sikotanensis* (= *C. rex*?); красной, *C. rutilus*; рыжей, *C. glareolus* и тяншанской, *C. centralis* полевок, обитающих в Евразии и прилежащих островах, а также наши сведения, собранные в экспедициях в Восточной Сибири, Киргизии, Казахстане и Монголии. Кроме того, нам предоставляли материал из Кандалакшского заповедника, из Тверской обл., Коми, и Сихотэ-Алинского заповедника и южного берега оз. Иссык-Куль. Хромосомные изменения полевок рода *Clethrionomys* мы рассматриваем на двух уровнях – внутрипопуляционном и межпопуляционном. Внутрипопуляционный хромосомный полиморфизм по аутосомам у красно-серой полевки отмечен всего в 7-ми популяциях из 57 исследованных, а у красной полевки – из 44 популяций только в одной, в Оренбургской области. В клетках единственного экземпляра (самца) присутствовала крупная субметацентрическая хромосома (Быкова и др., 1980). В настоящее время у других видов р. *Clethrionomys* и филогенетически близкого р. *Eothenomys* не выявлена внутрипопуляционная изменчивость по аутосомам. Причем такая изменчивость в строении X-хромосомы встречается очень редко. Так, у одного самца из 9 особей *C. sikotanensis*, выловленных на о. Шикотан, X – крупный субметацентрик (Соколов и др., 1990). Из 10 кариотипированных особей с о. Хоккайдо зарегистрирован случай нерцепрокнутой транслокации у самки красно-серой полевки, что привело к образованию субтелоцентрической X-хромосомы (Obara, Yoshida, 1985). Отметим, что все указанные выше перестройки обнаружены в гетерозиготном состоянии у малого числа особей (от 1 до 7), относящихся к 3 видам (*C. rufocanus*, *C. sikotanensis* (= *rex*) и *C. rutilus*), причем в основном на периферии их ареалов. Внутрипопуляционная изменчивость рыжей полевки в строении Y-хромосомы зарегистрирована в 6 популяциях на Балканах, в центральной Сербии. Там, отлавливали самцов в кариотипах которых обнаружены мета-, субмета- и акроцентрические Y-хромосомы. Предполагают, что эти смешанные по морфологии Y-хромосомы популяции рыжей полевки – результат вторичного контакта первоначально изолированных популяций в постледниковый период (Vujosevic, Blagojevic, 1996).

В сводке Воронцов с соавторами (1978) межпопуляционную изменчивость отмечали только по Y-хромосоме. Однако она была выявлена в локализации гетерохроматина в 27-й паре аутосом у красно-серых полевок из Швеции (Gamperl, 1982), из Кандалакшского заповедника и на Енисее (наши сведения). У исследованных нами всех особей популяций *C. rutilus*, *C. glareolus*, *C. centralis* C-гетерохроматин в 27 паре локализован только в прицентромерном районе. Пока только этими случаями ограничивается межпопуляционная изменчивость аутосом, но такая изменчивость выявлена у X-хромосом. Так, на правом берегу р. Енисей, окрестности пос. Мирный, у красно-серой полевки обнаружена субтелоцентрическая X-хромосома (наши сведения), а на левом берегу – акроцентрическая (Соколов и др., 1990). В популяции тяншанской полевки из окрестностей г. Алматы обнаружена субтелоцентрическая X-хромосома (наши данные), а в остальных 6 популяциях акроцентрическая (Соколов и др., 1990; наши данные).

Наибольшая межпопуляционная вариация формы Y-хромосомы выявлена у красно-серой полевки. Исследовано 58 популяций, из них в 28 обнаружены самцы с мета-, в 1-й субмета-, в 10-ти субтело- и в 19-ти с акроцентрической Y-хромосомой. Итак, предположение, что все континентальные популяции *C. rufocanus* имеют метацентрическую

Y-хромосому (Воронцов и др., 1978) оказалось ошибочным. У красной полевки эти показатели такие – из 43-х популяций в 34-х представлены мета-, в 5-ти субмета- и в 4-х акроцентрики; у рыжей полевки – из 52 популяций, в 31-ой мета-, в 7-ми субмета- и в 14-ти акроцентрики. У тяньшанской полевки в 6-ти популяциях обнаружены самцы с субмета- (Быкова и др., 1980; Соколов и др., 1990; наши данные) и в одной - акроцентрической Y-хромосомой (Орлов, Крюкова, 1975). У островной шикотанской полевки эти показатели такие – в 4-х точках субмета- и в 6-ти акроцентрик (Соколов и др., 1990; Iwasa, Nakata. 2015). Все эти сведения расширяют географию мозаичного распределения разной формы Y-хромосомы в континентальных и островных популяциях полевок р. *Clethrionomys*. Итак, мы выяснили, что, несмотря на стабильность кариотипов полевок этого рода, у них проявляется изменчивость, как по аутосомам, так и половым хромосомам, причем наиболее подвержена изменениям Y-хромосома. Следовательно, такая внутри- и межпопуляционная изменчивость может быть реализована в процессе эволюции.

### **Intraspecific chromosomal variability in red voles of the genus *Clethrionomys* (Arvicolinae, Rodentia)**

Malygin V.M.<sup>1</sup>, Dmitriyev S.G.<sup>2</sup>, Baskevich M.I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Biological Faculty of Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

Modern red voles are presented by 10-12 species in the huge territory of Holarctic, and in number (2n=56) and a form of chromosomes (NF=58) these species practically don't differ. However, starting from 1978 (Vorontsov et al., 1978) up to-day the data on variability of karyotypes of these species are collected. In this review the results of own researches and known from the literature data on chromosomal variability of representatives of the red voles living in Eurasia and adjacent islands: *C. rufocanus*, *C. sikotanensis* (= *C. rex?*), *C. rutilus*, *C. glareolus* and *C. centralis* are summed. The chromosomal changes of voles from this genus are considered on intra - and interpopulation levels. It has been shown that the subject of change are one of the large acrocentric and the smallest (the 27<sup>th</sup>) metacentric pairs of autosomes, X- and Y-chromosomes. Therefore, such variability can be implemented in the course of evolution of these species.

### **Генетическая структура популяций *Populus nigra* L. Среднего и Южного Урала на основе полиморфизма SSR-маркеров**

Мартыненко Н.А.<sup>1</sup>, Ахметов А.Р.<sup>2</sup>, Хайнце Б.<sup>3</sup>, Боронникова С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Пермский государственный университет, кафедра ботаники и генетики растений, Пермь, Россия*

<sup>2</sup>*Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия*

<sup>3</sup>*Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape, Unit Genome Research Department of Genetics, Austria*

Тополь чёрный (*Populus nigra* L.), является одним из важных древесных лиственных видов растений лесных экосистем пойм рек Северного полушария. В Европе 99% пойменных биоценозов утеряно в результате использования берегов рек, интенсивного использования поймы в качестве пастбища, заготовки древесины, деформации и полного исчезновения пригодных берегов водоёмов из-за водопользования и регуляции рек. Изучение популяционной структуры создает основу для долговременного рационального использования лесных биологических ресурсов, эффективной охраны и воспроизводства их генофондов. Целью данной работы является изучение генетической структуры некоторых популяций *P. nigra*, расположенных на Среднем и Южном Урале.

Нами исследованы три равнинных популяции *P. nigra*: «Спасская гора», расположенная в историко-природном комплексе «Спасская гора» Пермского края (Средний Урал), популяции «Бирск» и «Стерлитамак», произрастающие на территории республики Башкортостан (Южный Урал) и одна горная популяция «Инзер», находящаяся на территории Южно-Уральского заповедника. Минимальное географическое расстояние между популяциями составило около 137 км (между популяциями «Спасская гора» и «Инзер»), а максимальное – около 380 км (между популяциями «Спасская гора» и «Стерлитамак»).

Для молекулярно-генетического анализа *P. nigra* были собраны листья с 32 случайно выбранных деревьев на расстоянии не менее 50 м друг от друга. Для выделения ДНК использовали модифицированную методику S.O. Rogers с использованием в качестве детергента СТАВ+PVPP (цетилтриметиламониум бромид и поливинилполипирролидон). Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («Thermo Scientific», USA). Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием микросателлитных маркеров (SSR); избраны семь микросателлитных локусов: *ORN214*, *PMGC14*, *WPMS09*, *WPMS20*, *WPMS17*, *WPMS14*, *WPMS15*. Фрагментный анализ произведён на секвенаторе GenomeLab GeXP производства Beckman Coulter (USA) в Федеральном научно-исследовательском центре лесов, опасных природных явлений и ландшафта в Вене в Австрии (Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape, Department of Genetics, Austria). У изученных уральских популяций *P. nigra* отмечен 43%-ый дефицит гетерозигот относительно общей выборки ( $F_{IT}=0.425$ ) и 28%-ый дефицит гетерозиготных генотипов внутри популяций ( $F_{IS}=0.279$ ). Нами установлено, что в популяциях тополя чёрного, расположенных на Урале, 19% генетического разнообразия приходится на межпопуляционную компоненту ( $F_{ST}=0.193$ ), а 81% всего генетического разнообразия сосредоточено внутри популяций. Одной из причин выявленной межпопуляционной дифференциации может быть мозаичность этого вида на Урале.

Выражаем искреннюю благодарность сотруднику федерального научно-исследовательского центра лесов, опасных природных явлений и ландшафта (Вена, Австрия) Р. Слански за помощь при проведении фрагментного анализа.

### **Genetic structure of populations of *Populus nigra* L. from Middle and South Urals on the basis of polymorphism of SSR markers**

Martynenko N.A.<sup>1</sup>, Akhmetov A.R.<sup>2</sup>, Heinze B.<sup>3</sup>, Boronnikova S.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Perm state national research university, Department of botany and plant genetics, Perm, Russia

<sup>2</sup>Bashkir state agricultural university, Ufa, Russia

<sup>3</sup>Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape, Unit Genome Research Department of Genetics, Austria

Black poplar (*Populus nigra* L.) is one of the important wood deciduous species of plants of forest ecosystems of river floodplains of the Northern hemisphere. In Europe, 99% of floodplain ecosystems lost as a result of the use of the river banks, the intensive use of the floodplain for pasture, timber, transformation and the complete disappearance of suitable shores of water bodies due to water use and regulation of rivers. The study of population structure creates a basis for long-term sustainable use of forest biological resources, effective protection and reproduction of their gene pools. The aim of this work is to study the genetic structure of some populations of *P. nigra*, located in the Middle and South Urals.

We studied three lowland populations of *P. nigra*: «Spasskaya Gora», located in the historical-natural complex «Spasskaya Gora» in Perm krai (the Middle Urals); the population «Birsk» and «Sterlitamak», grow on the territory of the Republic of Bashkortostan (South Urals); and one mountain population – «Inzer», located on the territory of the «South Ural reserve». The minimum geographical distance between populations was about 137 km (between populations «Spasskaya Gora» and «Inzer»), and the maximum – about 380 km (between populations

«Spasskaya Gora» and «Sterlitamak»). Black poplar leaves were collected from 30-32 randomly selected trees at a distance of 50 m from each other for the molecular genetic analysis. We used a modified procedure of S.O. Rogers, using as a detergent CTAB+PVPP (Cetyltrimethylammonium bromide + Polyvinylpyrrolidone) for the DNA isolation. DNA concentrations were measured using spectrophotometer NanoDrop 2000 («Thermo Scientific», USA). Molecular genetic analysis was performed using microsatellite (SSR) markers with seven selected microsatellite loci: *ORNL214*, *PMGC14*, *WPMS09*, *WPMS20*, *WPMS17*, *WPMS14*, *WPMS15*. The primers were selected based on their use in previous literature. Fragment analysis was done by sequencer GenomeLab GeXP, produced by Beckman Coulter (USA), in the Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape, Department of Genetics, Austria. We recorded a 43% deficit of heterozygotes relative to the total sample ( $F_{IT}=0.425$ ) and a 28% deficit of heterozygous genotypes within populations ( $F_{IS}=0.279$ ) in the studied Ural populations of *P. nigra*. We found in populations of black poplar, located in the Urals, 19% of the genetic diversity, accounted for among-population component ( $F_{ST}=0.193$ ), and 81% of the genetic diversity, concentrated within populations. One of the reasons of identified interpopulation differentiation can be a mosaic of growth conditions of this species in the Urals. We express our sincere thanks to collaborator of the Federal Research Centre for Forests, natural hazards and landscape (Vienna, Austria) R. Slunsky for help with the fragment analysis.

### **Береза повислая и береза пушистая в заболоченных биотопах: традиционный подход и современный ДНК-анализ**

Маслов А.А., Сирин А.А.

*Институт лесоведения РАН, п/о Успенское, Московская обл., Россия*

Березы – повислая (*Betula pendula*) и пушистая (*B. pubescens*) – повсеместно произрастают в Центре Русской равнины как в виде чистых по составу насаждений, так и совместно с другими породами. Считается, что *B. pendula* предпочитает более сухие местообитания и не выносит застойного увлажнения, тогда как *B. pubescens* хорошо мирится с высокой влажностью почвы и чаще растет на болотах. Отличаются виды числом хромосом (у *B. pendula*  $2n=28$ , у *B. pubescens*  $4n=56$ ) и морфологией: формой кроны, наличием или отсутствием «бородавок» на ветвях, опушенностью листьев и побегов, формой листьев. Несмотря на наличие вроде бы четких ключей во «флорах», отнесение конкретных деревьев к *B. pendula* или *B. pubescens* во многих случаях вызывает затруднение. Известно, что данные виды образуют гибрид *B. pendula*×*pubescens* ( $3n$ ). Как следствие, в российском лесоустройстве эти два вида не различаются, и до сих пор отсутствуют объективные данные о встречаемости двух видов березы и гибрида в разных типах местообитаний, включая переувлажненные биотопы. С разработкой новых производительных методов анализа плоидности (без подсчета числа хромосом) появилась возможность быстрого и надежного определения таксономического статуса образцов и внедрения генетических методов в лесной экологии.

Цель работы – установить таксономический статус берез в заболоченных и болотных типах леса на основании ДНК-анализа. В задачи работы входило: 1) определить встречаемость *B. pendula*, *B. pubescens* и *B. pendula*×*pubescens* в объединенной выборке (по региону в целом) и по отдельным типам леса; 2) протестировать «достоверность» определения вида по «ключам» из определителей флоры; 3) определить, какие виды березы и в какой пропорции произрастают на лесных торфяных болотах разных типов. Исследования проводили в Московской области – на постоянных пробных площадях Института лесоведения РАН в заповедных лесных участках и на объектах мониторинга торфяных болот и антропогенно измененных торфяников. Градиент заболачивания представлен в выборке следующими типами леса: сосняк-зеленомошник, сосняк-черничник, сосняк сфагново-долгомошный, сосняк кустарничково-пушицево-сфагновый, ельник сфагновый,

черноольшаник, а также насаждения березы, возникшие вдоль дренажных каналов на осушенных торфяных болотах. Модельные деревья березы в типе леса отбирали случайным или регулярным образом. Для каждой модели проводили: фотографирование нижней части ствола, фотографирование кроны, отбор одного двулетнего побега (по возможности, из середины кроны). В камеральных условиях побеги сканировали для получения выборки по размеру и форме листьев, определяли наличие «бородавок» и опушения. Образцы листьев на ДНК-анализ готовили в виде трех круглых высечек в пробирках Eppendorf 1.5 мл с фиксацией в 70% спирте. До отправки в лабораторию пробирки хранили в морозильнике. Всего подготовлено 50 образцов.

Определение таксономического статуса образцов проводили в лаборатории генетики и биотехнологии Института леса НАН Беларуси под руководством к.б.н. О.Ю. Баранова. Аналитики не располагали данными о каких-либо параметрах образцов. Разделение образцов по плоидности на три группы генотипов – *Betula pendula*, *B. pubescens* и *B. pendula*×*pubescens* – осуществляли стандартным методом SSR ДНК-анализа с использованием семи микросателлитных маркеров.

Предварительный анализ результатов позволяет сделать следующие выводы:

1) В объединенной выборке из разных типов леса, согласно анализу ДНК, абсолютно преобладают особи *B. pendula* (76%). Особи *B. pubescens* составили 12%. Несмотря на то, что по морфологическим признакам большинство деревьев объединенной выборки можно отнести к переходной форме между двумя видами березы, по анализу ДНК гибриды *B. pendula*×*pubescens* составили только 12% от всех деревьев.

2) Определение видов березы (*B. pendula*, *B. pubescens*) по ключам из определителей флоры часто приводит к ошибочным результатам, так как значения диагностических признаков встречаются в разных комбинациях. В частности, абсолютное большинство деревьев, определенных по ДНК как *B. pendula*, имело ветви, направленные вверх – без признаков повисания, а листья этих деревьев редко имели клиновидное основание.

3) Подтверждаются данные, что оба вида берез – и *B. pendula*, и *B. pubescens* имеют очень широкий эколого-фитоценотический диапазон. При этом оба вида и гибрид могут расти в различных типах леса на переувлажненных, заболоченных и болотных почвах.

4) Впервые показано, что на олиготрофных верховых торфяных болотах (при наличии в древостое березы) абсолютно преобладают особи *B. pendula*, гибриды редки, а деревья *B. pubescens* встречаются единично.

5) *B. pendula* преобладает и в березовых насаждениях, возникших вдоль дренажных каналов на осушенных торфяниках. При этом, что береза выросла здесь на переходных и низинных торфах. Вышележащие слои залежи, включая верховые, были «изъяты» здесь ранее в результате добычи торфа.

6) На низинных черноольховых торфяных болотах ДНК-анализ подтвердил преобладание *B. pubescens* и гибридов.

Работа проводилась при поддержке проекта «Восстановление торфяных болот в России в целях предотвращения пожаров и смягчения изменений климата», финансируемого в рамках Международной климатической инициативы Федеральным министерством окружающей среды, охраны природы, строительства и безопасности ядерных реакторов Федеративной Республики Германия и управляемого через немецкий банк развития KfW (проект № 11 III 040 RUS К Восстановление торфяных болот), и при частичной поддержке РФФИ (проект 16-05-00762).

## ***Betula pendula* and *Betula pubescens* in wetland biotops: traditional approach and modern DNA analysis**

Maslov A.A., Sirin A.A.

*Institute of Forest Science RAS, Uspenskoe, Moscow region, Russia*

Taxonomic status of two common birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*) was analysed in different wetland biotops in the Center of the Russian plain. It is shown that in total (combined) sample group according to DNA analysis *B. pendula* trees prevail (76%). Traditional tree species identification according to botanical manuals often leads to mistakes because different morphological signs occur in very different combinations. It is shown for the first time that on oligotrophic peat bogs *B. pendula* is the most common form while the hybrids are rare and *B. pubescens* is not so common.

## **Ploidy level reset among hybrid populations of triticale × wheat crosses**

Mehdiyeva S.P., Aminov N.Kh.

*Genetic Resources Institute of ANAS, Baku, Azerbaijan*

The crosses between triticale (×*Triticosecale* Wittm.) and wheat (*Triticum* L.), especially on the hexaploid level, have a long history and examined by scientists from many countries. However, it is well known, that the formation of hybrid materials in the crosses are largely determined by the used parental genotypes, that is also applicable for the triticale-wheat crosses. Triticale itself is heterogeneous and being crossed with the different wheat forms could produce a wide range of genetic variability and new phenotypic diversity the study of which requires continuous research for both hybrid populations formation and identification of desirable segregants. We present here the results of cytogenetic analysis in hybrid populations (F<sub>1</sub> – F<sub>5</sub>) derived from triticale (6x) × wheat (4x/6x) crosses, in which the maternal triticale plant is the locally produced hexaploid triticale ABDR (genome AABBRR, 2n = 42) differentiated from other triticales by its originating from hybridization between Kihara's synthetic wheat ABD (*T. durum* × *Ae. squarrosa*, genome AABBDD, 2n = 42) and *Secale cereale* ssp. *segetale* (genome RR, 2n = 14). Used as the paternal parents the hexaploid wheat forms were presented by 3 botanical varieties of *T. aestivum* species: var. *lutescens* (cultivar Bezostaya 1, genome AABBDD, 2n = 42), var. *graecum* (local cultivar Grekum 75/50, genome AABBDD, 2n = 42), var. *velutinum* (genome AABBDD, 2n = 42); by local Georgian wheat species *T. macha* Dek. et Men. (2n = 42, AABBDD), synthetic wheat ADS [(*T. beoticum* × *Ae. taushii*) × *Ae. speltoides*, genome AADDSS, 2n = 42] and botanical variety *rufum* of tetraploid wheat species *T. dicoccum* (genome AABB, 2n = 28). Cytogenetic study of meiosis in F<sub>1</sub> and mitosis within selfing generations (F<sub>2</sub> – F<sub>5</sub>) of all hybrid plants was carried out according to standard procedures by squash preparations of PMC's (pollen mother cells) and young root-tip cells, respectively. The results of chromosome counting of all hybrid plants in the five generations (F<sub>1</sub>– F<sub>5</sub>) of mentioned above hybrid combinations showed that if the chromosome number of hybrid plants starting from F<sub>1</sub> to F<sub>5</sub> in the combination of ABDR × *T. dicoccum* revealed tendency of karyotype stabilization towards to the chromosome number of parent with the lower ploidy level (i.e. tetraploid level), whereas the hybrid populations of ABDR with the hexaploid wheats revealed different trends during the same process. In contrast to other four hybrid populations of ABDR with the hexaploid wheats (ABDR × *T. aestivum* var. *velutinum*, ABDR × Grekum 75/50, ABDR × *T. macha* and ABDR × ADS) where cytological stabilization tended to get the ploidy level of its hexaploid parents, the hybrid plants from combination of ABDR × Bezostaya 1 showed chromosome number reduction towards to tetraploid level (due to complete elimination of both whole rye genome and D genome of hexaploid wheats that determined by carrying out of sequential GISH (genome *in situ* hybridization) and FISH (fluorescence *in situ* hybridization) procedures in some hybrid plants of F<sub>3</sub> and late F<sub>5</sub> generations selectively). It should

be noted that chromosome number reduction in the latter combination is occurred rapidly in the early hybrid generations ( $F_2$ ,  $F_3$ ). Morphological studies of hybrid plants in this combination showed the revealing of durum- and turgidum-like plants with respective spike architectures that confirmed the cytogenetic results. Thus hybridization between the equal ploidy level plants can lead to resetting of ploidy level in progenies which is the opposite phenomena to polyploidization where the ploidy level is increasing. Moreover, the morphotype formation diapason (quantity of morphologically different segregants) of the hybrid populations in our study with both resetting and maintaining ploidy level was significantly wider than in the generated hybrid populations for obtaining synthetic wheat ADS during its polyploidization course and D genome substituting process for the producing of triticale ABDR presumably because of their deriving from unreduced gametes that is limiting the genetic recombination among genomes and reducing wide morphological variation specific for hybrid populations in distant hybridization due to combination of different gametes.

### **Эволюционный вызов партеногенетических дождевых червей амфимиктическим собратьям**

Межжерин С.В.<sup>1</sup>, Гарбар А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАНУ, Киев, Украина*

<sup>2</sup>*Житомирский госуниверситет им. Ивана Франко, Житомир, Украина*

Основные эволюционные события и большая часть жизни на Земле происходила под приматом апомиктической формы размножения. Амфимиксис - следствие многоклеточности и у таких высокоорганизованных животных как членистоногие, головоногие и позвоночные стал, по сути, единственным нормальным способом воспроизводства. Тем не менее, вторичный апомиксис, в форме партеногенеза, присущ многим наземным (тли, дождевые черви, коловратки) и пресноводным (турбеллярии, дафнии, остракоды, ряд семейств олигохет) беспозвоночным Голарктического региона. Число групп и видов, способных к партеногенезу, в общем, не так уж велико, однако, это одни из самых многочисленных представителей Голарктической фауны, которые в силу своей массовости играют важную роль в биоценозах. Это означает, что переход к партеногенетическому способу размножения сопровождается биологическим прогрессом.

Одной из такой групп, в которых встречаются как партеногенетические, так и амфимиктические формы являются дождевые черви семейства Lumbricidae. И в данном случае партеногенетические виды по численности, протяженности ареалов и способности к экспансиям и видовым инвазиям имеют показатели не меньшие, чем их амфимиктические собратья. Проведенные исследования генетической структуры поселений с помощью анализа аллозимов и кариотипирования показали разноплоидность от ди- до октоплоидности, полиаллельность аллозимов, многоклоновость популяционной организации, ее нестабильность во времени и генетическую гипервариабельность. Все эти генетические обстоятельства теоретически должны снижать приспособленность организмов, однако этого не происходит. Полученные результаты обсуждаются с позиции концепции эволюционно-генетической специализации и эволюционной роли амфимиксиса.

### **The evolutionary challenge of parthenogenetic earthworms to their amphimictic ancestors**

Mezhzherin S.V.<sup>1</sup>, Garbar A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*I.I. Schmalhausen Institute of Zoology, NASU, Kyiv, Ukraine*

<sup>2</sup>*I. Franko Zhytomyr University, Zhytomyr, Ukraine*

In the main evolutionary events and most of the life on Earth the apomictic form of reproduction dominated. Amphimixis is the consequence of multicellularity and amongst such



highly developed animals as Arthropods, Cephalopods and Vertebrates became largely the only normal type of reproduction. Nevertheless, secondary apomixis, in the form of parthenogenesis, is commonly met amongst many terrestrial (aphids, earthworms, rotifers) and freshwater (*Turbellaria*, *Cladocerans*, *Ostracods*, several families of *Oligochaeta*) invertebrates in the Holarctic region. The number of taxa and species featured by parthenogenesis is on the whole not so large at all, but they are one of the most numerous representatives of the Holarctic fauna, which due to their abundance play a pivotal role in ecosystems. This means that the transition to the parthenogenetic mode of reproduction is accompanied by biological progress.

One such group, which is comprised of both parthenogenetic and amphimictic forms, are earthworms of the family *Lumbricidae*. In this particular case the parthenogenetic species are comparable to their amphimictic kin in terms of abundance, home range sizes and the ability to invade new areas. Studies of the genetic structure of earthworm populations by means of allozyme and karyotype analysis has revealed a spectrum of ploidy ranging from di- to octoploidy, multiple allozymes, multiclonality of the population structure, their temporal instability and genetic hypervariability. All these genetic circumstances should in theory decrease the fitness of organisms, however this is not occurring. The obtained results are discussed from the point of view of the concept of evolutionary genetic specialization and the evolutionary role of amphimixis.

### **Популяционно-географическая изменчивость лиственницы в географических культурах Подмосковья**

Мельник П.Г.

*Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия;  
Институт лесоведения РАН, п/о Успенское, Московская обл., Россия*

Лиственница (*Larix*) произрастая в обширном Евразийском ареале в процессе эволюции, оказалась географически дифференцированной по своим наследственным свойствам. Опыты с географическими культурами позволяют определить характер географического распределения популяций определённого вида в далёком прошлом, а т.к. не существует лучшего способа определения свойств различных географических происхождений, то опыты с географическими культурами в настоящее время являются важнейшим, а часто и единственным основанием для рекомендаций по использованию того или иного источника репродуктивного материала (Schultze, 1994).

Ценнейшим опытом изучения популяционно-географической изменчивости различных видов лиственницы в Московской области является объект географических культур в Бронницком участковом лесничестве Московской области (Мельник, Карасев, 2012). В посадках 1954-1955 гг. на площади 41.7 га были высажены 6 видов лиственницы из 41 географического пункта СССР. В дальнейшем видовой состав был расширен до 53 климатипов и 12 видов, в число которых входят: лиственница европейская (*Larix decidua* Mill.), польская (*Larix polonica* Racib.), ширококочешуйчатая (*Larix eurolepic* Henry), Сукачёва (*Larix Sukaczewii* Dylis), сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.), Чекановского (*Larix Czekanovskii* Szaf), даурская (*Larix dahurica* Turcz), амурская (*Larix amurensis* Kolesn.), ольгинская (*Larix olgensis* Henry), Кемпфера (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière), курильская (*Larix kurilensis* Maur.) и американская (*Larix laricina* (DuRoi) K. Koch). В 2015 году географические посадки лиственницы достигли 60-летнего возраста, что позволяет сделать объективные выводы о том, какие виды и климатипы в наилучшей степени отвечают местным лесорастительным условиям и имеют высокую продуктивность.

Согласно полученным данным, по высоте лидируют климатипы лиственницы европейской, польской и японской, худшие показатели у лиственницы даурской. По показателю среднего диаметра наилучший результат у лиственницы польской. Лидером по запасу стволов на гектар является лиственница европейская формирующая насаждения со средним запасом 1094 м<sup>3</sup>/га. Последнее место занимает лиственница даурская – 204 м<sup>3</sup>/га.

Самую низкую сохранность деревьев дали дальневосточные провениенции, а самую высокую – лиственница европейская и Сукачёва. По модифицированной методике (Мерзленко, Мельник, 1995) рассчитывался суммарный показатель целесообразности интродукции или внедрения конкретных климатипов, а также рассчитаны индексы оценки потомств (Роне, 1980) относительно местных пород сосны и ели. Лиственница европейская и японская занимают лидирующие позиции за всё время опыта, с возрастом их преимущество в продуктивности возрастает. Климатипы лиственницы сибирской имеют различную продуктивность, в среднем близкую к продуктивности местной сосны и ели Ia класса бонитета, и преимуществ перед ними не имеют.

Таким образом, шестидесятилетний опыт изучения популяционно-географической изменчивости лиственницы в географических культурах Бронницкого лесничества показал, что лучшим лесоводственным эффектом характеризуется лиственница европейская, польская, японская и Сукачёва, эти виды занимают лидирующие позиции почти по всем таксационным показателям. Лучшие провениенции получены из Ивано-Франковской области Украины, Сахалинской, Архангельской, Кировской, Ивановской областей России. Выращивание в Подмоскowie лиственницы Сукачёва происхождением из Республики Башкортостан не целесообразно по причине низкой продуктивности.

### **Population-geographical variation of larch in geographical plantations of the Moscow Region**

Melnik P.G.

*Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia;  
Institute of Forest Science RAS, Uspenskoe, Moscow region, Russia*

Growing on the vast Eurasian area, Larch (*Larix*) has a big differentiation in terms of its genetic characteristics. Experiments based on geographical plantations allow determining the character of geographical population distribution of a certain species in the past. Since there is no best method to determine characteristics of different geographical origins, the experiments based on geographical plantations is, nowadays, the most important and often the only basis for recommendations on a certain type of reproductive material (Schultze, 1994).

The geographical plantations of the Bronnitski Forest District situated in the Moscow Region represent a valuable example of the study on population-geographical variation of different species of larch (Melnik, Karasaev, 2012). Six species of larch from 41 geographical locations of the USSR were planted on the area of 41.7 ha during the plantation period between 1954 and 1955. The species composition was then extended up to 53 climatic types and 12 species which was represented by European larch (*Larix decidua* Mill.), Polish larch (*Larix polonica* Racib.), hybrid larch (*Larix eurolepic* Henry), *Larix Sukaczewii* Dylis., Siberian larch (*Larix sibirika* Ledeb.), *Larix Czekanovskii*, Dahurian larch (*Larix dahurica* Turcz), *Larix amurensis* Kolesn., Olga Bay larch (*Larix olgensis* Henry), Japanese larch (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière), *Larix kurilensis* Maur., and Tamarack (*Larix laricina* (DuRoi) K. Koch). The geographical larch plantations reached 60-year-old age in 2015. It made it possible to draw objective conclusions which species and climatic types can be best implemented under the local forest site conditions and shows high productivity. According to the data obtained, the climatic types of the European, Polish and Japanese larch show the best results in terms of height, while the results represented by the Dahurian larch were opposite. The polish larch had also the best results for the mean stem diameter. The European larch was a leader in terms of volume/ha forming a stand with the mean volume of 1094 m<sup>3</sup>/ha meanwhile the Dahurian larch showed the worst results of 204 m<sup>3</sup>/ha. The Far East proveniences have the highest mortality while the mortality rate of the European larch and *Larix Sukaczewii* is the lowest. A modified method (Merzlenko, Melnik, 1995) was used to calculate the cumulative ratio of introduction effectiveness of specific climatic types as well as progeny indexes were calculated (Rone, 1980) in relation to the local species of pine and spruce. The European and Japanese larch had the leading positions during the whole experiment time. The production advantage increases

with age. The climatic types of the Siberian larch have different productivity, in average, close to the productivity of the local pine and spruce of the Ia growth class but have no advantage over them.

In this regard, the 60-year-long experience of population-geographical variation of larch in the geographical plantations of the Bronnitski forest district showed that the European, Polish, Japanese larch and *Larix Sukaczewii* had the best silvicultural effect. These species showed the best results in terms of almost all inventory parameters. The best proveniences have their origin from the Ivano-Frankovsk region of Ukraine, Sakhalin, Arkhangelsk, Kirov and Ivanovo regions of Russia. The *Larix Sukaczewii* provenience from the Republic of Bashkortostan is inappropriate for planting and growing in the Moscow Region due to low productivity.

### **Сохранность генофондов лесных экосистем при лесовыращивании инорайонными семенами**

Милютин Л.И., Новикова Т.Н.

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия*

Ю.П. Алтухов в своих исследованиях рассматривал широкий круг проблем современной генетики. В частности, он изучал (Алтухов, 2003) вопросы засорения или даже уничтожения генофондов аборигенных видов в результате недостаточно обоснованной акклиматизации инорайонных видов. Ю.П. Алтухов анализировал данную проблему в основном на примере видов рыб, но, безусловно, эти вопросы имеют значение и для других видов живых организмов, в том числе и для древесных растений. На видовом уровне это наглядно показано на примере степных и лесостепных боров Алтая, где ценнейшая лесная порода этого региона – сосна обыкновенная вытесняется из своих местообитаний случайно проникшими из городских озеленительных посадок насаждениями клена американского или ясенелистного *Acer negundo* L. (Бондарев, 2015).

Несомненно, такие процессы происходят и на внутривидовом уровне, при инвазии внутривидовых таксонов, хотя в данном случае они имеют более сложный характер и практически не изучены. Дело в том, что географические культуры лесообразующих видов древесных растений и предложенные на основе их анализа схемы лесосеменного районирования учитывают главным образом сохранность и показатели роста климатических экотипов (климатипов) изучаемого вида. По этим показателям, как правило, лучшими являются местные климатипы, но нередко в числе «лидеров» оказываются интродукционные климатипы из географически отдаленных районов. Например, нашими исследованиями (Новикова, 2002) географических культур сосны обыкновенной в Западном Забайкалье (вблизи г. Улан-Удэ) установлено, что насаждения климатипов из Пермской и Тюменской областей в 24-летнем возрасте по стволовой продуктивности ( $\text{м}^3/\text{га}$ ) превышали местный климатип соответственно на 11 и 20%. Нельзя безоговорочно признать правомерность утверждений о том, что наиболее ценными оказываются самые продуктивные климатипы, независимо от их географического происхождения. Тем более нам неизвестны материалы, доказывающие прямую связь продуктивности популяций со стабильностью и устойчивостью их генетических структур. Более того, известно, что любой отбор снижает уровень полиморфизма, и лучше всего адаптированы к условиям среды особи со средними значениями признака (в том числе и быстроты роста), по определению Ю.П. Алтухова (2003), оптимальные «средние» фенотипы.

В связи с этим высказывались даже предложения (Авров, 2000) о необходимости запрета использования инорайонных семян при лесовыращивании. По нашему мнению, такие заявления излишне категоричны и требуют корректировки в зависимости от района создаваемых лесных культур и их типа. Использование инорайонных семян не является угрожающим при создании плантационных лесных культур, а также при лесовыращивании в лесной зоне, в центральных частях ареалов лесообразующих видов, где генофонды их

популяций давно и прочно стабилизировались. В то же время осторожный подход необходим при инвазии интродукционных климатипов в краевые и особенно в изолированные и гибридные популяции.

### **Preservation of forest ecosystems gene pools when using seeds from other regions for artificial regeneration**

Milyutin L.I., Novikova T.N.

*V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAN, Krasnoyarsk, Russia*

Yu.P. Altukhov investigations cover a wide range of genetic research problems. He studied, in particular, the problem of contamination and even elimination of aboriginal species gene pool due to insufficiently grounded acclimatization of species of other regions. (Altukhov 2003). He analyzed this problem for some fish species, but it can absolutely be extrapolated to species of other living organisms, including woody plants. That this is a serious problem concerning woody plants is clear from a study conducted in Altay Region steppe areas (Bondarev, 2015), where Scots pine, the most valuable forest species of the Region, is being forced out of its habitats by ash-leaved maple (*Acer negundo* L.), a town greenery, whose seeds happened to reach these habitats.

This process takes place, no doubt, at the intraspecific level, when intraspecific taxon invasion occurs, and becomes more complex. The process has been very little studied, because provenance trials and schemes of forest seed sources regionalization based upon the trial results are aimed mostly at preserving and facilitating the growth of the climatypes of the species under study. Usually local climatypes show higher survival and better growth, however, climatypes brought from far away often occur among the “leaders”. Our provenance trials (Novikova, 2002) of Scots pine near Ulan-Ude, western Trans-Baikal area, showed that the 24-yr-old stands of the climatypes from Perm and Tumen Regions exceeded the local climatype in trunk wood production (m<sup>3</sup>/ha) by 11% and 20%, respectively. That the highest-productivity climatypes, regardless of their place of origin, are, as a rule, the most valuable ones would be an overstatement. We do not know about any material proving that there is a direct link between productivity of populations and stability of their genetic structures. Moreover, any selection is known to reduce polymorphism and individuals having medium values of characters (including growth rate), so-called optimal “average” phenotypes (Altukhov, 2003), are best adapted to the environment.

Those accepting the presence of the link (Avrov, 2000) even propose to ban use of seeds from other regions for silviculture. Our perception is that such a ban would be too strong a measure and needs, therefore, a thoughtful discussion as to the type of and the area where a silviculture is planned to be established. Using seeds from other areas is not a threat when establishing forest commercial plantations, when silviculture takes place in the forest zone or in the central parts of the spreading of the major forest-forming species where the gene pools of their populations became stable long ago. A more careful approach is, however, needed when introducing climatypes into marginal and especially into isolated and hybrid forest populations.

### **Популяционно-генетическая структура нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) реки Апука**

Минева Т.В., Ельников А.Н., Кловач Н.В., Зеленина Д.А.

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия*

Для нерки реки Апука, одной из крупнейших рек северо-востока Камчатки, характерна сложная популяционная структура. Отличительной чертой нерестового стада является присутствие двух сезонных форм, достоверно различающихся по морфологическим признакам и возрастной структуре. Ранее было показано, что морфологические

характеристики и возрастной состав нерки из реки Апука изменяются в течение всего нерестового хода. Известно, что нерка раннего хода нерестится в озере Ватыт-Гытхын, расположенном в нижней части бассейна реки, в то время как нерка позднего хода нерестится в верховьях реки, при этом ранняя нерка заходит в реку, уже имея признаки преднерестовых изменений и относительно высокий гонадо-соматический индекс (ГСИ), а поздняя заходит в реку без таких признаков и с низким ГСИ. Ранняя нерка мигрирует в реку на нерест в конце мая – начале июня, ее ход заканчивается к концу второй декады июня. Во второй или начале третьей декады июня начинается ход поздней нерки. Поздняя нерка малочисленна по сравнению с ранней формой, она крупнее, а по возрастному составу в целом старше ранней за счет более продолжительного морского нагула (Кловач, Ельников, 2013).

Цель представленной работы состояла в изучении генетической структуры нерестовой группировки нерки реки Апука. Был выполнен сравнительный анализ 8 выборок, собранных в нижнем течении реки в различные сроки нерестового хода в 2010, 2011, 2015 и 2016 гг. Результаты исследования полиморфизма митохондриального гена *CytB* свидетельствуют в пользу существования в реке Апука по крайней мере двух различных субпопуляций нерки: выборки, собранные в начале хода, достоверно отличались от выборок, взятых полтора месяца спустя. В популяции ранней нерки был обнаружен уникальный гаплотип, свойственный только этой группировке, причем его доля в наиболее ранних выборках составила почти 30 %. В течение хода доля этого гаплотипа уменьшалась вплоть до полного его отсутствия в поздних выборках, что позволяет рассматривать данный гаплотип в качестве генетического маркера ранней нерки. Обобщение биологических и генетических данных позволяет предположить, что в бассейне реки Апука, с наибольшей вероятностью – в озере Ватыт-Гытхын, обитает уникальная популяция нерки, по своим биологическим и генетическим характеристикам значительно отличающаяся от всех других популяций данного региона. Возможно, происхождение ранней и поздней нерки реки Апука различно, и заселение реки происходило неодновременно в результате независимых событий. Для проверки данной гипотезы требуются дальнейшие генетические и биологические исследования сезонных форм нерки реки Апука.

### **Population genetic structure of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) of Apuka River**

Mineeva T.V., Elnikov A.N., Klovach N.V., Zelenina D.A.

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Sockeye salmon from the Apuka River, one of the largest rivers of Kamchatka north-east region, forms a complex population structure. Two partly overlapping season forms were revealed in this stock, each of them had noticeable differences in morphology and age distribution, however, almost nothing is known about genetic structure of this population. Previous studies demonstrate changes in morphology occurring during spawning period. Early sockeye salmon spawn in lower basin (Vatyt-Gythyn Lake), while late sockeye - in higher basin. When early salmon enter into river they already have pre-spawning changes in morphology and high gonadosomatic index value (GSI). Late fish migrate without any pre-spawning changes and have lower GSI. Early salmon run to the river from the end of May to the end of June. Migration of late sockeye begins in the second half of June. The number of late sockeye stock is lower. Late-running sockeye salmon is larger, mainly older in age structure and spends more time in ocean relative to early form (Klovach, Elnikov, 2013).

The main aim of this study was to investigate the population structure of sockeye salmon from the Apuka River. We surveyed the polymorphism of mitochondrial cytochrome B gene (*CytB*) in almost 300 individuals. In total 8 samples were collected in different periods of spawning run in 2010, 2011, 2015 and 2016 were analyzed. Our results suggest that sockeye salmon of the Apuka

river has at least two subpopulations. Samples which collected in the beginning of spawning period have significant differences from those spawning 6 weeks later. In early sockeye population we revealed unique haplotype featured only in this sample. We observed that frequency of this unique haplotype in early sockeye salmon was significantly higher (about 30%) than in late. Frequency of this haplotype decreases during spawning period until complete absence in late samples. Thus we may consider this haplotype to be a genetic marker of early sockeye salmon in this river. Summing up the biological and genetic data we suggest that in Apuka basin, most likely - in lake Vatyty-Gythyn a unique population of sockeye salmon lives. This stock differs a lot from all other populations from the north-east of Kamchatka peninsula. Perhaps the origin of the early and late sockeye of Apuka River is different, and the river colonization did not occur simultaneously rather as a result of independent events. This hypothesis requires further genetic and biological studies of season forms of sockeye salmon from the Apuka River.

### **Интрогрессия хромосомных, ядерных и митохондриальных маркеров в гибридной зоне обыкновенных полевков**

Миронова Т.А., Громов А.Р., Лавренченко Л.А.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Естественная гибридизация свидетельствует о неполной репродуктивной изоляции между близкородственными, как правило, молодыми видами. Обыкновенные полевки надвидового комплекса *Microtus arvalis* представлены двумя четко дифференцированными хромосомными формами *M. arvalis* s.s. и *M. obscurus*, имеющими спорный таксономический статус. Широко распространенные на территории Европейской части России обыкновенные полевки характеризуются парапатричными ареалами. Граница между этими двумя видами, протянувшаяся в меридиональном направлении через несколько природных зон, представляет уникальную возможность для изучения процессов гибридизации, интрогрессии и интенсивности потока генов в разновозрастных гибридных зонах. Южный участок располагается в лесостепной зоне и, по всей видимости, образовался вскоре после отступления ледников, тогда как северный участок расположен в зоне смешанных и широколиственных лесов и заселялся полевками вслед за антропогенной трансформацией данной территории и образованием обширных участков открытых биотопов.

Нами накоплен значительный материал, который свидетельствует о существенных различиях в структуре гибридной зоны на северном и южном участках. Для северного участка характерен дефицит родительских видов и преобладание особей с рекомбинантным генотипом. На южном участке отмечается преобладание *M. obscurus* и дефицит *M. arvalis* и рекомбинантных особей. Для гибридной зоны в целом отмечается ассиметричная интрогрессия цитогенетических и молекулярно-генетических маркеров. Анализ цитогенетических, ядерных и митохондриальных маркеров показал, что ширина зоны гибридизации на южном участке не превышает 2/2/2 км, тогда как на северном участке она составляет 15/35/55 км. Дистанция проникновения молекулярно-генетических маркеров через гибридную зону значительно дальше, чем цитогенетических. В тоже время наблюдается определенное несоответствие в распределении ядерных и митохондриальных маркеров, которое связано с тем, что митохондриальная ДНК намного легче передается через видовые границы благодаря своему материнскому наследованию и отсутствию рекомбинации.

## Introgression across the Common vole hybrid zone: chromosomes, nuclear and mitochondrial genes

Mironova T.A., Gromov A.R., Lavrenchenko L.A.  
*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

Natural hybridization an indicator of incomplete reproductive isolation between related, usually young species. Common vole is including two different chromosomal forms: *Microtus arvalis* and *M. obscurus*, which have a controversial taxonomic status. The common voles are distributed in the European part of Russia and characterized by parapatric ranges. The boundary between these two forms is extending in the meridional direction through several natural zones and provides a unique opportunity for studying the processes of hybridization, introgression and gene flow intensity in several hybrid zones. The southern part of the hybrid zone located in the forest-steppe zone was probably formed soon after the retreat of the glaciers, while the northern part, located in the forest zone, was presumably emerged after anthropogenic transformation of the area and the formation of large territories of open habitats.

We have accumulated a considerable data, which revealed significant difference in the structure of hybrid populations in northern and southern parts of the zone. F1 hybrids are extremely rare in all known hybrid populations, that indicates the presence of selection against hybrids. The northern part of the hybrid zone is dominated by backcrosses with a rare occurrence of both parental forms. The southern part is dominated by pure *M. obscurus* and rarely observed *M. arvalis* and hybrids. Overall hybrid zone is characterized by asymmetric introgression of cytogenetic and molecular genetic markers. Analysis of the cytogenetic, nuclear and mitochondrial markers showed that the width of a hybrid zone is less than 2/2/2 km in the southern part, but is more than 15/35/55 km in the northern part. According to molecular genetic analysis, the hybrid zone is considerably wider. At the same time, there is some discrepancy in distribution of mitochondrial and nuclear markers, because the mitochondrial DNA is much more easily dispersed through a species boundary without any recombination.

### Генетическая изменчивость двурогого бычка *Enophrys diceraus* (Pallas, 1787) (Cottidae)

Морева И.Н.<sup>1</sup>, Радченко О.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского, Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Владивосток, Россия*

<sup>2</sup> *Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, Россия*

Род *Enophrys* относится к большой группе бычков-керчаков – подсемейству Муохосерphalinae. Согласно ревизии Неелова (1979), он включает вид *Enophrys diceraus*, широко распространенный в прибрежных водах Берингова, Охотского, Японского морей, обитает по тихоокеанскому побережью Курильских, Алеутских островов и Камчатки, у берегов Северной Америки на юг до порта Макнейл в Британской Колумбии, встречается в Чукотском море (до мыса Барроу) (Неелов, 1979; Соколовский, 2007). Морфологические признаки двурогого бычка достаточно хорошо изучены, но из-за их существенной вариабельности и разных точек зрения на значимость обнаруженных различий, единое мнение о таксономической структуре рода *Enophrys* отсутствует. Одни авторы считают род монотипическим, другие, помимо *E. diceraus*, рассматривают в его составе *E. lucasi* и *E. namiyei*. Последний вид, по мнению некоторых морфологов, является япономорским подвидом двурогого бычка – *E. diceraus namiyei*.

Цель настоящей работы заключалась в изучении изменчивости *E. diceraus* из Японского и Охотского морей с помощью молекулярно-генетического и кариологического методов. В ходе молекулярно-генетического анализа обнаружена существенная изменчивость мтДНК и гетерогенность вида *E. diceraus*. Наблюдаемый внутривидовой

полиморфизм обусловлен генетическими различиями между экземплярами, выловленными в разных участках ареала вида, Охотском и Японском морях. Оценки р-дистанций между охотоморскими и япономорскими экземплярами *E. diceraus* превышают внутривидовой уровень и соответствуют межвидовой дифференциации. Топология ВА дерева, построенного по объединенным ДНК-последовательностям, подтверждает неоднородность *E. diceraus*. С использованием данных по нуклеотидным последовательностям участка гена COI мтДНК видов рода *Enophrys* из Банка Генов (Genbank/NCBI) реконструировано филогенетическое дерево, свидетельствующее, что в современном составе вид *E. diceraus* и род *Enophrys* не являются монофилетичными. ДНК-линии *E. lucasi* объединяются с линиями охотоморской группы *E. diceraus*, япономорская группа *E. diceraus* занимает обособленную позицию.

Кариологический анализ показал, что *E. diceraus* из Японского и Охотского морей полиморфен по числу хромосом (36, 35 и 37) и их морфологии при числе хромосомных плеч, равном 40. Обнаружена хромосомная изменчивость, связанная с наличием добавочных хромосом. Полученные результаты согласуются с данными анализа изменчивости мтДНК, свидетельствующими о существенной гетерогенности *E. diceraus*. Молекулярно-генетические различия видового уровня между охотоморскими и япономорскими экземплярами двурогого бычка с большой долей вероятности позволяют предположить, что обнаруженный хромосомный полиморфизм *E. diceraus* может являться следствием прошлой или нынешней гибридизации близкородственных видов в районах их симпатрии. Полученные в ходе комплексного исследования данные о значительной изменчивости *E. diceraus* не соответствуют результатам ревизии Неелова (1979), по итогам которой род *Enophrys* рассматривается как монотипический, и подтверждают мнение о необходимости более обстоятельного морфологического изучения этой группы рыб (Токранов, Шейко, 2009).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №15-29-02416\_офи\_м) и Программы «Дальний Восток» (проекты №15-I-6-081, 15-I-6-014о).

### **Genetic variability of antlered sculpin *Enophrys diceraus* (Pallas, 1787) (Cottidae)**

Moreva I.N.<sup>1</sup>, Radchenko O.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, National Scientific Center of Marine Biology  
FEB RAS, Vladivostok, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Biological Problems of the North FEB RAS, Magadan, Russia*

Genus *Enophrys* refers to a large group of sculpin – subfamily Myoxocephalinae. According to the Neelov's revision (1979), it includes the species *Enophrys diceraus*, widely distributed in the coastal waters of the Bering sea, the Sea of Okhotsk, the Sea of Japan, lives on the Pacific coast of the Kurils, Aleutian Islands and Kamchatka, on the coast of North America southward as McNeil port in British Columbia, is found in the Sea of Chukotka (to Barrow Cape) (Neelov, 1979; Sokolovsky, 2007). Morphological characters of antlered sculpin are fairly well researched, but because of their significant variability and different points of view on the significance of the detected differences, a consensus on the taxonomic structure of genus *Enophrys* is absent. Some authors consider the genus a monotypic, while others, in addition to *E. diceraus*, consider *E. lucasi* and *E. namiyei* in its composition. The latter species, according to some morphologists, is the Sea of Japan subspecies of antlered sculpin – *E. diceraus namiyei*.

The aim of this work was to study the variability of *E. diceraus* of the Sea of Japan and the Sea of Okhotsk using molecular-genetic and karyological techniques. During the molecular-genetic analysis the significant variability of mtDNA and heterogeneity of species *E. diceraus* has been revealed. The observed intraspecific polymorphism is due to genetic differences between specimens, caught in different parts of the species range, the Sea of Okhotsk and the Sea of Japan. Estimates of p-distances between the Sea of Okhotsk and the Sea of Japan specimens of *E. diceraus* exceed the intraspecific level and correspond to interspecific differentiation. Topology of BA tree,



constructed by the combined DNA sequences, confirms the heterogeneity of *E. diceraus*. Using the nucleotide sequences of the mitochondrial COI gene region of species of the genus *Enophrys* from the Gene Bank (Genbank / NCBI), the phylogenetic tree, indicating that in the current composition the species *E. diceraus* and the genus *Enophrys* are not monophylous, has been reconstructed. DNA lines of *E. lucasi* combine with the lines of the Sea of Okhotsk group of *E. diceraus*, the Sea of Japan group of *E. diceraus* occupies an isolated position.

Karyological analysis has showed, that *E. diceraus* of the Sea of Japan and the Sea of Okhotsk is polymorphic on chromosome number (36, 35 and 37) and on their morphology, when the number of chromosome arms is equal 40. Chromosome variability associated with the presence of extra chromosomes has been detected. These results are consistent with the data of analysis of mtDNA variation, indicating significant heterogeneity of *E. diceraus*. Molecular-genetic differences of the species level between the Sea of Okhotsk and the Sea of Japan specimens of antlered sculpin are more likely to suggest that the observed chromosomal polymorphism of *E. diceraus* may be the result of past or current hybridization of closely related species in their areas of sympatry.

Considerable variability of *E. diceraus*, obtained during the complex study, do not correspond to the results of the Neelov's revision (1979), on the basis of which the genus *Enophrys* is regarded as monotypic, and support the view that a more detailed morphological study of this group of fish is necessary (Tokranov, Sheiko, 2009).

This work was supported by RFBR (grant №15-29-02416\_ofi\_m) and the program "Far East" (projects №15-I-6-081, 15-I-6-014o).

### **Genetic characterization of the invasive Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Latvian Lakeland**

Morozova A., Shkute N.

*Department of Ecology, Institute of Life Sciences and Technology, Daugavpils University, Daugavpils, Latvia*

The invasion of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* into European water bodies has resulted in profound ecological disturbances. The genus *Dreissena* is highly polymorphic and has a high potential for rapid adaptation to extreme environmental conditions by the evolution of allelic frequencies and combinations, possibly leading to significant long-term impacts on the water bodies. Owing to its large filtration capacity and mass occurrence, *Dreissena polymorpha* out-competes the native species of similar feeding type. There are specific phenotypic traits that make a species a potential formidable invader; numerous studies have also found genetic characteristics that can affect the ability of invasive species to spread. Genetic variation is widely supported as enhancing the success of invading populations.

Microsatellites have emerged as the most popular and versatile marker type for ecological applications. The use of microsatellite markers allows assessing the population genetic structure of these species, providing tools for analyzing their invasion pathways and predicting probability of future spread. Five polymorphic microsatellite loci (*DpolA6*, *Dpo101*, *Dpo221*, *Dpo260* and *Dpo272*) for zebra mussels from 4 different Latvian lakes were developed and tested in this research. The within population genetic variation indices: number of alleles ( $N_A$ ), expected ( $H_E$ ) and observed ( $H_O$ ) heterozygosity, and the fixation index ( $F_{IS}$ ) were estimated in GenAlEx 6.41. The mean number of alleles per locus varied in the different populations. Allelic diversity was high at all described loci, ranging from 10 to 15 alleles per locus. Allelic variation was high in all investigated populations. Frequencies of alleles per locus varied. Fixation of 1 or 2 alleles were detected in all loci in all populations. Mean observed heterozygosity per locus was 0.53 and mean expected heterozygosity was 0.88 per locus. Differentiation of the populations evidenced by pairwise  $F_{ST}$  value. The Latvian population of zebra mussel, as well as other European populations of zebra mussel (Poland, Nederland, Spain, Hungary) has a high genetic variability.

This study has been supported by the National Research Programme 2014-2017 „EVIDEnT” Sub-project 2.4. „Non-indigenous species distribution and impact on freshwater ecosystems”.

### **Актуальные аспекты молекулярно-генетических исследований журавлей в природе и центрах разведения**

Мудрик Е.А.<sup>1</sup>, Кашенцева Т.А.<sup>2</sup>, Постельных К.А.<sup>2</sup>, Ильяшенко Е.И.<sup>3</sup>, Горошко О.А.<sup>4,5</sup>,  
Политов Д.В.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Питомник редких видов журавлей Окского государственного биосферного заповедника,  
Рязанская обл., Брыкин Бор, Россия

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Государственный природный биосферный заповедник «Даурский»,  
Забайкальский край, Россия

<sup>5</sup>Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН, Чита, Россия

Журавли в России практически не изучены с позиций популяционно-генетических и геногеографических исследований, хотя в нашей стране находятся гнездовые ареалы семи из 15 видов этих птиц. Среди них – такие широко распространенные и относительно многочисленные виды, как серый журавль (*Grus grus* L.) и красавка (*Anthropoides virgo* L.), а также находящийся под угрозой исчезновения сибирский журавль стерх (*Leucogeranus leucogeranus* Pallas), исчезающий японский (*Grus japonensis* Muller) и уязвимые даурский (*G. vipio* Pallas) и черный (*G. monacha* Temminck) журавли. В настоящее время с помощью специалистов-орнитологов по всей стране мы проводим сбор биологического материала и исследуем по ядерным и митохондриальным ДНК-маркерам популяционно-генетическую изменчивость и дифференциацию серого журавля с максимальным охватом ареала и акцентом на сравнение западного и восточного подвидов; популяционно-генетическую структуру красавки в разных частях гнездового ареала, а также географически разобщенные популяции даурского журавля на Дальнем Востоке и в Забайкалье. По ядерным микросателлитным локусам нами показано, что серый журавль из западной и восточной частей ареала слабо дифференцируется ( $F_{ST} = 0.011$ ) (Мудрик и др., 2015), в отличие от красавки, которая, обладая таким же большим, как и серый журавль, гнездовым ареалом, имеет более генетически обособленные популяции (Мудрик и др., 2013; Политов и др., 2015). Так, по результатам анализа главных координат нами были выявлены три генетически различающиеся группировки: первую образуют крымские, краснодарские и калмыцкие выборки; вторую – волго-уральские красавки; третья представлена казахстанско-среднеазиатской и забайкальской выборками. Волго-уральская и генетически близкие казахстанско-среднеазиатские и забайкальские выборки в такой же степени обособлены друг от друга, как и от группы выборок из западной части ареала в Крыму, Краснодарском крае и Калмыкии. В целом генетическая дифференциация красавок по микросателлитным локусам на порядок выше, чем у серого журавля ( $F_{ST} = 0.111$ ).

Также мы продолжаем проводить молекулярно-генетический контроль разведения журавлей в искусственно созданных условиях, заключающийся в оценке генетического разнообразия маточного поголовья и потомства, установлении отцовства у птенцов при множественном искусственном осеменении и определении сроков переживания сперматозоидов (у стерхов), а также идентификации полового статуса птиц на разных этапах онтогенеза. К настоящему времени в отношении стерха проведена генетическая паспортизация более 200 особей из списка Международной племенной книги этого редкого вида журавлей, проведено более 100 анализов отцовства, установлены продолжительные даже для журавлей сроки переживания сперматозоидов – до 15 суток (Мудрик и др., 2016).

Работа поддерживается проектом РФФИ № 17-04-01287, программами Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем” и “Эволюция органического мира и планетарных процессов”, а также программой ЕАРАЗА “Сохранение журавлей Евразии”.

### Key points of molecular genetic study of cranes in the wild and breeding centers

Mudrik E.A.<sup>1</sup>, Kashentseva T.A.<sup>2</sup>, Postelnykh K.A.<sup>2</sup>, Ilyashenko E.I.<sup>3</sup>, Goroshko O.A.<sup>4,5</sup>, Politov D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Oka Crane Breeding Center, Oka State Natural Biosphere Reserve, Ryazanskaya obl., Brykin Bor, Russia*

<sup>3</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia*

<sup>4</sup>*Daursky State Nature Biosphere Reserve, Zabaikalsky Krai, Russia*

<sup>5</sup>*Institute of Nature Resources, Ecology and Cryology RAS, Chita, Russia*

Population genetics and genogeography of cranes in Russia have not been studied yet. At the same time, the breeding ranges of seven out of 15 world known crane species located on Russian territory. Common crane (*Grus grus* L.) and Demoiselle crane (*Anthropoides virgo* L.) are widespread and abundant species while Siberian crane (*Leucogeranus leucogeranus* Pallas) is critically endangered, Red-Crowned (*Grus japonensis* Muller) is endangered and White-naped (*G. vipio* Pallas) and Hooded (*G. monacha* Temminck) cranes are considered vulnerable. With the help of ornithologists we currently undertake efforts for large-scale collection of biological material from all crane species for population genetic studies. Using nuclear SSR loci and mtDNA markers we have been studying genetic diversity and differentiation in populations of: Common crane focusing on comparison between western and eastern subspecies; Demoiselle crane in different parts of its fragmented range; spatially disjunct populations White-naped crane in the Far East and Transbaikalia. Differentiation between Common crane populations inhabiting western and eastern parts of its range by microsatellite loci was shown to be weak ( $F_{ST} = 0.011$ ) (Mudrik et al., 2015), while in Demoiselle crane on the comparable for square nesting range is genetically differentiated that evidences for at least partial isolation (Mudrik et al., 2013; Politov et al., 2015). According principal coordinate analysis, three genetically different groups of the Demoiselle crane have been revealed. First group includes Crimean, Krasnodar and Kalmykian samples; the second is Volga-Ural sample and the third group combines birds from Central Asia and Transbaikalia regions. In total, genetic subdivision of Demoiselle crane is in about order of magnitude higher than in Common crane ( $F_{ST} = 0.111$ ).

We also have been carrying out molecular genetic control of crane breeding in artificial conditions. We estimate genetic diversity among breeders and offspring, perform analysis of paternity in multiple artificial insemination, terms of spermatozoa storage (in the Siberian crane), and molecular sex identification at different ontogenetic stages. In the rare Siberian crane, we provided genetic passportization of more than 200 individuals from the International Studbook of this species, 100 analyses of paternity, recorded very long even for cranes terms of spermatozoa storage up to 15 days (Mudrik et al., 2016).

This work has been supported by the project of RFBR № 17-04-01287 and the programs of the Presidium of the Russian Academy of Sciences “Biodiversity of Natural Systems” and “The Evolution of the Organic World and Planetary Processes” as well as the EARAZA Program “Conservation of Cranes of Eurasia”.

## К вопросу о границе распространения североазиатских и сибирских гаплотипов *nad1* мтДНК у елей комплекса *Picea abies* – *P. obovata* в Западной Сибири

Мудрик Е.А., Полякова Т.А., Шатохина А.В., Белоконов М.М., Белоконов Ю.С., Политов Д.В.  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Европейская (*Picea abies* (L.) Н. Karst.) и сибирская (*P. obovata* Ledeb.) ели занимают один из самых больших ареалов среди древесных растений в мире. Обширнейшая зона интрогрессивной гибридизации европейской и сибирской елей охватывает практически всю Русскую равнину до Урала и Западной Сибири, где распространены формы с промежуточными между номинативными видами признаками (Бобров, 1971, 1978; Правдин, 1975; Попов, 2005). Клиальная изменчивость морфологических признаков у ели в зоне интрогрессии согласуется с клиальным изменением частот аллелей ядерных генетических маркеров (аллозимных локусов) в комплексе *Picea abies* – *P. obovata* (Krutovskii, Bergmann, 1995; Политов, Крутовский, 1998; Политов, 2007; Политов и др., 2011). Напротив, по данным изменчивости митохондриальной ДНК (минисателлитного локуса второго интрона гена *nad1*), у елей данного комплекса наблюдаются хорошо дивергировавшие линии – южноазиатская, североазиатская и сибирская гаплогруппы (Sperisen et al., 2001; Tollefsrud et al., 2008; 2009; Мудрик и др., 2015; Tsuda et al., 2016). Ранее при изучении изменчивости *nad1* у ели в комплексе *Picea abies* – *P. obovata* нами было показано, что североазиатские гаплотипы распространяются на восток до юга Западной Сибири (Тюменская обл.), однако на севере Западной Сибири, в ЯНАО, обнаружена только сибирская гаплогруппа. Этот факт позволил нам предположить, что рельеф Западно-Сибирской равнины и долина Оби являются основным изолирующим барьером для распространения семян и обмена генами между европейской и сибирской елью (Мудрик и др., 2015). Для более тщательного изучения вопроса о границе между европейскими и сибирскими гаплотипами гена *nad1* в комплексе *Picea abies* – *P. obovata* мы предприняли специальные экспедиции для сбора биологического материала в 25 природных популяциях ели Тюменской обл. (Тюменский и Тобольский р-ны), Ямало-Ненецкого (городские округа Салехард и Новый Уренгой, а также Пуровский р-н) и Ханты-Мансийского (Ханты-Мансийский, Сургутский и Нижневартовский р-ны) автономных округов, а также Республики Коми (Троицко-Печорский, Печорский и Усть-Цилемский р-ны) и Пермского края (Лысьвенский, Добрянский, Большесосновский, Красновишерский, Очерский, Кудымкарский, Чернушинский и Кизеловский р-ны). Установлено, что североазиатская гаплогруппа со значительным преобладанием наиболее частого варианта 721 распространена во всех популяциях Коми, Пермского края и на западе Тюменской обл. На севере Тюменской обл. в трех выборках из Тобольского района основной гаплотип 721 отсутствовал, и были выявлены другие варианты североазиатской гаплогруппы: 755, 789, 823. Все изученные выборки ели из ХМАО и ЯНАО были мономорфны по основному сибирскому гаплотипу 712. Таким образом, граница между гаплогруппами мтДНК европейской и сибирской елей проходит фактически по границам Тюменской обл. и ХМАО и находится в пределах 300 км между Тобольским р-ном на юге и Ханты-Мансийским и Сургутским р-ми на севере. Вероятнее всего, продвижение европейских гаплотипов на восток ограничено течением Иртыша и/или Тобола, и более четкое представление о зоне контакта европейских и сибирских гаплотипов можно получить при более детальном исследовании юго-западного сектора Ханты-Мансийского АО.

Работа выполнена при поддержке проектов РФФИ № 14-04-31059 и 15-04-07961, а также Программ фундаментальных исследований Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем” и “Эволюция органического мира и планетарных процессов”.

## On the distribution border between northern European and Siberian *nad1* haplotypes of mtDNA in *Picea abies* – *P. obovata* spruce complex in Western Siberia

Mudrik E.A., Polyakova T.A., Shatokhina A.V., Belokon M.M., Belokon Yu.S., Politov D.V.  
*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

Norway (*Picea abies* (L.) H. Karst.) and Siberian (*P. obovata* Ledeb.) spruces occupy one of the largest total range among all woody plants in the world. Altogether, these two species represent a complex of forms with continuous intergradation of morphological traits (Bobrov, 1971; Pravdin, 1975; Popov, 1999; 2005). Extended zone of introgressive hybridization between Norway and Siberian spruces covers almost whole Russian plain and extends eastward up to the Urals and Western Siberia. Clinal variation of morphological traits in the hybrid zone of *Picea abies* – *P. obovata* complex correlates with clinal variation of allele frequencies of nuclear genetic markers (allozyme loci) (Krutovskii, Bergmann, 1995; Politov, Krutovski, 1998; Politov, 2007; Politov et al., 2011). Conversely, the data of mitochondrial DNA variation (a minisatellite locus in the second intron of *nad1* gene) revealed different northern European, southern European and Siberian haplogroups of spruce (Sperisen et al., 2001; Tollefsrud et al., 2008; 2009; Mudrik et al., 2015; Tsuda et al., 2016). Previous data indicated that unlike frequencies of nuclear allozyme loci gradually changing in southwest-northeast direction, mtDNA demonstrates clear spatial distribution. Northern European haplotypes are spreading eastward up to Tumen Oblast. The Ob River was shown to be a sharp border between north European and Siberian haplotypes in the northern part of Western Siberia. Siberian haplotypes occupy the territory of the Yamal-Nenets Autonomous Okrug on the eastern bank of the Ob' (Mudrik et al., 2015) and further eastwards. However, a delimitation of distribution of the haplogroups in the south of Western Siberia is still largely unknown. In order to elucidate this question we planned additional sampling in 25 native spruce populations of Tyumen Oblast, Yamal-Nenets and Khanty-Mansi Autonomous Okrugs, the Komi Republic and Perm Krai. The analysis of spatial distribution showed that the most frequent North European haplotype 721 was the only one found in Komi, Perm Krai and western regions of Tyumen Oblast. In the north of Tyumen Oblast, in Tobolsk Raion (District) the common variant 721 was missing and replaced by other haplotypes of north European haplogroup: 755, 789, 823. All the studied samples from Yamal-Nenets and Khanty-Mansi Autonomous Okrugs were monomorphic for major Siberian haplotype 712. Thus, our data indicated that the border between north European and Siberian haplogroups virtually lays within 300 km corridor between Tobolsk Raion of Tyumen Oblast in the south and Surgut Raion of Khanty-Mansi Autonomous Okrug in the north. Most likely, dispersal of European haplotypes was limited by the Irtysh and/or Tobol river basins. More fine structure can be revealed in course of detailed studies in the south-western sector of Khanty-Mansi Autonomous Okrug.

This study has been supported by the RFBR projects ##14-04-31059 and 15-04-07961 and Programs of Fundamental Research of the Presidium of Russian Academy of Sciences “Biodiversity of Natural Systems” and “The Evolution of the Organic World and Planetary Processes”.

### Эволюционная изменчивость мультигенных семейств

Муха Д.В.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Молква, Россия*

Мультигенные семейства – это совокупности генов, представленные в геноме множеством сходных копий или ограниченным набором дублированных и дивергированных в разной мере последовательностей. Поддержание в геноме структурной целостности мультигенных семейств предполагает наличие особых генетических механизмов. Очевидно, что при отсутствии таких механизмов, в ряду поколений случайные

мутации способны превратить мультигенное семейство в набор несхожих последовательностей. Кроме того, при сравнении гомологичных мультигенных семейств различных видов живых организмов показано, что каждый вид характеризуется уникальным набором повторяющихся единиц, входящих в состав мультигенного семейства. Следовательно, должны существовать особые генетические механизмы, обуславливающие эволюционную изменчивость членов мультигенных семейств.

Типичным примером мультигенных семейств является кластер генов рибосомных РНК эукариотических организмов (рДНК). В докладе будет рассмотрена структурная организация рДНК близкородственных видов семейства таракановые (*Blattodea*). На примере рДНК этих видов насекомых будут обсуждены генетические механизмы, обуславливающие поддержание единообразия и эволюционную изменчивость членов мультигенного семейства. В докладе будет обсужден предложенный нами новый генетический механизм эволюционной изменчивости мультигенных семейств – «магнификация и фиксация». Суть нового генетического механизма заключается в избирательной магнификации одного из минорных вариантов повторов мультигенного семейства, обладающего в новых условиях окружающей среды адаптивными преимуществами, и последующая изогенизация мультигенного семейства, обуславливающая закрепление магнифицированного повторяющегося элемента в пределах мультигенного семейства, благодаря механизму направленного генетического драйва. Предполагается обсуждение нового генетического механизма эволюционной изменчивости мультигенных семейств с позиции теории генетического мономорфизма Ю.П. Алтухова.

## **Evolution and Variation of Multigene Families**

Mukha D.V.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Multi-gene families are complexes of genes that typically consist of multiple members with similar sequences and functions, or are represented by restricted sets of duplicated and diverged sequences. Unlike genes represented by a single copy in the haploid genome, multi-gene families maintain their structural integrity via special genetic mechanisms. Obviously, in the absence of such mechanisms, in a series of generations, random mutations can turn a multi-gene family into a set of disparate sequences. In addition, when comparing homologous multigenic families of different species of living organisms, it was shown that each species is characterized by a unique set of repeats that make up the multigene family. Therefore, there must exist special genetic mechanisms that cause the evolutionary variability of the members of the multigene families.

A typical example of multigene families is a cluster of ribosomal RNA genes of eukaryotic organisms (rDNA). The report will consider the structural organization of rDNA of closely related species of the cockroach family (Blattoidea). On the base of rDNA of these insects, genetic mechanisms that support the uniformity and evolutionary variability of the members of the multi-gene family will be discussed. In the report, we will discuss the new genetic mechanism of evolutionary variability of multigenic families proposed by us - "Magnification and fixation". The essence of the new genetic mechanism consists in the selective magnification of one of the minor variants of the repeats of the multigenic family, which has adaptive advantages in the new environmental conditions, and the subsequent isogenization of the multigenic family and, accordingly, fixation of the magnified repeat within the multigenic family due to the mechanism of directed genetic drive. The new genetic mechanism of the evolutionary variability of multigenic families will be discussed within the framework of the theory of genetic monomorphism proposed by Yu. P. Altukhov.

## **Генетическая оценка популяции КРС хозяйств Вологодской области**

Мухин И.А., Лопичева О.Г.

*Вологодский государственный университет, Вологда, Россия*

Генетический анализ может применяться в двух направлениях. Во первых, генетическая паспортизация стада позволит оптимизировать его структуру, разделив коров, которые дают разное (при одинаковом питании) молоко. Разделение разнокачественного молока и оптимизация его использования для производства различной молочной продукции позволит улучшить её выход и качество.

Исследования ряда авторов показали, что смешиваемость молока от коров с разными генотипами даёт пропорциональное изменение его свойств и показателей качества. Таким образом, разработаны рекомендации к формированию генетически однородных популяций внутри стада. Для примера реализации стратегии геномной оценки разработана математическая модель трансформации генетической структуры популяции. Так, в распространенном в Вологодской области случае, когда встречаемость аллеля В гена каппа-казеина равной 20%, выделение в отдельную группу коров с генотипом ВВ по данному гену позволит повысить сыропригодность молока. При встречаемости аллеля В равной 20% доля гомозигот составит примерно 13%. Скорость сбивания сливок в масло у таких коров на 7% меньше, однако при разбавлении молока эффект теряется и составляет лишь около 0,2%, т.е. не обнаруживается. Выделение коров в отдельную группу позволит получить около 14% молока (от общего удоя) обладающего меньшим временем сбивания в сливки. При этом не произойдёт обнаруживаемого снижения качества остального молока, по сравнению с исходной смесью.

Таким образом, установление генотипов телок и быков позволит осуществлять генетическую селекцию, подбирая пары таким образом, чтобы потомство обладало требуемыми параметрами. В рассматриваемой ситуации цель формирования сыромолочного стада достигается через воспроизводство на ремонт носителей данной аллели и использовании быков, гомозиготных по этому гену. С помощью этих мер можно добиться полной перестройки стада за 8-9 поколений. Разработано две модели перестройки стада без покупки новых особей: со сведением поголовья и без него.

## **Genetic evaluation of populations of cattle farms of Vologda Region**

Mukhin I.A., Lopicheva O.G.

*Vologda State University, Vologda, Russia*

Genetic analysis can be used by two different ways. Firstly, genetic certification will optimize of herd structure. The herd will be divided into two parts with different character of milk (with the same nutrition). Separation and optimization of different-quality milk will improve the quality and output of dairy products.

Some authors studies have shown that a miscibility of milk of cows with different genotypes gives a proportional change of its properties and quality indicators. Thus, recommendations to the formation of genetically homogeneous populations have been developed. For example, mathematical model of transformations of the genetic structure in populations have developed. This model has made possible evaluation strategy of livestock formation. Typical case of the Vologda region, where the occurrence of B allele kappa-casein gene is 20 percent. The allocation of a separate group of cows with BB genotype for this gene will increase the cheese-suitability of milk. When share of B-allele is equal 20 percent then homozygote percentage will be approximately 13 percent. The speed of churning cream into butter from homozygous cows reduces by 7 percent. However, this effect is lost when to dilute with another milk and it is only about 0.2 percent.

Selection group of cows will provide about 14% of milk (of the total milk yield) having less time to churning cream.

Thus, the knowledge of genotypes of heifers and bulls will allow us, through genetic selection, to obtain offspring with the necessary parameters. In this situation, the purpose of forming the cheese-milk herd reproduction is achieved through reproduction of this allele carriers and the use of bulls homozygous for this gene. Through these measures a complete restructuring of the herd can be achieved for 8-9 generations. Two models of herd restructuring are developed.

### **Исследование репродуктивного поведения трехиглой колюшки Белого моря в зоне совместного нереста анадромной и жилой форм**

Мюге Л.Н., Барминцева А.Е., Мюге Н.С.  
*Институт биологии развития РАН, Москва, Россия*

Репродуктивное поведение трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus* L.1758) включает постройку самцом гнезда, сложные брачные танцы, а также заботу о потомстве, которая проявляется в охране и вентиляции развивающейся в гнезде икры, а затем охрану вылупившихся мальков в первые недели после выклева. Для некоторых популяций показано наличие репродуктивной изоляции между анадромными и жилыми популяциями, однако механизм изоляции остается неизвестным. Формирование жилых пресноводных популяций в молодых озерах на побережье Белого моря предполагает период совместного нереста анадромной и находящейся на стадии становления жилой популяций колюшки. Ассортативное скрещивание (предпочтение самками колюшки самца той же экологической формы), в случае возникновения на ранних этапах формирования жилой популяции, способно значительно ускорить процесс формообразования путем резкого сокращения генетического обмена.

Ранее было показано, что под действием естественного отбора в молодых популяциях жилой колюшки происходит быстрый рост частоты «пресноводного» аллеля в геномных островках дивергенции (Divergence Islands, DI), что позволяет отличить жилую форму колюшки от анадромной даже на относительно ранних этапах становления жилой популяции. В данной работе мы изучали генетические отношения между самцом – хозяином гнезда и потомством, что позволяет реконструировать генотип самки и оценить степень ассортативности при выборе самкой полового партнера. Всего было проанализировано 16 гнезд (самец+ потомство) трехиглой колюшки из озера Ершовского (66,535 ° N, 33,076 ° E) и оз. Хрусломено (66,721 ° N, 32,853 ° E) в Кандалакшском заливе Белого моря. Сбор материала проводился в 2011, 2014 и 2016 гг. Пять гнезд были собраны на стадии развивающейся икры и 11 - на стадии мальков, охраняемых самцом около гнезда.

Нами было генотипировано 618 особей (16 самцов, 142 эмбриона и 460 мальков) трехиглой колюшки по трем типам маркеров. Самцы были проанализированы по 6 микросателлитным локусам и по 8 DI-специфичным локусам. Все дети (потомство) проанализированы по тем же локусам, а так же дополнительно было проведено секвенирование контрольного региона мтДНК.

Микросателлитный анализ выявил, что в 4 гнездах с икрой из 5 изученных все потомство принадлежит самцу-хозяину гнезда. В то же время практически все гнезда, в которых самец охраняет мальков, содержали потомство не только этого самца. Все (кроме двух) гнезда с мальками содержали большое количество приемных мальков (в среднем 42%). Эти данные указывают, что у трехиглой колюшки формируются «детские сады», в которые собираются мальки, не только генетически связанные с самцом, но и из других, возможно разоренных гнезд.

Предварительные данные указывают на присутствие ассортативного скрещивания между жилой и анадромными формами. В большинстве гнезд самки принадлежали к той же



форме что и самец. В двух гнездах, принадлежащих анадромным самцам, наряду с потомством анадромных самок, отмечено потомство по одной резидентной самки в каждом.

### **Study of reproductive behavior of anadromous and resident forms in the three-spined stickleback of the White Sea**

Mugue L.N., Barmintseva A.Ye., Mugue N.S.  
*Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

Reproduction of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.1758) includes the construction of nest by male, complex mating behavior, as well as the care of the offspring, in form of protection and ventilation of the spawning nest, and then the protection of hatched fry in the first weeks after hatching. For some populations, reproductive isolation between anadromous and residential populations is shown, but the mechanism of isolation remains unknown. The formation of freshwater populations in young lakes on the coast of the White Sea assumes a period of sympatric spawning of anadromous and incipient residential populations of stickleback. Positive assortative mating (preference for female sticklebacks by male of the same ecological form), in the case of occurrence at the early stages of the formation of a residential population, can significantly accelerate the process of morphogenesis by dramatically reducing gene flow.

Previously, it was shown that due to natural selection, the frequency of the "freshwater" allele in genomic regions called Divergence Islands (DI) in the young populations of the stickleback is growing rapidly, which makes it possible to distinguish the resident sticklebacks from the anadromous ones even at relatively early stages of the formation of the residential population. We studied the genetic relationship between the male host and the offspring, which allows us to reconstruct the genotype of the female and assess mate preference when the female chooses a sexual partner. A total of 16 nests (male + offspring) of the three-spined stickleback from Lake Ershov and Khruslomeno in the Kandalaksha bay of the White Sea. The material was collected in 2011, 2014 and 2016. Five nests were collected at the stage of developing embryos and eleven at the stage of fry, guarded by male near the nest.

We genotyped 618 individuals (16 males, 142 embryos and 460 fry) with three types of markers. The males were analyzed for 6 microsatellite loci and 8 DI-specific loci. All offspring were analyzed for the same MS and DI loci, and sequencing of the mtDNA control region was additionally carried out.

Microsatellite analysis revealed that in 4 nests with caviar of 5 studied, all the offspring belongs to the male host of the nest. At the same time, almost all the nests in which the male guards the fry contain the offspring, not always related to the male. All (except for two) nests with fry contained a large number of foster fingerlings (an average of 42%). These data indicate that in the three-prickle stickleback have "kindergartens", containing fingerlings not only genetically related to the male, but also from other, probably ruined nests.

Preliminary data indicate the presence of an assortative mating between the residential and anadromic forms. In most nests, females laid eggs belonging to the same form as the male. In two nests belonging to the anadromous males, along with the offspring of the anadromous females, a progeny of one resident female was detected.

## **Ранние этапы формирования пресноводных популяций трехиглой колюшки Белого моря как модель видообразования – геномный подход**

Мюге Н.С.<sup>1,2</sup>, Тереханова Н.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Лаборатория эволюционной геномики и механизмов видообразования, Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Всероссийский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия*

Процесс формирования новых видов остается одним из наиболее загадочных в современной биологии, а механизмы, лежащие в основе видообразования - наименее изученными. Это во многом определяется тем, что процесс формирования нового вида растянут во времени, и обычно его невозможно воспроизвести в лабораторных или контролируемых условиях.

Трехиглая колюшка – модельный вид в эволюционной биологии, обитающая в море и образующая многочисленные экологические формы при заселении пресных водоемов (анадромная – жилая, бентическая – лимническая, речная-озерная и другие пары форм, заселяющие нередко одни и те же или смежные местообитания). Однако в большинстве изученных популяций исследователи имеют дело с хорошо сформированными формами колюшки, имеющими возраст в тысячи поколений.

Белое море представляет уникальный полигон для изучения ранних стадий формообразования у колюшки. Постоянный подъем береговой линии со скоростью около 0.5 см в год приводит к постоянному отшнуровыванию морских заливов и превращению их в пресноводные местообитания. Таким образом, изучая пресноводные (жилые) популяции колюшки, можно наблюдать весь временной ряд формирования адаптации к новым условиям. На ранних этапах новые озера соединяются с морем протокой, что позволяет анадромной колюшке попадать в озеро на время нереста и приводит к симпатрическому нересту двух форм. Предварительные данные позволяют утверждать, что частичная репродуктивная изоляция возникает на самых ранних этапах формирования жилой формы и позволяет ускорить процесс адаптации за счет резкого снижения потока генов между анадромной (морской) и жилой (пресноводной) популяциями.

Полногеномное секвенирование колюшки из 11 озер и из моря позволило выявить участки генома, находящиеся под отбором при формировании жилых популяций и оценить количественно коэффициент отбора  $s$ . Среди генов, находящихся под отбором, наиболее представлены гены иммунного ответа, метаболизма, а также различные транскрипционные факторы. Долговременное сосуществование пресноводных и морской формы колюшки и неполная репродуктивная изоляция между ними привела к накоплению в морской популяции преадаптированных «пресноводных» аллелей, которые у анадромной колюшки встречаются редко (около 5%). При заселении нового пресноводного местообитания, естественный отбор приводит к повышению и последующей фиксации по некоторым из этих аллелей, что вызывает высокий уровень параллелизма и конвергенции между независимо сформировавшимися пресноводными популяциями.

Формообразование у колюшки можно считать моделью видообразования, так как новые жилые популяции колюшки удовлетворяют критериям как в биологической, так и в экологической и морфологической концепциях вида. Дальнейшие исследования направлены в первую очередь на выявление генетической основы ассортативного скрещивания, а также выявления функциональной роли наблюдаемых эволюционных изменений генома колюшки.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-08944а.

## Young resident three-spined stickleback populations of the White sea basin as a model of speciation – genomic approach

Mugue N.<sup>1,2</sup>, Terekhanova N.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Russian Institute for Fishery and Oceanology, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Institute of information transmission problems RAS, Moscow, Russia*

The process of new species formation remains one of the most mysterious in modern biology, and the mechanisms underlying speciation are the least studied. This is largely due to fact that the process of forming a new species is extended in time, and it is usually impossible to reproduce it under laboratory or controlled conditions.

Three-spined stickleback is a model species in evolutionary biology, inhabiting the sea and forming numerous ecological forms when settling in fresh water bodies (anadromic - resident, benthic - limnetic, riverine-lake and other pairs of forms that often inhabit the same or adjacent habitats). However, in the most studied populations, researchers are dealing with well-formed forms of sticklebacks that are thousands of generations old.

The White Sea is a unique testing ground for studying the early stages of morph formation in sticklebacks. Constant rise of the coastal line at a speed of about 0.5 cm per year leads to a constant separation of sea bays and their transformation into freshwater habitats. By studying the freshwater populations of stickleback, one can observe the entire time series of the formation of adaptation to new conditions. At the early stages, new lakes are connected to the sea by a water stream, which allows the anadromous stickleback to enter the lake at the time of spawning and leads to a sympatric spawning of two forms. Preliminary data suggest that partial reproductive isolation occurs at the earliest stages of the formation of a living form and allows accelerating the adaptation process by sharp reducing the flow of genes between anadromous (marine) and resident (freshwater) populations.

Full-genomic sequencing of sticklebacks from the Sea (reference) and from 11 lakes allow to identify the areas of the genome that are under selection during the formation of resident populations and to estimate for them coefficients of selection. Genes of the immune response, metabolism, as well as various transcription factors are most represented among the genes under selection. Long-term coexistence of freshwater and sea sticklebacks and incomplete reproductive isolation between them led to the accumulation of preadapted "freshwater" alleles in the marine population, which are rare in anadromous stickleback (about 5%). When a new freshwater habitat is populated, natural selection leads to an increase and subsequent fixation of some these alleles, which causes a high level of parallelism and convergence between independently formed freshwater populations.

The formation of resident stickleback populations can be considered as a model of speciation, since new inhabited populations of stickleback meet criteria in both biological, ecological, and morphological concepts of species. Further studies are aimed primarily at identifying the genetic basis of assortative mating, as well as identifying functional significance of the observed evolutionary changes in the stickleback genome. The work is supported by RFBR grant 15-04-08944a.

## Социальная среда и эпигенетическое программирование раннего развития

Наумова О.Ю.<sup>1,2</sup>, Рычков С.Ю.<sup>1</sup>, Одинцова В.В.<sup>3</sup>, Жукова О.В.<sup>1</sup>, Григоренко Е.Л.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Хьюстонский университет, США*

<sup>3</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Эпигеном – комплексный механизм регуляции активности генома посредством метилирования ДНК и модификации гистонов – это динамическая структура, которая играет важную роль в реализации программы развития в контексте взаимодействия «ген-среда». Исследования, как на моделях животных, так и на человеке, показали, что наряду с другими средовыми факторами, качественные изменения в эпигеноме может вызывать социальное окружение, при этом наиболее значимыми являются негативные условия в раннем детстве (трудное раннее детство), такие как жестокое обращение с детьми, нарушение взаимодействия между матерью и ребенком, родительский стресс и другие. В качестве биологического механизма, лежащего в основе данного эффекта, предполагается, что трудное раннее детство может воздействовать на биологические пути, лежащие в основе нейроэндокринного ответа на стресс, что может привести к стойким изменениям в системе регуляции генов, включая изменения в паттернах метилирования ДНК. Исследования последнего десятилетия показали, что такие изменения являются системными и масштабными с точки зрения их влияния на геном и организм, поскольку они регистрируются в геномах различных клеток и тканей, и не только на уровне отдельных генов, но и на уровне генных сетей. В отличие от модельных экспериментов, исследования влияния ранней социальной среды на эпигеном человека являются в большинстве своем ретроспективными, проводятся на когортах взрослых и сосредоточены на обнаружении «отсроченных» эффектов. Учитывая обратимый характер эпигенетических изменений, это может привести к недооценке связанных с ранней средой эпигенетических альтераций, которые могли играть важную роль в контексте раннего развития.

В свете вышесказанного, наше исследование представляет собой одну из первых попыток исследовать эффекты воздействия социальной среды на эпигеном человека на ранних стадиях развития. Здесь мы сообщаем о первых результатах исследования влияния ранней социальной депривации, в условиях отсутствия материнской заботы и раннего размещения в институциональную среду, на эпигеном младенцев и детей младшего возраста, а именно на паттерны метилирования ДНК в лимфоцитах крови. Используя микрочип высокой плотности (Illumina HumanMethylation450) и межгрупповой анализ дифференциального метилирования, мы провели сравнение полногеномных профилей метилирования ДНК в когорте детей-воспитанников домов ребенка (N=30) в возрасте от шести месяцев до четырех лет с таковыми у детей, воспитываемых в семьях с биологическими родителями (N=20). Нами был обнаружен ряд существенных отличий в характере метилирования ДНК в геномах институционализированных детей. Большинство этих различий может быть адресовано к изменениям в паттернах метилирования генов иммунной системы, таких как гены главного комплекса гистосовместимости, а также генов, контролирующих синаптическую передачу и активность рецепторов, в особенности глутаматных рецепторов, которые играют важную роль в межнейронной коммуникации, формировании памяти и обучения. Таким образом, результаты нашего исследования, предоставляют свидетельства в пользу гипотезы о том, что условия ранней институционализации могут быть ассоциированы с систематическими изменениями в эпигенетических статусах детей, что, в свою очередь, может оказать влияние на их здоровье, биологическое и когнитивное развитие.

Исследование проводилось при финансовой поддержке Правительства Российской Федерации (грант 14.Z50.31.0027).

## Social Environment and Epigenetic Programming of Early Human Development

Naumova O.Yu.<sup>1,2</sup>, Rychkov S.Yu.<sup>1</sup>, Odintsova V.V.<sup>3</sup>, Zhukova O.V.<sup>1</sup>, Grigorenko E.L.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*University of Houston, TX, USA*

<sup>3</sup>*Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*

Epigenome – the combined mechanism of DNA methylation and chromatin modification that programs the genome functioning – is a dynamic structure that plays an important role in the realization of the developmental program as it interacts with environments. Both animal and human research on the dynamics of the epigenome in the context of gene-environment interaction has demonstrated that epigenetic states might be changed in response to social environmental factors; early adverse experiences, such as child abuse, negative mother-child interaction, parental stress and other developmentally detrimental factors, have most crucial impact on the epigenome. The hypothesized mechanism assumes that adversities in early life are able to shape stress-regulating pathways underlying neuroendocrine responses to stress that may lead to long-lasting alterations in the system of gene activity regulation, including DNA methylation. Recent research has provided evidence that those DNA methylation alterations might be system-wide in terms of their impact on both the genome and the organism. Thus, these alterations have been detected not only at the level of individual genes, but also at the level of gene networks, in the genomes of various cells and tissues. Most human studies on the association of early social environments with epigenetic alterations are retrospective and have focused on long-term effects in adult genomes; they may register only residual signs of epigenetic alterations related to early adversities and their possible impacts on an individual's health and behavior. Given the reversible nature of epigenetic changes, such registration of lasting effects may lead to the underestimation of environment-related epigenetic perturbations that may play an important role in the context of early development.

Our research is one of the first attempts to provide evidence on associations between early life experiences and epigenetic states at the early stages of development. Here we report our first findings on the effect of early social deprivation, namely, the effect of extreme depriving conditions related to the lack of maternal care and early placement into institutional environment, on the epigenome of infants and toddlers, how it is manifested in changes in DNA methylation patterns in blood lymphocytes. Using a high density microarray (the Infinium HumanMethylation450) for detecting genome-wide DNA methylation patterns and a cross-sectional approach for detecting differential methylation, we conducted an Epigenome-Wide Association Study (EWAS) comparing DNA methylation profiles in a cohort (N=30) of institutionalized children aged from six month to four years with those in a comparison group of children (N=20) raised by biological parents. A number of significant differences in DNA methylation patterns were found in the genomes of institutionalized children in comparison to children living in a family environment. Most of these differences might be addressed to the alteration in the methylation patterns of genes involved in immune system functioning, such as the genes coding the major histocompatibility complex—MHC, and genes controlling synaptic transmission and receptor activity. Among the latter, a particular enrichment was observed for genes coding glutamate receptors which play an important role in neural communication, memory formation and learning. Thus, the results of our study provide evidence supporting the hypothesis that institutional social environments may cause systematic alterations in the epigenetic statuses of children that, in turn, may impact children's health and may affect different biological and behavioral cascades of child development.

This research was supported by the Government of the Russian Federation (Grant 14.Z50.31.0027, E.L.G., Principal Investigator).

## Генетическая изменчивость чукотско-камчатской популяции кречета (*Falco rusticolus*) на основании анализа ядерных микросателлитных локусов

Нечаева А.В.<sup>1</sup>, Белоконь М.М.<sup>2</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>2</sup>, Сарычев Е.И.<sup>3</sup>, Бёме И.Р.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия  
<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия  
<sup>3</sup>ООО "Питомник редких видов птиц "Витасфера", Московская обл., Россия

Кречет (*Falco rusticolus*) – самый крупный из соколов, встречающихся в северном полушарии - распространён в арктической и субарктической зонах Европы, Азии и Северной Америки. Занесён в Красную книгу России, как сокращающийся в численности вид. Несмотря на широкое распространение кречета, на сегодняшний день данные о генетической изменчивости вида с территории России отсутствуют. Чукотско-камчатская популяция относительно малонарушенная, с высокой численностью, характеризуется крупным размером птиц, особенно самок, и преобладанием светлого оперения. Птицы из этой популяции часто оказываются объектами браконьерства, что ставит под угрозу её нормальное воспроизводство.

С использованием девяти ядерных микросателлитных локусов получены индивидуальные генотипы 51 птицы из естественной чукотско-камчатской популяции и содержащихся в питомнике особей того же происхождения. Восемь локусов оказались полиморфными с числом аллелей от двух до 15. Среднее число аллелей на локус составило 4,44. Значения ожидаемой гетерозиготности лежат в пределах [0,081; 0,888], наблюдаемой – [0,085; 0,781]. Уровень ожидаемой гетерозиготности сопоставим с наблюдаемой по большинству локусов. В целом значение индекса фиксации ( $0,018 \pm 0,037$ ) указывает на равновесное соотношение генотипов, на основании чего можно предположить, что чукотско-камчатская популяция при данной численности достаточно разнообразна генетически и в ней не наблюдается инбридинга. На основании литературных данных было проведено сравнение параметров генетической изменчивости с другими мировыми популяциями. По итогам нашей работы, можно утверждать, что рассматриваемая популяция является наиболее разнообразной генетически, а также, наряду с аляскинской популяцией, содержит большую часть генетического разнообразия вида. Восемь полиморфных микросателлитных локусов *NVH fr34*, *NVH fp13*, *NVH fp46-1*, *NVH fp54*, *NVH fp79-4*, *NVH fp82-2*, *NVH fp89*, *NVH fp92-1* пригодны для идентификации отдельных особей кречета и могут быть использованы в дальнейшем с целью мониторинга разнообразия естественных популяций и построения программ воспроизводства вида в неволе.

## Genetic diversity of the Chukotka-Kamchatka gyrfalcon (*Falco rusticolus*) population based on the analysis of nuclear microsatellite loci

Nechaeva A.V.<sup>1</sup>, Belokon M.M.<sup>2</sup>, Belokon Yu.S.<sup>2</sup>, Sarychev E.I.<sup>3</sup>, Beme I.R.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia  
<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia  
<sup>3</sup>Vitasphere Co. LTD Breeding center, Moscow region, Russia

Gyrfalcon (*Falco rusticolus*) inhabits Arctic and Subarctic zones of Europe, Asia and Northern America. This species was listed in The Red Book of Russia as reducing in number. Gyrfalcon genetic structure data from Russia are absent, despite of wide distribution of this species.

Chukchi-Kamchatka population with sizeable animal numbers, characterized by big sized birds, especially femails, and predomination of light morphs. Frequently birds from this population become the objects of illegal captures. These facts threaten normal population reproduction.

The individual genotypes of 51 birds of natural Chukchi-Kamchatka population and the same origin birds in captivity were obtained using nine nuclear microsatellite loci. Eight loci were

polymorphic from two to 15 alleles. Average alleles number per loci is 4.44. Values of expected heterozygosity are within limits [0.081; 0.888], observed – [0.085; 0.781]. These levels of heterozygosity are comparable. Fixation index value ( $0.018 \pm 0.037$ ) indicates genotypic equilibrium and makes it possible to suppose that studied population at current size is genetically sufficient and there is no inbreeding. These loci were compared with other world populations based on the published data. As a result of our work, we can say that the population we are talking about is the most genetically diverse. Moreover this group along with the Alaskan population comprises most of the genetic diversity of the species. It has been determined that selected and tested nuclear microsatellite loci (*NVH fr34*, *NVH fp13*, *NVH fp46-1*, *NVH fp54*, *NVH fp79-4*, *NVH fp82-2*, *NVH fp89*, *NVH fp92-1*) are suitable for individual identification and certification of birds in captivity.

### **Молекулярно-генетический анализ некоторых популяций *Larix sibirica* Ledeb. Урала на основании полиморфизма SSR-маркеров**

Нечаева Ю.С., Боронникова С.В.

*Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия*

Одними из ценных и широко распространенных хвойных видов растений России являются виды рода *Larix* Mill, имеющие огромное экологическое и экономическое значение. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), произрастающей как в горных, так и в равнинных областях региона. В данной работе проведен анализ генетического разнообразия и структуры популяций лиственницы сибирской из равнинных и горных районов Урала, с помощью микросателлитных маркеров ядерной ДНК. Объектами исследования служили выборки из трёх популяций *L. sibirica*, одна из которых расположена в горах Северного Урала, на территории заповедника «Вишерский», две другие на Приуральской равнине и в низкогорьях Среднего Урала. Для амплификации 10 ядерных микросателлитных локусов использовали праймеры, разработанные и протестированные для лиственницы европейской С. Вагнер с соавторами (2012). Для проведения мультиплекс-ПЦР применяли набор Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen), капиллярный электрофорез проведен на секвенаторе GenomeLab GeXP (Beckman Coulter) в лаборатории генетики отдела исследований генома Федерального научно-образовательного центра лесов, опасных природных явлений и ландшафта (BFW, г. Вена, Австрия).

В результате, установлено, что все исследованные локусы оказались полиморфными, число выявленных аллелей варьировало от 6 до 26. Всего было выявлено 116 аллельных вариантов микросателлитных локусов. Около 62% выявленных аллелей оказались общими для всех выборок, а остальные 38% уникальными. Анализ основных показателей генетического разнообразия показал, что более высоким аллельным разнообразием ( $N_A=8.0$ ) характеризовалась популяция, расположенная в горах Северного Урала. В целом, основные показатели генетического разнообразия популяций достаточно высоки и эти данные согласуются с таковыми, приведенными в работах по изучению различных видов лиственниц Сибири, Дальнего Востока и Монголии с применением микросателлитных ядерных маркеров и изоферментов. Все изученные нами популяции *L. sibirica* обнаружили дефицит гетерозиготных генотипов. Наиболее высокие значения индекса фиксации ( $F$ ) выявлены так же у горной популяции Северного Урала, а наименьшие – в популяциях Приуральской равнины и низкогорий Среднего Урала. Исследование популяционной структуры с помощью  $F$ -статистик Райта, показало, что *L. sibirica* обнаруживает в среднем 16% дефицит гетерозигот ( $F_{IS}=0.162$ ) внутри популяции и 20% дефицит гетерозигот ( $F_{IT}=0.205$ ) между популяциями. Только 5.4% всей наблюдаемой изменчивости приходится на межпопуляционную компоненту.

Таким образом, молекулярно-генетический анализ 10 ядерных микросателлитных локусов позволил установить, что уровень генетического разнообразия у исследованных популяций *L. sibirica* из различных по экологическим условиям районов Урала достаточно

высок ( $N_E=3.813$ ,  $H_E=0.646$ ), хотя и допускает небольшой дефицит гетерозигот ( $F=0.150$ ). Горные популяции лиственницы сибирской характеризуются в среднем большими значениями индекса фиксации ( $F=0.226$ ) в отличие от равнинных ( $F=0.075$ ). Большая часть генетического разнообразия исследованных популяций *L. sibirica* приходится на внутривидовую компоненту, тогда как межвидовая изменчивость составляет всего 5.4%.

Авторы выражают огромную благодарность руководителю и сотрудникам отдела исследований генома BFW за помощь в проведении исследований.

### **Molecular genetic analysis of some Ural populations of *Larix sibirica* Ledeb. based on polymorphism of SSR-markers**

Nechaeva Yu. S., Boronnikova S.V.  
Perm State University, Perm, Russia

One of valuable and widespread coniferous species of Russia are species of the genus *Larix* Mill with a high ecological and economic value. In Ural the genus *Larix* represented by Western race of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.), that grow in the mountains and lowland areas of the region. In this work, analysis of genetic diversity and population structure of *L. sibirica* from mountains and lowland areas of the Ural regions conducted by nuclear microsatellite markers. As a research objects was used samples from three populations *L. sibirica*, one of them is situated in the mountains on the North Ural, on the territory of nature reserve «Visherskii», the other two on the Ural plains and in the low mountains of the Middle Ural. For amplification of 10 nuclear microsatellite loci was used primers, which designed and tested to European larch in work of S. Wagner with coauthors (2012). For the multiplex-PCR used the set Multiplex Qiagen PCR Kit (Qiagen), capillary electrophoresis conducted on the GenomeLab GeXP sequencer (Beckman Coulter) in the Department of Genetics, Genome Research Unit of the Federal Research and Training Centre of Forests, Natural, Hazards and Landscape (BFW, Vienna, Austria).

In the result, clarified, that all researched loci were polymorphic, amount of identified alleles ranged from 6 to 26. Generally, were identified 116 allelic variants of microsatellite loci. About 62% of identified alleles were common for all samples, other 38% - unique. Analysis of the main indicators of genetic diversity showed that population from the mountains of the North Ural characterized higher allele diversity ( $N_A=8.000$ ). In general, the main rates of genetic diversity is high enough, these statistics are consistent with those given in the studies on the various types of larch trees in Siberia, the Far East and Mongolia with the use of microsatellite nuclear markers and isozymes. All the studied populations *L. sibirica* found out the deficit of heterozygous genotypes. The highest fixation index ( $F$ ) value identified in a mountain population of the Northern Ural, and a lowest – in population of the Ural plains and low mountain of the Middle Urals. The research of population structure by Wright's  $F$ -statistic showed that *L. sibirica* found out at average 16% deficit of heterozygous genotypes ( $F_{IS}=0.162$ ) within the population and 20% deficit of heterozygous genotypes ( $F_{IT}=0.205$ ) between populations. Only 5.4% of the observed variability is accounted for interpopulation component.

Consequently, molecular genetic analysis of 10 nuclear microsatellite loci helped to establish that the level of genetic diversity in the researched populations of *L. sibirica* from different environmental conditions regions of the Urals is high enough ( $N_E=3.813$ ,  $H_E=0.646$ ), but it admit of a small deficit of heterozygotes ( $F=0.150$ ). Mountain populations of *L. sibirica* characterized on the average the big fixation index ( $F$ ) value in contrast the low land ( $F=0.075$ ). A large part of the genetic diversity of researched populations of *L. sibirica* has on intrapopulation component, whereas interpopulation variability is only 5.4%.

The authors express their gratitude to the director and staff of BFW Genome Research Unit for the help in conducting research.



## Структура популяционной системы тёмной лесной пчелы в Волго-Уральском регионе

Николенко А.Г., Каскинова М.Д., Гатауллин А.Р., Салтыкова Е.С.  
Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

В настоящее же время 80% пчелиных семей в России – это межпородные гибриды, что является одной из двух главных причин ежегодной потери в ходе зимовки 20-30%, т.е. 600-900 тысяч (!) семей, и существенного ослабления ещё 30-50%. Племенной материал базовой среднерусской породы на рынке практически отсутствует. Актуальность сохранения генофонда медоносной пчелы очевидна, но к решению этой проблемы возможны различные подходы. 43 Конгресс Апимондии-2013 сделал основной акцент на сохранение локальных популяций. Основная трудность задачи заключается в незнании естественных генетических характеристик, оптимальных для сохранения таких популяций, поскольку исходная структура генофонда у большинства подвидов плохо сохранилась. Вероятно, Волго-Уральский регион является последним (единственным) регионом в Евразии, где еще сохраняется популяционная система темной лесной пчелы. В России существуют условия для успешной селекции в пчеловодстве, однако генетическая специфика объекта (гаплоидность трутней, полиандрия и зависимость качеств пчелиной семьи от состояния рабочих пчёл) и экономические особенности (отсутствие крупного селекционного центра) требуют создание соответствующей методологической основы.

Наши исследования финансировались грантом РФФИ № 14-04-97084 и выполнялись в рамках задач Национальной технологической инициативы (рынок «Фуднет», направление «Современная селекция»). Проведён анализ нуклеотидных последовательностей генов ND2 и COI мтДНК, анализ полиморфизма микросателлитных локусов 4a110, Ap243, A24, A43, A8, A88, A113, Ap049, A14, A28 ядерной ДНК, анализ полиморфизма межгенного локуса COI-COII мтДНК. Показано, что уральские и поволжские популяции темной лесной пчелы отличаются от европейских популяций этого подвида по SNP 912 G>A (локус COI-COII мтДНК).

Поиск в 49 районах Урала и Поволжья позволил нам выделить 5 локальных популяций (генетических резерватов) *Apis mellifera mellifera* L.: бурзянскую (горнолесная зона РБ), татышлинскую (север РБ), южно-прикамскую (юг и центр Пермского края), вишерскую (север Пермского края), камбарскую (юго-восток Республики Удмуртия). 4 из них (кроме бурзянской) образуют единую среднеуральскую популяцию более высокого уровня. На основе полиморфизма микросателлитных локусов ДНК для популяций пчел *A. m. mellifera* Урала и Поволжья рассчитаны генетические стандарты, обязательные для мероприятий по сохранению генофонда и полезные для последующих популяционных исследований медоносной пчелы как в России, так и в Западной Европе.

Завершена разработка и апробация нового метода количественной оценки генетической чистоты пчелиных семей среднерусской породы. Он позволяет дать интегральную оценку состояния генофонда в пределах любой площади, выделить районы чистопородного разведения (популяции), а районы с гибридами разделить на три категории: периферийную зону популяции М, где наличие гибридов не препятствует чистопородному разведению тёмной лесной пчелы; зону С, где гибридизация зашла так далеко, что можно разводить южные породы; и зону активной гибридизации G, завозить туда любой чистопородный материал бесперспективно. Проведено картирование уральской популяционной системы. Определены границы локальных популяций *A. m. mellifera*.

Получены первые экспресс-методы для ускоренной оценки хозяйственно-полезных признаков: зимостойкость по экспрессии генов вителлогенина и антимикробных пептидов. Даны рекомендации по породному районированию и сохранению генофонда медоносной пчелы, показана возможность чистопородного сохранения в масштабах локальной популяции без полной изоляции. Этот результат может существенно упростить

технологические проблемы, связанные с искусственной изоляцией и последствиями инбридинга.

### **The structure of population system of the European dark bee *Apis mellifera mellifera* in the Volga-Ural region**

Nikolenko A.G., Kaskinova M.D., Gataullin A.R., Saltykova E.S.  
*Institute of Biochemistry and Genetics USC RAS, Ufa, Russia*

At present, 80% of bee colonies in Russia are hybrids, which is one of the two main causes of annual losses during the wintering of 20-30%, i.e. 600-900 thousand (!) colonies, and a weakening of 30-50% ones. Breeding material base of European dark bee in Russian market is virtually nonexistent. The relevance of the conservation of genetic diversity of honeybees is obvious, but for the solution to this problem there are various methods. 43-rd Congress Apimondia-2013 had a focus on the conservation of local populations. The main difficulty lies in an absence of the natural genetic characteristics that are optimal for the conservation of such populations, because the original (natural) structure of the gene pool of the subspecies are poorly preserved. Probably, the Volga-Urals region is the last (the only) region in Eurasia, where there is still population system of European dark bee. In Russia, there are conditions for successful breeding in beekeeping, however, the genetic specificity of the object (haploid drones, polyandry, and the dependence of the colonies qualities from working bees) and economic features (the absence of large breeding center) require the creation of an appropriate methodological framework.

Our research was funded by a grant RFBR № 14-04-97084 and was carried out in the framework of the objectives of the National technology initiative (the market "Foodnet", "Modern breeding"). The analysis of the nucleotide sequences of the genes ND2 and COI mtDNA, the analysis of polymorphism of microsatellite loci 4a110, Ap243, A24, A43, A8, A88, A113, Ap049, A14, A28 of nuclear DNA, polymorphism of the intergenic locus COI-COII mtDNA was performed. It is shown that the Ural and the Volga populations of the European dark bee differ from European populations of this subspecies at 912 SNP G>A (locus COI-COII mtDNA).

The search in 49 districts of the Urals and the Volga region allowed us to distinguish five local populations (genetic reserves) *Apis mellifera mellifera* L.: Burzyan population (south mountain-area RB), Tatyshly (north RB), South-Kama (south and centre of Perm Krai), Vishera (North of the Perm region), Kambarka (the southeast of the Republic of Udmurtia). Four of them (except Burzyan) form a single Middle Ural population of a higher level. Based on polymorphism of microsatellite DNA loci for populations of *A. m. mellifera* in the Urals and the Volga region we calculated genetic standards for actions for preservation of gene pool useful for future population-based studies of honeybees in Russia and in Western Europe.

Development and testing of a new method of quantitative evaluation of genetic purity of bees of Central Russian breed are completed. It allows giving an integrated assessment of the state of the gene pool within any area, to highlight areas of pure breeding (population) and areas with the hybrids, that fall into three categories. First, peripheral zone population M, where the presence of hybrids does not preclude purebred breeding of European dark bee; second zone C, where the hybridization has gone so far that it is possible a southern species breeding; and the area of active hybridization G, where any purebred material delivery is futile. The mapping of the Ural population system was conducted. Boundaries of local populations of *A. m. mellifera* were defined.

The first methods for rapid evaluation of quantitative trait loci (QTLs) was obtained: hardiness rating, based on gene expression of vitellogenin and antimicrobial peptides. We wrote recommendations on zoning of the breed and preserving the gene pool of honeybees, the possibility of purebred preservation within local population without complete isolation. This result can greatly simplify the technological problems associated with the artificial isolation and inbreeding.

## Определение полиморфизма генов TLR (Toll-like receptors) пород крупного рогатого скота России с использованием метагеномного анализа

Новак К.<sup>1</sup>, Калашников А.Е.<sup>2</sup>, Гладырь Е.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Animal Science, Prague, Czech Republic*

<sup>2</sup>*Всероссийский институт животноводства им. Л.К.Эрнста,  
Дубровицы, Московская обл., Россия*

Врожденный иммунитет, обусловленный Toll-подобных рецепторами (TLR- toll-like receptors семейство), имеет важное значение для формирования иммунного ответа организма-хозяина на различные патогены грибкового, бактериального и вирусного происхождения (Fisher C.A., *et al*, 2011, Novak K., 2014, Alfano F., *et al*, 2014, ). Полиморфизм TLR у крупного рогатого скота можно оценивать с использованием новой платформы секвенирования PacBio (Pacific Biosciences), что позволяет секвенировать длинные последовательности (длиннее 300 п.н.) и изучать генетическое разнообразие животных с целью определения непосредственных значений статистических величин мутаций. Эти данные в дальнейшем используются в отборе высокопроизводительных животных с повышенной устойчивостью к заболеваниям при помощи ассоциативных статистических исследований популяций (Sharma A., *et al*, 2015). С функционированием этих рецепторов связано множество факторов (Fleer A., Krediet T.G., 2007), из-за правильного функционирования которых зависит устойчивость крупного рогатого скота к внешним факторам среды при их содержании, условия которого в России далеко не идеальны. Породы крупного рогатого скота в России формировались на протяжении нескольких столетий. Исторически развитие животноводства на территории России происходило более быстрыми темпами, чем на территории Европы, за счет более быстрого роста населения и соприкосновения с восточными народами. В настоящее время поголовье крупного рогатого скота в России насчитывает более 11,1 млн. голов (из которых в племенных компаниях 11 тыс. голов, а племрепродукторах 28 тыс.). Они служат производителями более 48 млн. тонн молока и 11 млн. тонн говядины (по данным на 2015 г.).

В исследование включены образцы геномной ДНК коров и быков, отобранных из пород: холмогорской, якутской, ярославской пород, симментальской - молочного и мясного вариантов породы, голштинской породы, гибридов КРС с лесными бизонами. Такой перечень пород был принят для решения исходной поставленной задачи на основе определения вариабельных позиций в нуклеотидных последовательностях общих для пород генов. ДНК выделяли из спермы и ткани после стадии гидролиза с протеиназой К. Полученные в ходе эксперимента ампликоны ПЦР практически полностью охватывают экзомные регионы генов TLR крупного рогатого скота, которые участвуют в формировании иммунного ответа. ПЦР-пулы (до 20 реакций) собирали при помощи праймеров, которые специфичны к экзомным областям генов антибактериальной устойчивости КРС TLR 1, 2, 4, 5, 10 и 6. Далее образец был выделен и очищен при помощи специальной колонки, рекомендованной производителем, качество амплификации было проверено электрофоретически дважды, при помощи фрагментного анализа на чипе Agilent (США).

Секвенирование объединенных ампликонов пород было проведено на платформе Pacific Bioscience HSII. Это позволило метагеномно выявить общую вариабельность генов для последующего их уточнения при помощи SNaPshot Multiplex Kit (Applied Biosystems). Секвенирование нескольких популяций из 275 животных за один запуск прибора обеспечило покрытие до 76 прочтений на каждый конкретный ампликон на 1 образец. Первичную обработку данных о последовательностях проводили с помощью программного пакета ugene (ugene.net, Okonechnikov K., *et al*, 2012) с дальнейшей оценкой качества с FastQS. Выявленные вариации соответствовали встречаемости в популяции КРС определенных пород в целом. Информация о полиморфизме популяции была использована для проектирования коммерческой панели реакций для индивидуального генотипирования

методом удлинения праймеров SNaPshot (Thermo Fisher Scientific) с высоким уровнем мультиплексирования. Генотипирование SNaPshot позволит определить генотипы отдельных особей. Аннотация и функциональная интерпретация варианта аллелей проведена при помощи VeIP ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). Используемый алгоритм оценки генетических изменений позволяет быстро и эффективно получить информацию об общей изменчивости в группе генов TLR. В результате скрининга, выявлено не менее двадцати полиморфных сайтов в генах TLR (TLR1-10), которые были определены в рамках изученных комбинированных образцов популяций животных. Как ожидается, полученные данные будут после их регистрации в базе данных dbSNP использоваться для дальнейшей селекции крупного рогатого скота в России и для повышения его устойчивости к экономически значимым заболеваниям.

Работа поддержана программой министерства "Program for the research institution development" of the Ministry of Agriculture of the CzechR no MZERO0714.

### **Determination of polymorphisms of TLR (Toll-like receptor) genes in Russian breeds of cattle by metagenomic analysis**

Novak K.<sup>1</sup>, Kalashnikov A.E.<sup>2</sup>, Gladyr E.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Animal Science, Prague, Czech Republic*

<sup>2</sup>*Ernst All-Russian Research Institute for Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, Russia*

Innate immunity, which is caused by Toll-like receptors (TLR - toll-like receptor family), is essential for the formation of the body's immune response of the host to different pathogens: fungal, bacterial and viral origin (Fisher C. A., *et al*, 2011, Novak K., 2014, Alfano F., *et al*, 2014). TLR polymorphism in cattle can be evaluated using the new sequencing platform PacBio (Pacific Biosciences). This fact allows us to use in analysis long sequences (300 bp long). We can study the genetic diversity of the animals in terms of determining the values of the quantities of direct mutations. These studies are essential for the further use of the data in the selection of highly products animals with increased resistance to diseases using associative statistical in population studies (Sharma A., *et al*, 2015). Many cell factors are associated with the functioning of these receptors (Fleer A., Krediet T.G., 2007). The correct functioning of the immune factors causes the immune resistance of cattle to external environmental factors in their content, the terms of which in Russia are far from ideal. Breeds of cattle in Russia were formed over several centuries. Historically, the development of animal husbandry on the territory of Russia occurred more rapidly than in Europe, due to more rapid population growth and contacts with Eastern Nations. Currently the number of cattle in Russia has more than 11.1 million. heads (in breeding companies are 11 thousand heads and on breeding loud is 28 thousand heads. There serving as the producer of more than 48 million. tonnes of milk and 11 million. tonnes of beef (as of 2015 year).

The study included samples of genomic DNA of cows and bulls selected from the rocks: Holmogorskaya breed, Yakut breed, Yaroslavl breed, Simmental dairy and meat breeds, Holstein breed, cattle hybrids with wild bison. This list of species was adopted as a result of the initial task, implying the definition of variable positions in the nucleotide sequences of genes common to the species. DNA was extracted from sperm and tissue using digestion with proteinase K. In the experiment we obtained amplicons, which almost completely cover the regions TLR genes of cattle, which are involved in the immune response. PCR pools (up to 20 reactions) were collected using a primer that is specific to regions of cattle genes of antibacterial stability TLR 1, 2, 4, 5, 6 and 10. The joint sample was joined and isolated and purified using a special column as recommended by the manufacturer, the quality of the amplification was verified by electrophoresis, and twice, after two clearing steps, using a fragment analysis at the Agilent chip. The sequencing of amplicons was carried out on Pacific Bioscience HSII platform. This approach allowed to reveal the total variability of genes for subsequent refinement using a SNaPshot Multiplex Kit (Applied Biosystems). The sequencing of several populations of 275 animals provides coverage to 76

readings for each specific amplicon. The primary processing of sequence data was performed using the software package ugene (ugene.net, Okonechnikov K., *et al*, 2012) with a further quality assessment with FastQS. The reading of appropriate quality has been produced during the experiment were filtered on a reference genome Bostau6 (UMD 3.1, NCBI) (<https://genome.ucsc.edu/>) through BWA-MEM module (Li H. and Durbin R., 2009). Later, PCR duplicates were removed by the Cigar MDWMC script (Picard software package, <https://broadinstitute.github.io/picard/>). The combined reading has been correlated to the reference genome. Estimation of SNPs was performed on variable positions, excluding the area of cross-linking by algorithms FreeBayes (<https://github.com/ekg/freebayes>) and SAMTOOLS ([www.htslib.org/](http://www.htslib.org/)). Therefore the variation has been identified matched the occurrence in a population of certain species of cattle in general. Information about the polymorphism in populations was used for the design of commercial panel for individual genotyping using the primer extension method SNaPshot (Thermo Fisher Scientific) with a high level of multiplexing. It was made for the rationalization of the cost of the analysis. SNaPshot Genotyping will allow to define genotypes of individuals. Annotation and functional interpretation of the variant alleles was performed using VeIP ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org)). The evaluation of the genetic changes algorithm can quickly and efficiently obtain information about the total variability in the TLR gene group. There are at least twenty polymorphic sites in genes TLR (TLR1-10) identified as a result of screening, which was determined within samples of animals in studying populations. It is expected that after the registration the data will be used in the database dbSNP data for further breeding of cattle in Russia, which will increase its resistance to economically important diseases.

The work is supported by a program of the Ministry "Program for the research institution development" of the Ministry of Agriculture of the Czech no MZERO0714.

### **Зона «естественной гибридизации» или «инициального» генома лесообразующих пород?**

Овчинникова Н.Ф.

*Институт леса им. В.Н.Сукачева СО РАН; ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия*

В книге коллектива академика Ю.П. Алтухова «Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях» (2004) подчеркнута негативное влияние человека на древесные растения, важность изучения и поддержания популяционно-генетической структуры лесообразующих видов. Так же указан ряд факторов, объясняющих игнорирование популяционной генетики на практике (с.301). На наш взгляд, успехи генетических исследований были бы весомее, если бы при выборе объектов исследований и изложении результатов учитывалось, что, по мнению специалистов-дендрологов, в том числе академика И.Ю. Коропачинского, имеющиеся на сегодняшний день сведения о некоторых таксонах не дают полной уверенности в признании их на основании существующих описаний в качестве отдельных видов (Коропачинский, Встовская, 2012). Наличие изначально/исторически выделенных по морфологическим признакам «чистых» видов также вызывает сомнение у лесообразующих долгоживущих голосеменных. Мы придерживаемся мнения, что виды необходимо рассматривать как систему, объединяющую варианты строения индивидов и типов их поведения, в отличие от морфологических и эколого-физиологических описаний, рассматривающих вид как нечто однородное, а организмы, его представляющие, как случайные реализации единого общевидового типа. Необходимо дифференцировать варианты (как обратимые, так и необратимые) морфологической изменчивости (полиморфизм) и изменчивости поведения (полиреактивность) особей одного вида (Овчинникова, 2012, 2014, 2016; Романовский, Щекалев, 2014).

На основании опубликованных работ, в том числе сотрудников Ю.П.Алтухова, а также оригинальных данных, полученных методом периодических сплошных учетов закартированной древесной растительности на постоянных пробных площадях до 1 га и

более, в 60-х годах XX в. заложенных в разных условиях произрастания для длительного мониторинга лесных экосистем (Овчинникова, 1990-2016 и др.), можно предположить, что видообразование идет на основании генетически обусловленной изменчивости организмов в окружающей среде, через способы/механизмы распространения и закрепления в подходящих для жизни условиях. Затем, путем морфогенетических изменений произрастающих в контрастных условиях групп особей/ценопопуляций. Условия произрастания вызывают отбор организмов по степени адаптации к лимитирующему фактору. Из этого следует, что со временем и с существенным для жизни изменением параметров среды изоляция возникает не столько территориальная, сколько пространственная, по экологическим нишам, и фенологическая, а потом и генетическая. Последнее может объясняться наличием определенных закономерных ограничений по пластичности/объему определенных структур – носителей информации.

Хвойные лесообразующие виды бореальной зоны – горные. Выделяемые «зоны естественной гибридизации» (Коропачинский, Милютин, 2006) древесных растений необходимо рассматривать не только с исторической точки зрения, но и с экологической. Мозаичность условий произрастания позволяет существовать в «зонах» растениям с разной морфологией и фенологией, вызванной адаптационной пластичностью и генетическим разнообразием. Такие «зоны» можно рассматривать и изучать как территории «инициального» генома и места происхождения/расхождения современных видов. Ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.) и сибирская (*P. obovata* Ledeb.) могут являться модельными видами (Овчинникова, 2012, 2014). Использование новых молекулярно-генетических методов в комплексных популяционных исследованиях стационарных объектов должны дать возможность, если не ответить, то показать пути решения проблем в генетике, систематике долгоживущих древесных растений, эволюции лесного покрова и не только.

### **Forest-forming species: “natural hybridization” zone or “initial” genome?**

Ovchinnikova N.F.

*Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia;*

*Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center SB RAS», Krasnoyarsk, Russia*

Negative anthropogenic pressure on woody plants and importance of researches and support of gene pool structure of forest forming species is underlined in “Dynamics of Population Gene Pools under Anthropogenic Pressures” edited by Yu.P. Altukhov (2004). Also shown are some factors that give an insider into ignoring of population genetics in practice (p.301). We think that genetic research results could be better if during research object choosing and results presentation were considered that according to dendrology scientists’ opinion, including I.Yu. Koropachinsky, present data on some taxa do not give confidence that on current description basis they can be considered as species (Koropachinsky, Vstovskaya, 2012). Presence of initially or historically chosen according their morphology “pure” species is also doubted for long-living forest forming gymnosperm species. We hold to the idea that species must be considered as system, combining individual composition features and their behavior patterns, in contrast to morphology and ecologic-physiology descriptions, considering species as something homogeneous with its individuals as occasional realizations of the unified species type. It is necessary to differentiate variations (both reversible and not reversible) of morphologic variability (polymorphism) and behavior variability (polyreactivity) for one species individuals (Ovchinnikova, 2012, 2014, 2016; Romanovsky, Schekalev, 2014).

Based on published researches, including ones of Yu. P. Altukhov assistants, and original data, obtained from continuous forest inventories of mapped wooden species on permanent sample plots in one hectare and more, founded in different growth conditions for long-term forest ecosystems monitoring in 60-th years of XX century (Ovchinnikova, 1990-2016 et. al.), we can

assume that forming of the species goes on genetically defined variability of trees in the environment due to dispersal and establishing in appropriate vital conditions. Later by means of morphogenetic variations growing in contrast conditions groups of individuals. Growing conditions trigger individual selection according to their adaptation to the limiting factor. It follows that with the course of time and essential for life environment alterations the arising isolation is not only territorial but spatial according to ecology niches, both phonologic and later genetic. The last-mentioned can be explained by presence of the appropriate limitations for structures flexibility of data carriers.

Coniferous forest-forming species of the boreal zone are mountain ones. Separated “natural hybridization zones” (Koropachinsky, Milutin, 2006) of woody plants need to be considered not only from historical but also from ecological point of view. Spotted growth conditions allow “zonal” existence to plants with various morphological and phrenological features caused by adaptive flexibility and gene variability. Such “zones” can be considered and studied as territories of “initial” gene and origin and divergence area for modern species. Spruce (*Picea abies* (L.) Karst. and *P. obovata* Ledeb.) can be model species (Ovchinnikova, 2012, 2014). Application of new molecular-genetics methods in complex population researches in stationary sites can give possibility, if not answer, to demonstrate ways to genetics problems solution, long-living woody species systematization, forest canopy evolution and more.

### **Генетическая идентификация и филогенетические отношения двух эндемичных гольцов рода *Salvelinus***

Олейник А.Г.<sup>1</sup>, Скурихина Л.А.<sup>1</sup>, Кухлевский А.Д.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского, Владивосток, Россия

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, кафедра клеточной биологии и генетики, Владивосток, Россия

Дивергенция фенотипически разных и часто географически изолированных форм представляет существенную проблему для таксономии и филогении гольцов рода *Salvelinus*. Отдельной темой для обсуждения являются изолированные озерные популяции гольцов, известные во многих водоемах Северо-Восточной Азии. Происхождение, родственные отношения и таксономический статус озерных гольцов, многие из которых описаны как отдельные виды, активно дискутируются (Berg 1948; Глубоковский и др., 1993; Черешнев и др., 2002). На основе анализа нуклеотидных последовательностей контролирующего региона (*CR*), генов цитохрома *b* (*Cyt b*) и цитохромоксидазы-1 (*CoI*) митохондриальной ДНК были оценены родственные связи эндемичных гольцов *Salvelinus andriashevi* Berg, 1948 и *S. krogiusae* Glubokovsky, Frolov, Efremov, Rybnikova et Katugin, 1993, представленных уникальными озерными популяциями. Тестировались гипотезы о принадлежности озерных гольцов к: (1) арктической филогенетической группе гольца Таранца; (2) берингийской филогенетической группе северной мальмы; (3) евразийской филогенетической группе арктического гольца.

Филогенетический анализ гольцов рода *Salvelinus* свидетельствует, что *S. andriashevi* (оз. Эстихед), *S. krogiusae* (оз. Дальнее), *Salvelinus* sp. 4 (оз. Начикинское), *S. boganidae* и *S. elgyticus* (оз. Эльгыгытгын), и *S. a. erythrinus* с арктического побережья Канады (NWT) относятся к арктической группе гольца Таранца. Результаты генеалогического анализа гаплотипов мтДНК подтверждают филогенетическую близость *S. andriashevi* и *S. taranetzi*. На основе проведенных исследований мтДНК можно сделать вывод, что эндемичные гольцы в изолированных озерных экосистемах возникли от общего с *S. taranetzi* предка, что соответствует взглядам М.К. Глубоковского (1995), или от проходного *S. taranetzi*, согласно К.А. Савваитовой (1989). Наименее дивергировавшим в этой группе является *S. andriashevi*, который можно рассматривать как изолированную популяцию *S. taranetzi*. Этот вывод,

впервые высказанный С.В. Фроловым (1998), поддержанный анализом кариотипов и аллозимных локусов ядерной ДНК, подтвержден и нашим исследованием.

Мы столкнулись с проблемой несоответствия таксономической дифференциации гольцов рода *Salvelinus* по результатам морфологического и генетического анализов, поскольку И.А. Черешнев с соавторами (2002), настаивая на самостоятельном видовом статусе чукотского гольца подчеркивали, что степень краниологических отличий *S. andriashevi* и гольца Таранца *S. taranetzi* сопоставима с его отличиями от мальмы *S. malma* и арктического гольца *S. alpinus*. Объективная причина несоответствия морфологической и генетической дифференциации, в случае с чукотским гольцом, может быть связана с неравномерностью эволюционной динамики качественно разных признаков на фоне исключительной экологической пластичности гольцов. Наше исследование также указывает на необходимость более тщательного анализа морфологического и генетического разнообразия гольцов из этого региона. В связи с этим, изолированные популяции, несмотря на небольшой уровень генетической дивергенции от *S. taranetzi*, представляют особый интерес для изучения проблем эволюции и видообразования в группе гольцов рода *Salvelinus*, а также для рационального природопользования и биологического мониторинга арктических экосистем.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (проект №15-04-01000).

### Genetic identification and relationships of two endemic charrs of the genus *Salvelinus*

Oleinik A.G.<sup>1</sup>, Skurikhina L.A.<sup>1</sup>, Kukhlevsky A.D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology,*

*National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok, Russia*

<sup>2</sup>*Department of Genetics, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

Divergence of phenotypically different and often geographically isolated forms is a substantial problem for the taxonomy and phylogeny of charr of the genus *Salvelinus*. Isolated lacustrine charr populations known in many water bodies of Northeast Asia represent a separate interest. The origin, phylogenetic relationships and taxonomic status of different lacustrine charrs, many of them described as separate species (Berg 1948; Glubokovsky et al. 1993; Chereshev et al. 2002), are debatable. Based on the analysis of variability of three mitochondrial fragments (the entire gene sequences of cytochrome *b*, cytochrome *c* oxidase-1, and control region) the phylogenetic relationships of the main representatives of the genus and the endemic narrow-range species *Salvelinus andriashevi* Berg, 1948 and *S. krogiusae* Glubokovsky, Frolov, Efremov, Rybnikova et Katugin, 1993 were revealed. We tested the hypothesis of belonging of the resident lacustrine charrs to: (1) the Arctic phylogenetic group of the *S. taranetzi*; (2) the Bering phylogenetic group of the northern Dolly Varden *S. malma malma*; (3) the Eurasian phylogenetic group of the Arctic charr *S. alpinus*.

Phylogenetic analysis of charr of the genus *Salvelinus* shows that *S. andriashevi* (Lake Istihed), *S. krogiusae* (Lake Dal'nee), *Salvelinus* sp. 4 from Lake Nachikinskoe, *S. boganidae* and *S. elgyticus* (Lake Elgygytgyn), *S. a. erythrinus* from the Northwest Territories of North America (NWT) belong to the Arctic group of Taranetz charr according to Oleinik et al. (2015). Our study confirms a postglacial secondary contact of the representatives of Arctic and Bering phylogenetic groups in the area from Chukotka to Kamchatka. Genealogy of mtDNA haplotypes supports the phylogenetic closeness of *S. andriashevi* with *S. taranetzi*. Thus, it can be concluded that endemic charrs in lacustrine ecosystems (Istihed, Dal'nee, Nachikinskoe, and Elgygytgyn lakes) arose from the common ancestor shared with *S. taranetzi*, which is consistent with the views of M.K. Glubokovsky (1995), or from anadromous *S. taranetzi*, according to K.A. Savvaitova (1989). *S. andriashevi* is the least diverged in this group and can be regarded as an isolated population of



*S. taranetzi*. This conclusion was first drawn by Frolov and Frolova (1998) and confirmed also by our study that included the sequencing of several regions of the mitochondrial genome.

We encountered the problem of correspondence of taxonomic differentiation of charrs based on the morphological and genetic analyses. Chereshev et al. (2002), who argued for the independent status of the Chukchi charr, emphasized that the degree of craniological differences between *S. andriashevi* and *S. taranetzi* is comparable to the differences from Dolly Varden *S. malma* and Arctic charr *S. alpinus*. The objective reason for the observed non-correspondence of morphological and genetic differentiation is likely to be due to recent divergence of the populations; and/or uneven evolutionary dynamics of qualitatively different characters against the background of exceptional ecological plasticity of charrs. Another reason may be limitations of some adaptive morphological characters (e.g., the numbers of gill rakers and pyloric caeca) as phylogenetic markers. Our study also indicates the need for more thorough analysis of the morphological and genetic diversity of charr from this region.

Despite the low level of genetic divergence from *S. taranetzi*, the isolated charr populations was of particular interest for the study of the problem of evolution and speciation in the *Salvelinus* group, as well as for sustainable use and biological monitoring of Arctic ecosystems.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR; Grant No. 15-04-01000 to Alla G. Oleinik).

### **The genetic monitoring to understand processes in vendace (*Coregonus albula* (L.)) populations in three Latvian lakes**

Oreha J., Škute N.

*Department of Ecology, Institute of Life Sciences and Technology, Daugavpils University, Latvia*

At the beginning of the last century, the vendace (*Coregonus albula* (L.)) was introduced from lakes Ladoga (Russia) and Peipus (Estonia) to more than 30 Latvian lakes. Presently vendace is found in several Latvian lakes and is included in a list of specially protected species with restricted use in Latvia. Therefore, the genetic monitoring of vendace populations is needed to determine processes which affect genetic structure of these populations.

The results of our study offer data about the morphometric properties and molecular genetic structure of the vendace populations in three Latvian lakes. Until recently the studies of the morphometric properties of the vendace populations in Latvian lakes were carried out only in 1950s—1960s, but genetic polymorphisms was not studied at all. Vendace samples were collected from three Latvian lakes, namely Lakes Sventes, Drīdzis, Stirnu in 2007 and 2012. 11 morphometric parameters (nine plastic and three meristic parameters) were analysed. The ratio of the body weight and standard length of the vendace individuals in the studied populations and its power function equations were accessed. For the first time the genetic structure of vendace populations in Latvian lakes has been studied with the help of microsatellite markers. Microsatellite assays were assessed using six microsatellite markers (*BWF1*, *Cisco90*, *Cisco126*, *Cisco157*, *Cisco200*, *Cisco106*). The existence of null alleles, the bottleneck effect, number of alleles, observed and expected heterozygosity, departures from Hardy-Weinberg equilibrium and linkage disequilibrium were determined for each locus and population. Genetic differentiation of the three vendace populations were estimated by the  $F_{ST}$ . Allelic variation was quite high in all investigated vendace populations both in samples of the year 2007, and in those of the year 2012. However, there were detected differences in number of private alleles in Lake Stirnu vendace population. Frequencies of alleles varied slightly in all investigated loci in samples of the years 2007 and 2012. There were detected differences also in allelic variation in *Cisco126*, *Cisco157* loci. There were “null” alleles detected in *Cisco106* locus.

The recent bottleneck was detected in Stirnu population of vendace sampled in 2007; however, this one was not detected in Stirnu population of vendace sampled in 2012. Observed heterozygosity was quite high both in the vendace samples of the year 2007 (0.58-0.73), and in

these one of the year 2012 (0.61-0.75). The observed heterozygosity deviated significantly from expected value only in the samples of the year 2012. There were significant deviations from Hardy–Weinberg equilibrium in *Cisco157* locus in all three populations (heterozygote excess) and in *Cisco90* locus in Lake Drīdzis (homozygote excess) population. Allele frequencies became more uniformly distributed in Lake Stirnu vendace population in the year 2012, compared to the year 2007 (i.e. bottleneck effect was not detected anymore). Although, there were not detected some alleles in Stirnu sample of the year 2012, which were detected in sample of the year 2007. Despite the new detected alleles and some “lost” alleles in samples of the year 2012 the revealed fluctuations of allele frequencies may be the result of gene drift. It was revealed that the vendace population in Lake Stirnu is more variable. The morphological properties of the vendace samples in Latvian lakes do not exceed the limits of the variability of the morphological traits in the species of European vendace (*Coregonus albula* (L.)), but in almost every reservoir, due to their plastic (morphometric) variability, vendace create a local form depending on the certain environmental conditions.

This study has been supported by the international project “The ecological and genetic aspects of protection of salmonid fish sympatric populations in Latvian-Belarusian Lakeland” (Latvian-Belarusian Science Fond) Nr. 11-3/IZM14-14

### **Биогеографическая история представителей семейства *Anoplopomatidae* по результатам анализа митохондриальной ДНК**

Орлова С.Ю.<sup>1</sup>, Щепетов Д.М.<sup>1,2</sup>, Волков А.А.<sup>1</sup>, Тетерина А.А.<sup>3</sup>, Смирнова М.А.<sup>1</sup>,  
Байталюк А.А.<sup>4</sup>, Орлов А.М.<sup>1,3,5,6</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт экологии и эволюции РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, Владивосток, Россия

<sup>5</sup>Дагестанский государственный университет, Махачкала, Россия

<sup>6</sup>Томский государственный университет, Томск, Россия

Семейство аноплопомовых рыб *Anoplopomatidae*, согласно современным представлениям, представлено двумя видами, эндемичными для северной части Тихого океана – угольной рыбой *Anoplopoma fimbria* (Pallas, 1814) и морским монахом *Erilepis zonifer* (Lockington, 1880), которые имеют частично перекрывающиеся ареалы. Между тем, оба вида имеют ряд схожих экологических черт, таких как обитание ранней молоди в верхних слоях океана, опускание в придонные горизонты по мере роста и созревания, высокие темпы роста и большая продолжительность жизни до 80-114 лет. Очень слабо исследована популяционная структура угольной рыбы и совершенно не изучена у морского монаха.

Целью работы является определение времени дивергенции угольной рыбы и морского монаха с учетом калибровки по палеонтологическим находкам и палеогеологическим событиям на основании анализа последовательностей двух участков митохондриальной ДНК. Ткани от взрослых особей угольной рыбы собраны в 2009-2013 годах в восьми различных регионах и исследовались по двум участкам митохондриальной ДНК - контрольный регион (n=74), первая субъединица гена цитохром оксидазы (n=24), включая воды Охотского моря, восточного побережья Камчатки, банок Командорско-Алеутского района, Берингова моря, Британской Колумбии и Калифорнии. Ткани от взрослых особей морского монаха собраны в 2013-2014 годах, от побережья Японии до берегов Северной Америки - воды провинции Канагава (о. Хонсю, Япония), подводные горы Императорского Хребта (Джингу, Оджин, Нинтоку, Т365+5 (Ли́ра)), прибрежные воды Алеутских островов

(США), залив Аляска (США), которые исследовались по двум участкам митохондриальной ДНК - контрольный регион (n=50), первая субъединица гена цитохром оксидазы (n=45).

Предложены два калибровочных сценария для предварительной оценки времени формирования современных популяций морского монаха и угольной рыбы на основании анализа последовательностей двух участков митохондриальной ДНК (COI и D-loop) и разных способов датировки. Первый сценарий сконструирован на основании данных о палеонтологической находке близкого родственника рассматриваемых видов, второй - на основе сведений о двух крупных палеогеологических событиях, произошедших примерно 3.5 млн л.н. (закрытие Панамского пролива и открытие Берингова пролива). Рассчитанные скорости эволюции двух участков мтДНК показали снижение скорости накопления мутаций в гене COI у морского монаха по сравнению с контрольным регионом, что, возможно, обусловлено более сильным отбором по гену COI, чем у угольной рыбы. Сильно обеднённое генетическое разнообразие у морского монаха может свидетельствовать о прохождении им «бутылочного горлышка» в одном рефугиуме, предположительно у берегов Японии. При этом у угольной рыбы, вероятнее всего, было два рефугиума по обе стороны Тихого океана. Время начала формирования современных гаплотипов рассматриваемых видов могло произойти в плейстоцене во время ледникового периода около 200-140 тыс. л.н.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 16-34-01038).

### **Biogeographic history of fishes of Anoplopomatidae family based on the results of mtDNA analysis**

Orlova S.Yu.<sup>1</sup>, Shcepotov D.M.<sup>1,2</sup>, Volkov A.A.<sup>1</sup>, Teterina A.A.<sup>3</sup>, Smirnova M.A.<sup>1</sup>,  
Baitaliuk A.A.<sup>4</sup>, Orlov A.M.<sup>1,3,5,6</sup>

<sup>1</sup>Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia

<sup>4</sup>Pacific Fisheries Science Center, Vladivostok, Russia

<sup>5</sup>Dagestan State University, Makhachkala, Russia

<sup>6</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia

Family Anoplopomatidae includes two monotypic genera. Sablefish *Anoplopoma fimbria* (Pallas, 1814) and skilfish *Erilepis zonifer* (Lockington, 1880) inhabit waters of the North Pacific and their ranges vastly overlap. Ecological characteristics of both species are mostly similar, with life spans of 80-114 years and juvenile stages inhabiting ocean surface waters and descending deeper along with their fast growth. Data on population structure of sablefish is incomplete and those of skilfish lacks completely.

The present study is focused on the using of mtDNA data to date Anoplopomatidae species divergence and formation of contemporary population with time calibrations based on paleontological data and known paleogeographical events. Adult sablefish tissue samples were collected in years 2009-2013 from eight localities in the Sea of Okhotsk, off the eastern coast of Kamchatka, in waters off the Aleutian and Commander Islands, Bering Sea, British Columbia and California. Tissue samples of adult skilfish were collected in years 2013 and 2014 within entire species' range from Japan to the North America's coast – waters off Honshu Island, Emperor Seamounts (Jingu, Odjin, Nintoku T365+5 (Lira)), the Aleutian Islands and the Gulf of Alaska.

We propose two calibration scenarios of to date contemporary divergence of Anoplopomatidae (skilfish *Erilepis zonifer* and sablefish *Anoplopoma fimbria*) for a dataset of two mtDNA loci (COI and D-loop). The first scenario is based upon a fossil record and second one upon a mayor paleogeologic events 3.5 Mya (closing of the Panama Strait and opening of the Berind Strait). Estimated evolution speeds indicate that COI evolves faster in the skilfish mitochondrial genome. There is also evidence of skilfish going through a bottleneck event limiting its genetic diversity in relatively recent past, presumably in its sole refugium near Japan. Sablefish had two

refugia on both sides of the Pacific Ocean. The contemporary haplotype divergence was formed approximately 200-140 thousands years ago during the glacial age in the Pliocene.

The study was supported by the Russian Fund of Basic Research (grant no. 16-34-01038).

### **Популяционно-генетическая характеристика медоносной пчелы Красноярского края**

Островеерхова Н.В., Кучер А.Н., Конусова О.Л., Гущина Е.С.

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*

Более 230 лет назад подвид медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* (темная лесная или среднерусская пчела) был завезен на территорию Сибири и успешно адаптировался к суровым климатическим условиям и растительным сообществам региона. Однако в последние годы, вследствие активного завоза пчел южного происхождения (карпатская порода, карника и др.), в регионе наблюдается массовая межпородная гибридизация пчел, на пасеках распространяются гибридные семьи, в результате чего происходит потеря уникальных генофондов среднерусской пчелы и аборигенных пчел, адаптированных к местным условиям. В связи с этим актуальным является поиск на территории Сибири популяций среднерусской пчелы, не подвергшейся гибридизации, что и составило цель настоящего исследования.

Обследовано 17 пчелиных семей с трех изолированных пасек Енисейского района Красноярского края. Охарактеризованы: изменчивость трех пороодо-определяющих признаков крыла, а именно дискоидального смещения, кубитального и гантельного индексов (анализировали 30 особей от семьи), вариабельность локуса *COI-COII* мтДНК (по 5 особей от семьи) и 12 микросателлитных локусов – *A008*, *A028*, *A043*, *A088*, *A113*, *Ap049*, *Ap081*, *Ap226*, *Ap249*, *AC117*, *BI183*, *H110* (10–30 особей от семьи, всего – 361 пчела). У всех пчел с пасек Красноярского края по локусу *COI-COII* выявлен только один вариант – RQQ, характерный для среднерусской породы. Среднее значение кубитального индекса для исследованных семей равно 1,45–1,61 усл. ед.; гантельного индекса – 0,795–0,849 усл. ед.; доля особей в семье с отрицательным дискоидальным смещением – 83,3–100%, то есть, среди морфометрических признаков только для кубитального индекса наблюдается снижение нижней границы значения и, соответственно, отклонение средней величины данного показателя от стандартов, принятых в России и Европе для среднерусской (темной лесной) пчелы. Для большинства изученных микросателлитных локусов характерен низкий уровень полиморфизма: по 4 локусам (*A043*, *Ap081*, *A088*, *BI183*) зарегистрирован только один гомозиготный генотип, по 3 локусам – один гомозиготный генотип преобладал. Для остальных локусов (выявлено от 3 до 5 аллелей) характерен относительно невысокий уровень гетерозиготности с некоторым преобладанием либо ожидаемой (*A113*:  $H_O/H_E=0,285/0,327$ ; *Ap049*:  $H_O/H_E=0,377/0,381$ ; *H110*:  $H_O/H_E=0,421/0,574$ ), либо наблюдаемой (*A028*:  $H_O/H_E=0,274/0,258$ ; *AC117*:  $H_O/H_E=0,314/0,288$ ) гетерозиготности. Низкий уровень изменчивости большинства микросателлитных локусов и небольшое число выявленных аллелей могут быть следствием дрейфа генов (обследованные пасеки являются изолированными, специфична биология размножения пчел) и подразделенности (одна из пасек удалена от двух других более чем на 200 км). Нельзя также исключить, что генетические особенности (как и отмеченная выше особенность изменчивости показателя «кубитальный индекс») обследованных пчелиных семей отражают специфичность либо среднерусской породы, либо сибирского экотипа данной породы (результата адаптации к суровой среде обитания). Так, аллель «126» локуса *A043* и аллель «140» локуса *A088*, возможно, представляют собой пороодо-специфичные варианты (в обследованной выборке регистрировались только гомозиготы по данным аллелям, с высокой частотой тот же аллель локуса *A043* встречается и в других популяциях среднерусской породы); аллель «162» локуса *A008* преобладает у *A. m. mellifera* и других регионов Сибири, но не зарегистрирован в популяциях среднерусских пчел на территории Урала и Европы.

Таким образом, на обследованных пасеках Красноярского края обитают пчелы среднерусской породы, которые представляют собой сибирский экотип, адаптированный к суровым условиям Сибири с длительным периодом зимовки (более 6 месяцев); для них характерно снижение генетического разнообразия.

### Genetic characterization of honeybee populations of the Krasnoyarsk Territory

Ostroverkhova N.V., Kucher A.N., Konusova O.L., Gushchina E.S.  
*Tomsk State University, Tomsk, Russia*

In Siberia, a honeybee subspecies *Apis mellifera mellifera* (the dark-colored forest bee or Middle Russian race) was introduced about 230 years ago and is well adapted to the local climate conditions and plant communities of the region. However, in recent years, because of the active importation of bees of southern origin (*A. m. carpatica*, *A. m. carnica*, *A. m. caucasica* and others), a massive interbreeding bee hybridization have been observed in the region, hybrid colonies had become widespread at the apiaries, as a result, there is the loss of unique gene pools of the Middle Russian bees and native bees adapted to local conditions. Therefore, the search of pure-bred populations of the Middle Russian bees in Siberia is an actual task and the purpose of the present study.

A total of 17 bee colonies from three isolated apiaries of the Yenisei district of the Krasnoyarsk Territory were studied. The following indicators have been characterized: the variability of the three parameters of the wing – discoidal shift, cubital and hantel indexes (30 workers from the colonies were analyzed); the variability of the locus *COI-COII* mtDNA (5 workers from the colonies) and 12 microsatellite loci – *A008*, *A028*, *A043*, *A088*, *A113*, *Ap049*, *Ap081*, *Ap226*, *Ap249*, *AC117*, *B1183*, *H110* (10–30 workers from the colonies; in total, 361 bees were studied). In all bees from apiaries localized in the Krasnoyarsk Territory, only one variant of the *COI-COII* mtDNA locus was registered (the variant PQQ specific for the Middle Russian race). For the examined colonies the mean values of the cubital and hantel indexes were 1,45–1,61 standard units and 0,795–0,849 standard units, respectively; the number of individuals in the colony with a negative value of the discoidal shift was 83,3–100%. Among the studied morphometric characters, only for the cubital index the decrease of the lower limit of value is observed, and, therefore, the deviation of mean value of this indicator from the *A. m. mellifera* standards adopted in Russia and Europe have been shown. For the majority of the studied microsatellite loci a low level of polymorphism was registered: for 4 loci (*A043*, *Ap081*, *A088*, *B1183*) only one homozygous genotype was found; for 3 loci one predominant homozygous genotype was detected (the frequencies of registration of genotypes and alleles, respectively, were the following: for the locus *A008* –  $P_{162-162}=0,896$  and  $P_{162}=0,948$ ; for the locus *Ap226* –  $P_{233-233}=0,974$  and  $P_{233}=0,985$ ; for the locus *Ap249* –  $P_{220-220}=0,959$  and  $P_{220}=0,980$ ). For other loci, the number of alleles from 3 to 5 was detected, and the relatively low level of heterozygosity with some predominance of expected heterozygosity (*A113*:  $H_O/H_E=0,285/0,327$ ; *Ap049*:  $H_O/H_E=0,377/0,381$ ; *H110*:  $H_O/H_E=0,421/0,574$ ) or observed heterozygosity (*A028*:  $H_O/H_E=0,274/0,258$ ; *AC117*:  $H_O/H_E=0,314/0,288$ ) was shown. The low level of variability of most microsatellite loci and a relatively small number of registered alleles may be due to genetic drift (examined apiaries are isolated, reproductive biology of bees is specific) and the subdivision (one apiary is located separately from two others, the distance between apiaries over 200 km). It is possible that the genetic features (as well as the above-noted feature of the variability of the cubital index) of examined bee colonies reflect the specificity of a Middle Russian race, or the Siberian ecotype of this breed (the result of adaptation to the harsh environment). For example, allele "126" of the locus *A043* and allele "140" of the locus *A088* may represent the breed-specific variants of the Middle Russian bees (all studied bees were homozygous on these alleles; the allele of the locus *A043* is predominant in other *A. m. mellifera* population too); allele "162" of the locus *A008* is predominant

in the Middle Russian bees from Siberian region, but is not registered in *A. m. mellifera* populations on the territory of the Urals and Europe.

Thus, we can conclude that the studied honeybees inhabiting the apiaries of the Krasnoyarsk Territory and belonging to the Middle Russian breed are the Siberian ecotype, which is well adapted to the harsh conditions of Siberia with a long period of wintering (more than 6 months), but at the same time, bees are characterized by a decrease of the genetic diversity.

### **Популяционный анализ изменчивости паттерна 5'-укороченных копий R2 ретротранспозона рыжего таракана *Blattella germanica***

Оюн Н.Ю.<sup>1,2</sup>, Загоскина А.С.<sup>1</sup>, Лазебная И.В.<sup>1</sup>, Муха Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

Non-LTR ретротранспозоны обнаружены практически у всех известных видов организмов и могут составлять значительную часть генома. Одной из особенностей non-LTR ретротранспозонов, отличающей их от других типов мобильных элементов (МЭ), является высокая частота интеграции в геном не только полноразмерных (нативных) копий, но и 5'-укороченных копий. Образование 5'-укороченных копий non-LTR ретротранспозонов обусловлено случайным прерыванием обратной транскрипции, что приводит к интеграции в геном «недотранскрипта» соответствующего МЭ.

Non-LTR ретротранспозоны можно условно разделить на два типа – одни из них имеют случайное распределение в геноме, интеграция других происходит в определенные сайты геномной ДНК. Одним из представителей сайт-специфичных non-LTR ретротранспозонов являются R2 ретротранспозоны, интеграция которых происходит в определенный сайт гена 28S рибосомной РНК. Сайт-специфичные R2 ретротранспозоны выявлены у многих эукариотических организмов, в частности, у всех описанных к настоящему времени насекомых.

Результатом амплификации геномной ДНК насекомых методом ПЦР с использованием пары праймеров, один из которых локализуется в теле R2 ретротранспозона, а второй фланкирует 5'-сторону сайта интеграции МЭ, является паттерн амплифицированных фрагментов, отражающий транспозиционные события этого типа МЭ. Поскольку прерывание обратной транскрипции МЭ происходит случайным образом, то выявляемый методом ПЦР паттерн 5'-укороченных копий R2 ретротранспозонов может быть использован в качестве уникального молекулярно-генетического маркера, позволяющего изучать генетическую структуру популяций насекомых.

В рамках данного исследования, с использованием вышеописанного молекулярно-генетического маркера, изучена генетическая структура девяти популяций рыжего таракана. Каждая популяция представляла собой сообщество насекомых, обитающих в географически удаленных друг от друга свинарниках, локализованных на территории США. Методом ПЦР у 275 исследованных особей было выявлено 11 уникальных вариантов 5'-укороченных копий R2 ретротранспозона. Статистический анализ, основанный на различиях частот встречаемости выявленных вариантов 5'-укороченных копий R2 ретротранспозона, позволил определить генетические дистанции между изученными популяциями рыжего таракана. Показано, что семь из девяти исследованных популяций являются близкородственными. По-видимому, эти семь популяций имеют общее происхождение, и в результате хозяйственной деятельности человека (общий менеджмент) между этими популяциями происходит обмен насекомыми. Одна из исследованных популяций генетически максимально удалена от других исследованных популяций, и характеризуется высокой частотой встречаемости уникальных вариантов 5'-укороченных копий. По-видимому, эта популяция имеет независимое происхождение и генетически изолирована от других популяций. Еще одна из исследованных популяций характеризуется высокой частотой встречаемости вариантов 5'-

укороченных копий R2 ретротранспозона, характерных для семи описанных выше близкородственных популяций. В тоже время, для этой популяции характерна высокая частота встречаемости уникальных вариантов амплифицированных фрагментов, что указывает на ее недавнюю генетическую изолированность и возможный генетический обмен с популяцией, не описанной в рамках данного исследования.

### **Population analysis of variability of the patterns of the R2 retrotransposon 5'-truncated copies in the German cockroach *Blattella germanica***

Oyun N.Yu.<sup>1,2</sup>, Zagoskina A.S.<sup>1</sup>, Lazebnaya I.V.<sup>1</sup>, Mukha D.V.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*  
<sup>2</sup>*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Non-LTR retrotransposons are found in almost all known living organisms and may constitute a substantial portion of the genome. One of the specific features of non-LTR retrotransposons, which distinguishes them from other types of transposable elements (TE), is that not only full-size (native) copies of the transposon, but also its 5'-truncated copies integrated with high frequency into the genome. 5'-truncated copies of non-LTR retrotransposons appear due to accidental interruption of reverse transcription, which results in the integration of "under-transcripts" of the corresponding transposable element into the genome.

Non-LTR retrotransposons can be subdivided into two types: some of them show random distribution in the genome, while integration of the others occurs into certain genomic DNA sites. One of the representatives of site-specific non-LTR retrotransposons is R2 retrotransposons, which integrate into a specific site of the ribosomal 28S RNA gene. Site-specific R2 retrotransposons are found in many eukaryotic organisms, in particular, in all insects described so far. The product of PCR amplification of insect genomic DNA using a pair of primers, one of which is localized in the body of the R2 retrotransposon, while the other flanks the 5'-end of the TE integration site, is a pattern of amplified fragments representing the transposition events of this TE type. Since reverse transcription terminates at a random basis, then the pattern of R2 retrotransposon 5'-truncated copies detected by PCR may be used as a unique molecular genetic marker to study the genetic structure of insect populations.

In the current research work, we exploited the above-mentioned molecular genetic markers to study the genetic structure of nine populations of German cockroach *B. germanica*. The populations represent communities of insects living in geographically separated pig farms, localized in the United States. Using the PCR technique, 11 unique variants of R2 retrotransposon 5'-truncated copies were revealed in 275 examined cockroach individuals. Statistical analysis of the differences in the frequency of the identified R2 retrotransposon 5'-truncated copy variants made it possible to determine the genetic distances between the German cockroach populations under study. It has been shown that seven of the nine populations studied are closely related. Apparently, these seven populations have a common origin, and there is an exchange of insects between these populations resulting from human economic activity (general management). One of the populations under study appears to be genetically remote from all other populations and is characterized by high frequency of unique 5'-truncated copy variants. Apparently, this population has an independent origin and is genetically isolated from other populations. Another population under study shows high frequency of occurrence of the R2 retrotransposon 5'-truncated copy variants typical of the seven closely related populations described above. At the same time, this population is characterized by a relatively high frequency of the unique amplified fragment variants, which together indicates its recent genetic isolation and possible genetic exchange with a population not described in this work.

## Генетические процессы в хромосомных гибридных зонах (на примере обыкновенной бурозубки *Sorex araneus*, *Lypotyphla*, *Mammalia*)

Павлова С.В., Щипанов Н.А.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Рассматривая гибридные зоны как естественные лаборатории для изучения процессов дивергенции и видообразования, Hewitt (1988) обращал внимание на то, что в них могут возникать новые генетические варианты. Хромосомные гибридные зоны между кариотипически различными внутривидовыми формами или расами известны у ряда млекопитающих, в том числе и у обыкновенной бурозубки *S. araneus*. Кариотипическое разнообразие у этого вида обусловлено Rb-транслокациями и в настоящее время известно более трех десятков гибридных зон между парапатричными расами (на данный момент описано 74 расы).

При детальном цитогенетическом исследовании в гибридных зонах у *S. araneus* было обнаружено увеличение количества и разнообразия кариотипических вариантов (гетерозигот) за счет наличия структурных перестроек - центрических слияний акроцентриков, разделений метацентриков, а также полноплечевых реципрокных транслокаций (WART). До недавнего времени сведения о наличии WART были единичны, однако наши исследования позволили выявить межрасовых гибридов, несущих подобную перестройку в кариотипе, в нескольких гибридных зонах на территории Европейской России (Москва-Селигер, Кириллов-Печора и Сок-Печора). Можно предполагать, что в гибридных зонах происходит некоторая разбалансировка кариотипа, что проявляется в увеличении числа центрических разделений метацентриков и создает предпосылки для последующей транслокации по типу WART. Отметим, что внутри ареалов хромосомных рас частота гомозиготных кариотипов значительно выше, чем на границах ареалов. Это также позволяет предполагать, что «диссоциированные» хромосомы с большей вероятностью сливаются в новый метацентрик, чем сохраняются в виде акроцентриков.

Согласно результатам нашей работы, практически все расы на территории России могут быть последовательно образованы за счет WART. Мы выделили четыре основные «цепочки» рас, три из них распространены на западе («Иломанси», «Москва-Кириллов» и «Сок») и одна («Байкал») на востоке России. Расы из байкальской «цепочки» встречаются с расой Новосибирск (конечной в «цепочке» Сок) в районе реки Обь. Образование новых рас за счет WART предполагалось неоднократно, однако до недавнего времени не было достаточных данных для обоснования этой гипотезы. Новый кариотип, обнаруженный нами на не исследованной ранее территории в Республике Коми (р. Уса), можно интерпретировать как промежуточный вариант, образованный за счет WART и связывающий кариотипы рас Печора и Сок.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (15-04-04759).

## Genetic processes in chromosomal hybrid zones: a case of the common shrew *Sorex araneus*, *Lypotyphla*, *Mammalia*

Pavlova S.V., Shchipanov N.A.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

Considering hybrid zones as a natural laboratory for studying the processes of divergence and speciation, Hewitt (1988) drew attention to the fact that new genetic variants may occur in such zones. In a number of mammalian species, chromosomal hybrid zones between karyotypically different forms or races within a species are known, as well as in the common shrew *Sorex araneus*. The species demonstrates high level of karyotypic diversity due to Rb-translocations, and currently



there are more than three dozen known hybrid zones between parapatric races (74 races are known currently). Detailed cytogenetic studies revealed the increase of number and diversity of karyotypic variants (heterozygotes) in hybrid zones due to centric fusions/fissions and whole-arm reciprocal translocations (WART). Until recently, information about WARTs was rare; however, we found interracial hybrids carrying such translocation in several hybrid zones located in European Russia (Moscow-Seliger, Kirillov-Petchora and Sok-Petchora).

It can be suggested that some misbalance of karyotype may occur in hybrid zones; it may lead to increase of a number of centric fissions of metacentrics followed by translocations of WART type. The frequency of homozygous karyotypes is greater in central part of race area than near its periphery. This fact also suggests that "dissociated" chromosomes, i.e. acrocentrics, tend more likely to fuse and form new metacentrics than exist as acrocentrics.

According to our results, almost all the races in Russia can be successively formed each from another by WARTs. We have determined four main "chains" of races, three of which are distributed in the west ("Ilomantsi", "Moscow-Kirillov" and "Sok") and one ("Baikal") in the east of Russia. Races of Baikal "chain" meet the Novosibirsk race (the ultimate race in Sok "chain") in the area near the Ob River. The formation of new races by WART has been supposed repeatedly, but until recently there was not enough data to substantiate this hypothesis. New karyotype, we found in the unexplored territory of the Komi Republic (Usa River), can be interpreted as an intermediate variant between Petchora and Sok races formed by WART.

This study was supported by RFBR (15-04-04759).

### **Новые данные о распространении криптических видов *Lasiopodomys gregalis* и *L. raddei* в Забайкалье**

Петрова Т.В.<sup>1</sup>, Тесаков А.С.<sup>2</sup>, Баженов Ю.А.<sup>3,4</sup>, Абрамсон Н.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Геологический институт РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Даурский Государственный природный биосферный заповедник, Нижний Цасучей, Россия

<sup>4</sup>Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН, Чита, Россия

Проведенный ранее мультилокусный анализ анализ жевательной структуры коренных зубов m1 и M3 и экспериментальная гибридизация показали, что узкочерепная полевка представлена, как минимум, двумя криптическими видами – широко распространенным *L. gregalis* (Pallas, 1779) и *L. raddei* (Poljakov, 1881) с узким ареалом в Юго-Восточном Забайкалье и Северо-Восточной Монголии. Настоящая работа посвящена уточнению географической границы между этими видами.

Были проведены сборы узкочерепных полевок в Восточной Монголии и в приграничных районах Забайкальского края. Животные были генотипированы по митохондриальному цитохрому *b* (мт *cytb*) и ядерному гену BRCA1 для исключения интрогрессии мтДНК в изучаемых популяциях. Также был проведен анализ рисунка жевательной поверхности коренных зубов. Результаты молекулярного и морфологического анализов показали, что изученная территория Восточной Монголии населена собственно узкочерепными полемками *L. gregalis*. Южная граница ареала *L. raddei* проходит вдоль реки Ульдза, которая сама по себе не является барьером, так как на ее правом (южном) берегу был обнаружен локалитет с *L. raddei*. Восточная граница *L. raddei*, вероятно, проходит по реке Аргунь севернее оз. Далайнор. Нет видимых барьеров между ареалами видов на территории от озера Зун-Торей до р. Аргунь.

Интересно, что с территории Северо-Восточного Китая был описан *Stenocranius angustus* (Thomas, 1908), позже сведенный в синоним подвида узкочерепной полевки *L. g. raddei*. Сейчас видовой статус полевки Радде восстановлен, из ареала вида исключена территория Северной Монголии. Животные с территории обитания *S. angustus* не анализировались из-за отсутствия свежего материала, однако морфологические

характеристики типового экземпляра *S. angustus* (упрощенный верхний МЗ и светлая окраска меха) четко соответствуют диагностическим признакам *L. raddei*. К тому же, морфологический анализ выборки с Юго-Востока Монголии показал, что для тех популяций характерен упрощенный МЗ. Таким образом, можно предполагать, что некогда сплошной ареал *L. raddei* в настоящее время представлен двумя изолятами (Юго-Восточное Забайкалье и Северо-Восточный Китай), разделенными популяциями *L. gregalis*. Стоит отметить, что не найдено ни одного случая симпатрии двух видов. По результатам успешной экспериментальной гибридизации этих форм и ввиду отсутствия на большей части границы между видами видимых географических барьеров, можно предположить, что симпатрическому обитанию видов мешают конкурентные взаимодействия. Скорее всего, в этом взаимодействии выигрывают представители *L. gregalis*, и сокращение ареала *L. raddei* – лишь дело времени.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-34-00040).

### **New data on the distribution of cryptic species *Lasiopodomys gregalis* and *L. raddei* in Transbaikalia**

Petrova T.V.<sup>1</sup>, Tesakov A.S.<sup>2</sup>, Bazhenov Yu.A.<sup>3,4</sup>, Abramson N.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Geological Institute RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Daursky State Nature Biosphere Reserve, Nizhny Tsasuchey, Russia

<sup>4</sup>Institute of Natural Resources, Ecology and Cryology SB RAS, Chita, Russia

Multilocus analysis, analysis of m1 and M3 tooth structure and breeding experiments carried out earlier, showed that narrow-headed vole is represented at least by two cryptic species – widespread *L. gregalis* (Pallas, 1779) and *L. raddei* (Poljakov, 1881) with distribution range restricted to the South-Eastern Transbaikalia and North-Eastern Mongolia. Current study focuses on the specification of the geographic border between these species.

Material was collected from the Eastern Mongolia and bordering regions of the Zabaikalsky kray. Animals were genotyped using mitochondrial cytochrome *b* (mt *cytb*) and nuclear gene BRCA1 to exclude introgression of mtDNA in populations under study. The analysis of m1 and M3 tooth structure was also conducted. Results of both molecular and morphological analyses showed that the territory under study is inhabited with narrow-headed voles *L. gregalis*. Southern border of *L. raddei* range passes along the Uldza River, which is not a barrier itself, because the locality with *L. raddei* was found on its right (southern) bank. The eastern border of *L. raddei* probably passes along the Argun' River to the North of the Dalainor Lake. There are no visible geographic barriers between species ranges on the territory from the Zun-Torey Lake to the Argun River.

It is noteworthy that *Stenocranius angustus* (Thomas, 1908) was described from North-Eastern China and later it was fallen into synonymy with subspecies of the narrow-headed vole *L. g. raddei*. Now species status of Raddei's vole was proved and the territory of Northern Mongolia was excluded from its range. Animals from the distribution range of *S. angustus* were not analysed because of absence of new material, however, morphological features of the type specimen of *S. angustus* (simple upper M3 and the light-coloured pelage) accurately correspond to diagnostic features of *L. raddei*. Moreover, morphological analysis of series of specimens from the South-Eastern Mongolia showed that simple M3 is typical for those populations. Thus it is assumed that previously continuous range of *L. raddei* is nowadays represented with two isolated regions (South-Eastern Transbaikalia and North-Eastern China) surrounded with populations of *L. gregalis*. It should be noted that no case of sympatry of these species was found. By results of successful breeding experiments of these forms and taking in consideration the absence of any visible geographic barriers on the larger part of the border between species, we suggest that the sympatric distribution of these species may be prevented with competitive interactions. Most likely that

representatives of *L. gregalis* win such a competition, and the reduction of *L. raddei* range is only matter of time.

The work was financially supported by the RFBR grant (project No. 16-34-00040).

### Генетическая дифференциация нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) бассейна р. Камчатка

Пильганчук О.А., Шпигальская Н.Ю.

Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Петропавловск-Камчатский, Россия

Нерка – ценный промысловый вид тихоокеанских лососей, характеризующийся сложной популяционно-генетической структурой (Алтухов, 1974, 1983; Алтухов и др., 1997; Коновалов, 1980; Варнавская, 2006). На азиатской части ареала самым большим озерно-речным бассейном, в котором нерестится данный вид, является река Камчатка. Она занимает обширную площадь, охватывающую районы разного геоморфологического и геологического строения, имеет хорошо развитую систему притоков (Васильковский, 1973). Многолетние популяционно-генетические исследования, проводимые в бассейне реки, позволили получить большое количество информации по структуре стада, в частности выделить весеннюю, летнюю расы и охарактеризовать группировки отдельных нерестилищ (Алтухов, 1974; Горшкова, 1978; Коновалов, 1980; Алтухов и др. 1983; Пустовойт, 1993; Глубоковский, 1995; Алтухов, Салменкова, 2002; Брыков и др., 2002; Варнавская, 2006). Тем не менее, ряд вопросов, связанных с дифференциацией структурных компонентов сложной популяционной системы нерки р. Камчатка недостаточно изучен, но представляется весьма актуальным как для рационального использования данного ресурса, так и для расширения популяционно-генетических знаний и сохранения естественного внутривидового биоразнообразия.

В данной работе представлены результаты исследования шестнадцати выборок производителей нерки (752 экз.), отобранных на нерестилищах из различных районов басс. р. Камчатка. Тотальную ДНК выделяли из фиксированных в 96% этаноле плавников или сердечной мышцы стандартным способом (Маниатис и др., 1984). Амплификацию выполняли по ранее описанной схеме (Афанасьев и др., 2006). Анализ проводили по десяти микросателлитным локусам: *Ok1a*, *Ok1b*, *Ok1b* (Smith et al., 1998), *Ots100*, *Ots107* (Nelson, Beacham, 1999), *Ots2* (Banks et al., 1999), *OtsG68* (Williamson et al., 2002), *One104*, *One109* (Olsen et al., 2000), *Omm1037G* (Rexroad et al., 2002). Данные анализировали при помощи программ: GDA (Lewis, Zaykin, 2001), Arlequin2000 (Schneider et al., 2000), *STRUCTURE* 2.3.4. (Pritchard et al., 2000), GenClass2 (Piry et al., 2004).

Суммарно в 16 выборках выявлено 127 аллельных вариантов. Число аллелей отдельных локусов варьировало от 5 (*Ok1a*) до 24 (*One104*). Среднее значение величины межпопуляционной дифференциации ( $\theta_{st}$ ) по всем локусам составило 1,99%, что соответствует статистически значимому уровню. Кластерный анализ, выполненный по частотам десяти микросателлитных локусов, с использованием генетических расстояний Нея (Nei, 1978), позволил выделить три крупные группировки. В первую группу вошли выборки, отобранные в пределах басс. оз. Азабачье, они, в свою очередь, разделились на две ветви второго порядка, образованные весенней и летней (ранней и поздней) формами. Во вторую вошли выборки из верхнего течения реки. Третья группа образована выборками из среднего течения.

Для количественной оценки величины генетических различий между выделенными группами провели иерархический анализ молекулярной вариации (AMOVA). Основная часть молекулярного разнообразия (97,66%) имеет место внутри выборок, на долю межгрупповой компоненты приходится 1,60%, что превосходит дисперсию между выборками внутри групп (0,74%). В результате проведенного исследования генетической дифференциации в программном пакете *STRUCTURE* 2.3.4. показано, что наибольшее значение  $\Delta K$

соответствовало 4-м кластерам (особи из нерестилищ верхнего течения р. Камчатка, среднего течения, ранняя и поздняя формы оз. Азабачье). Оценки вероятности идентификации выделенных популяционных группировок в смешанных скоплениях достаточно высоки и находятся в пределах 69,4–81,1%.

### **Genetic differentiation of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) of the basin of Kamchatka River**

Pilganchuk O.A., Shpigalskaya N.Yu.

*Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBRE «KamchatNIRO»),  
Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia*

Sockeye salmon is a valuable commercial species of Pacific salmon, having a complex genetic population structure (Altukhov, 1974, 1983; Altukhov et al., Konovalov 1997; Konovalov, 1980; Varnavskaya, 2006). The basin of Kamchatka River is the largest lake and river basin within the Asian part of spawning area of the species. The basin spreads on an extensive territory with different geomorphological and geological structural plots and has highly developed tributary system (Vasilkovsky, 1973). Longterm population and genetic researches carried out, brought a lot of information about spring and summer races in structure of the stock and made it possible to differentiate groups of spawning grounds (Altukhov, 1974; Altukhov et al., 1983; Altukhov, Salmenkova, 2002; Gorshkova, 1978; Konovalov, 1980; Pustovoyt, 1993; Glubokovsky, 1995; Brykov et al., 2002; Varnavskaya, 2006). There are some issues, nevertheless, concerning differentiation of poorly examined structural components of the complex sockeye salmon population of the Kamchatka, highly important to clarify as for rational use of the resource, as for better understanding population and genetic grounds to protect natural intraspecific diversity.

In this work we have demonstrated results of examination of 16 sockeye salmon samples (752 individuals) collected on spawning grounds in different parts of the basin of the Kamchatka. The total DNA was obtained by standard method from the heart muscle or fins fixed in 96% ethanol (Maniatis et al., 1984). Amplification was carried out according to scheme described earlier (Afanasyev et al., 2006). The analysis was made on 10 microsatellite loci: *Oki1a*, *Oki1b*, *Oki6* (Smith et al., 1998), *Ots100*, *Ots107* (Nelson, Beacham, 1999), *Ots2* (Banks et al., 1999), *OtsG68* (Williamson et al., 2002), *One104*, *One109* (Olsen et al., 2000), *Omm1037G* (Rexroad et al., 2002). The data were analyzed using the programs GDA (Lewis, Zaykin, 2001), Arlequin2000 (Schneider et al., 2000), STRUCTURE 2.3.4. (Pritchard et al., 2000) and GenClass2 (Piry et al., 2004).

In the total pool of 16 samples examined we had revealed 127 allele variants. The number of alleles of particular loci varied from 5 (*Oki1a*) to 24 (*One104*). The average value for the interpopulation differentiation ( $\theta_{st}$ ) on all loci is 1,99%, what fits to statistically significant level. The cluster analysis, carried on the frequencies of 10 microsatellite loci when using Nei's genetic distances (Nei, 1978) revealed three large groups. The first group represents samples from the Azabachye Lake system and splits into 2 branches: of spring and summer (early and late) morphs. The second group includes samples from the upper part of the Kamchatka, and the third group consists of samples from the middle part of the river.

The quantitative evaluation of the genetic difference between the groups was carried out using the molecular variance analysis (AMOVA). The majority of the molecular diversity (97,66%) occurs inside the samples, and the intergroup contribution is 1,60%, what is higher than the dispersion between the samples in the groups (0,74%). The research of the genetic differentiation in the program STRUCTURE 2.3.4. revealed the maximum value  $\Delta K$  answering to the clusters mentioned (the fish from the spawning grounds in the upper part of the Kamchatka, in the middle part and early and late morphs of Azabachye Lake). The values of the identification likelihood for the population groups revealed in the mixed aggregations are pretty high and vary in the range 69.4–81.1%.

## Адаптивность молекулярной изменчивости и генетическая структура популяций хвойных

Политов Д.В.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Юрий Петрович Алтухов был одним из первых в стране, кто осознал преимущества хвойных растений как объектов популяционной генетики. Помимо важного экологического и социо-экономического значения хвойные обладают уникальной особенностью репродуктивной системы - наличием гаплоидной ткани эндосперма семени, что позволяет изучать сегрегацию на уровне женских гамет и различать материнский и отцовский аллели в генотипах зародышей. В данном обзоре мы освещаем вопросы, которые в той или иной мере сформулировал Ю.П. Алтухов, прогресс и тенденции их развития на современном этапе. Проблема оптимума гетерозиготности была и остаётся одной из ключевых концепций генетики популяций. В 1970-1990-е годы основным методом анализа генетического полиморфизма у хвойных был метод аллозимного анализа как первый метод массового скрининга генетического полиморфизма в природных популяциях. Ассоциации индивидуальной аллозимной гетерозиготности с адаптивными признаками, проблемы сверхдоминирования и гетерозиса были в зоне пристального внимания Ю.П. Алтухова, и к настоящему времени накоплено много примеров, подтверждающих селективность аллозимного полиморфизма. Важным методом оценки адаптивности молекулярной изменчивости является корреляция параметров молекулярной изменчивости с географическими координатами и экологическими параметрами, типами условий местопроизрастания и другими средовыми факторами. Немалую роль в понимании сложных взаимодействий генотипа и среды сыграли анализ неаллельных взаимодействий и неравновесие по сцеплению. Проблему анализа генетической дифференциации Ю.П. Алтухов считал крайне важной, обращая внимание на неоднородность полокусных значений  $F_{ST}$ . Он предложил разделение локусов на селективно нейтральные (со средними значениями  $F_{ST}$ ), находящиеся под действием балансирующего отбора (с низкими значениями  $F_{ST}$ ) и подверженные дизруптивному отбору (с высокими значениями  $F_{ST}$ ). Активно обсуждалась и идея корреляции нарушений сегрегации среди гаплоидных эндоспермов хвойных и популяционных частот соответствующих аллелей. Ещё одной фундаментальной концепцией Ю.П. Алтухова была идея эволюционно сложившегося оптимума генетической подразделённости, согласно которой как высокие, так и низкие значения  $F_{ST}$  вредны для устойчивости популяционной системы. Нативная, сформировавшаяся в ходе исторического развития, популяционная структура должна являться таким же объектом охраны генофондов, как общий популяционный и видовой уровень генетического разнообразия. Сравнительный анализ оценок подразделённости природных популяций по разным классам маркеров рассматривался как метод анализа селективности маркёров, но лишь сейчас с массовым внедрением самых разных классов ДНК-маркеров стало возможным провести соответствующий анализ и обобщения. Концепция о роли генетического полиморфизма и мономорфизма в адаптации популяций и видообразовании проходит сейчас проверку практикой массового геномного скрининга на популяционном уровне, что стало возможным с развитием технологий секвенирования нового поколения. Важным вкладом последних двух десятилетий стало понимание роли гибридизации и межвидового потока генов как факторов не только видообразования, но и адаптации популяций родительских видов. Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ 15-04-07961, а также Программ фундаментальных исследований Президиума РАН “Биоразнообразие природных систем” и “Эволюция органического мира и планетарных процессов”.

## **Adaptive molecular variation and population genetic structure in conifers**

Politov D.V.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Yuri P. Altukhov was one of the first researchers in the country who realized advantages of conifers as subjects of population genetic studies. Beyond the ecological and socio-economic importance of conifers they possess unique peculiarities of reproductive system. The presence of haploid endosperm tissue allows studying segregation ratios without making crossings, and discerning maternal and paternal alleles in embryo genotypes. This review is focused on the questions formulated by Yuri P. Altukhov, the current progress and trends in the corresponding fields of research. The concept of heterozygosity optimum has been one of the key ideas of population genetics. It is based on a compromise between overdominance (heterozygote superiority) and negative effects of top level heterozygosity values due to genetic load of rare deleterious mutations. In 1970-1990s, allozyme analysis was a major method of screening genetic polymorphisms in natural conifers populations. Correlations of individual allozyme heterozygosity with adaptive traits, the problems of heterosis and overdominance were in focus of Yuri P. Altukhov research. Other important approach to evaluation of the adaptive role of molecular variation is associations of genetic diversity values with geographical coordinates, climatic and other ecological parameters, types of growth conditions and other environmental variables. It is noteworthy to emphasize an important role of non-allelic interactions and linkage disequilibrium in understanding complex genotype - environment interactions. Yuri P. Altukhov considered the problem on genetic differentiation to be exclusively significant and paid close attention to heterogeneity of by-locus values of  $F_{ST}$ . This approach was implemented to discriminate loci as selectively neutral (with medium  $F_{ST}$  values), subjected to balancing selection (with low  $F_{ST}$  values) and subjected to disruptive selection (with high  $F_{ST}$  values). One of the actively discussed ideas was correlation of segregation ratio distortions among haploid endosperms and population frequencies of corresponding alleles. Another important concept generated by Yuri P. Altukhov was evolutionary formed and maintained level of genetic subdivision among populations and sub-populations so that both too high or too low  $F_{ST}$  values were considered as equally deleterious for sustainability of population systems. Therefore, a native population structure formed in course of historical development must be as important object of gene pool conservation as total level of population and species genetic diversity. Comparative analysis of values of population genetic subdivision by different marker classes has been considered as a method of analysis of marker selectivity, however, only with development of various DNA marker technologies it made possible to carry on corresponding analysis and synthesis. A concept of comparative role of genetic polymorphism and monomorphism in population adaptation and speciation is now being tested by extensive genomic screening at population level that became possible with introduction of next generation sequencing. Sufficient input of last decades to speciation and adaptation was an understanding of the role of hybridization and introgression. This study was supported by the RFBR project 15-04-07961 and Programs of Fundamental Research of the Presidium of Russian Academy of Sciences "Biodiversity of Natural Systems" and "The Evolution of the Organic World and Planetary Processes".

## Характер и природа разнообразия в семенном потомстве «ведьминых метел» кедра сибирского (*Pinus sibirica* Du Tour) и ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.)

Полякова О.И.

*Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия  
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*

Мутационные «ведьмины метлы» (ВМ) представляют собой фрагмент кроны дерева с аномально плотным ветвлением и замедленным ростом побегов, по сравнению с нормальной частью кроны. По литературным данным известно, что семенное потомство мутационных ВМ можно разделить на два дискретных класса: карликовые и нормальные сеянцы. Данная работа была направлена на изучение морфогенеза семенного потомства мутационных ВМ кедра сибирского и ели сибирской и выявление признаков, дифференцирующих мутантное и нормальное семенное потомство.

Исследование проводилось на Научном стационаре «Кедр» Института мониторинга климатических и экологических систем СО РАН. Объектом исследования послужило двухлетнее семенное потомство двух различающихся по плотности мутационных ВМ кедра сибирского и одной ВМ ели сибирской. Для анализа основных морфологических признаков было взято 85 сеянцев ели сибирской. Число сеянцев от плотной ВМ кедра сибирского составило 129, а от рыхлой – 134. Развитие сеянцев ели и кедра сибирского начиналось с растяжения гипокотыля и семядолей. К концу первого вегетационного периода у сеянцев кедра сибирского происходило заложение терминальной и субтерминальных почек. Развитие сеянцев ели происходило по другому пути, и из заложившихся почек формировались побеги первого года. Для дифференциации сеянцев ели были использованы следующие признаки: длина побега второго года, длина хвои на побеге второго года и число пазушных структур на 1 см суммы длин побегов первого и второго года. Семенное потомство оказалось разделено на два класса в процентном соотношении 52 к 48, где большая часть была представлена потомством с мутантным фенотипом. Уже в первый год развития сеянцев ели сибирской можно было наблюдать различия по ряду признаков. Число структур в пазухах ювенильной хвои у потомства с мутантным фенотипом было в 2 раза больше, чем у нормальных сеянцев. Длина побега и хвои первого года у нормальных сеянцев были в 2 и 1.4 раза больше, чем у мутантного потомства. Различия между группами по мере роста и развития сеянцев увеличивались. Длина побега второго года у нормальных сеянцев была уже в 2.6 раза больше, чем у мутантов, а длина хвои – в 1.6. Число пазушных структур на 1 см суммы длин побегов первого и второго года у потомства с мутантным фенотипом было в 2 раза больше, чем у нормального потомства. В целом, высота нормальных двухлетних сеянцев была больше, чем у мутантных, в 2 раза.

Различия между группами семенного потомства ВМ кедра сибирского были установлены по ряду признаков. В потомстве плотной ВМ у нормальной группы сеянцев значения признаков были выше, чем у мутантов: по длине побега второго года – в 1.2 раза, длине хвои на побеге второго года и по длине терминальной почки – в 1.8 раза. При этом карликовые сеянцы закладывали в 17.4 раза больше почек на побеге, чем нормальные. В потомстве рыхлой ВМ длина побега второго года у нормальных сеянцев была больше, чем у карликовых в 1.25, длина хвои – в 1.7, а длина терминальной почки – в 1.6 раза. Число заложившихся почек было в 4.9 раза больше у мутантного потомства.

Таким образом, было установлено, что семенное потомство мутационных ВМ ели сибирской и кедра сибирского расщепляется на два дискретных класса в соотношении 1:1. Основными дифференцирующими признаками семенного потомства у ели были длина побега и хвои второго года, а также число пазушных структур на единицу суммы длин побегов первого и второго года. У семенного потомства кедра сибирского дифференцирующими признаками были длина хвои на побеге второго года и общее число заложившихся почек.

## **The pattern and nature of variation in seed progeny from witches' brooms of Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) and Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.)**

Polyakova O.I.

*Institute of monitoring of climatic and ecological systems SB RAS, Tomsk, Russia*  
*National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia*

Mutational witches' broom (WB) is a fragment of the tree crown with abnormally dense branching and slow shoot growth that qualitatively differ from those of a normal crown. According to the literature, seed progeny from the WB segregates into two discrete classes: dwarf and normal seedlings. The aim of this work was to investigate the morphogenesis of seed progeny from the Siberian stone pine and Siberian spruce WB and to identify the traits that differentiate mutant progeny from the normal one.

The research was conducted at the Kedr Field Station, which is managed by the Institute of monitoring of climatic and ecological systems SB RAS. The object was the two years old seed progeny from two Siberian stone pine WB having different density and from single Siberian spruce WB. The main morphological traits in 85 seedlings from Siberian spruce WB, 129 seedlings from high dense Siberian stone pine WB and 134 seedlings from low dense Siberian stone pine WB were analyzed. Development of both spruce and Siberian stone pine seedlings started with stretching of the hypocotyl and cotyledons. The inception of the terminal and subterminal buds in Siberian stone pine seedlings performed in the end of the first growing season. The spruce seedlings formed the buds, which initiated the shoots during the first growth year. The spruce seedlings were differentiated by the following traits: the length of the second year shoot, the length of the second year needles and the number of axillary structures along 1 cm of the first and second year shoots. The seed progeny segregated into two classes in proportion 52 and 48%, the most part had mutant phenotype. The variation in many traits in the Siberian spruce can be observed even during the first year of life. Mutants formed 2-fold more structures in the juvenile needle axils than normal seedlings did. The shoot and needle length of the first year were 2- and 1.4-fold more in the normal seedlings than that in the mutants. The differences between the growth traits increased eventually. In the second year of life the shoot length in the normal seedlings was 2.6-fold and needle length – 1.6-fold larger than those in the mutants. Mutant progeny had 2-fold more axillary structures per unit of the first and second year shoot length than normal progeny. In whole, the normal second-year seedlings were 2-fold higher than the mutant ones.

Differences in some growth traits between groups in seed progeny from Siberian stone pine WB were found. The traits of the normal seedlings originated from WB with high density were higher than those in the mutants: the shoot length of the second year – 1.2, the needle length of the second year – 1.8 and the terminal bud length – 1.8. But dwarf seedlings formed 17.4-fold more buds on the shoot than normal ones. The normal seedlings from WB with low density had the shoot length of the second year 1.25-fold, the needle length – 1.7-fold, and the terminal buds length – 1.6-fold larger than those in the dwarf seedlings. The mutants formed 4.9-fold more buds on the shoot.

Thus, the seed progeny from Siberian spruce and Siberian stone pine mutational WB segregated into two discrete classes with 1:1 ratio. In the spruce the second year shoot and needle length and number of axillary structures per unit of the first and second year shoot length were the main differentiating traits. In the Siberian stone pine the second year needle length and the total number of buds were the main differentiating traits.



## Гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие хлоропластных локусов в природных популяциях рода *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.)

Полякова Т.А.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Для решения задач таксономии, филогении и филогеографии у видов рода *Spiraea* L. из различных районов Сибири и Дальнего Востока России анализировали нуклеотидную изменчивость пять фрагментов хлоропластного генома – *trnL-trnF*, *psbK-psbI*, *psbA-trnH*, *rpoB*, *rpoC*. Изменчивость хлоропластного локуса *trnL-trnF* изучалась у 13 видов спиреи. Общая длина выравненных фрагментов *trnL-trnF* у 22 изученных образцов составила 960 – 962 п.н., из которых константных – 949, переменных – 13, парсимоний-информативных – 8. Ген *trnL* (позиции 1 - 535) содержит три однонуклеотидные вставки и одну синонимичную замену. Девять однонуклеотидных мутаций обнаружено в спейсере *trnL-trnF* (позиции 536 – 915, длина 380 п.н.). Ген *trnF* не изменчив. Близкие виды *S. media* и *S. dahurica* отличаются одной мутацией. Сиквенсы одного вида из разных географических областей идентичны. Близкородственные виды *S. salicifolia* и *S. humilis*, а также *S. aquilegifolia* и *S. hypericifolia* не отличаются друг от друга.

Фрагмент генома – *trnL-trnF*, как и регион ITS рДНК, оказался информативным в решении таксономических задач комплекса *S. betulifolia* s.l. и обнаружил наличие двух гаплотипов (хлоротипов). Хлоротип *a* соответствует виду *S. betulifolia*, особи которого распространены в Хабаровском, Приморском крае, ЕАО, в восточной части Якутии. Хлоротип *b* наблюдается у особей *S. beauverdiana* (= *S. stevenii*) – из Амурской области, южной части Якутии, Хабаровского края и Магаданской области. Для *S. crenata* в локусе *trnL-trnF* отмечается наличие двух повторов минисателлита длиной в 22 нуклеотида – GAGCAAGGAATCCCCAATTAАА-.

Локус *psbK-psbI*, изученный у 12 видов спиреи, оказался достаточно информативным. Проведенный сравнительный анализ выравненных сиквенсов размером 276 - 277 п.н. показал наличие одной однонуклеотидной делеции/инсерции и шесть однонуклеотидных замен. Всего консервативных позиций – 271, переменных – 5, парсимоний-информативных – 4. Вид *S. media* из различных мест произрастания (от Алтая и Новосибирской области до Камчатки) имеет один хлоротип и не отличается от близкородственных видов *S. sericea* и *S. dahurica*. Видоспецифические замены характерны для *S. flexuosa* (позиции 139 и 186), *S. salicifolia* (позиция 187), *S. media* (позиция 136). Всего выявлено шесть хлоротипов. Хлоротип *a* объединяет виды цикла *Mediae* в пределах секции *Chamaedryon* (по Поярковой, 1939): *S. media*, *S. dahurica*, *S. hypericifolia*, *S. crenata*. Хлоротип *b* имеют особи вида *S. flexuosa*. Хлоротип *c* объединяет ряд *Chamaedryfoliae* и ряд *Elegantes*, исключая *S. flexuosa*. Хлоротип *d* характерен для видов цикла *Betulifoliae* в пределах секции *Calospira*. Хлоротип *e* характерен для видов секции *Spiraria* и хлоротип *f* – для ряда *Trilobatae*. Внутри видов гаплотипической изменчивости не выявлено. Близкородственные таксоны по этому фрагменту не различаются, кроме *S. flexuosa*, у которой обнаружена видоспецифическая мутация.

Результаты изучения нуклеотидной изменчивости локуса *psbA-trnH* (356 п.н.) у 36 образцов близкородственных видов *S. media* и *S. dahurica* из Камчатской, Амурской, Иркутской, Новосибирской, Восточно-Казахстанской области, Приморского, Забайкальского края, а также из Якутии и Горного Алтая показали наличие четырех хлоротипов. Наиболее частый хлоротип – *a*. Хлоротипы *b* и *d* отмечены в Амурской области, хлоротип *c* – в Новосибирской области. Ресеквенированный у шести разных видов спиреи фрагмент *rpoB* с длиной после выравнивания 376 п.н. выявил всегдва хлоротипа. Одна однонуклеотидная мутация (A/G) отделяет более архаичные секции рода *Spiraea* (секции *Spiraria* и *Calospira*), относящиеся к подроду *Protospiraea*, от более молодого подрода – *Metaspiraea*.

Хлоропластный локус *rpoC* (482 п.н.) оказался мономорфным у изученных видов спиреи (*S. betulifolia*, *S. crenata*, *S. dahurica*, *S. salicifolia*).

Таким образом, из пяти изученных хлоропластных локусов три - *trnL-trnF*, *psbK-psbI*, *psbA-trnH* – являются информативными для решения таксономических, филогеографических и филогенетических задач в роде *Spiraea*. Сиквенсы депонированы в международную базу данных GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-03093).

### **Haplotypes and nucleotide diversity of chloroplast loci in natural populations of the Genus *Spiraea* L. (Rosaceae Juss.)**

Poliakova T.A.

*Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia*

Nucleotide variability in the five chloroplast genome fragments - *trnL-trnF*, *psbK-psbI*, *psbA-trnH*, *rpoB*, *rpoC* - were analyzed in the genus *Spiraea* L. from different localities of Siberia and the Far East of Russia with the aim of taxonomy, phylogeny and phylogeography. Variability of chloroplast locus *trnL-trnF* was studied in 13 species of *Spiraea*. A fragment of the genome, *trnL-trnF*, as well as *ITS* proved to be informative in achieving the goals of the taxonomy of the complex species of *S. betulifolia* s.l. and found the presence of two haplotypes (chlorotype). Chlorotype *a* corresponds to the *S. betulifolia* species which are common in the Khabarovsk, Primorsky Krai, the Jewish Autonomous region, in the Eastern part of Yakutia. Chlorotype *b* observed in individuals of *S. beauverdiana* (= *S. stevenii*) is from the Amur region, Southern part of Yakutia, Khabarovsk territory and Magadan region. For *S. crenata* locus *trnL-trnF* noted the presence of two repeats of minisatellite in length, 22 nucleotides GAGCAAGGAATCCCCAATTAAA.

Locus *psbK-psbI* was studied in 12 species of *Spiraea* and it was informative. One single-nucleotide deletion/insertion and 6 single-nucleotide substitutions (mutations) were identified in this fragment. Only 6 haplotypes were identified. Chlorotype *a* includes the species of cycle Mediae within section Chamaedryon (in Poyarkova, 1939): *S. media*, *S. dahurica*, *S. hypericifolia*, *S. crenata*. Chlorotype *b* assigned to *S. flexuosa*. Chlorotype *c* brings together a series of Chamaedryfoliae and a series Elegantes, except for *S. flexuosa*. Chlorotype *d* characterizes the types of cycle Betulifoliae within section Calospira. Chlorotype *e* characterizes the species of the section Spiraria and chlorotype *f* – a series Trilobatae. Haplotypes variability within species has not been identified. The *psbK-psbI* locus variability in closely related taxa has not been identified, except for *S. flexuosa*, which identified species-specific mutation.

The nucleotide variation locus *psbA-trnH* study in 36 samples of closely related species *S. media* and *S. dahurica* showed the presence of 4 chlorotypes. The most common chlorotype – *a*. Chlorotypes *b* and *d* are marked in the Amur region, chlorotype *c* – in the Novosibirsk region. Chloroplast fragment *rpoB* has one single nucleotide mutation (A/G) that separates the more archaic sections of the genus *Spiraea* (sections Spiraria and Calospira) belonging to the subgenus *Protospiraea*, from the evolutionary newer subgenus – *Metaspiraea*. The chloroplast *rpoC* locus was monomorphic between the studied species of *Spiraea* (*S. betulifolia*, *S. crenata*, *S. dahurica*, *S. salicifolia*). Thus, of the five chloroplast loci studied, three - *trnL-trnF*, *psbK-psbI*, *psbA-trnH* are informative for the study of taxonomy, phylogeography and phylogeny in the genus *Spiraea*. The sequences deposited in the international database GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>.

The study was conducted with financial support of RFBR (project № 15-04-03093).

## Нуклеотидный полиморфизм ITS-региона видов *Salix* из Якутии

Полякова Т.А.<sup>1,2</sup>, Ефимова А.П.<sup>3</sup>, Шатохина А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский центр защиты леса, Пушкино, Московская обл., Россия

<sup>3</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

Анализ нуклеотидного полиморфизма ITS-оперона (регион, включающий спейсер *ITS 1*, ген *5.8S*, спейсер *ITS 2*) рибосомальной ДНК у 32 видов рода *Salix* выявил генетические различия в виде однонуклеотидных замен – трансверсий, в том числе аутапоморфных. Общая длина анализируемого фрагмента ITS составила 597 позиций, из них 24 вариабельны, 13 позиций филогенетически-информативны. Длина спейсера *ITS1* составила 222-223 нуклеотида, *ITS2* – 212 нуклеотидов, протяженность гена *5.8S* – 163 нуклеотида. Сиквенсы фрагментов ITS изученных образцов разного происхождения, принадлежащих к одному виду, оказались идентичны. Установлено, что методом секвенирования ITS-региона отчетливо идентифицируются виды более древнего подрода *Salix*, такие, как *S. alba*, *S. fragilis*, *S. triandra*, *S. pseudopentandra*. Они имеют определенный набор однонуклеотидных замен (трансверсий), отделяющих их от других видов ив и от близких к ивам тополей. Точечная мутация (трансверсия) в позиции 26 спейсера *ITS 1* делит все изученные виды ив на две группы: 1) *Salix udensis*, *S. schwerinii*; 2) все остальные виды ив, а также виды рода *Populus*, чозения (*S. arbutifolia*) и все виды древнего подрода *Salix*. В условиях Якутии *S. triandra*, *S. pseudopentandra* морфологически не полиморфны, практически не вступают в межвидовые скрещивания, что может характеризовать их как устоявшиеся в процессе микроэволюции виды. Фрагменты ITS-региона большинства видов ив секций *Chamaetia*, *Vetrix*, *Myrtilloides* оказались идентичны, что свидетельствует об их микроэволюционной незрелости и, возможно, об обмене генами в результате исторической гибридизации. Более изолированы древние секции *Pentandrae*, *Amygdalinae*, на что указывает определенный набор видоспецифичных замен. Виды этих секций морфологически мало изменчивы, их признаки стабильны в любых условиях и состояниях и в условиях Якутии близкие виды этих секций не скрещиваются.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 15-44-05103 p\_восток\_a).

## ITS-region nucleotide polymorphism of *Salix* species from Yakutia

Poliakova T.A.<sup>1,2</sup>, Efimova A.P.<sup>3</sup>, Shatokhina A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia

<sup>1,2</sup>Russian Center of Forest Health, Pushkino, Moscow region, Russia

<sup>3</sup>Institute of Biological Problems for Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia

The nucleotide variability of ITS (*ITS 1* spacer, *5.8S* gene, *ITS 2* spacer) of ribosomal DNA in 32 species of the genus *Salix* has identified single-nucleotide polymorphisms (SNPs), including autapomorphies. The total length of the analyzed fragment of ITS has 597 positions, of which 24 positions are variable, and 13 positions are parsimony-informative. The length of the *ITS1* spacer is 222-223 nucleotides, *ITS2* – 212 nucleotides; the length of the *5.8S* gene was 163 nucleotides. The sequences of the studied samples of different origin, belonging to the same willows species, were identical. It is established that the sequencing the ITS region clearly identified more ancient species of the subgenus *Salix*, such as *S. alba*, *S. fragilis*, *S. triandra*, *S. pseudopentandra*. They have a specific set of single-nucleotide polymorphisms (transverses) that are separate them from other sections of willows and poplars close to willows. SNP (transverse) at position 26 the *ITS 1* spacer divides all studied species of willows into two groups: 1) *Salix udensis*, *S. schwerinii*; 2) all other species of willows, and a species of the genus *Populus*, *Chosenia* (*S. arbutifolia*) and all species of ancient subgenus of *Salix*. In the natural populations of Yakutia species such as *S. triandra*,

*S. pseudopentandra* are not morphologically polymorphic, they do not interbreed with each other, which can characterize these species as stable. In willows sections, such as Chamaetia, Vetric and Myrtilloides, ITS-region fragments were identical. This indicates their immaturity microevolution and, perhaps, the exchange of genes as a result of historical processes of hybridization. Such ancient sections as Pentandrae and Amygdalinae are more isolated from the other sections, as indicated by determined species-specific substitutions. They are poorly morphologically variable, their characteristics are stable in all conditions and states and closely related species of these sections do not hybridize with each other in Yakutia.

The study was conducted with financial support of RFBR (project № 15-44-05103 r\_east\_a).

### **Генетическая изменчивость и дифференциация популяций *Quercus robur* в Европейской части РФ**

Полякова Т.А.<sup>1,2</sup>, Карпеченко Н.А.<sup>3</sup>, Карпеченко И.Ю.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Российский центр защиты леса, Пушкино, Московская обл., Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Центр защиты леса Воронежской области, Воронеж, Россия

<sup>4</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Генетическая изменчивость и дифференциация дуба черешчатого (*Quercus robur*) на территории Европейской части РФ проанализирована с использованием 10 пар ядерных микросателлитных праймеров, разработанных Lepais, Leger и Gerber (2006). Используемые локусы группы *QrZAG* для дуба черешчатого из Европейской части РФ оказались высоко полиморфными и информативными. Генотипы дуба черешчатого были получены с помощью фрагментного анализа двух мультиплексных панелей, описанных у Lepais, Leger и Gerber (2006). Наименьшее число аллелей – 11 – наблюдается в локусах *QrZAG87* и *QrZAG96*. Наибольшее – в локусах *QrZAG5b* и *QrZAG11* – по 25 и 23, соответственно. Среднее число аллелей на locus в пределах изученных выборок составляет 6.5. Наиболее высокие уровни наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности наблюдаются у особей из Печерской выборки (Псковская область). Установленные значения основных показателей генетического полиморфизма свидетельствуют о достаточно высоком уровне генетического разнообразия выборок дуба в исследованных регионах. Полученные значения *F*-статистик Райта показывают, что каждое отдельное дерево в изученных выборках в среднем обнаруживает 15%-ный дефицит гетерозигот относительно популяции и около 27% составляет дефицит гетерозиготных генотипов относительно вида *Quercus robur*. Около 14% всей наблюдаемой изменчивости приходится на межпопуляционную, внутри же популяций сосредоточено 86% всего генетического полиморфизма. Все локусы имеют примерно одинаковый вклад в дифференциацию данных выборок. На основании полученных частот аллелей ядерных микросателлитных локусов и рассчитанных генетических расстояний Нея была проанализирована дифференциация 11 исследованных выборок дуба. Проекция изученных выборок дуба черешчатого на плоскости двух координат по данным РСА-анализа, в целом, соответствует географической удаленности выборок друг от друга. Более южные выборки дуба черешчатого (Воронежская, Тамбовская, Белгородская области, Республика Башкортостан) формируют заметный кластер, что, вероятно, связано с близостью к Донскому бассейну.

## Genetic variability and differentiation of populations of *Quercus robur* in the European part of Russia

Poliakova T.A.<sup>1,2</sup>, Karpechenko N.A.<sup>3</sup>, Karpechenko I.Y.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Russian Center of Forest Health, Pushkino, Moscow region, Russia

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Center of Forest Health of Voronezh region, Voronezh, Russia

<sup>4</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russia

Genetic variability and differentiation of pedunculate oak (*Quercus robur*) in the European part of the Russian Federation were analyzed using 10 pairs of highly informative primers designed by Lepais, Leger and Gerber (2006). The genotypes of *Quercus robur* were obtained using fragment analysis carried out in two multiplex panels. *QrZAG* loci for oak are highly polymorphic and informative. The smallest number of alleles (11) was observed in loci *QrZAG87* and *QrZAG96*. The highest is in loci *QrZAG5b* and *QrZAG11*, 25 and 23, accordingly. The average number of alleles per locus in the samples is 6.5. The highest levels are observed and expected heterozygosity observed in individuals from the Pechersky samples (Pskov oblast). The high level of genetic diversity of oak samples is in the studied regions of European part of the Russia. According to the values of *F*-statistics of Wright, every single tree in the investigated samples average of detects 15% lack of heterozygotes relative to population and around 27% - for species *Quercus robur*. The observed interpopulation variability is about 14%, within population - 86%. All loci have the same contribution to the differentiation of these localities. Based on the allele frequencies of nuclear microsatellite loci and genetic distances of Nei, differentiation of 11 localities from the southern European oak was analyzed. The most southern localities of oak-trees samples from those studied (regions of Voronezh, Tambov and Belgorod, Bashkortostan Republic) formed a separate cluster, which might be due to the basin of the Don River.

### Анализ изменчивости Д-петли мтДНК европейского хариуса (*Thymallus thymallus* L.) Европейского Севера России

Пономарева Е.В.<sup>1</sup>, Волков А.А.<sup>2</sup>, Пономарева М.В.<sup>1</sup>, Шубина Е.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского (МГУ), Москва, Россия

Филогенетические исследования являются одним из важных направлений, на базе которых возможно уточнить положение вида в современной систематике, предположить пути его расселения. Несмотря на то, что в последнее время в научной литературе интерес к европейскому хариусу достаточно высок, в российской части ареала большинство популяций остаются неисследованными, данные фрагментарны и затрагивают отдельные реки. Так, на территории Архангельской области исследовалась только одна выборка из реки Сямженьга (восточный приток Северной Двины), при этом у двух особей были выявлены гаплотипы мтДНК характерные для сибирского хариуса. Соответственно, в задачи нашего исследования входило: уточнить филогенетическое положение европейского хариуса на территории Европейского Севера, а также предположить пути его расселения.

Для выполнения этих задач в работе проанализирован фрагмент мтДНК, включающий полную последовательность Д-петли, у 60 особей европейского хариуса из рек Варзуга, Северная Двина (притоки Кестваж, Леменьга, Устья, Обокша), Кулой (притоки Келда, Сояна, Лака), Мегра бассейна Белого моря, Ома бассейна Баренцева моря. Было выявлено 10

гаплотипов, 8 из которых были описаны впервые. Также в работе были проанализированы 26 особей сибирского хариуса (*T. arcticus*) из озер Приполярного Урала Большое Щучье и Большая Ходата бассейна Оби. Было выявлено 5 новых гаплотипов. Гаплотипы сибирского хариуса образуют две гаплогруппы, различающиеся на 5-6 замен.

У исследованных особей европейского хариуса гаплотипов, принадлежавших сибирскому хариусу, обнаружено не было. Исследованные гаплотипы D-петли относятся к «скандинавской» филогенетической линии и образуют три кластера (два с высокой бутстреп-поддержкой), предположительно отражая рефугиумы, из которых происходило послеледниковое расселение хариуса. Исходя из географического распространения гаплотипов, мы можем предположить существование западного рефугиума, откуда происходило заселение хариусом водоемов Фенноскандии и северо-западных притоков Северной Двины. Другим возможным рефугиумом могло быть расположенное на востоке Печорское приледниковое озеро, существовавшее в максимальной стадии последнего оледенения, откуда пошло расселение хариуса в восточные и северо-восточные реки Европейского Севера. Гаплотипы европейского хариуса из реки Сямженьги кластеризуются с гаплотипами сибирского хариуса из водоемов Приполярного Урала, отличаясь только на две замены от одного из выявленных гаплотипов сибирского хариуса, что свидетельствует об их общем происхождении и существовавшем восточном коридоре проникновения сибирского хариуса в водоемы Европейского Севера.

### **Analysis of European grayling (*Thymallus thymallus* L.) D-loop mtDNA variability of the Russian European North**

Ponomareva E.V.<sup>1</sup>, Volkov A.A.<sup>2</sup>, Ponomareva M.V.<sup>1</sup>, Shubina E.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology (MSU), Moscow, Russia*

Phylogenetic studies belong to the most important directions which make possible to refine the position of the species in modern systematics and suppose species' colonization ways. Though the interest in European grayling studies is quite high, most populations in the Russian part of the areal remain unexplored, data are fragmented and based on small quantity of samples. From the territory of Archangelsk region only one sample (the Sjamzhenga river, eastern tributary of the Northern Dvina) had been genetically studied, mtDNA haplotypes characteristic for Arctic grayling (*T. arcticus*) were found at two specimens. Accordingly, our study aims were: to clarify the phylogenetic position of European grayling in the European North, as well as to suggest possible colonization ways.

Fragment of mtDNA, including complete sequence of the D-loop were analysed from 60 European graylings from the rivers of the White sea basin: Varzuga, Northern Dvina (Kestvazh, Lemenga, Ustja, Oboksha tributaries), Kuloy (Kelda, Sojana, Laka tributaries), Megra; and the river Oma (Barents sea basin). A total of 10 haplotypes were revealed, 8 of them first. Also 26 individuals of Arctic grayling (*T. arcticus*) from the Large Pike lake and the Large Hodata lake (the Ob' river basin, Subpolar Urals) were analyzed, 5 new haplotypes were revealed. The Arctic grayling haplotypes form two haplogroups, diverged for 5-6 substitutions.

Arctic grayling haplotypes were not found in the studied individuals of European grayling. Obtained D-loop haplotypes of European grayling relate to the "Scandinavian" phylogenetic lineage and form three clusters (two with high bootstrap support), probably reflecting last glaciation refugia. Based on the geographical distribution of haplotypes, we can suppose the existence of western refugium as the origin of grayling colonization route for Fennoscandia water bodies and north-western tributaries of the Northern Dvina. Another refugium had been possibly located further to the east – the Pechora glacial lake which had existed in the maximum stage of the last glaciation, from where grayling colonization spread to the eastern and north-eastern rivers of the

European North. Previously described haplotypes of European grayling from the Sjamzhenga river unite with Arctic grayling haplotypes from the Subpolar Urals lakes differing for only two substitutions from one of the identified haplotypes of the Arctic grayling. This is an indication of their common origin and of ancient eastern corridor of Arctic grayling introgression into water bodies of the European North.

**Сравнительный анализ структуры разнообразия кедра сибирского  
(*Pinus sibirica* Du Tour) по росту и половой репродукции в естественном насаждении и  
производном от него клоновом архиве**

Попов А.В.

*Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия;  
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия*

Опыты по изучению различий в морфогенезе и половой репродукции у вегетативного потомства деревьев различного онтогенетического состояния показали, что возраст дерева-донора существенно влияет на развитие кроны привоя. У различных видов хвойных – *Pinus radiata*, *Pinus taeda*, *Larix laricina*, *Pseudotsuga menziesii*, все основные показатели роста существенно снижались с увеличением возраста маточника. Однако механизмы, лежащие в основе этого явления, до сих пор неясны и активно исследуются. На сегодняшний день известно, что энергопреобразующие процессы, морфогенез, рост и половая репродукция зависят от соотношения физиологических и эпигенетических факторов, но разграничить их влияние на конкретные процессы и признаки довольно сложно. Особенно это касается долгоживущих древесных видов на репродуктивном этапе развития, у которых рост и репродукция происходят параллельно. Обычно для решения таких задач исследователи, методом прививки черенка со зрелого дерева на молодой сеянец, переносят растительный материал с известным онтогенетическим состоянием генома в принципиально иную физиологическую среду. Сохранение признака будет свидетельствовать о его «эпигенетической памяти», т.е. зависимости от необратимых изменений в экспрессии генов, а изменение признака под влиянием новой физиологической среды – о его зависимости от этой среды: напрямую или через обратимые изменения в экспрессии генов.

Введение кедра сибирского в культуру как орехоплодного вида осуществляется, главным образом, методом размножения привойных сортов, полученных на основе растительного материала разных возрастных состояний. Поэтому вопрос эпигенетического наследования признаков вегетативным потомством имеет для него большое практическое значение. В настоящей работе эти явления изучались на примере простого опыта: черенки 30-летних вступающих в плодоношение, и 200-летних давно плодоносящих деревьев кедра сибирского привиты на 5-летний подвой. Спустя 25 лет после прививки анализировалась вегетативная и генеративная структура кроны привоев молодых и зрелых деревьев.

Установлено, что вегетативная структура кроны имела явные возраст-специфические черты. Из черенков молодых деревьев сформировались высокие деревья с крупной кроной. Вегетативное потомство зрелых генеративных деревьев было значительно ниже по высоте, имело более тонкий ствол и небольшую по размеру крону. Инструментальный анализ ажурности и формы кроны показал, что у потомства молодых деревьев она существенно плотнее, цельная, с небольшими просветами. У зрелых крона более рыхлая, с канделябровидной вершиной и явными признаками дезинтеграции. По числу побегов в кроне потомство молодых деревьев более чем в два раза превосходило потомство зрелых. У последних существенно возростала роль латентных почек в формировании систем ветвления, что рассматривается нами как проявление «онтогенетической старости» кроны. В генеративной структуре кроны возрастные различия были менее выраженными. Хотя по размерам генеративных ярусов между возрастными группами не было достоверных различий, зрелые деревья превосходили молодые по количеству шишек на единицу объема

кроны и доле женских и мужских побегов, что свидетельствует о большей эффективности генеративных процессов. Кроме того, слабые корреляционные связи между признаками вегетативного и генеративного развития у зрелых деревьев можно рассматривать как проявление относительной автономности и стабилизации генеративной функции.

Полученные результаты показали, что даже спустя 25 лет после прививки хорошо сохраняются некоторые характерные «следы» онтогенетического состояния материнских деревьев. У молодых деревьев явно преобладают вегетативные процессы. У зрелых в морфогенезе прослеживается тенденция к ослаблению роста при более выраженной ориентации на репродуктивную функцию. Это говорит в пользу реальности и необратимости сохранения экспрессии генов, связанных с возрастными изменениями. Однако следует отметить, что эпигенетический статус растительного материала все же претерпевает некоторые изменения в связи с изменившимся физиологическим статусом, обусловленным резким увеличением корнеобеспеченности кроны после прививки на молодой подвой.

### **The comparative analysis of the structure diversity of the Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) on growth and sexual reproduction in natural stands and derived from it clonal archive**

Popov A.V.

*Institute of monitoring of climatic and ecological systems SB RAS, Tomsk, Russia;*  
*National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia*

Experiments to study the differences in morphogenesis and sexual reproduction vegetative progeny of trees of different ontogenetic state showed that the age of the tree-donor significantly influence the development the crown of the scion. Different species of conifers – *Pinus radiata*, *Pinus taeda*, *Larix laricina*, *Pseudotsuga menziesii*, and all the main indicators of growth significantly decreased with increasing age of parent tree. However, the mechanisms underlying this phenomenon are still unclear and actively researched. Today we know that the energy conversion processes, morphogenesis, growth and sexual reproduction depends on the ratio physiological and epigenetic factors, but to delineate their impact on specific processes and characteristics is quite difficult. Especially it concerns of long-lived woody species in the reproductive stage of development in which growth and reproduction occur in parallel. Usually, to solve such tasks, researchers, method of grafting scion with a mature tree on the young seedling, the plant material is moving to the known ontogenetic state of the genome in a fundamentally different physiological environment. Saving feature will testify about his "epigenetic memory", i.e. depending on irreversible changes in gene expression, and the change in the characteristic under the influence of a new physiological environment – about its dependence on its environment of: either directly or through a reversible change in gene expression.

The introduction of Siberian stone pine such as nuciferous species in the culture carried out chiefly by grafting propagation of varieties obtained on the basis plant material of various age conditions. Therefore, the questions of inheritance of epigenetic traits vegetative progeny have of great practical importance for him. In this paper, these phenomena were study by the example of a simple experiment: the cuttings of 30-year-olds come into fruiting, and the 200-year-old Siberian pine long-time fruit-bearing trees, grafted 5-year-old rootstock. After 25 years of grafting were analyzed vegetative and generative crown structure scions of young and mature trees. It was found that the vegetative crown structure have apparent age-specific features. High trees with large crowns formed from the cuttings of young trees. Vegetative progeny of generative mature trees was significantly lower in height, had a thinner trunk and small size crown. Instrumental analysis crown shape and openwork showed that in progeny of young trees is significantly denser, solid, with small gleams. Mature crown is looser, with similar to the candelabrum apex and obvious signs of disintegration. By the number of shoots in the crown of progeny young trees are more than twice as high as progeny mature tree. In the latter increased significantly the role of latent buds in the



formation of a branch system that is considered by us as an expression of 'ontogenetic aging' crown. In generative structure crown, the age differences been less pronounced. Although the size of the generative tiers between age groups were not significant differences, mature trees outnumbered the young by the number of cones per unit volume of the crown and the proportion of female and male shoots, which indicates a greater effectiveness of the generative processes. In addition, the weak correlation between traits of vegetative and generative development in mature trees can be seen as a manifestation of relative autonomy and stabilize the generative function.

The results showed that even 25 years after grafting are well preserved some characteristic "traces" ontogenetic state of parent trees. In young trees is clearly dominated by vegetative processes, in morphogenesis mature trees tendency to growth weakening at a more pronounced focus on reproductive function. This speaks in favor of the reality and irreversibility of conservation gene expression associated with age-related changes. However, it should be noted that the epigenetic status of the plant material is still undergoing some changes due to the changed physiological status due to a sharp increase in root-provides crown after grafting at a young rootstock.

### **Гетероплазмия и ядерные копии митохондриальных генов (NUMTs) в зоне интрогрессивной гибридизации ели европейской и ели сибирской**

Потокина Е.К.<sup>1,2,3</sup>, Лебедева М.В.<sup>1</sup>, Ульянич П.С.<sup>1</sup>, Левкоев Э.А.<sup>1</sup>, Волков В.А.<sup>1</sup>,  
Жигунов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт генетических ресурсов растений,  
Санкт-Петербург, Россия

Для елей, произрастающих в старовозрастных лесах резервата «Вепский лес» (Ленинградская обл.) в результате ПЦР с геноспецифичными праймерами к митохондриальному гену *nad1* были получены гетерогенные продукты амплификации, соответствующие гаплотипам мтДНК *P. abies* и *P. obovata*. Выявленную гетерогенность можно объяснить двумя причинами: гетероплазмией мтДНК и амплификацией ядерных копий митохондриальных генов (NUMT). Для того, чтобы установить и объяснить природу обнаруженной гетерогенности были применены методические подходы, ранее использованные для подобных исследований у птиц и млекопитающих.

Одним из способов исключения амплификации NUMT является дизайн ПЦР с большим размером целевого продукта (Long-Range PCR). Хотя в ядерный геном изредка встраиваются достаточно крупные фрагменты мтДНК, обычно NUMT не превышают 1000 пн. Другим способом отличить ядерные копии митохондриальных генов от собственно митохондриальных последовательностей является филогенетический анализ. Для ядерных псевдогенов митохондриального происхождения характерен высокий уровень мутирования; как следствие, неожиданная позиция на филогенетическом дереве может служить косвенным свидетельством того, что анализируемая последовательность является NUMT.

По крайней мере, для одного исследованного дерева результаты свидетельствуют в пользу гетероплазмии. Однако для большинства исследованных случаев, по-видимому, имеют место ядерные копии митохондриальных генов (NUMTs), которые для елей описываются впервые. Независимо от природы данного явления оно представляет несомненный интерес для филогеографии изучаемых видов, так как и в том, и в другом случае может рассматриваться как исторический след недавних процессов видообразования на обсуждаемой территории. Амплификация гетерогенных последовательностей с праймерами, специфичными для митохондриальных генов описывалась и ранее. В нашем исследовании путем многократных лабораторных проверок и независимого секвенирования

в разных лабораториях впервые было установлено, что на территории Восточно-Европейской равнины до сих пор произрастают ели, сочетающие в едином организме гаплотипы мтДНК, видоспецифичные для *P. abies* и *P. obovata*. Такое явление у хвойных ранее объяснялось случаями проникновения отцовской мтДНК в зиготу при оплодотворении (paternal mtDNA leakage), характерными для зон интрогрессивной гибридизации близкородственных видов. Согласно другой гипотезе, ядерные копии мтДНК, накапливающиеся в результате межгеномной рекомбинации ядерной и митохондриальной ДНК за тысячелетия эволюции вида, потенциально могут быть источником новых вариантов митохондриальных гаплотипов. Случайные рекомбинации между митохондриальным и ядерным геномами гораздо быстрее приводят к появлению новых вариантов мтДНК, по сравнению с процессами спонтанных мутаций в самом митохондриальном геноме. Таким образом, последние опубликованные данные показывают потенциальную значимость изучения последовательностей NUMT для филогеографических построений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01418.

### **Heteroplasmy and nuclear copies of mitochondrial genes (NUMTs) in the zone of introgressive hybridization of Norway and Siberian spruce**

Potokina E.K.<sup>1,2,3</sup>, Lebedeva M.V.<sup>1</sup>, Ulianich P.S.<sup>1</sup>, Levkoev E.A.<sup>1</sup>, Volkov V.A.<sup>1</sup>, Zhigunov A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Saint Petersburg State Forest Technical University, Saint Petersburg, Russia*

<sup>2</sup>*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*

<sup>3</sup>*Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Saint Petersburg, Russia*

Polymorphism of the mitochondrial *NadI* gene among the old-growth spruce trees from the natural forest reserve "Vepssky les" located in the eastern part of the St. Petersburg region is analyzed. By PCR with the gene-specific primers heterogeneous amplification products were obtained for almost all trees under analysis. Typically, for the same plant the PCR products combined at least two different DNA sequences: one of them corresponded to mtDNA haplotype specific to *P. abies*, the other one, to *P. obovata*. The observed heterogeneity of PCR products can be explained by two reasons: heteroplasmy of mtDNA or existence of nuclear copies of mtDNA (NUMTs).

In order to establish and explain the nature of the detected PCR heterogeneity, the methodological approaches previously used for birds and mammals were employed. One of them is amplification of large fragments of mtDNA (Long Range PCR). Although large mtDNA fragments may be transposed to the nucleus, most of the published examples involve sequences less than 1 kb in length. Another way to distinguish the nuclear copies of mitochondrial genes from the actual mitochondrial sequences is phylogenetic analysis. Nuclear mitochondrial pseudogenes are characterized by high levels of mutation; as a result, an unexpected position in the phylogenetic tree can serve as an indirect indication that the analyzed sequence is NUMT. The obtained results support heteroplasmy for at least one of the investigated tree. For the majority of spruce trees, apparently, nuclear copies of mitochondrial genes (NUMTs) were detected for the first time.

Regardless of its nature, this phenomenon can be valuable for the phylogeography of the *Picea* species, since it may be considered as a historical trace of the recent processes of spruce speciation in the East European Plain. Amplification of heterogeneous sequences with primers specific for the mitochondrial genes was described earlier. In our study by means of repeated laboratory tests and sequencing we were the first to establish that among the spruces growing in the East European Plain, still there are trees that combine haplotypes of mtDNA specific for *P. abies* and *P. obovata*. This phenomenon for conifers was previously explained by paternal mtDNA leakage in the zygote at fertilization, which is a typical event for areas of introgressive hybridization of closely related species. According to another hypothesis, the nuclear copies of mtDNA that were accumulated during intergenomic recombination of nuclear and mitochondrial DNA for thousands years of species evolution can potentially be a source of new variants of mitochondrial haplotypes.

Random recombination between the mitochondrial and nuclear genomes potentially could lead to the emergence of new variants of mtDNA more quickly as compared to processes of spontaneous mutations in the mitochondrial genome. Thus, the latest published data show the potential importance of deeper analysis of NUMT sequences for phylogeographic reconstructions.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research under research project no. 14-0401418a.

### Генетический полиморфизм и историческая динамика популяций некоторых реликтовых видов растений Байкальской Сибири

Протопопова М.В.<sup>1</sup>, Павличенко В.В.<sup>1</sup>, Коновалов А.Д.<sup>2</sup>, Гнутиков А.А.<sup>3,4</sup>,  
Чепинога В.В.<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

<sup>3</sup>Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup>Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, Иркутск, Россия

В работе проводили изучение нескольких неморальных реликтовых видов растений: *Eranthis sibirica* DC., *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch и *Anemone baicalensis* Turcz. Все виды являются эндемичными для Южной Сибири и имеют сильно дизъюнктивные ареалы. Большие дизъюнкции возникли, очевидно, вследствие серии плейстоценовых оледенений на территории северной Евразии. Сбор материала проводили в пределах основного участка ареала на северном макросклоне хр. Хамар-Дабан (Южное Прибайкалье). В исследовании использованы также образцы *E. sibirica* и *W. ternata* из изолированных местонахождений в предгорьях Восточного Саяна (р. Белая Зима), *W. maximowicziana* (Juz. ex Terpner) Probat. из Надеждинского р-на Приморского края (близ пос. Сиреневка и Раздольное), а также образец *W. tanzibeica* Stepanov, собранный в предгорьях Западного Саяна и хранящийся в гербарии IRKU. Оба последних вида выделены из *W. ternata* и являются близкородственными последнему (Пробатова, 2015; Степанов, 1994).

Была проведена оценка полиморфизма пloidности популяций и сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ITS региона ядерной ДНК и хлоропластных молекулярных маркеров *rpl20-rps12*, *psbA-trnH* и *trnV*. Секвенирование образцов проводили по методу Сэнгера на генетическом анализаторе ABI3500. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма MUSCLE, филогенетический анализ – с помощью метода максимального правдоподобия с учетом оптимальных моделей нуклеотидных замен в MEGA v. 7.0.16. Определение числа хромосом производили методом иммерсионной микроскопии.

Результаты показали, что, несмотря на образование исследованными реликтовыми видами гиперпопуляций (Чепинога и др., 2015), объединяющих популяции бассейнов соседних рек, вдоль северного макросклона хр. Хамар-Дабан перенос генов является лимитированным. По меньшей мере, западный участок ареала на хр. Хамар-Дабан может рассматриваться как одно из мест с относительно независимой историей развития популяций исследованных видов. Степень выявленных отличий между популяциями с хр. Хамар-Дабан, Восточного и Западного Саянов свидетельствует в пользу их непродолжительной изоляции друг от друга. Полученные результаты указывают на то, что генетическая дистанция между хамар-дабанскими популяциями *W. ternata* и *A. baicalensis* и их близкородственными восточноазиатскими видами (или по другим источникам – популяциями) гораздо меньше, чем это предполагалась ранее на основании данных морфологического анализа и их географического распространения. Для *W. ternata* полученные результаты также

свидетельствуют в пользу восточноазиатского источника происхождения сибирских популяций этого вида.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 16-34-60135 мол\_а\_дк, 16-05-00783).

## Genetic polymorphism and historical dynamics of some relict plant species populations of Baikal Siberia

Protopopova M.V.<sup>1</sup>, Pavlichenko V.V.<sup>1</sup>, Konovalov A.D.<sup>2</sup>, Gnutikov A.A.<sup>3,4</sup>, Chepinoga V.V.<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia*

<sup>2</sup>*Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

<sup>3</sup>*N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Sankt-Petersburg, Russia*

<sup>4</sup>*Komarov Botanical Institute RAS, Sankt-Petersburg, Russia*

<sup>5</sup>*V.B. Sochava Institute of Geography SB RAS, Irkutsk, Russia*

Several nemoral relict plant species were studied: *Eranthis sibirica* DC., *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch и *Anemone baicalensis* Turcz. All species are endemics of the South Siberia and characterized by strongly disjunctive areal, which the most likely happened during quaternary glaciations. Sampling of all species was carried out on the main refugium along the northern macro-slope of the Khamar-Daban ridge (the Southern part of Cis-Baikal region). Specimens of *E. sibirica* и *W. ternata* were also sampled from the isolated localities on the Eastern Sayan Mountains, *W. maximowicziana* (Juz. ex Teppner) Probat.) were sampled from the Russian Far East (around Sirenevka and Razdolnoe settlements, Nadezhdenskiy area, Primorsky Krai) and one specimen of *W. tanzibeica* Stepanov from the Western Sayan was taken from herbarium of Irkutsk State University (IRKU). Two latter species are recognized as separated species by some investigators but close related to *W. ternata* (Probatova, 2015; Stepanov et al., 1994).

In our study, estimation of ploidy polymorphism and the comparative analysis of DNA sequences of ITS regions and chloroplast molecular markers *rpl20-rps20*, *psbA-trnH* and *trnV* were carried out. DNA sequencing by the Sanger method using genetic analyzer ABI3500 was applied. Nucleotide sequences alignment by MUSCLE, the phylogenetic analysis by maximum likelihood method in consideration of the best-fit models of nucleotide substitution were carried out in MEGA v. 7.0.16. The chromosome numbers were counted by immersion microscopy.

The results showed that in spite the fact that all species form hyper-population (Chepinoga et al., 2015) on the northern macro-slope of the Khamar-Daban ridge, on long-range areas gene flows are limited. At least the western part of the refugium can be considered as one of the places with a relatively independent populations history. The levels of genetic distance between Khamar-Daban, the the Eastern and the Western Sayan populations indicate relatively short-term isolation from each other. The results indicate that the genetic distance between the Khamar-Daban populations of *W. ternata* and *A. baicalensis* and their closely related East Asian species (or populations) is much lower than previously assumed on the basis of morphological analysis and their geographical distribution. For *W. ternata* results also show the benefit of East Asian origin of the source of the Siberian populations.

The reported study was partially supported by RFBR, research projects No. 16-34-60135mol\_а\_дк, 16-05-00783.

## Спонтанная гибридизация видов тополей секций *Aigeiros* и *Tacamahaca* в бассейне реки Томи

Прошкин Б.В.<sup>1</sup>, Климов А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новокузнецкий институт (филиал) Кемеровского государственного университета, Новокузнецк, Россия

Межвидовая гибридизация известна в различных систематических группах растений и животных. Она играет важную роль в эволюции биологического разнообразия: может приводить к увеличению генетической изменчивости видов, изменению их адаптаций, возникновению новых экотипов и видов, усилению или, напротив, разрушению репродуктивных барьеров.

Природные гибридные зоны представляют значительный интерес для генетико-эволюционных исследований. Естественная гибридизация уже давно признана в качестве механизма переноса генов между видами и имеет важные эволюционные последствия. Межвидовая гибридизация характерна для рода *Populus* L., хотя, как правило, она ограничивается представителями одной секции. Исключение составляют виды секции *Aigeiros* и *Tacamahaca*, которые относительно свободно скрещиваются, но при этом сохраняют свою целостность и хорошо дифференцируются. На основе сравнительного анализа изменчивости морфологических признаков *Populus nigra* L., *Populus laurifolia* Ledeb. (*Salicaceae*) и их естественных гибридов (*Populus* × *jirtyschensis* Ch.) в пойме р. Томи (Кемеровская область РФ) выявлены признаки для идентификации естественных гибридов. Наиболее важными из них являются: характер ребристости удлиненных побегов, типы укороченных побегов кроны, расположение генеративных почек на побегах, количество почечных чешуй генеративных почек, форма листовой пластинки. Морфометрические признаки листьев необходимо использовать для уточнения гибридной природы особей. Качественные и количественные признаки гибридов по большей части носят промежуточный характер, но по дифференциации побегов кроны и расположению генеративных почек гибриды более близки к тополи лавролиственному. Значения морфометрических признаков листьев у гибридов в большинстве случаев достоверно отличаются от таковых у *P. nigra* и *P. laurifolia*, причем сочетания этих отличий у каждой гибридной модели индивидуальное. Встречаются на участках со значительной антропогенной нагрузкой, которые можно рассматривать как «гибридные местообитания».

Гибридные зоны тополей являются динамическими центрами экологических и эволюционных процессов, а также концентраторами ценных для селекции гибридных форм, в связи, с чем они требуют тщательного изучения.

## Spontaneous hybridization of poplar species of sections *Aigeiros* and *Tacamahaca* in basin of the Tom River

Proshkin B.V.<sup>1</sup>, Klimov A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Novokuznetsk branch of Kemerovo State University, Novokuznetsk, Russia

Interspecific hybridization is known in different taxonomic groups of plants and animals. It plays an important role in the evolution of biodiversity: can increase the genetic variability of the species, change their adaptations, produce the emergence of new species and ecotypes, strengthen or, on the contrary, destroy reproductive barriers.

Natural hybrid zones are of great interest for genetic and evolutionary studies. Natural hybridization has long been recognized as a mechanism of gene transfer between species and has important evolutionary implications. Interspecific hybridization is characteristic of the genus

*Populus L.*, although, as a rule, it is limited to members of one section. Exceptions are types Aigeiros and Tacamahaca section that relatively freely interbreed, but at the same time maintain their integrity and well differentiated. On the basis of a comparative analysis of the variability of morphological characters of *Populus nigra L.*, *Populus laurifolia Ledeb.* (Salicaceae) and their natural hybrids (*Populus X jirtyschensis Ch.*) In the flood plain Tom (the Kemerovo region of the Russian Federation) revealed signs to identify the natural hybrids. The most important of these are: the nature ribbing long shoots, types truncated crown shoots, location generative buds on the shoots, the number of kidney scales generative buds, the shape of the leaf blade. The morphometric features of the leaves should be used to clarify the nature of the hybrid individuals. Qualitative and quantitative characteristics of hybrids for the most part are intermediate, but differentiation of crown shoots and location of generative buds in hybrids closer to the *P. laurifolia*. The values of morphometric characters of leaves in hybrids in most cases, significantly different from those of *P. nigra* and *P. laurifolia*, and combinations of these differences in each individual hybrid model. There are in areas with significant anthropogenic load, which can be regarded as a "hybrid habitat."

Hybrid poplars zones are dynamic centers of ecological and evolutionary processes, as well as hubs for the breeding of hybrid forms, in connection with that they require careful study.

### **Генетическое разнообразие фрагмента гена цитохром оксидазы мтДНК четного и нечетного поколения горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* р. Ола (Охотское море)**

Пустовойт С.П.

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН;  
Северо-Восточный государственный университет, Магадан, Россия*

Первые популяционно-генетические исследования азиатских популяций горбуши выполнены группой генетиков под руководством Ю.П.Алтухова в 70-е годы прошлого века (Салменкова и др. 1981). Выбор региона исследования – популяции о. Сахалин – обусловлен высокой численностью горбуши, что делает её одним из важнейших промысловых объектов. Теоретическое обобщения многолетних материалов позволило Ю.П.Алтухову выдвинуть положение об оптимальном уровне генетического разнообразия как необходимого условия существования популяции (Алтухов и др., 1997).

Первые генетические исследования азиатских популяций базировались на методах биохимической генетики. Они показали, что одной из особенностей генетической структуры популяций горбуши оказались существенные различия между поколениями горбуши, обычно называемых четными и нечетными. Данная особенность связана с двухлетним жизненным циклом горбуши поскольку после нереста все производители погибают. В настоящее время активно начали развиваться генетические исследования с использованием генов митохондриальной ДНК.

Цель работы – проанализировать первые сведения об уровнях генетического разнообразия в выборках горбуши четного и нечетного поколения. Использованы сборы из популяции р.Ола – самой многочисленной популяции горбуши среди прочих, размножающихся в реках Тауйской губы. На данном этапе исследования использован ген цитохром оксидазы субъединицы 1 мтДНК. Статистический анализ выполнен при помощи программ MEGA ver.6.0 и DNaSP ver. 5.10.01. Длина секвенированного участка фрагмента гена составила 486 нуклеотидов. Нуклеотидное разнообразие выборки (10 экз.) нечетного поколения (2015) составило  $\pi=0,004435$ ,  $p_s = 0,012346$  (шесть полиморфных сайтов). Гаплотипическое разнообразие  $Hd=0,844$ . Нуклеотидное разнообразие выборки (15 экз.) четного поколения (2016) составило  $\pi=0,000274$ ,  $p_s = 0,002058$  (один полиморфный сайт). Гаплотипическое разнообразие  $Hd=0,133$ . Полученные данные указывают на более низкий уровень генетического разнообразия в выборке четного поколения горбуши р. Ола. По мнению специалистов Института общей генетики РАН для возникновения существенных отличий между четными и нечетными поколениями существенно влияние генного дрейфа в

период изначальной дифференциации поколений (Алтухов и др., 1997). Благодаря «принципу основателя» возникшие генетические отличия сохранились в последующих поколениях. Высказанная гипотеза побудило возникновение иных объяснений причин наличия существенных генетических отличий между особями горбуши четных и нечетных поколений. Необходимы дополнительные исследования для проверки существующих гипотез.

### **Genetic diversity of cytochrome oxidase gene fragment mtDNA even and odd generation of pink salmon *Oncorhynchus gorbusha* river Ola (the Sea of Okhotsk)**

Pustovoit S.P.

*Institute of Biological Problem of the North, Norhen East State University, Magadan, Russia*

The first population-genetic studies of Asian populations of pink salmon made geneticists group led Yu.P.Altuhova in the 70s of the last century (Salmenkova et al. 1981). Selection of studies in the region - Sakhalin population - due to high numbers of salmon, making it one of the most important commercial species. Theoretical generalizations perennial materials allowed Yu.P.Altuhovu extended position of the optimal level of genetic diversity as a necessary condition for the existence of a population (Altukhov et al., 1997).

The first genetic studies of Asian populations based on the methods of biochemical genetics. They showed that one of the features of the genetic structure of populations of pink salmon were substantial differences between generations of salmon, commonly referred to as even and odd. This feature is associated with a two-year life cycle of salmon after spawning because all manufacturers are killed. Currently, genetic studies have begun to develop actively using mitochondrial DNA genes. The goal of the work - analyze the first data on the levels of genetic diversity in the samples of salmon odd and even generations. The population of river Ola - the largest population of pink salmon, among others, reproducing in rivers of Tauy Bay. At this stage, the study used gene cytochrome oxidase subunit 1 mtDNA. Statistical analysis was performed using the program MEGA ver.6.0 and DNaSP ver. 05.10.01. The length of the sequenced portion of the gene fragment was 486 nucleotides. Nucleotide diversity of the sample (10 individuals.) Odd-generation (2015) was  $\pi = 0,004435$ ,  $p S = 0,012346$  (six polymorphic sites). Haplotype diversity  $Hd = 0,844$ . Nucleotide diversity of the sample (15 individuals), even generation (2016) was  $\pi=0,000274$ ,  $pS = 0,002058$  (one polymorphic site). Haplotype diversity  $Hd = 0,133$ . These data indicate a low level of genetic diversity in the sample even river Ola generation of pink salmon. According to specialists of the Vavilov Institute of General Genetics RAS for the occurrence of significant differences between the odd and even generations significantly influence genetic drift during the initial differentiation of generations (Altukhov et al., 1997). Thanks to the "principle of the founder" arising genetic differences remained in subsequent generations. The hypothesis has prompted the emergence of other explanations for the presence of significant genetic differences between individuals salmon odd and even generations. More research is needed to test existing hypotheses.

### **Влияние солевого стресса на цитогенетическую структуру клеточных популяций каллусных культур тритикале озимого**

Пыкало С.В.<sup>1</sup>, Дубровная О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Мироновский институт пшеницы имени В.Н. Ремесло НААН Украины

<sup>2</sup>Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

Тритикале (*×Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus, 1927) – искусственный злак, полученный путём скрещивания пшеницы (*Triticum durum* Desf. или *Triticum aestivum* L.) и ржи (*Secale cereale* L.). К преимуществам тритикале относятся высокая урожайность и хорошее качество фуражного зерна. Засоление является одним из главных абиотических

стрессоров, которые влияют на жизнь культурных растений и значительно снижают их урожайность. Известно, что под воздействием солей в клеточной культуре *in vitro* возникают морфологические и цитохимические изменения ядер и ядрышек. Цель работы – изучить влияние солевого стресса на цитогенетическую структуру клеточных популяций каллусных культур тритикале озимого с использованием хлорида натрия в качестве стресс-фактора.

Материалом исследований были каллусные культуры, полученные из эксплантов верхушки побега 3-суточных стерильных проростков растений озимого гексаплоидного тритикале линии 38/1296. Каллусы высаживали на модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга с сублетальной концентрацией хлорида натрия 1.2 %, установленной нами в предыдущих исследованиях. Контролем служила среда без NaCl. Цитогенетический анализ каллусов проводили в период наивысшей митотической активности на 5–7 сутки культивирования в I, III и VI пассажах. Длительность пассажа составляла 21 суток. Подготовку временных давленных препаратов осуществляли по стандартной методике. Анализировали в среднем по 100–150 метафазных и анафазных пластинок в каждом варианте опыта. Цитогенетическое влияние хлорида натрия на культуру ткани тритикале определяли по изменению сочетания клеток разного уровня ploidy, частоте структурных перестроек хромосом и аномалий митоза.

В результате исследований, в клетках каллусов, культивируемых на селективной среде, было обнаружено значительное увеличение количества анеуплоидных, диплоидных и тетраплоидных клеток. Также наблюдали появление гаплоидных и пентаплоидных клеток. Достоверной разницы между контролем и опытом по количеству триплоидных клеток выявлено не было, а полиплоидные клетки почти не встречались. Наличие в среде сублетальной концентрации NaCl привело к увеличению частоты хромосомных aberrаций, в основном таких как хроматидные мосты и фрагменты. Были также выделены клетки с множественными нарушениями, то есть такие, что содержали как фрагменты, так и мосты. Нарушения митоза были в большинстве представлены мультиполярными митозами и отсталыми хромосомами. Кроме того, при наличии сублетальной концентрации NaCl увеличилась доля клеток с микроядрами, что является признаком апоптоза, нестабильности генома и показателем значительного генотоксического влияния хлорида натрия на клетки.

Таким образом, мы показали влияние солевого стресса на цитогенетическую структуру клеточных популяций каллусных культур тритикале озимого на протяжении шести пассажей культивирования с использованием хлорида натрия в качестве селективного агента. Цитогенетический анализ показал высокий уровень гетерогенности и значительных различий по цитологическими процессами между каллусными клетками, культивируемыми на селективных и контрольных средах. Установлено, что сублетальная концентрация хлорида натрия оказывает кластогенный эффект (хромосомные aberrации) и вызывает турбагенные нарушения (отсталые хромосомы, мультиполярные митозы и двухъядерные клетки) в каллусных клетках тритикале. Анализ генетической структуры клеточных популяций на протяжении культивирования с сублетальной концентрацией хлорида натрия обнаружил достоверное увеличение анеуплоидии и частоты сегрегации субгеномов пшеницы и ржи, проявляющейся ростом популяций клеток с уменьшенным количеством хромосом.

### **Effect of salt stress on cytogenetic structure of cell populations of callus cultures of winter triticale**

Pykalo S.V.<sup>1</sup>, Dubrovnaya O.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat, NAAS of Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine

Triticale (*×Triticosecale* spp. Wittmack ex A. Camus 1927) is an artificial grain obtained through the hybridization of wheat (*Triticum durum* Desf. or *Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.). Advantages of triticale are the high yielding capacity and good quality grains intended



for feed. Salinity is one of the major abiotic environmental stresses, which affect on plant life and significantly reduces crop yield. It is known that under the action of salt stress a number of morphological and cytogenetic changes in cells cultured *in vitro* occurs. The aim of the work is to study the effects of salt stress on cytogenetic structure of cell populations of callus cultures of winter triticale using sodium chloride as a stressor.

The materials for studies were callus cultures derived from shoot apex explants of 3-day-old sterile seedlings of winter hexaploid triticale line 38/1296. Calli were planted on the modified Murashige Skoog medium containing sublethal concentration of sodium chloride 1.2 % established in our previous studies. Callus cultures grown on the medium free of NaCl as stress factor was a control. The cytogenetic analysis was carried out on calli culturing on 5<sup>th</sup>–7<sup>th</sup> day during I, III and VI passages. Passage duration was 21 days. Pressed temporary samples were prepared according to standard procedures. On average 100-150 metaphase and anaphase plates were analyzed in each variant of the experiment. Cytogenetic effect of NaCl on the triticale tissue culture was determined by the change in the ratio of cells of different ploidy levels, frequency of chromosome aberrations and mitotic abnormalities.

Resulted from the research in calli cultivated on the selective medium a significant increase in the number of aneuploid, diploid and tetraploid cells was detected. Also the appearance of haploid and pentaploid cells was observed. A significant difference between the control and experiment in portion of triploid cells was not detected, and polyploid cells almost were never found. The presence in the medium of sublethal concentrations of sodium chloride resulted in increased frequency of chromosomal aberrations, mainly as chromatid bridges and fragments. There were also isolated cells from multiple disorders, i.e. those which contained simultaneously both fragments and bridges. Disturbances of mitosis were mainly presented by multipolar mitoses and lagging chromosomes. In addition, at the sublethal concentration of NaCl the part of cells with micronuclei increased being a character of apoptosis, genomic instability and a significant indicator for genotoxic effect of sodium chloride on cells.

Thus, we have observed effect of salt stress on cytogenetic structure of cell populations of callus cultures of winter triticale during six passages in culture using sodium chloride as a selective agent. Cytogenetic analysis showed a high degree of heterogeneity and significant differences in cytological processes between callus cells that were grown on selective vs. control media. It was established that sublethal concentration of sodium chloride has clastogenic effect (chromosome aberrations) and causes turbagenic disturbances (lagging chromosomes, multipolar mitoses and binuclear cells) in callus cells of triticale. Analysis of genetic structure of cell populations cultured under sublethal concentration of the sodium chloride has demonstrated significant increase in aneuploidy and frequency of segregation to wheat and rye subgenomes as well as prevalence of cell populations with reduced number of chromosomes.

### **Модель внезапной экспансии – ограничение применения в сложных ситуациях**

Распопова А.А.<sup>1</sup>, Землемерова Е.Д.<sup>1,2</sup>, Грицышин В.А.<sup>1</sup>, Лебедев В.С.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Зоологический музей МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

При исследовании демографической истории для оценки времени увеличения численности вида на той или иной территории нередко используется модель внезапной экспансии (Rogers and Harpending, 1992). Степень чувствительности этой, достаточно простой, модели к нарушению изначальных допущений, в частности, к подразделенности популяции, остается неясной.

Модель внезапной экспансии тестировалась нами в ситуации, когда современная популяция образуется в результате смешения двух прежде изолированных популяций. Подобная ситуация является реалистичной и может возникнуть, например, во время

последледникового расширения ареала, когда изолированные во время оледенения рефугиальные популяции испытывают рост численности и за счет увеличения скорости миграции/колонизации образуют смешанные популяции. Симуляции были проведены в программах fastsimcoal2 (ver 2.5.2.21) и Arlequin 3.1 с использованием параметров, соответствующих оценке демографической истории *Sorex araneus* L, 1758 (Mammalia, Lipotyphla).

Оценка времени экспансии ( $\tau$ ) демонстрирует бифазную зависимость от времени разделения популяций ( $t$ ) и оказывается несколько завышенной при невысоких  $t$  и существенно заниженной в случае, если  $t$  достаточно велико. Несмотря на то, что в последнем случае распределение попарных нуклеотидных дистанций оказывается мультимодальным, тесты Таджимы и Фу указывают на рост численности, а raggedness index и SSD не позволяют отвергнуть модель внезапной экспансии. По нашему мнению, при оценке времени экспансии популяции модель внезапной экспансии должна использоваться с осторожностью в тех случаях, когда можно подозревать смешанное происхождение популяции.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол\_а 16-34-00635 и РНФ 14-50-00029.

### **Sudden expansion model: limitations in complex situations**

Raspopova A.A.<sup>1</sup>, Zemlemerova E.D.<sup>1,2</sup>, Gritsyshin V.A.<sup>1</sup>, Lebedev V.S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of biology, MSU, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of ecology and evolution RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Zoological museum, MSU, Moscow, Russia*

To analyze the demographic history of populations researchers routinely employ the sudden expansion model (Rogers and Harpending, 1992). However, it remains unclear to what extent the model is robust to violation of the underlying assumptions, and, in particular to the presence of population subdivision.

We tested the performance of the sudden expansion model and the mismatch distribution analysis in a situation where the contemporary population originates as result of mixing between two ancestral populations that evolved in isolation for a certain time. Such scenario is realistic if we consider the post-LGM range expansion when glacial-refuge populations undergo demographic expansion and produce mixed populations due to increased migration/colonization rate. The simulations were performed in fastsimcoal2 (ver 2.5.2.21) / Arlequin 3.1 using model parameters that corresponded to estimated demographic history of *Sorex araneus* L, 1758 (Mammalia, Lipotyphla).

The results of the simulations indicate that the estimate of the expansion time ( $\tau$ ) shows a biphasic dependence on the time of divergence between the ancestral populations ( $t$ ). The expansion time is slightly overestimated for younger  $t$  but is substantially underestimated for larger  $t$ . Although in the latter case the mismatch distribution is pronouncedly bimodal neither raggedness index nor the SSD test reject the sudden expansion model while the neutrality statistics (Fu's S and Tajima's D) are significantly negative. As a conclusion, we suggest that the results of the mismatch distribution analysis should be treated with caution if the population admixture is plausible.

The study was supported in part by the RFBR grant 16-34-00635 mol\_a and RSF grant 14-50-00029.

## Эволюционные взаимоотношения обыкновенной и белошапочной овсянок – пример «кооперации видов»

Рубцов А.С.

Государственный Дарвиновский музей, Москва, Россия

Зона вторичного контакта обыкновенной (*Emberiza citrinella* L., 1758) и белошапочной (*E. leucosephala* Gm., 1771) овсянок простирается на 2,5 тыс. км от Уральских гор до озера Байкал. Доля фенотипических гибридов колеблется в разных частях зоны от 10% до 60%, но даже там, где гибриды составляют большинство, гибридизация носит ограниченный характер: в популяции сохраняется значительная доля особей родительских видов, у которых отсутствуют какие-либо фенотипические признаки, указывающие на их гибридное происхождение. Анализ литературных данных позволяет заключить, что характер взаимоотношений изучаемых видов подвержен существенной динамике, как во времени, так и в пространстве. В начале XX века зона контакта была локализована, вероятно, в северо-западных предгорьях Алтая и Кузнецкого Алатау и продолжает расширяться как за счет расселения обыкновенной овсянки на восток, так и белошапочной овсянки – в западном направлении. В настоящее время в центральной (наиболее древней) части зоны контакта белошапочная овсянка редка или полностью отсутствует, обыкновенная овсянка обычна, а фенотипические гибриды составляют до 45% численности популяции. На западной (юг Тюменской обл.) и восточной (Иркутская обл.) оба родительских вида обычны и встречаются примерно в равных пропорциях, а доля фенотипических гибридов не превышает 25%. Ограничению гибридизации способствует, в частности, частичная биотопическая сегрегация. В горных и холмистых районах белошапочная овсянка предпочитает селиться по разреженным лиственничникам горных склонов, а обыкновенная – по смешанным березово-еловым лесам речных долин. На равнине белошапочная овсянка более охотно занимает захламленные вырубki и гари с еще не сформировавшимся подлеском, а обыкновенная – кустарниковые опушки и березовые колки. Изложенные данные позволяют заключить, что уровень гибридизации между изучаемыми видами возрос недавно, вероятно, не более 300 лет назад, в результате усиления антропогенной нагрузки, выражающейся в увеличении мозаичности природных местообитаний овсянок. Однако молекулярно-генетические исследования приводят к принципиально другим выводам. Два вида не отличаются друг от друга по частотам гаплотипов мтДНК, и генетическая дистанция между наиболее дивергировавшими гаплотипами существенно меньше генетической дистанции между двумя другими видами рода (огородной овсянкой *E. circlus* и овсянкой Стюарта *E. stewarti*), состоящих с ними в наиболее близком эволюционном родстве. В то же время, по ядерной ДНК (AFLP-анализ и секвенирование интрона CHD1Z) оба вида надежно различаются, а генетическая дистанция между видоспецифичными гаплотипами соответствует межвидовым различиям. Кладистический анализ, проведенный по морфологическим признакам (морфометрическим и брачной окраски самцов) и признакам песни, показал, что обыкновенная овсянка эволюционно более близка к огородной овсянке, а белошапочная – к овсянке Стюарта. По всей видимости, в результате длительной гибридизации у обыкновенной овсянки произошло заимствование митохондриального генома белошапочной овсянки с последующим замещением собственного. Вероятно, эволюционные взаимоотношения этих двух видов носили циклический характер, включая стадии географической изоляции, вторичного контакта и поглощающей гибридизации. Хотя гибридизация оказывает существенное влияние на геномы изучаемых видов, она практически не влияет на их фенотипические различия (признаки брачной окраски). Оба вида находятся в состоянии биологического прогресса (по А.Н. Северцову), и их взаимоотношения можно рассматривать как пример «эволюционной кооперации видов».

## **Evolutionary relationship between Yellowhammer and Pine Bunting – the case of «species cooperation»**

Rubtsov A.S.

*State Darwin museum, Moscow, Russia*

The zone of sympatry and hybridization between the yellowhammer (*Emberiza citrinella* L., 1758) and the pine bunting (*E. leucocephala* Gm., 1771) spreads more than 2500 km from the Ural Mountains to Baikal Lake. The part of phenotypic hybrids varies in different parts of the zone from 10% to 60%, but even in places where hybrids are predominated, hybridization is restricted: in the population there are sufficient parts of birds with phenotypes of parent species with absent of any hybridogenous characters. Analysis of literature allows to conclude that the relationship between the species under investigation differ in space and time. In the beginning of XX century the contact zone seems to be localized in the mount hills of Altai and Kuznetsk Alatau and has being widening now in both direction: eastward due to yellowhammer and westward due to pine bunting. At present time in populations of central (oldest) part of contact zone the pine bunting is rare or absent, yellowhammer is common and the part of phenotypic hybrids reach to 45%. On western (south of Tumen' region) and eastern (Irkutsk region) parts of contact zone the both species are common and the part of phenotypic hybrids is no more than 25%. Some biotopic segregation promote the restriction of hybridization. In mountain and hilly localities pine bunting prefer the light larch forests of hillsides, and yellowhammer – the mixed birch-fir forests of river valleys. In plains pine bunting readily inhabits the cluttered clearings and burnings in the forest, and yellowhammer – the shrub forest borders, glades and small birch groves. Based on these data we can conclude than the level of hybridization between the two bunting species increased recently, perhaps no more than 300 years ago, due to human influence (mosaicism increasing) on their natural habitats. But the molecular-genetic analysis leads to another conclusion. The two taxa do not differ significantly in frequencies of mtDNA haplotypes, and the genetic distance between the most divergent haplotypes is remarkably low in comparison with the two other species (cirl bunting *E. cirrus* and chestnut-breasted bunting *E. stewarti*), which are evolutionary closely related to the species under investigation. In contrast, nuclear DNA (as sampled using AFLP markers and sequencing of the nuclear gene CHD1Z) differs clearly between the two species; the genetic distance between species-specific haplotypes is comparable to that within other species pair. The cladistic analysis performed on morphological (morphometric and males' coloration) and song characters indicate that yellowhammer is closely related to cirl bunting, and pine and chestnut-breasted bunting form another smallest cluster. Perhaps, during the long-time hybridization there was borrowing and replacing the alien's mitochondrial genome by yellowhammer. During their history of divergence the two species may have experienced multiple cycles of geographic isolation, secondary contact, and introgressive hybridization. Hybridization has had considerable impact on the species genomes, but the two taxa still maintain their phenotypic differences (basically in male coloration). The both, yellowhammer and pine bunting, are in the biological progress (by A.N. Severtsov), and their relationship may be considered as “evolutionary species cooperation”.

### **Внутрипопуляционные и межпопуляционные закономерности изменчивости радиального прироста древесных растений**

Румянцев Д.Е., Чернышенко О.В., Сиротова А.А.

*Мытищинский филиал Московского государственного технического университета им. Н. Баумана, Мытищи, Московская обл., Россия*

Большую роль в развитии представлений о полиморфизме количественных признаков растений сыграли работы В.А. Драгавцева (1995 и др.) В контексте анализа дендрохронологической информации из них следует: генотип дерева неизменен от года к

году, в то же время ширина годичного кольца колеблется. Эти колебания ширины годичного кольца являются индикатором комплексов генов (адаптивных полигенных систем), ответственных за наследственные экологические свойства генотипа (например, различного рода формы устойчивости к засухе). Сопоставляя две группы деревьев, отличающихся по фенотипическим признакам и сводя к минимуму эдафические, орографические, возрастные и фитосоциальные отличия между ними мы можем вести анализ данных групп деревьев (фенотипов) по наследственным экологическим свойствам. Например, существовало мнение, что острочешуйчатые формы ели европейской более засухоустойчивы, чем тупочешуйчатые формы. Это мнение не подтвердилось в результате наших исследований. В то же время было показано, что острочешуйчатые формы действительно проявляют тенденцию к более быстрому росту, что было объяснено нами с эволюционной точки зрения. Аналогично, существует мнение о высоком наследственно заданном темпе роста радиального роста как причине высокой устойчивости осины к гнили. Данную гипотезу легко проверить дендрохронологическими методами, что было выполнено нами на материале популяций осины из Молокчинском ботанико-энтомологическом заказника (Московская область) и Центрально-лесного заповедника (Тверская область). В результате, версия долгие годы преваляровавшая в отечественной лесной науке не подтвердилась. По результатам исследований есть основания полагать, что наблюдающийся в исследуемых популяциях полиморфизм по устойчивости к гнили может быть обусловлен разным химизмом и биостойкостью древесины, что открывает перспективы для дальнейшего исследования полиморфизма методами молекулярной биологии.

Известно, что в силу стационарного положения особей дерева одной популяции формируют в древостое некоторую генетическую структуру, которая может быть либо упорядоченной, либо рендомизированной. Этим вероятно определяются эволюционно сформировавшиеся отличия древесных пород по наследственно заданным темпам роста в высоту и по диаметру. Формирование генетических кластеров, в совокупности с однородностью условий экотопа обуславливает биологическую основу для индентификации места происхождения срубленной древесины на основе дендрохронологической информации. В результате в модельных экспериментах частота правильной идентификации места происхождения образцов древесины (таксационный квартал и выдел) приближалась к 100%. Однако следует подчеркнуть, что точность идентификации как и в любом другом научном эксперименте определяется изначально заданными параметрами. Поэтому разработанная нами система на практике скорее применима в рамках добровольной сертификации лесопользователей, чем в рамках судебно-ботанической экспертизы.

Кратковременные колебания ширины годичного кольца это комплексная оценка генофонда, эффект от взаимодействия множества аллелей, прежде всего «значимых» для формирования экологической ниши вида, популяции, древесного индивида. Правильным образом организованный анализ дендрохронологической информации может служить вспомогательным инструментом филогенетических исследований, что в частности было нами продемонстрировано при исследованиях в коллекции рода *Picea* Dietr. Главного Ботанического сада РАН. В частности, было показано, что вероятный «первопредок» рода был близок по своей экологической нише к ели сербской, в настоящее время сохранившейся в природе как реликтовый вид.

В области лесного хозяйства для повышения продуктивности и устойчивости лесов имеют значение исследование внутриареальной географической изменчивости вида по наследственным свойствам, что осуществляется в опытах с географическими культурами. Селекционное испытание генотипов в лесных культурах может вестись с учетом использования дендрохронологической информации. Так в наших исследованиях, с использованием расчетов рангового коэффициента корреляции удалось показать адекватную возможность ранней диагностики отличий экотипов ели по качеству древесины (доле поздней древесины в годичном кольце), однако невозможность ранней дифференциации экотипов на быстро и медленно растущие.

В целом, так как все деревья зоны умеренного климата обладают годичными кольцами, а погодичные колебания ширины колец несут информацию о генотипе дерева, то спектр использования дендрохронологической информации в эволюционно-генетических и селекционно-генетических исследованиях может быть чрезвычайно широк. Она может служить основой для выявления и отбора в природе ценных форм, пригодных для целей дальнейшего микроклонального размножения. Привлечение к исследованиям специалистов разного профиля, в том числе и дендрохронологических методов поможет дальнейшему накоплению информации и углублению наших знаний в данной сфере, расширению сферы практического использования дендрохронологических методов.

### **Intra- and inter- population principles of radial growth changeability of woody plants**

Rumyantsev D.E., Chernyshenko O.V., Sirotova A.A.  
*Mytischy Branch of Bauman Moscow State Technological University,  
Mytischy, Moscow region, Russia*

All trees in moderate climatic zone have annual rings. Ring width fluctuations according to years give us information about tree genotype. That is why the area of using dendrochronological information in evolutionary-genetic and selection-genetic research can be extremely big. Dendrochronological information can be a basis for identification and selection in nature of valuable forms useful for microclonal propagation.

### **Генетический полиморфизм у дождевых червей с техногенно загрязненной территории**

Рыбак А.В., Майстренко Т.А., Белых Е.С., Велегжанинов И.О., Шадрин Д.М.,  
Пылина Я.И., Чадин И.Ф.  
*Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия*

В процессе микроэволюции, обусловленной антропогенным загрязнением окружающей среды, или «микроэволюции из-за загрязнения», могут происходить существенные генетические изменения как у индивидуальных организмов, так и в популяциях в целом. Цель исследования заключалась в оценке уровня генетического полиморфизма в группах дождевых червей *Aporrectodea caliginosa*, более 50 лет обитающих на участках с разной степенью радиоактивного и химического загрязнения. Четыре исследуемых участка (два незагрязнённых, средне и сильно загрязненные участки) с разным уровнем техногенного загрязнения расположены вблизи пос. Водный (Республика Коми), где с 1931 по 1956 гг. осуществлялась добыча радия. В почвах участков определены удельные активности тяжелых естественных радионуклидов ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{230}\text{Th}$ ,  $^{228}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{210}\text{Po}$ ,  $^{210}\text{Pb}$ ), концентрации тяжелых металлов (Cu, Pb, Cd, Zn, Ni, Co, Cr, Hg) и As. Удельные активности  $^{226}\text{Ra}$  в почвах участков 1, 2, 3, 4 составили  $163 \pm 41$ ,  $33.4 \pm 2.9$ ,  $878 \pm 245$  и  $22260 \pm 4779$  Бк/кг соответственно.

Анализ генетического разнообразия провели с помощью метода полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP). Получено и проанализировано 300 аллелей. Между образцами внутри групп и между группами определяли генетические расстояния. Внутривидовое генетическое разнообразие в группах определяли с помощью таких показателей, как процент полиморфных локусов и индекс Шеннона, рассчитанных в программе GenAlEx 6.5. Для анализа генетической структуры всех исследуемых групп дождевых червей применяли дискриминантный анализ главных компонент (DAPC) с помощью пакета *adegenet* для программы R и байесовский кластерный анализ в программе STRUCTURE. Установлено, что степень полиморфных локусов в исследуемых группах *A. caliginosa* составляет 65–70%. Величины генетического разнообразия в группах дождевых червей, определенные по индексу Шеннона, достоверно не отличаются друг от друга.

Указанные выше факты дают основание предполагать, что генетическое разнообразие на загрязненных участках не изменилось с момента появления техногенного загрязнения. С использованием дискриминантного анализа во внутривидовой генетической структуре выявлено три изолированных генетических кластера, что подтверждается результатами, полученными при использовании байесовского кластерного анализа в STRUCTURE.

### **Genetic polymorphism in earthworms from anthropogenically contaminated territory**

Rybak A.V., Maystrenko T.A., Belykh E.S., Velegzhaninov I.O., Shadrin D.M., Pylina Ya.I.,  
Chadin I.F.

*Institute of Biology of Komi Scientific Center of Ural Branch of RAS, Syktyvkar, Russia*

In the process of microevolution, caused by the anthropogenic environment contamination, or “microevolution due to pollution”, can occur the serious genetic changes in the individual organisms in particular and in the populations in general. The aim of our investigation was to assess the level of genetic polymorphism in earthworms *Aporrectodea caliginosa*, inhabiting more than 50 years on the sites with the different degree of radioactive and chemical contamination. The four sites (two uncontaminated, medium and heavy contaminated sites), characterized by the different level of anthropogenic contamination, were situated near the Vodny settlement (Komi Republic), where the radium production was carried out since 1931 to 1956. The activity concentrations of heavy natural radionuclides ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{230}\text{Th}$ ,  $^{228}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{210}\text{Po}$ ,  $^{210}\text{Pb}$ ), the concentrations of the heavy metals (Cu, Pb, Cd, Zn, Ni, Co, Cr, Hg) and As were determined in the soils of the sites. The activity concentrations of  $^{226}\text{Ra}$  in soils of the sites 1, 2, 3, 4 were  $163 \pm 41$ ,  $33.4 \pm 2.9$ ,  $878 \pm 245$  and  $22260 \pm 4779$  Bq/kg respectively.

The genetic analysis was conducted using the method of amplified fragment length polymorphism (AFLP). Three hundred alleles were obtained and analyzed. The genetic distances between the samples in the groups of earthworms and between the groups of the earthworms were determined. The intraspecific genetic diversity in the groups of the earthworms was defined by the percent of polymorphic loci and Shannon index, calculated in GenAlEx 6.5 software. The analysis of the genetic structure of the earthworms from all sites was performed by the Discriminant Analysis of Principle Component (DAPC) with *adegenet* package for R software and Bayesian clustering analysis implemented in STRUCTURE software. The proportion of polymorphic loci in groups of *A. caliginosa* was 65–70%. The genetic diversity, defined by Shannon index, was not significantly different from each other. The above mentioned facts give the right to assume, that the genetic diversity in groups of the earthworms on the contaminated sites has not changed since the advent of anthropogenic pollution. Three isolated genetic clusters in intraspecific genetic structure were detected using DAPC, that this is confirmed by the same results from Bayesian clustering analysis in STRUCTURE.

### **Генетическое разнообразие оседлого населения Приазовья рубежа скифского и сарматского времени**

Рычков С.Ю.<sup>1</sup>, Батиева Е.Ф.<sup>2</sup>, Кулланда С.В.<sup>3</sup>, Ковалевская В.Б.<sup>4</sup>, Грошева А.Н.<sup>1</sup>,  
Морозова И.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Институт аридных зон ЮНЦ РФН, Ростов-на-Дону, Россия*

<sup>3</sup>*Институт востоковедения РАН, Москва, Россия*

<sup>4</sup>*Институт археологии РАН, Москва, Россия*

Закат Скифии и появление в Приазовских степях новой волны ираноязычных кочевников – сарматов сопровождалось значительными изменениями в структуре оседлого населения Приазовья. Смена степных номадов, по результатам исследования памятников

материальной культуры, не оказала значительного влияния на культурно-хозяйственный уклад населения региона, однако отмечаемые антропологами значительные различия в разнообразии оседлого населения скифского и сарматского времени ставят вопрос о генетической преемственности населения этих эпох. Для решения этой проблемы было исследовано разнообразие линий митохондриальной ДНК в популяциях оседлого населения скифской (VI – III вв. до н.э.) и сарматской (I в. до н.э. – III в. н.э.) эпох. Материалом для исследования послужили палеоантропологические останки из могильников Елизаветинский, Беглицкий и Каратаевский скифского времени и Гниловской, Кобяковский и Виноградный I сарматской эпохи, а также данные о генетическом разнообразии кочевников предскифского, скифского и сарматского времени.

Результаты исследования показали, что оседлое население скифского времени отличалось чрезвычайной гетерогенностью, как в плане генетического разнообразия, так и в плане антропологических и культурных признаков. В разнообразии линий из Елизаветинского и Беглицкого могильников был обнаружен значительный восточно-евразийский компонент, однако результаты филогеографического анализа указывают на совершенно разные географические регионы. Линии восточно-евразийского пула, обнаруженные в Елизаветинском могильнике, распространены главным образом на юго-востоке Евразии, в то время как линии, обнаруженные в Беглицком могильнике, – на северо-востоке. В то же время, в выборке из Каратаевского могильника линии восточно-евразийского пула вообще не были обнаружены. Важно, что компонентный состав генетических линий в изученном оседлом населении скифского времени коррелирует с одним из важнейших признаков материальной культуры – типом могильников. Так, Елизаветинское городище, имеющее максимальную частоту восточно-евразийского компонента, характеризуется исключительно курганными могильниками; Каратаевская крепость, в населении которой обнаружен только западно-евразийский компонент, характеризуется исключительно грунтовыми могильниками; тогда как Беглицкий некрополь с промежуточным соотношением восточно- и западно-евразийского компонентов характеризуется как подкурганными, так и грунтовыми погребениями. В целом, полученные данные указывают на значительную гетерогенность оседлого населения Приазовья VI – III вв. до н.э. Материалы из могильников сарматского времени указывают на то, что оседлое население Приазовья в I в. до н.э. – III в. н.э. было значительно более гомогенным. Несмотря на широкий географический охват, от Прикубанья до нижнего течения Дона, сравнительный анализ обнаруженного разнообразия хотя и указывает на некоторые межпопуляционные различия между исследованными выборками, но никаких значимых различий не обнаруживает. Из состава линий, обнаруженных в исследованных выборках, практически полностью исчезает, столь разнообразный в скифскую эпоху, восточно-евразийский компонент. Обнаруженная картина, позволяет считать, что оседлое население сарматского времени Дона и Кубани явно имеет общий генезис, в целом соответствуя гипотезе о миграции, в конце I тысячелетия, населения Прикубанья в Подонье.

В целом, сравнение состава генетических линий в оседлом населении Приазовья рубежа скифской и сарматской эпох, хотя и указывает на наличие некоторой генетической преемственности, но обнаруживает различий значительно больше чем сходства. Значительные изменения в генетическом разнообразии населения на рубеже эпохи сармат позволяют связать их со значительной, если не кардинальной сменой населения на переломе эпох.



## The genetic diversity of settled population of Cis-Azov region of the Scythian and Sarmatian time

Rychkov S.Yu.<sup>1</sup>, Batieva E.F.<sup>2</sup>, Kullanda S.V.<sup>3</sup>, Kovalevskaya V.B.<sup>4</sup>, Grosheva A.N.<sup>1</sup>,  
Morozova I.Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup> *Institute of Arid Zones SSC RAS, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>3</sup> *Institute of Oriental Studies RAS, Moscow, Russia*

<sup>4</sup> *Institute of Archeology RAS, Moscow, Russia*

Sunset of Scythia and appearance of a new wave of Iranian-speaking nomads – the Sarmatians, in the steppes of Cis-Azov region, was accompanied by significant changes in the structure of the settled populations of the region. The change of steppe nomads, according to the results of investigations of the monuments of material culture, did not have a significant impact in the cultural and economic life style of the region's inhabitants, but the significant differences in the diversity of settled population of the Scythian and Sarmatian time, found out according to results of anthropological markers studies, raise the question about the genetic succession of the inhabitants of these epochs.

To solve this problem, a diversity of mitochondrial DNA lineages was studied in the populations of the settled population of the Scythian (VI – III cc. BC) and Sarmatian (I c. BC – III c. AD) epochs. The material for the study was paleoanthropological remains from the graves of Elizavetinsky, Beglitsky and Karataevsky of Scythian time, and Gnilovskoy, Kobyakovsky and Vinogradniy I of the Sarmatian time, as well as data on the genetic diversity of the nomads of the pre-Scythian, Scythian and Sarmatian epochs.

Results of the study showed that the settled population of Scythian time was extremely heterogeneous, both in terms of genetic diversity, and in terms of anthropological and cultural features. In the variety of lines from the Elizavetinsky and Beglitsky burials, a significant East Eurasian component was found, but the results of phylo-geographical analysis point to the completely different geographic regions. The DNA lineages of the Eastern Eurasian pool, found in the Elizavetinsky burial ground, are distributed mainly in the southeast of Eurasia, while the lines found in the Beglitsky burial ground are in the northeast. At the same time, in the samples from the Karataevsky burial ground, the DNA lineages of the Eastern Eurasian pool were not found at all. It is important that the component composition of genetic lineages in the studied sedentary population of Scythian time correlates with one of the most important signs of material culture – the burial rite. Thus, the Elizabethan settlement, which has the maximum frequency of the eastern Eurasian component, is characterized exclusively by burial cemeteries; The Karataevskiy fortress, where only the western Eurasian pool lineages was found, is characterized exclusively by ground graves, while the Beglytsky necropolis with an intermediate ratio of Eastern and Western Eurasian pools DNA lineages is characterized by both kurgans, and soil burials. In general, the data obtained indicate a significant heterogeneity of the sedentary population of the Azov Sea region of the VI-III centuries BC. Materials from the burial grounds of the Sarmatian time indicate that the sedentary population of the Azov Sea region in the I century BC – III century AD was much more homogeneous. Despite the wide geographic coverage, from the Kuban to the lower course of the Don, a comparative analysis of the found diversity, although indicating some interpopulation differences between the samples, does not reveal any significant differences. From the composition of the DNA lineages found in the studied samples, the East Eurasian component, which is so diverse in the Scythian period, practically disappears completely in the Sarmatian time. The picture revealed allows us to assume that the settled population of the Sarmatian time of the Don and the Kuban has a partly common ancestry, on the whole corresponding to the hypothesis of migration, at the end of the first millennium, of part of the settled population of the Kuban region to the region of lower course of the Don.

In general, the comparison of the genetic lineages composition in the settled population of the Azov Sea region at the turn of the Scythian and Sarmatian epoch, indicates the presence of some genetic continuity, but reveals differences much more than similarities. Significant changes in the genetic diversity of the population at the turn of the Sarmatian epoch make it possible to link them with significant changes in the population structure at the turn of the epochs.

### **Дифференциация минтая Охотского моря по микросателлитным локусам**

Савенков В.В., Пильганчук О.А., Шпигальская Н.Ю., Денисенко А.Д.  
*Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии  
(КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский, Россия*

С середины прошлого века минтай является важным промысловым объектом промысла. Для сохранения этого ценного вида, необходим постоянный мониторинг состояния запаса, который невозможен без понимания популяционной структуры вида. Продолжительный период исследований охотоморского минтая до сих пор не дал четкого представления о подразделенности минтая на внутривидовые структурные единицы. В разные годы исследователи выделяли от двух (Фадеев, 1975; Зверькова, 1981) до девяти (Флусова, Богданов, 1986; Флусова, 1987) популяций. По результатам других научных работ высказывается мнение, согласно которому каждой популяции соответствуют определенные нерестовые районы (Пушников, 1978; Вышегородцев, 1981). Так же существует гипотеза о том, что охотоморский минтай представляет собой суперпопуляцию (Шунтов и др., 1993). В более поздней работе В.В. Кузнецова с соавт. (2008) обосновывается точка зрения о том, что минтай Охотского моря представляет собой сложноорганизованную структуру, низшим уровнем которой являются популяционные единицы, связанные с районами, благоприятными для нереста. Целью данного исследования является оценка уровня дифференциации минтая Охотского на основе аллельной изменчивости микросателлитных локусов. Материалом послужили 25 выборок из нерестовых скоплений в Охотском море (прикамчатские воды Охотского моря; залив Шелихова; Притауйский район; возвышенность Лебеда; Ионо-Аянский район; район, прилегающий к северо-восточному побережью о. Сахалин; воды, прилегающие к Южным Курильским островам). Общий объем материала составил 1184 экз. Были исследованы десять микросателлитных локусов (*Gmo3*, *Gmo35*, *Gmo34*, *PGmo32*, *Gmo-G18*, *Gmo-C83*, *Gmo-C86*, *Gma102*, *Gma106*, *Gma108*), в которых выявлено 186 аллельных вариантов. Наибольший вклад в дифференциацию выборок внесли локусы *Gma106* (37 аллелей,  $\theta_{st}$  – 1,0%) и *PGmo32* (11 аллелей,  $\theta_{st}$  – 0,60%). Оценки достоверности попарных различий между 25-ю выборками по частотам аллелей микросателлитных локусов показали, что две выборки из Ионо-Аянского района и одна из района, прилегающего к Камчатке, достоверно отличаются от большинства выборок, включенных в анализ. Кластерный анализ, выполненный на основе метода «ближайшего соседа», сходства между географически близкими выборками не выявил. Результаты иерархического анализа генетической изменчивости показали характерный для массовых морских видов рыб очень высокий уровень внутривыборочной изменчивости. В целом, при анализе всех 25-ти выборок выявить какие-либо закономерности в оценках их дифференциации не удалось. На следующем этапе исследования выборки были объединены в 7 групп в соответствии с указанными ранее районами их сбора. В таком варианте анализа кластеризация объединенных выборок происходит в соответствии с принадлежностью к западной и восточной частям Охотского моря. Генетически наиболее близкими оказались особи из Ионо-Аянского района и района, прилегающего к северо-востоку о. Сахалин. Таким образом, на основе аллельной изменчивости микросателлитных локусов можно предположить наличие подразделенности минтая Охотского моря только на уровне северо-восточной и западной группировок. В пределах северо-восточной и западной частей

Охотского моря статистически достоверная генетическая дифференциация минтая не выявлена.

### **Differentiation of walleye pollock of the Okhotsk Sea at microsatellite loci**

Savenkov V.V., Pilganchuk O.A., Shpigalskaya N.Yu., Denisenko A.D.  
*Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography (KamchatNIRO),  
Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia*

Since the middle of the last century walleye pollock was an important commercial object for fishery. A longterm sustainability of this valuable species can be provided on the base of stock abundance monitoring, impossible in case of misunderstanding the population structure. Meantime, a long period of researches of walleye pollock in the Okhotsk Sea has not resulted in a clear insight about structural units of walleye pollock yet. In different years researchers had figured out from two (Fadeev, 1975; Zverkova, 1981) to nine (Flusova, Bogdanov, 1986; Flusova, 1987) populations. There was an idea that every walleye pollock population spawns in a certain area (Pushnikov, 1978; Vyshegorodtsev, 1981). It was hypothesized also, that in the Okhotsk Sea walleye pollock live as a superpopulation (Shuntov et al., 1993). It was suggested later in the work by V.V. Kuznetsov et al. (2008), that in the Okhotsk Sea walleye pollock has a complex structure, where the lowest level consists of population units, having own convenient spawning grounds. The purpose of this research was to estimate the differentiation level of walleye pollock in the Okhotsk Sea on the base of allele variations of microsatellite loci. The material sampled for the analysis included 25 samples from the spawning aggregations in the Okhotsk Sea (West Kamchatka; Shelikhov Gulf; Pritauyskiy district; Lebed Highland; Iono-Ayansky district; the area adjacent North-East Sakhalin; the area adjacent South Kuril islands). The total sample consisted of 1184 fishes. Ten microsatellite loci (*Gmo3*, *Gmo35*, *Gmo34*, *PGmo32*, *Gmo-G18*, *Gmo-C83*, *Gmo-C86*, *Gma102*, *Gma106*, *Gma108*) were examined, where 186 allele variants had been found. The main contribution to differentiation of the samples issued from the loci *Gma106* (37 alleles,  $\theta_{st} - 1,0\%$ ) and *PGmo32* (11 alleles,  $\theta_{st} - 0,60\%$ ). Analysis of the pairwise difference reliability among 25 samples on the allele frequencies of microsatellite loci had demonstrated, that two samples from the Iono-Ayansky district and one from the area adjacent Kamchatka were reliably different from majority of samples analyzed. The cluster analysis, carried out on the base of the «nearest neighbour» method, had not revealed similarity between geographic neighbours. Results of the genetic variation hierarchical analysis demonstrated true high variety within the samples, what is normal for mass ocean fish species. In general, analyzing all 25 samples did not bring any differentiation patterns. In next stage of the research the samples were united into 7 groups according the sampling areas mentioned above. In such variant of the analysis the samples from the Okhotsk Sea splitted into western and eastern clusters. In genetical sense the most similar samples were fishes from the Iono-Ayansky district and the area adjacent North-East Sakhalin. It can be suggested in this way, that walleye pollock of the Okhotsk Sea can be differentiated on the base of the allele variety of the microsatellite loci as western or eastern, although genetic reliable difference within the north-eastern or western groups is absent.

### **Межгенные взаимодействия при формировании хромосомных нарушений у русских жителей Западной Сибири, контактирующих с мутагенами производственной среды угольных теплоэлектростанций**

Савченко Я.А., Минина В.И., Баканова М.Л., Рыжкова А.В., Соболева О.А.  
*Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН, Кемерово, Россия*

Исследования, выполнявшиеся в различных популяциях мира, позволили выявить наличие широкого разнообразия в индивидуальном ответе организма на действие

повреждающих агентов внешней среды. Условия труда на угольных теплоэлектростанциях характеризуются наличием ряда негативных вредных факторов, способных вызывать формирование хромосомных aberrаций (ХА). Интенсивность хромосомного мутагенеза зависит не только от свойств мутагенного фактора, но и от конституциональных особенностей организма, определяемых генетическим полиморфизмом ферментов, обеспечивающих стабильность генома (биотрансформация ксенобиотиков, репарация ДНК и др.). В то же время, эффекты отдельных локусов оказались крайне неоднозначными, что может быть связано как с многообразием действующих факторов среды, так и с особенностями ген-генных взаимодействий у представителей различных этнических групп, популяций в условиях воздействия генотоксикантов производственной среды. Целью исследования явился анализ взаимодействия генов при формировании aberrаций хромосом в группе работников угольных теплоэлектростанций, унифицированной по этнической принадлежности, географии места проживания и работы.

Было обследовано 402 человека. Все обследованные были русской национальности. Опытную группу (N=202), составили рабочие двух угольных теплоэлектростанций г. Кемерово (Западная Сибирь, Кемеровская область): Кемеровской ГРЭС и Кемеровской ТЭЦ (средний возраст 43 года). Группу контроля (N=200 человек) составили условно здоровые индивиды, доноры со станции переливания крови г. Кемерово (средний возраст 42 года), не работающие на производстве. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь. Для анализа полиморфных локусов генов выделяли геномную ДНК из периферической крови с помощью метода фенол-хлороформной экстракции. Протяженные делеции в генах *GSTM1* и *GSTT1* анализировали методом мультиплексной ПЦР с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени (ООО «СибДНК», г. Новосибирск). Полиморфизм генов *CYP1A1* (*rs4646903*), *CYP1A2* (*rs762551*), *MTHFR* (*rs1801133*), *MTR* (*rs1805087*), *Tp53* (*rs1042522*) изучали с использованием технологии конкурирующих TaqMan-зондов. Полиморфизм генов *XRCC1* (*rs25489*, *rs25487*), *APEX1* (*rs1130409*), *hOGG1* (*rs1052133*), *ADPRT* (*rs1136410*), *XPD* (*rs13181*), определяли методом аллель-специфической ПЦР с использованием наборов «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», г. Москва). Подготовку препаратов хромосом проводили по стандартному полумикрометоду. Статистическую обработку выполняли с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0». Для частоты ХА рассчитывали средние значения и их стандартные ошибки. Для сравнения групп использовали ранговый U-тест Манна-Уитни. Для выявления ассоциации полиморфных вариантов генов с высоким уровнем ХА использовали логистическую регрессию. Силу ассоциации анализируемых признаков определяли с помощью величины отношения шансов ( $OR_{adj}$ ). Принимая во внимание проблему множественных сравнений, для исключения ошибки первого типа использовали поправку на множественность сравнений  $p_{cor}$  (поправка Бонферрони). Для оценки порогового значения показателя частоты ХА проводили ROC-анализ. Для исследования межгенных взаимодействий использовали метод Multifactor Dimensionality Reduction (MDR).

Было установлено статистически значимое увеличение клеток с aberrациями хромосом у рабочих угольных теплоэлектростанций по сравнению с индивидами группы контроля –  $3.83 \pm 0.18\%$  и  $1.98 \pm 0.12\%$  соответственно ( $U_{M-W}=11022.00$ ;  $p=0.00001$ ). Распределение генотипов изученных полиморфных локусов в опытной и контрольной группах соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов между группой рабочих и контролем выявлено не было. Анализ уровня ХА в зависимости от изученных полиморфных локусов выявил, что в опытной группе у рабочих с генотипом *TC* гена *CYP1A1* частота клеток с хромосомными нарушениями составила  $4.91 \pm 0.41\%$ , что статистически значимо выше, чем у рабочих с генотипом *TT* –  $3.58 \pm 0.20\%$  ( $p_{cor}=0.03$ ;  $p_{adj}=0.01$ ;  $OR_{adj}=0.86$ ; 95% CI 0.74-0.98). У рабочих с генотипом *GG* гена *hOGG1* уровень ХА составил  $5.86 \pm 0.74\%$  и был статистически значимо выше, чем у рабочих с генотипом *CC* –  $3.39 \pm 0.22\%$  ( $p_{cor}=0.04$ ;  $p_{adj}=0.00003$ ;  $OR_{adj}=0.77$ ; 95% CI 0.65-0.89). В группе контроля взаимосвязи частоты ХА с

полиморфными вариантами изученных генов не было зафиксировано. Посредством ROC-анализа было рассчитано пороговое значение уровня ХА (2.5%), которое позволило условно разделить опытную группу на выборки с низкой и высокой частотой ХА. С помощью MDR-анализа были выявлены три 3-хлокусные модели, которые имели наибольшую значимость для формирования ХА у рабочих угольных теплоэлектростанций. Первая модель включала в себя гены: *CYP1A1* (3801T>C), *CYP1A2* (-163C>A), *GSTT1* (del). Вторая модель включала в себя гены: *APEX1* (444T>G), *XRCC1* (1196A>G), *Tp53* (215 C>G). Третья модель включала полиморфные варианты генов: *MTHFR* (677C>T), *GSTT1* (del), *XRCC1* (1196A>G).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-15-00034.

### **Intergenic interaction in the formation of chromosomal disorders in the Russian population of Western Siberia in contact with the mutagen production environment coal fired power station**

Savchenko Ya.A., Minina V.I., Bakanova M.L., Ryzhkova A.V., Soboleva O.A.  
*The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia*

The aim of this study was to analyze the interaction of genes in the formation of chromosome aberrations in the group of workers of coal power plants, unified by ethnicity, geography of residence and work. The study surveyed 402 people. All patients were of Russian nationality. The experimental group (N=202), consisted of workers of two coal-fired thermal power plants, living in Kemerovo (Western Siberia, the Kemerovo region). Control group (N=200) were healthy individuals, donors of the blood transfusion station in Kemerovo. In the group of workers of the coal power plants the frequency of the CA amounted to  $3.83 \pm 0.18\%$  and was significantly higher than in the control group –  $1.98 \pm 0.12\%$  ( $U_{M-W}=11022.00$ ;  $p=0.00001$ ). In workers with genotype *TC* of the gene *CYP1A1* the frequency of cells with CA made up  $4.91 \pm 0.41\%$ , which is significantly higher than in the workers with genotype *TT* –  $3.58 \pm 0.20\%$  ( $p_{cor}=0.03$ ;  $p_{adj}=0.01$ ;  $OR_{adj}=0.86$ ; 95% CI 0.74-0.98). In the workers with the *GG* genotype of *hOGG1* gene the level of CA amounted to  $5.86 \pm 0.74\%$  and was significantly higher than that of workers with the *CC* genotype –  $3.39 \pm 0.22\%$  ( $p_{cor}=0.04$ ;  $p_{adj}=0.00003$ ;  $OR_{adj}=0.77$ ; 95% CI 0.65-0.89). MDR analysis identified three models that had the greatest significance for the formation of CA in workers of coal power plants. The first model included genes: *CYP1A1* (3801T>C), *CYP1A2* (-163C>A), *GSTT1* (del). The second model included the genes: *APEX1* (444T>G), *XRCC1* (1196A>G), *Tp53* (215 C>G). The third model included polymorphic variants of genes: *MTHFR* (677C>T), *GSTT1* (del), *XRCC1* (1196A>G).

### **Изучение особенностей полиморфизма сортов винограда в Азербайджане**

Салимов В.С.

*Азербайджанский НИИ виноградарства и виноделия, Баку, Азербайджан*

Выявление, накопление, сохранение и рациональное использование генотипов, существующих в генофонде винограда, обеспечение потребностей населения в виноградо-винодельческой продукции путём максимальной реализации потенциальных возможностей этих генотипов и устойчивое развитие отрасли виноградарства и виноделия в настоящее время приобретают особую актуальность. Именно поэтому исследованная работа была посвящена вопросам накопления и сохранения генофонда винограда, оценки, рационального и устойчивого использования генотипов и их улучшения путём селекции.

За годы исследований было обнаружено и включено в коллекцию 59 местных традиционных сортов винограда. Были изучены биоморфологические, хозяйственно-технологические особенности этих сортов. Впервые было произведено их цифровое описание с использованием 66-ти ампелодискрипторов, и на основании полученных данных была разработана кластерная дендрограмма. При оценке 41-го местного и 20-ти

интродуцированных исследуемых сортов винограда по 25-ти наиболее важным ампелодискрипторам и в соответствии с новой "моделью перспективного сорта", было установлено, что 12 из исследуемых сортов являются наиболее перспективными.

Впервые было проведено молекулярное исследование 42-х местных сортов винограда Азербайджана по локусам маркеров микросателлитов в сравнении с сортами различного происхождения, в процессе которого методами генетического расстояния, генетической структуры и кластерным способом было установлено, что местные сорта винограда в большей степени отличаются генетическим разнообразием и по генетическому происхождению составляют одну большую группу (94 %). Фенология исследуемых сортов винограда впервые была изучена и идентифицирована на основе современных фенокодов ВВСН, в результате чего для каждого сорта винограда были выявлены сроки развития и продолжительность 46-ти фенотипических фаз. При изучении внутривидового полиморфизма и вариационной изменчивости, фенотипические отличия больше всего были отмечены по 12-ти критериям (размеру и форме грозди и ягоды, количеству ягод в грозди, весу 1 грозди и 100 ягод, коэффициенту плодоносности побега, продолжительности вегетационного периода, времени созревания ягод, степени осыпания цветков и горошения ягод). Из 8-ми популяций были выделены 23 вариации, отличающиеся своими положительными свойствами.

Во время исследований по клоновой селекции были определены основные критерии количества и качества, реализовывающие потенциальные возможности растений в популяциях сортов винограда по их хозяйственно ценным и селекционно важным признакам; была определена степень корреляционной связи между этими растениями, установлены параметры, непосредственно влияющие на формирование урожайности и качества винограда. На основании этого из 14-ти популяций были выделены высокоурожайные, высококачественные, относительно устойчивые к болезням и вредителям протоклоны (материнские растения – 31 куст), из которых путём вегетативного размножения были получены клоновые формы в том же количестве. При оценке новых клоновых форм было установлено, что по количеству, массе, размеру гроздей, урожаю с куста и с гектара они в значительной степени превосходят обычные кусты контрольных сортов. Так, если у выведенных клонов урожайность куста варьировала в пределах 4.4-13.8 кг, то этот показатель у обычных кустов этих же сортов винограда составил 2.8-6.8 кг. Таким образом, у клоновых растений, по сравнению с их родительскими формами, наблюдалось увеличение урожайности на 25.0-66.3 % и разница между ними по данному показателю была определена как значительная ( $p < 0.001$  по U-критерию). В процессе исследований был осуществлён анализ качества (по  $\chi^2$ -критериям) по количеству развивающихся у сортов и клонов урожайных (с 1-й, 2-й и 3-й гроздями) и неурожайных побегов и было установлено, что разница между ними по этому показателю находится на разном уровне надёжности ( $p > 0.05$ ;  $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ;  $p < 0.001$ ). Выделенные клоны отличались высокими экономическими показателями. Так, если рентабельность контрольных кустов колебалась в пределах 50.6-257.0 %, то у клоновых вариаций она составила 135.8-635.5 %. Фитопатологическая оценка исследуемых сортов винограда показала, что они в различной степени подвержены болезням (оидиум, серая гниль, антракноз), и на основании этого сорта были классифицированы как устойчивые, толерантные, неустойчивые и сверхнеустойчивые. Клоновые формы, по сравнению с контрольными сортами, оказались более устойчивыми к указанным болезням.

Путём исследований было установлено, что у сортов и клонов количество ягод в грозди варьирует в пределах 65-204 шт., выход сока, исходя из общей массы грозди, - в пределах 72.5-93.0 %, доля ягод в грозди – в пределах 91.0-98.4 %, вес 100 ягод – в пределах 138.6-516.8 г. Результаты корреляционного анализа показали, что между количеством ягод в грозди ( $r = 0.45$ ,  $p > 0.05$ ), массой 100 ягод ( $r = 0.56$ ,  $p > 0.05$ ) и весом грозди существует положительная, а между 100 г. грозди и показателем количества ягод ( $r = -0.90$ ,  $p > 0.05$ ) – обратная корреляционная связь.

## Study polymorphism specifications of local grapevine of Azerbaijan

Salimov V.S.

*The Azerbaijan Research Institute of Viticulture and Wine making, Baku, Azerbaijan*

Discovery, collection, preservation and rational use of genotypes available in the gene pool of grapevine, ensuring the needs of the population in the vine-growing and wine-making products through maximum realization of the potential of these genotypes and sustainable development of the branch of viticulture and wine-making are of particular relevance at the present time. That is why the doctoral dissertation was devoted to the issues of collection and preservation of gene pool of grapevine, evaluation, management and sustainable use of genotypes and their improvement by breeding.

Bio-morphological, economic and technological features of these varieties have been studied. For the first time the digital descriptions of the 59 grapevine varieties were made using the 66 ampelodescriptors and on the basis of obtained data the cluster dendrogram was developed. When assessing the 41 local and 20 introduced the studied varieties of grapes on the 25 most important ampelodescriptors and in accordance with the new "model of promising variety", it was found that 12 varieties are the most promising. At the first time the molecular study of 42 local grape varieties of Azerbaijan on the loci of microsatellites markers was carried out in comparison with the grapevine varieties of different origin. At the process of molecular study by the methods of genetic distance and genetic structure and the cluster way it was found that the local grape varieties largely differ in genetic diversity and on genetic origin they are made one large group (94 %). Phenology of the investigated grape varieties was first studied and identified on the basis of modern BBCH phenocodes. At the result of studying, the time of passing and duration of 46 phenotypic phases per each variety have been defined. In the study of intrapopulation polymorphism and variation variability the phenotypic differences were most observed on 12 criteria (size and shape of bunches and berries, number of berries in a bunch, weight of 1 bunch and 100 berries, the coefficient of fruitfulness of shoots, duration of the growing season, time of ripening berries, degree of falling of flowers and reducing of berries). 23 variations with different positive properties were selected from the 8 populations.

During studies on clonal selection the main criteria of quantity and quality, that realize the potential of plants in populations of grape varieties on their economic and breeding important characteristics, were identified; the degree of correlation between these plants and the parameters directly influencing the yield and quality of grapes were determined. Based on this, the high yielding, high quality, relatively resistant to diseases and pests proto clones (mother plants – 31 bush) were selected from the 14 populations. By the way of vegetative reproduction clonal forms in the same amount were obtained. In the assessment of new clonal forms were found that they significantly differ from normal bushes of the control varieties in quantity, weight, and size of bunches, yield per bush and per hectare. So, if yield of bush of the derived clones ranged between 4.4 and 13.8 per kg, the ratio of ordinary bushes of the same grape varieties was 2.8-6.8 kg. Clonal plants showed higher yield compared to their parent forms. So, an increase in yield made of 25.0 to 66.3 % and the difference between them on this indicator was identified as significant ( $p < 0.001$ , U-test). During the researches the quality analysis (by  $\chi^2$ -criteria) for the number of yielding (with 1, 2 and 3 clusters) and lean shoots of the studied varieties and clones was carried out and it was found that the difference on this indicator is at different level of reliability ( $p > 0.05$ ;  $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ;  $p < 0.001$ ). Selected clones were characterized by high economic indicators. So, the profitability of control bushes ranged 50.6-257.0 % and of clonal variations it made 135.8-635,5 %.

Phytopathological evaluation of the studied grapevine varieties have shown that they are in varying degrees susceptible to diseases (oidium, gray rother stuffy, anthracnose), and on the basis of this the varieties were classified as resistant, tolerant, unstable and unsustainable ones. Clonal forms, in comparison with the control varieties, were more resistant.

Through research it was found that the number of berries in bunches varies within 65-204 pieces, juice yield, based on the total weight of the bunches, is in the range of 72.5-93,0 %, the share of berries in bunches – within 91,0-of 98.4 %, weight of 100 berries – within 138,6-516,8. The results of the correlation analysis showed that between the number of berries in bunches ( $r=0.45$ ,  $p>0.05$ ), weight of 100 berries ( $r=0.56$ ,  $p>0.05$ ) and weight of 1 bunch there is a positive correlation, but between 100 g. bunch and number of berries ( $r=-0,90$ .  $p>0.05$ ) there is an inverse correlation.

## **Популяционные системы, метапопуляции, биокомплексность**

Салменкова Е.А.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Концепции популяционных систем, метапопуляций и биокомплексности объединяются сходными представлениями об организации популяционного уровня жизни, обязательным элементом которого является наличие внутренней структуры или подразделенности на популяционные компоненты, связанные между собой тем или иным уровнем миграции. Ю.П.Алтухов и Ю.Г.Рычков в 1970 году впервые на основании собственных и литературных данных обосновали идею *системной организации популяций, или концепцию популяционных систем*, согласно которой фундаментальной особенностью популяционного уровня жизни является «принцип иерархического построения», включающего достаточно устойчивые популяционные системы, состоящие из связанных миграцией более элементарных популяций - структурных компонентов таких систем. Внутренняя структура может быть представлена несколькими уровнями субпопуляционной иерархии, что делает популяционную систему генетически устойчивой и способной к длительному существованию, тогда как ее структурные компоненты могут быть весьма изменчивыми. Этот принцип распространяется и на уровень вида, который «представляет собой многоуровневую, иерархически организованную популяционную систему, т.е. совокупность субпопуляций разного уровня сложности, взаимодействующих через обмен генами» (Алтухов, 2004). С помощью компьютерного моделирования также было показано, что структурированная система, состоящая из связанных миграцией субпопуляций, значительно дольше, чем панмиксная сохраняет генетическое разнообразие (Алтухов, Бланк, 1991, 1992). Системная организация популяций особенно ярко выявляется при изучении структуры видов у лососевых (Алтухов, 1983; Алтухов и др, 1997; Campton, Utter, 1987, и др.) и обнаруживается у других видов при детальном исследовании по ареалу (Avisе, 2000). Понимание системной организации популяций имеет важное прикладное значение для рационального использования природных видов.

Параллельно с концепцией популяционных систем и независимо от нее создавалась современная теория *метапопуляций* (Hanski, 1991; Hanski, Simberloff, 1997, и др.). Термин «*метапопуляция*» был предложен Levins (1970), определившем ее как «популяцию популяций», которые в отдельных локальностях могут исчезать и возникать вновь путем реколонизации. В 1990-х концепция метапопуляции получила развитие в связи с приложением к природоохранной биологии. Метапопуляцию стали определять как совокупность дискретных локальных популяций вида, обладающих асинхронной динамикой численности и связанных между собой небольшими миграциями; отдельные локальные популяции могут вымирать и замещаться новыми за счет миграции из оставшихся популяций. Таким образом, метапопуляция способна существовать неизмеримо дольше, чем любая из локальных популяций. Концепции метапопуляций и популяционных систем сходны в том, что обе рассматривают природные совокупности взаимосвязанных локальных популяций или структурных компонентов популяционных систем, взаимодействие между которыми обеспечивает системе в целом устойчивость в длительной череде поколений. Принцип популяционных систем уже в начале 1970-х был использован Ю.П. Алтуховым в



анализе популяционно-генетической структуры у лососевых и других рыб, тогда как концепция метапопуляции стала применяться для детального анализа популяционной биологии и генетики различных видов значительно позже (Fontaine et al., 1997; Schtickzelle, Quinn, 2007; Wright et al., 2006, и др.).

Принцип устойчивости структурированной системы лежит и в основе современных представлений о «*биокомплексности*», свойственной крупным региональным популяциям (Hilborn et al., 2003). Локальные компоненты такой системы обладают биологическими, экологическими и генетическими особенностями и локальными адаптациями к разнообразию условий среды, что позволяет всей системе выживать при значительных изменениях среды. Сохранение биокомплексности в процессе промысловой эксплуатации видов повсеместно признается важным условием их устойчивости к неблагоприятным антропогенным и климатическим факторам (Hutchinson, 2008; Bekkevold et al., 2012, и др.).

### **Population systems, metapopulations, biocomplexity**

Salmenkova E.A.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

Conceptions of the population systems, metapopulations and biocomplexity are united by similar ideas about organization of population level of life, the mandatory element of that is a presence of interior structure or subdivision into population components bound by inter se one or another level of migration. In 1970 on the basis of own and literary data Yu.P. Altukhov and Yu.G.Rychkov first grounded the idea of *system organization of populations*, or *conception of population systems*, according to that the fundamental feature of population level of life is "principle of hierarchical construction", including the enough steady population systems consisting of connected by migration more elementary populations, - structural components of such systems. An underlying structure can be presented by a few levels of subpopulation hierarchy, that does the population system genetically steady and apt at long-term existence, while its structural components can be rather variable. This principle spreads also on the level of species that "is the multilevel, hierarchically organized population system, i.e. totality of subpopulations of different level of complication, interactive through an exchange of genes" (Altukhov, 2004). It was also shown by means of computer simulation, that the structured system consisting of the subpopulations bound by migration, considerably longer, than panmixing one saves genetic variation (Altukhov, Blank, 1991, 1992). System organization of populations is especially brightly revealed at the study of species structure in salmon (Altukhov, 1983; Altukhov et al., 1997; Campton, Utter, 1987, and others) and also observed in other species at the detailed research on natural range (Avisé, 2000). Understanding of system organization of populations has the important applied value for rational management of natural species.

In parallel with conception of the population systems and regardless of it, the modern theory of *metapopulations* (Hanski, 1991; Hanski, Simberloff, 1997, and other) was created. The term of "*metapopulation*" was offered first by Levins (1970), defining it as a "*population of populations*" which in separate localities can disappear and arise up again through recolonization. In 1990 conception of metapopulations got development in connection with the application to conservation biology. One began to determine metapopulation as totality of discrete local populations of species, possessing the asynchronous dynamics of number and bound by inter se small migrations; separate local populations can die out and recover due to migration from remaining populations. Thus, metapopulation is able to exist immeasurably longer, than any of local populations. The conceptions of metapopulations and population systems are similar in that both consider natural totalities of associated local populations or structural components of the population systems, co-operation between which provides to the system on the whole stability in the long line of generations. The principle of population systems was already used by Yu.P. Altukhov in the early 1970th in the analysis of population genetic structure of salmon and other fishes, while the conception of

metapopulations began to be applied for investigation of population biology and genetics of different species considerably later (Fontaine et al., 1997; Schtickzelle, Quinn, 2007; Wright et al., 2006, and many others).

Principle of long-time stability of the structured system lies and in the basis of modern ideas about "biocomplexity", which is inherent in large regional populations (Hilborn et al., 2003). The local components of such system possess own biological, ecological and genetic features and local adaptations to the variety of environment conditions, that allows to the whole system to survive at considerable changes of environment. The maintenance of biocomplexity in the process of commercial exploitation of species is everywhere confessed as the important condition of their stability to the unfavorable anthropogenic and climatic factors (Hutchinson, 2008; Olsen et al., 2008; Bekkevold et al., 2012, and others).

### **Генетическая структура и разнообразие бурого медведя Евразии на основании анализа полиморфизма микросателлитных локусов**

Саломашкина В.В., Холодова М.В.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

Бурый медведь (*Ursus arctos* L.1758) населяет обширную территорию, формирующую непрерывный участок ареала от Восточной Европы до побережья Охотского моря и Чукотки. В ходе данной работы были проанализированы образцы тканей бурого медведя из нескольких регионов этой непрерывной части ареала, а также выборка образцов из изолированной популяции Кавказа.

В ходе работы было проведено генотипирование 120 образцов тканей бурого медведя по 10 ауtosомным микросателлитным локусам. Образцы тканей были представлены фрагментами мягких тканей, шкур, а также костной крошкой. Выделение тотальной ДНК проводилось наборами Diatom DNA Prep 100 (ООО "Лаборатория "Изоген", Россия) и QIAquick purification kit (QIAGEN, Германия), определение длины фрагментов производилось на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США). Оценка вероятности наличия неамплифицируемых «нулевых» аллелей и отклонения от равновесия Харди-Вайнберга проводились с помощью программы Cervus 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007), статистический анализ полученных данных проводился в программах GenAlex 6 (Peakall et al., 2006), Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier et al., 2010) и Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

Проверка 10 локусов показала, что два из них имеют повышенную вероятность наличия «нулевых» аллелей и статистически достоверное отклонение от равновесия Харди-Вайнберга. В составе выборки были выделены группы «Кавказ», «Европейская Россия», «Сибирь», «Камчатка+Чукотка» и «Приморский+Хабаровский край». Было показано, что согласно Байесовскому анализу наблюдается отличие между всеми группами, за исключением групп «Камчатка+Чукотка» и «Приморский+Хабаровский край», которые формируют единый кластер. При этом статистически достоверные дистанции  $F_{ST}$  и  $R_{ST}$  наблюдались между всеми пятью группами. Между приморской и камчатско-чукотской группами образцов были обнаружены слабые различия, также небольшие различия были выявлены между группами образцов из Западной и Центральной Сибири (кластер «Сибирь»). В остальных кластерах внутренняя структура не выявлена. Согласно Байесовскому анализу, изолированная популяция медведей Кавказа четко отделяется от всех остальных исследованных группировок, формирующих непрерывную часть ареала, однако генетические дистанции, отделяющие кавказскую группу от любой из оставшихся, не превышают дистанций между этими группами. Полученные данные демонстрируют картину относительной изоляции между регионами при панмиксии внутри них. Учитывая, что наиболее явные генетические различия наблюдаются между крайне обширными и далекими друг от друга территориями («Европейская Россия», «Сибирь» и «Дальний Восток»), можно

предположить, что это разделение объясняется географической изоляцией расстоянием, в то время как внутри этих регионов может существовать значимое количество мигрантов.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-01083 мол\_а и программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» 1.21П.

### **Eurasian brown bear genetic structure and diversity based on the microsatellite loci polymorphism analysis**

Salomashkina V.V., Kholodova M.V.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia*

Brown bear (*Ursus arctos* L.1758) inhabits huge continuous area that extend from Eastern Europe in the west end to the Okhotsk sea shore and Chukotka in the east. In this work we analyzed a sample of the brown bear specimen from a few regions of this continuous area compared with a sample from isolated Caucasian population.

We genotyped 120 brown bear samples for 10 autosomal microsatellite loci. Samples were presented by fragments of soft tissues and skins and by bone powder. Total DNA was extracted using Diatom DNA Prep 100 (Isogen, Russia) and QIAquick purification kit (QIAGEN, Germany); fragment analysis was performed on the ABI PRISM 3500 automatic sequencer (Applied Biosystems, USA). The nonamplifying “null” alleles frequency and deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were calculated using Cervus 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007), statistical analysis was performed using GenAlex 6 (Peakall et al., 2006), Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier et al., 2010) and Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

Two out of ten loci appeared to have a high probability of null alleles presence and statistically significant deviations from Hardy-Weinberg equilibrium. For the statistical analysis we defined five regional groups: “Caucasus”, “European Russia”, “Siberia”, “Kamchatka & Chukotka” and “Primorsky & Khabarovskiy krai”. We revealed that according to Bayesian analysis all groups differentiated from each other, except for the groups “Kamchatka & Chukotka” and “Primorsky & Khabarovskiy krai”, which formed a unified cluster. However, there were statistically significant genetic distances ( $F_{ST}$  and  $R_{ST}$ ) separating all five groups. We found slight differences between “Kamchatka & Chukotka” and “Primorsky & Khabarovskiy krai” groups, as well as between specimens from Western and Central Siberia in “Siberia” cluster. All other clusters had no internal structure. Sample from the isolated Caucasian population was clearly separated from all the samplings from the continuous area according to the Bayesian analysis, but genetic distances between the Caucasian cluster and any of the rest clusters were not more than between any of these regional clusters. These data indicate a relative isolation between the regions combined with panmixia within it. The clearest genetic differentiation was found between clusters associated with territories that are huge and remote from each other (“European Russia”, “Siberia”, “Far East”). Thus we can assume that this differentiation is based on the geographic isolation by distance, while inside these regions there could be a significant amount of migrants.

This work was funded by RFBR grant № 16-34-01083 мол\_а and the RAS Presidium program “Biodiversity of natural systems” 1.21П.

### **Роль гена вителлогенина в механизмах адаптации пчел к длительной зимовке**

Салтыкова Е.С., Гатауллин А.Р., Гайфуллина Л.Р., Поскряков А.В., Николенко А.Г.  
*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия*

Генетические основы разделения труда у социальных насекомых являются центральным вопросом в эволюционной и поведенческой биологии. Один из важных выводов благодаря молекулярным исследованиям, заключается в том, что социальное поведение медоносных пчел, возможно, возникло благодаря эволюционному изменению

консервативных молекулярных путей, регулирующих физиологию и поведение одиночных видов. Было предположено, что разделение труда у рабочих особей медоносной пчелы зависит от репродуктивных генных сетей, которые связаны с поведением у одиночных насекомых. Попытки объяснить происхождение специализации между особями в семье у эусоциальных насекомых предполагают, что разделение труда между пчелами зависит от генов, оказывающих воздействие на репродуктивную физиологию, в частности гена вителлогенина (Vg) и плеiotропных свойств кодируемого им белка. Данное генетическое преобразование способствовало естественному отбору целой группы особей, как единого суперорганизма, и это явилось прорывным шагом в эволюционном развитии социальности у насекомых. Уровень продукции Vg у рабочих пчел значительно ниже, чем у маток. Живущие 6-10 месяцев в зимнее время рабочие пчелы подвидов, населяющих зоны умеренных широт, аккумулируют Vg до уровня, имеющегося у матки. Данные факты дают основание полагать, что именно посредством развития способности к аккумуляции Vg появился фенотип долгоживущих «зимних пчел», позволяющий пчелиной семье выживать в течение долгого зимнего периода, когда невозможно восстановление численности за счет расплода. Связь функционирования Vg с продолжительностью жизни медоносной пчелы обусловлена его положительным действием на клеточный иммунитет, участием в сохранении целостности белков и повышении устойчивости насекомых к оксидативному стрессу, что способствует повышению выживаемости пчелиных семей в популяциях медоносной пчелы в целом.

Нами было установлено, что экспрессия гена Vg у зимнего поколения рабочих пчел в начале зимовки сохраняется на уровне экспрессии гена, отмеченного у летнего поколения, но значительно возрастает к концу зимовки, коррелируя с высокой антиоксидантной ферментативной активностью. Повышение уровня экспрессии гена Vg и активация антиоксидантных ферментов у рабочих пчел на протяжении всего зимнего периода указывает на его значимую антиоксидантную роль, как одного из факторов регуляции продолжительности жизни пчел. Данный процесс коррелирует с индукцией генов антибактериальных пептидов абепина и дефензина. Семьи пчел, показавшие наиболее высокий уровень экспрессии гена Vg, оказались наиболее жизнеспособными к окончанию зимовки, быстрее остальных семей нарастили силу и собрали большее количество меда. Высокая степень экспрессии гена Vg у пчел к концу зимы может служить важным селекционным критерием зимостойкости. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена Vg медоносной пчелы *Apis mellifera mellifera* L. позволил обнаружить 26 SNPs, дифференцирующих пчел эволюционных ветвей М и С, которые могут быть использованы в качестве генетических маркеров в селекции пчел изучаемого подвида для прогноза качества зимовки пчелиной семьи и селекционной оценки её адаптированности к условиям средней полосы России, а также в проведении генетического штрихкодирования и создании генетических паспортов пчелиных семей. При сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей гена вителлогенина у разных подвидов медоносной пчелы обнаружены уникальные динуклеотидные замены в двух экзонах гена, которые могут служить более эффективными маркерами родности и других показателей, связанных с вителлогенином, по сравнению с SNPs.

### **Role of vitellogenin gene in the mechanisms of honey bee adaptation to a prolonged wintering**

Saltykova E.S., Gataullin A.R., Gaifullina L.R., Poskrjakov A.V., Nikolenko A.G.  
*Institute of biochemistry and genetics of Ufa scientific center of RAS, Ufa, Russia*

Genetic basis of labor division in social insects is a central issue in evolutionary and behavioral biology. Through molecular studies one of the most important conclusions is that the social behavior of honey bees may have appeared due to evolutionary change of conservative molecular pathways that regulate the physiology and behavior of solitary species. The labor division

of honey bee workers was suggested to depend on reproductive gene networks that are associated with the behavior in solitary insects. Attempts to explain the origin of specialization among individuals in the colony of eusocial insects suggest that the division of labor among bees depends on the genes that affect reproductive physiology, in particular gene vitellogenin (Vg) and pleiotropic properties of the protein encoded by it. This genetic transformation contributed to natural selection of the whole group of individuals as a single super-organism, and it was a breakthrough step in the evolution of sociality in insects. The level of Vg production in workers is significantly lower than that of queens. Worker bees of subspecies inhabiting the zone of temperate latitudes live 6-10 months in the winter and accumulate Vg to levels existing in the queens. These facts suggest that the phenotype of long-lived "winter bees", allowing bee colony to survive over the winter period, when it is impossible to restore the number due to brood, appeared exactly through the development of the capacity for Vg accumulation. Link of functioning Vg with a lifespan of honey bee due to its positive effect on cell-mediated immunity, participation in the preservation of proteins' integrity and increase of insect resistance to oxidative stress, which contributes to the survival of bee colonies in honey bee populations as a whole.

We found that expression of the Vg gene in the winter generation of workers remains at the beginning wintering at the gene expression level noted in summer honey bee generation, but increases considerably by the end of wintering correlating with high antioxidant enzyme activity. Increasing of the Vg gene expression level and activation of antioxidant enzymes in worker bees during the whole winter period indicates its significant antioxidant role as one of the factors of honey bee lifespan regulation. This process correlates with the induction of genes of antibacterial peptides abaecine and defensin. The colonies of bees, which showed the highest level of Vg gene expression were most viable by the end of wintering, faster than other colonies build up strength and collected more honey. High level of Vg gene expression in bees by the end of the winter can be an important selection criteria of winter hardiness. A comparative analysis of the nucleotide sequence of *Apis mellifera mellifera* L. Vg gene allowed to find the 26 SNPs differentiating the bees of evolutionary branches M and C, which can be used as genetic markers in selection of bees studied subspecies for the forecast of bee colony wintering quality and breeding evaluation of its adaptedness to the conditions of central part of Russia, as well as in the conduct of genetic barcoding and creation of genetic passports of bee colonies.

### **Частоты носителей t-гаплотипов в диких популяциях домовых мышей *Mus musculus*, обитающих на территории России и других стран Евразии**

Сафронова Л.Д., Петросян В.Г., Чекунова А.И.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия*

T-комплекс представляет собой сложную комбинацию хромосомных перестроек, четыре неперекрывающиеся инверсии, занимающие проксимальную треть 17 хромосомы, общей протяженностью около 20 сМ, т.е. 0.7% от всего генома домового мыши (*M. musculus*) Различные варианты t-комплекса (t-аллели или t-гаплотипы) являются структурными мутациями, которые широко распространены в природных и лабораторных популяциях домового мыши и передаются самцами-гетерозиготами с частотой, превышающей частоту менделевской передачи - от 72% до 96%. Различные варианты t-комплекса (полные и частичные) природного происхождения (то есть имеющие полную протяженность инверсий) имеют, как правило, уровень TRD до 96%. К настоящему времени, благодаря многочисленным исследованиям представлена достаточно полная картина распространения t-гаплотипов в пределах ареала домового мыши. У этих двух видов домовых мышей - *Mus domesticus* и *Mus musculus* - методами популяционно-генетического анализа, основанного на взаимодействии t-гаплотипов с мутацией T, и последующим определением принадлежности их к комплементационной группе, было установлено, что у особей вида *Mus musculus* чаще

встречается  $t^{w73}$  группа комплементации, тогда как *Mus domesticus* характеризуется гораздо более широким спектром комплементационной принадлежности.

В работе для анализа частот *t*-аллелей и гетерозиготных особей (+/*t*) видов и подвидов (*M. m. musculus*, *M. m. spicilegus*, *M. m. bactrianus*, *M. m. tataricus*, *M. m. wagneri*) были использованы как наши собственные данные, так и данные из литературных источников в период 1981-2012 гг. Протестировано более 538 особей из 39 выборок природных популяций, обитающих на территории России (г. Москвы, Калмыкии, Алтайского края, Новосибирска, Самары, Комсомольска) и сопредельных стран Европы (Украины, Молдавии, Литвы, Эстонии, Азербайджана) и Азии (Туркменистана, Казахстан, Таджикистана, Узбекистан, Монголии). Использование комплементационного анализа и модифицированного метода Харди-Вайнберга с поправкой на преимущественное наследование *t*-аллелей от гетерозиготных самцов позволили установить низкую частоту *t*-гаплотипов в природных популяциях. Обсуждаются ведущие факторы и механизмы (организационная структура популяций, поведения самцов, несущих *t*-гаплотипы; гаметический отбор, конверсия генов, и др.), определяющие низкую частоту встречаемости *t*-аллелей в природных популяциях.

### **Frequency of *t*-haplotype bearers in the wild populations of home mice, *Mus musculus*, in the territory of Russia and other countries of Eurasia**

Safronova L.D., Petrosyan V.G., Chekunova A.I.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

The T-complex is a complex combination of chromosomal rearrangements, four non-overlapping inversions occupying the proximal third of the 17 chromosome, with a total length of about 20 cM, i.e. 0,7% of the entire genome of the house mouse (*M. musculus*). Various variants of the *t*-complex (*t*-alleles or *t*-haplotypes) are structural mutations that are widespread in natural and laboratory populations of households and transmitted by male heterozygotes with higher than Mendel transmission - from 72% to 96%. Different variants of the *t*-complex (full and partial) have, as a rule, the level of TRD to 96%. By now, due to numerous studies, a fairly complete picture of the distribution of *t*-haplotypes within the range of the house mouse has been reported.

In these two species of domestic mouse - *Mus domesticus* and *Mus musculus* – population genetic analysis based on interaction of *t*-haplotypes with a mutation *T*, and the subsequent determination of their membership in the complementation group shown that in *Mus musculus* the complementation group  $t^{w73}$  is more common, whereas *Mus domesticus* is characterized by a much broader spectrum of complementarity. In our study, for the analysis of the frequencies of *t*-alleles and heterozygous individuals (+ / *t*) of species and subspecies (*M. m. musculus*, *M. m. spicilegus*, *M. m. bactrianus*, *M. m. tataricus*, *M. m. wagneri*) we used both our own data and data from literary sources in the period 1981-2012. More than 538 individuals from 39 samples of natural populations living in Russia and other European countries (Moscow, Kalmykia, Altai Territory, Novosibirsk, Samara, Komsomolsk) and Asia (Turkmenistan, Kazakhstan, Tadjikistan, Uzbekistan, Mongolia) have been tested. The use of complementary analysis and the modified Hardy-Weinberg method, adjusted for native inheritance of *t*-alleles from heterozygous males, allowed us to establish a low frequency of *t*-haplotypes in natural populations. The leading factors and mechanisms are discussed (the organizational structure of populations, the behavior of males bearing *t*-haplotypes, gametic selection, gene convection, etc.), defining the low incidence of *t*-alleles in natural populations.

## Микросателлитная изменчивость тихоокеанских сельдей *Clupea pallasii pallasii*

Семенова А.В., Строганов А.Н.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

Тихоокеанская сельдь – важный промысловый вид, широко распространенный в бореальных акваториях азиатского и американского побережий Тихого океана. На ареале она формирует ряд локальных стад, отличающихся главным образом темпом роста, временем наступления половой зрелости, нерестовыми и нагульными акваториями. Исследования внутривидовой структуры сельди в водах России с использованием классических ихтиологических методов проводятся в течение многих десятилетий, в то время как информация о популяционно-генетической структуре чрезвычайно скудна. Возможно, изучение микросателлитных (STR) локусов предоставит информацию о современной внутривидовой дифференциации сельди в Тихом океане.

Материал для исследований был собран в Охотском и Беринговом морях в период с 2009 по 2014 гг. Выборки в Охотском море взяты из трех предположительно самостоятельных стад сельди во время нереста: тауйской, охотской и гижигинско-камчатской. В Беринговом море пробы были собраны в западно-берингоморской и в карагинской промысловой подзонах. В этом районе выделяют одно стадо морской сельди – корфо-карагинское. Изменчивость сельди оценивалась по 10 STR-локусам. Основные генетические показатели выборок были получены с помощью статистических программ GDA 1.0, GENEPOP 3.4, FSTAT 2.9.3, SPAGeDi 1.2. Все исследованные микросателлитные локусы были полиморфны, всего было обнаружено 150 аллелей. Число аллелей в исследованных локусах варьировало от 2 (*Her71*) до 33 (*Cpa7*). Всего у сельди Охотского моря выявлено 136 аллелей, Берингова 122 аллеля. Показатели средней ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) и аллельного разнообразия ( $A_R$ ) в выборках варьировали от 0.577 до 0.659, и от 5.69 до 7.48, соответственно. Оценки разнообразия у сельди Охотского моря составили  $A_R=7.2$ ,  $H_E=0.636$ , Берингова моря  $A_R=6.6$ ,  $H_E=0.584$ .

Генетическая гетерогенность всей совокупности выборок хорошо выражена. Показана достоверная дифференциация сельди по частотам аллелей и генотипов (G тест,  $P=0.000-0.037$ ) по всем локусам, за исключением *Her71*, а также по всем локусам суммарно ( $P=0.000$ ). Парные оценки межвыборочной дифференциации  $F_{ST}$  достоверны в 32 случаях из 45 сравнений, мультилокусные  $F_{ST}$  показатели - от -0.002 до 0.046. Оценки на основании  $R_{ST}$  достоверны в 31 случае из 45 и варьируют в диапазоне от -0.003 до 0.166. Общие оценки дифференциации  $F_{ST}=0.0133$ ,  $R_{ST}=0.0313$ .

Таким образом, показана генетическая гетерогенность сельди Охотского и Берингова морей. Среди сельди Берингова моря дифференциация выше, чем среди охотоморской сельди. Генетическая дифференциация сельди Охотского и Берингова морей коррелирует с пространственно-географической структурой вида на исследуемом ареале. Для точной географической локализации генетически обособленных группировок и определения пространственных и темпоральных аспектов популяционно-генетической структурированности сельди необходимы дополнительные исследования и сбор материала во время нереста сельди на нерестилищах в течение нескольких лет.

## Microsatellite diversity in Pacific herring *Clupea pallasii pallasii*

Semenova A.V., Stroganov A.N.

Lomonosov Moscow State University, Department of Ichthyology, Moscow, Russia

Pacific herring (*Clupea pallasii pallasii*) is widely distributed in the boreal waters along American and Asian coasts of the Pacific Ocean. Within its range, Pacific herring forms a number

of local stocks, the main differences between which lie in the growth rate, age at sexual maturity, spawning, and feeding grounds. The intra-specific structure of herring from Russian waters has long been investigated based on classical ichthyology methods, while the information about their genetic structure are extremely scarce. Perhaps, the study of STR loci provides new information about up-to-date differentiation of herring in the Pacific Ocean.

Herring samples used in the study were collected from 2009 to 2015 in the Sea of Okhotsk and Bering Sea. The samples were taken from three presumably independent herring stocks of the Sea of Okhotsk: Taui, Okhotsk, and Gizhiga–Kamchatka. In the Bering Sea samples were collected in the Western Bering Sea and in Karaginsk of fishing subzones. In this area one flock of sea herring Korfo-karaginsk is distinguished. Herring variations were evaluated using ten STR loci. The main genetic characteristics of the samples were obtained using the GDA 1.0, GENEPOP 3.4, FSTAT 2.9.3, SPAGeDi 1.2. All the microsatellite loci examined were polymorphic. The number of allele per locus varied from two (*Her71*) to 33 (*Cpa7*), the total number of different alleles identified was 136 from Sea of Okhotsk and 122 from Bering Sea. The mean  $H_E$  and  $A_R$  varied among the samples in the range of 0.577–0.659, and 5.69–7.48, respectively. The diversity estimates were  $A_R=7.2$ ,  $H_E=0.636$  in the Okhotsk herring, and  $A_R=6.6$ ,  $H_E=0.584$  in the Bering Sea herring. The genetic differentiation of herring samples were significant as well based on allele, as genotype frequencies (G-test,  $P=0.000–0.037$ ). The pairwise  $F_{ST}$  were significant for 32 of the 45 possible tests, with multilocus  $F_{ST}$  ranging from -0.002 to 0.046. The pairwise  $R_{ST}$  were significant for 31 of the 45 possible tests, with multilocus  $R_{ST}$  ranging from -0.003 to 0.166. Total values of  $F_{ST}=0.0133$ ,  $R_{ST}=0.0313$ .

So, the genetic heterogeneity in Pacific herring from the Sea of Okhotsk and Bering Sea was detected. The level of genetic diversity in Bering Sea herring was higher than in herring from Sea of Okhotsk. Large-scale genetic differentiation of Pacific herring correlated with the geographical distance between the populations. However, more complex and detail studies are required for comprehensive knowledge of the spatial and temporal aspects of population genetic structure in herring.

#### **Филогеография сосны обыкновенной в восточной части ареала по данным изменчивости митохондриальной ДНК**

Семериков В.Л.<sup>1</sup>, Семерикова С.А.<sup>1</sup>, Путинцева Ю. А.<sup>2,3</sup>, Орешкова Н.В.<sup>2,3</sup>, Крутовский К.В.<sup>3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

<sup>2</sup>*Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия*

<sup>3</sup>*Научно-образовательный центр геномных исследований, Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия*

<sup>4</sup>*Гёттингенский университет им. Георга-Августа, Гёттинген, Германия*

<sup>5</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>6</sup>*Техасский АМ университет, Колледж Стейшн, Техас, США*

Циклические изменения климата плейстоцена значительно влияли на сообщества живых организмов. Виды лесной биоты сокращали свои ареалы в ледниковые фазы, выживая в изолированных рефугиумах и вновь расселялись при улучшении климата. Демографические процессы, связанные с этими событиями, оставили следы в величине и структуре генетической изменчивости, анализ которой, в сочетании с палеонтологическими данными дает возможность исследовать историю видов. В то же время, информация о демографии видов в связи с ледниковыми циклами существенна для понимания путей адаптации к новым сочетаниям средовых факторов, поскольку вымирания и последующие расселения сопровождалась приспособлением к вновь возникающим условиям среды. Митохондриальная ДНК видов семейства Pinaceae наследуется по материнской линии в отличие от хлоропластной и ядерной ДНК, имеющих отцовское и двуродительское



наследование, соответственно. Таким образом, митохондриальная ДНК распространяется с семенами, в то время, как хлоропластная и ядерная ДНК – с пыльцой и с семенами. Ограниченная миграция митохондриальной ДНК, определяет её ценность для маркирования рефугиумов и путей расселения вида.

Генетическая изменчивость сосны обыкновенной была исследована в 88 популяциях, расположенных от Восточной Европы до Восточной Сибири с помощью трех маркеров митохондриальной ДНК. Выявлено 9 гаплотипов. Их географическое распространение обособляет популяции западной части ареала от восточной части примерно по меридиану 38° в.д. Генетическое разнообразие в западной части ареала было существенно выше, чем в восточной. Шесть гаплотипов были специфичны для западной части и два – для восточной. Один гаплотип был общим для обоих регионов, но в восточной части встречался лишь на Южном и Среднем Урале и прилегающих районах. Величина и структура географического распространения изменчивости митохондриальной ДНК соответствует гипотезе европейского происхождения сосны обыкновенной в бореальной части её ареала, как результат расселения вслед за вымиранием, связанным, вероятно, с одним из наиболее интенсивных среднеплейстоценовых оледенений. Реколонизация, произошедшая после последнего ледникового максимума около 20000 л.н. происходила как из центральноевропейских рефугиумов, так и из рефугиумов в азиатской части ареала, включая Южный и Средний Урал.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-00607.

### **Phylogenography of Scots pine in Siberia and Eastern Europe based on the variation of mitochondrial DNA**

Semerikov V.L.<sup>1</sup>, Semerikova S.A.<sup>1</sup>, Putintseva Yu.A.<sup>2,3</sup>, Oreshkova N.V.<sup>2,3</sup>, Krutovsky K.V.<sup>3,4,5,6</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russia*

<sup>2</sup>*V. N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>3</sup>*Genome Research and Education Center, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>4</sup>*Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany*

<sup>5</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>7</sup>*Texas A&M University, College Station, TX, USA*

Cyclic climate dynamic of the Pleistocene greatly affected communities of living organisms. Forest species reduced their area during glacial phases, surviving in isolated refugia and recolonized territory with climate amelioration. The demographic processes associated with these events left traces in the amount and structure of genetic variation, the analysis of which, combined with paleontological data allows studying the history of species. At the same time, information on species demography in a context of glacial cycles is essential for understanding of adaptation to new environmental factors. The mitochondrial DNA (mtDNA) of trees in the *Pinaceae* family is maternally inherited, in contrast to the chloroplast and nuclear DNA, which have paternal and biparental inheritance, respectively. Accordingly, mtDNA is propagated by seeds, while chloroplast and nuclear DNA - by pollen and seeds, respectively. The consequence of this property is a slow migration of mtDNA that makes its valuable for discovering refugia and tracing recolonization routes.

Genetic variation of Scots pine was studied in 88 populations from Eastern Europe to Eastern Siberia range using three mtDNA markers. Nine haplotypes were discovered. Their geographical distribution separates the populations of the western part of the range from the eastern part approximately along the 38° E meridian. Genetic diversity in the western part of the range was significantly higher than in the eastern part. Six haplotypes were specific for the western part and two for the eastern part. One haplotype was common in both regions, but in the eastern part it was found only in the Southern and Middle Urals and adjacent areas. The magnitude and geographical structure of the mtDNA variation correspond to the hypothesis of the European origin of Scots pine

across the boreal part of the range as a result of recolonization following extinction, probably associated with one of the most intensive Middle Pleistocene glaciations. Recolonization, which occurred after the last glacial about maximum 20,000 years ago took place both from central European refugia and from refugia in the Asian part of the range, particularly from the Southern and Middle Urals.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research grant No. 16-04-00607.

### **Анализ разнообразия гаплотипов судака (*Sander lucioperca*) из Нижней и Верхней Волги на основе полиморфизма гена цитохрома b митохондриальной ДНК**

Сергеев А.А.<sup>1</sup>, Пономарева Е.В.<sup>2</sup>, Кузищин К.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

Судак (*Sander lucioperca*) относится к отряду окунеобразных *Perciformes*, семейству окуневых *Percidae*, роду судак *Sander*. Судак широко распространен в пресных водоёмах бассейнов Каспийского, Балтийского, Черного, Азовского и Аральского морей и опреснённых участках указанных морей. Мясо судака считается диетическим продуктом, и вид является важным промысловым объектом. Огромная территория ареала вида обусловлена как естественным расселением, так и искусственной акклиматизацией интродуцентов. Благодаря межпопуляционной изоляции в ходе эволюции возникли различные генетические линии судака, исследование которых позволяет выяснить картину эволюции и расселения вида. Одним из признаков, позволяющих исследовать внутривидовой полиморфизм генетических линий, является характеристика мтДНК гаплогрупп вида.

Более ранние исследования показали, что Каспийское море населяют судаки митохондриальной линии *Slucb2*, наиболее массовой в Понто-Каспийском бассейне (GenBank ref. № KC819824). Задачей данной работы было первичное исследование возможного полиморфизма гаплотипов судака из Рыбинского водохранилища и из северной части Каспийского моря. Для выполнения этой задачи в работе проанализирован фрагмент мтДНК, включающий полную последовательность цитохрома b, у 15 особей из Каспийского моря и 3 особей из Рыбинского водохранилища. В сумме было выявлено 3 гаплотипа. Как и предполагалось, был обнаружен массовый гаплотип *Slucb2* (2 особи в Рыбинском водохранилище и 15 особей в Каспийском море). Также был обнаружен гаплотип идентичный гаплотипу *Slucb1* (GenBank ref. № KC819823) (1 особь из Рыбинского водохранилища и 1 особь из Каспийского моря). У одной особи из Каспийского моря был обнаружен не описанный ранее гаплотип, отличающийся от *Slucb2* на одну транзицию (C/T). Данные результаты показали наличие полиморфизма гаплотипов мтДНК по цитохрому b в Рыбинском водохранилище и Каспийском море, в том числе наличие ранее не описанного митохондриального гаплотипа, что делает целесообразным проведение дальнейших исследований с использованием расширенных выборок. Такое исследование позволит более достоверно восстановить картину эволюции судака и расселение его генетических линий по территории Понто-Каспийского бассейна.

## The diversity analysis of pike perch haplotypes (*Sander lucioperca*) from the Lower and Upper Volga basins on the basis of mtDNA gene cytochrome b polymorphism

Sergeev A.A.<sup>1</sup>, Ponomareva E.V.<sup>2</sup>, Kuzishchin K.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, biological faculty, Moscow, Russia

The pike perch *Sander lucioperca* belongs to the order *Periformes*, family *Percidae*, and genus *Sander*. The pike perch is found in fresh waterbodies of the Caspian, Baltic, Black, Azov, Aral Seas basins, and desalinated areas of these seas. It is considered to be a dietary product, so the species is an important fishery object. The vast species area is determined by both natural settlement and artificial acclimatization of the introduced specimens. Interpopulation isolation in the course of evolution provided forming of various genetic lines of the pike perch, its study makes it possible to clarify the whole image of its microevolutionary processes and species distribution. One of the features which allows the investigation of intraspecific genetic polymorphism is the characteristic of mitochondrial DNA haplogroups.

Earlier studies have shown that the Caspian Sea is inhabited by individuals of the mitochondrial line *Slucb2*, the most widespread in the Ponto-Caspian basin (GenBank ref. No. KC819824). The purpose of this work was a primary study of possible polymorphism of pike perch haplotypes from the Rybinsk Reservoir and from the northern part of the Caspian Sea. We analyzed cytochrome b complete sequence in 15 individuals from the Caspian Sea and 3 individuals from the Rybinsk reservoir. In total, 3 haplotypes were found. As expected, the widespread haplotype *Slucb2* (2 individuals in the Rybinsk Reservoir and 15 individuals in the Caspian Sea) was identified. A haplotype identical to *Slucb1* haplotype (GenBank ref. No. KC819823) (1 individual from the Rybinsk reservoir and 1 individual from the Caspian Sea) was also identified. In one specimen from the Caspian Sea we found a previously not reported haplotype that differed from *Slucb2* by one transition (C/T). These results revealed the cytochrome b polymorphism of the pike perch in the Rybinsk Reservoir and the Caspian Sea, including the presence of a previously unknown mitochondrial haplotype. Therefore further studies on extended samples are reasonable. This investigation will allow us to more reliably restore the whole image of the pike perch evolution and distribution of its varied genetic lines along the area of the Ponto-Caspian basin.

## Сравнительный анализ генетического разнообразия и демографической истории тихоокеанской корюшки *Osmerus dentex*

Скурихина Л.А.<sup>1</sup>, Олейник А.Г.<sup>1</sup>, Ковпак Н.Е.<sup>1</sup>, Кухлевский А.Д.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, Институт биологии моря им. А. В. Жирмунского, Владивосток, Россия

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, кафедра клеточной биологии и генетики, Владивосток, Россия

Тихоокеанская (азиатская зубатая, *Pacific* или *Arctic rainbow smelt*) корюшка *O. dentex* представляет несомненный интерес для выяснения разных аспектов эволюции циркумполярных видов рыб. Современные популяции *O. dentex* населяют территории, находившиеся в прошлом как под воздействием ледниковых покровов, так и не подвергавшихся оледенениям. Филогеография этого вида может дать более полное представление о роли оледенений и гидрогеологии в формировании современной генетической структуры популяций и расселении по ареалу.

На оригинальном материале мы оценили влияние глобальных климатических и геологических изменений на формирование популяционно-генетической структуры *O. dentex* на большей части ареала (Баренцева, Карского, Берингова, Охотского и Японского морей). Phylogeographic patterns based on *cytb* and *coI* sequences, and RFLP ND3/ND4L/ND4 and

A8/A6/COIII/ND3 mtDNA regions for 462 Pacific smelts from 25 Eurasian locations were analysed. Генетическая структурированность *O. dentex* на большей части исследуемого ареала выражена слабо, несмотря на высокий уровень гаплотипического разнообразия. Иерархический анализ молекулярного разнообразия (AMOVA) показал, что основная часть изменчивости общей молекулярной дисперсии приходится на внутривидовую составляющую (89 - 98%). Наиболее существенная дифференциация объединенных по принадлежности к морским бассейнам географических популяций выявлена для Японского моря. Обнаружено существование двух филогенетических групп (или клад), связанных с противоположными побережьями Японского моря и Охотским морем, граница между которыми проходит по заливу Невельского.

Современная генетическая структура таксона отражает историческую изоляцию популяций в предковом рефугиуме, с последующим расселением вдоль восточного и арктического побережий Евразии в периоды трансгрессий мирового океана. Мы предполагаем, что основным рефугиум *O. m. dentex* находился в восточной Пасифике. Несколько фактов поддерживают это предположение: (1) распределение гаплотипического разнообразия и основных филогенетических групп, выделенных на основе генеалогического анализа, в направлении от Японского моря к Берингову и морям Арктического бассейна; (2) палеогеографические реконструкции на территории предполагаемого рефугиума. Кроме основного, возможно существование в позднем плейстоцене дополнительного небольшого рефугиума в Белом море. Однако вклад предполагаемого рефугиума в реколонизацию *O. dentex* по ареалу, учитывая уникальный состав гаплотипов, можно считать незначительным. Распределение различий между всеми гаплотипами также указывает на уменьшение эффективной численности и/или эффект основателя для популяций северного побережья Евразии. Вероятно, колонизация была ограничена из-за небольшого размера предковых популяций. В то же время, уменьшение разнообразия мтДНК может быть связано как с историческими, так и с современными тяжелыми климатическими условиями в северной части ареала вида. Арктические популяции *O. dentex* могли периодически проходить через стадию бутылочного горлышка во время плейстоценовых оледенений, а также в современных условиях из-за хрупкости северных мест обитания.

Получено подтверждение выдвинутой ранее гипотезы (Oleinik et al., 2007), что Японское море и южная часть Охотского моря являются одним из центров видообразования рыб, и, одновременно, рефугиумом в плиоцене-плейстоцене.

### **Comparative analysis of genetic diversity and demographic history of the Pacific smelt *Osmerus dentex***

Skurikhina L.A.<sup>1</sup>, Oleinik A.G.<sup>1</sup>, Kovpak N.E.<sup>1</sup>, Kukhlevsky A.D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology,*

*National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok, Russia*

<sup>2</sup>*Department of Genetics, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia*

The Pacific smelt *Osmerus dentex* (Asian toothed, Pacific or Arctic rainbow smelt) is of particular interest for clarification of the various aspects of the evolution of circumpolar fish species. *O. dentex* came into existence in the northwestern Pacific at the Pliocene-Pleistocene border and could widely disseminate along the Eurasian and North American coasts. Modern populations of *O. dentex* inhabit areas which were not subjected to glaciations, while others inhabit regions that have experienced the effect of the glaciers. Phylogeographic patterns of this species should provide further insights into the role of glaciations and hydrogeology for contemporary population genetic structure, historical genetic subdivision and dispersal.

We assessed the impact of global climatic and geological changes (i.e., glaciations, transgression and regression of the ocean) on the formation of the genetic structure of *O. dentex* in the Eurasian parts of the species area (in the Sea of Japan, Okhotsk Sea, Bering Sea, Kara Sea,

Barents Sea, and White Sea) using a variety of phylogenetic methods and molecular dating interpreted in conjunction with paleoclimatic evidence. Phylogeographic patterns based on *cytb* and *coI* sequences, and RFLP ND3/ND4L/ND4 and A8/A6/COIII/ND3 mtDNA regions for 462 Pacific smelts from 25 Eurasian locations were analysed. The genetic structuring of *O. m. dentex* over the larger part of the examined Eurasian range was weakly expressed, despite the high level of haplotype diversity. Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the majority of molecular diversity (89 - 98%) was found within the populations. The most considerable differentiation of geographical populations for those grouped by their association with sea basins was observed for the Sea of Japan. The phylogeographic survey of Pacific smelt throughout its distribution on the opposite coasts of Sea of Japan and the Sea of Okhotsk revealed the existence of two phylogroups (or clades), with the boundary between them probably lying in the Nevelskoy Strait.

The modern genetic structure of taxon reflects the historical isolation in ancestral refugia with subsequent colonization along the eastern and Arctic coasts of Eurasia during the global ocean transgressions. Our results suggest that geographical distribution observed for mtDNA haplotypes resulted from influences of historical range expansions, episodes of long-distance colonization and restricted dispersal. We suppose that the main refugium of *O. dentex* was on the western Pacific coast (the Sea of Japan and the southern Sea of Okhotsk). Several facts are evidence in favor of this assumption: (i) distribution of haplotype diversity and main phylogenetic groups distinguished by genealogical analysis in the direction from the Sea of Japan towards the Bering Sea and the Arctic seas (ii) paleogeographical reconstructions on the territory of the putative refugium. It is possible that a small refugium in the White Sea existed in the Late Pleistocene. We believe that the contribution of a putative refugium on the Arctic coast to recolonization throughout the range of *O. dentex* can be counted as negligible. This conclusion is based on the uniqueness of the population haplotypes. The mismatch distributions also suggest that the assemblages on the northern coast of Eurasia have experienced a reduction(s) in size or a founder effect(s). Probably, colonization was limited due to the small size of the ancestral populations. The loss of mtDNA diversity could be linked to both historical and contemporary harsh climatic conditions in the northern part of the species range. Arctic populations of Pacific smelt could have repeatedly passed through a bottleneck at the refugial stage during the Pleistocene glaciations, as well as in recent time because of the ephemeral nature of northern habitats.

Our phylogenetic data of *O. dentex* also support the proposition (Oleinik et al., 2007) that the Sea of Japan and the southern part of the Sea of Okhotsk represent a place of origin for fish species and, at the same time, a refugium in the Pliocene-Pleistocene.

### **Филогения и филогеография трясогузок Центральной Азии**

Слынько Е.Е.<sup>1</sup>, Болдбаатар Ш.<sup>2</sup>, Лхагважаргал С.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
п. Борок, Ярославская обл., Россия

<sup>2</sup>Институт зоологии АНМ, Улан-Батор, Монголия

<sup>3</sup>Университет Образования Монголии, Улан-Батор, Монголия

Исследовали генотипическое разнообразие и таксономическую структуру рода *Motacilla* на территории Монголии. Выборка была собрана на территории Северо-Запада Монголии и предположительно состояла по внешним признакам из двух видов: номинативного - *Motacilla alba* и описанного для Средней Азии (Казахстан) – *M. personata* (Гаврилов, 1970). Ряд авторов считают *M. personata* подвидом (Per Alstrom et al., 2003). Для идентификации использовали фрагмент локуса *cytb* мтДНК длиной 256 п.н., проанализированный у 3 экземпляров *M. alba* и 4 особей *M. personata*. ДНК выделяли из трех видов ткани – кровь, печень, перо. Наиболее богатой ДНК оказались образцы крови. Все исследованные *M. personata* по данному фрагменту мтДНК были схожи с *M. alba*, что дает

основание описывать их в статусе вида *M. alba*. Для сравнения из GENBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) были взяты образцы 10 видов р. *Motacilla*, а также по одному виду из других, в том числе близких родов воробьиных: *Lanius cristatus*, *Eremophila alpestris*, *Seiurus motacilla* и *Anthus trivialis*. Отсутствие видового статуса у *M. personata* согласуется с современными представлениями о таксономическом разнообразии *Motacilla* (Handbook..., 2009). Полученные данные подтверждают представления о трясогузках, как политипическом виде. Нередко с помощью морфолого-географического критерия выделяется целая группа близкородственных форм, обитающих, как правило, в сильно расчлененной местности (в горах, либо на островах) (<http://www.darwinmuseum.ru>). Каждая из этих форм имеет свой, обычно довольно ограниченный ареал. Вид, включающий в себя несколько подвидов, называется политипическим, но когда анализируемые формы географически изолированы, оценка их статуса довольно субъективна и происходит только на основании морфологического критерия: если различия между ними "существенны", то перед нами - разные виды, если нет - подвиды. Не всегда в группе близкородственных форм удается однозначно определить статус каждой формы. Иногда группа популяций замыкается в кольцо, охватывающее горный массив или земной шар. В таком случае может оказаться, что "хорошие" (обитающие совместно и не гибридизирующие) виды связаны друг с другом цепью подвидов. Между рассматриваемыми нами *Motacilla alba* и *M. personata* на территории Монголии часто происходит гибридизация, они свободно скрещиваются и дают потомство, в котором появляются особи с различными фенотипическими признаками.

### Phylogeny and phylogeography of the wagtails of Central Asia

Slynko E.E.<sup>1</sup>, Boldbaatar Sh.<sup>2</sup>, Lhagvajargal S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Yaroslavl reg., Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Zoology ASM, Ulaanbaatar, Mongolia*

<sup>3</sup>*University of Education of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolia*

The genotypic diversity and taxonomic structure of the genus *Motacilla* in Mongolia was investigated. The sample was collected on the territory of the Northwest of Mongolia and presumably consisted of two types by external features: the nominative - *Motacilla alba* and the one described for Central Asia (Kazakhstan) - *M. personata* (Gavrilov, 1970). A number of authors consider *M. personata* a subspecies (Per Alstrom et al., 2003). For identification, a 256 bp cyt b mtDNA locus was used, analyzed in 3 specimens of *M. alba* and 4 individuals of *M. personata*. DNA was isolated from three types of tissue - blood, liver, feather. Blood samples were mostly rich in DNA. All of the *M. personata* examined for this mtDNA fragment were similar to *M. alba*, which gives grounds to describe them specifically as *M. alba*. For comparison, samples of 10 species were taken from GENBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). *Motacilla*, as well as by one species from other genera, including the closely related genera of passerines: *Lanius cristatus*, *Eremophila alpestris*, *Seiurus motacilla* and *Anthus trivialis*. The absence of species status in *M. personata* is consistent with the current understanding of the taxonomic diversity of *Motacilla* (Handbook ..., 2009). The data obtained confirm the ideas about wagtails as a polytypic species. Often, with the help of the morphological-geographical criterion, a whole group of closely related forms is distinguished, living, as a rule, in strongly dissected terrain (in the mountains or on islands) (<http://www.darwinmuseum.ru>). Each of these forms has its own, usually rather limited range. A species that includes several subspecies is called polytypic. When the analyzed forms are geographically isolated, the assessment of their status is rather subjective and occurs only on the basis of the morphological criterion: if the differences between them are "significant", then we consider them different species, if not - subspecies. In the group of closely related forms it is not always possible to unequivocally determine the status of each form. Sometimes a group of populations closes into a ring, encompassing a mountain massif or globe. In this case, it may turn out that the "good" (living together and not hybridizing) species are related to each other by a chain

of subspecies. Between the *Motacilla alba* and *M. personata* that we are considering, hybridization often occurs on the territory of Mongolia, they cross freely and give offspring in which individuals with different phenotypic features appear.

### Генетические последствия реинтродукции стерляди в р. Сухона

Слынько Е.Е., Слынько Ю.В.

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
п. Борок, Ярославская обл., Россия*

Уже к середине 20 века в бассейне р. Северная Двина и ее основном притоке р. Сухона сложилась катастрофическая ситуация по запасам стерляди. Рыбоводной помощью стаду стерляди северодвинского бассейна с 1995 г. занялось Кадуйское рыбоводное хозяйство (ОАО «Кадуйрыба», впоследствии ОАО РТФ «ДИАНА»). От 4 самок весной 2000 г. была получена икра и выращена молодь стерляди. За период с 2000 по 2016 года на участках р. Сухона в Нюксинском и Тотемском районах было выпущено порядка 600 тыс. сеголеток, полученных и выращенных от производителей сухонской стерляди, в ОАО РТФ «Диана». Для оценки успеха реинтродукции был применен молекулярно-генетический подход, основанный на анализе изменчивости фрагментов одного митохондриального (*cyt b*) и одного рибосомного (*18S*) локусов ДНК. В ходе молекулярно-генетического анализа проанализировано 21 «заводских» экземпляров и 29 «диких» экземпляров стерляди. Все заводские особи в возрасте 1+ были взяты из групп смешанного потомства, сформированного от разных пар производителей.

На основании филогенетического, генеалогического анализов и наличия специфических маркерных замен нуклеотидов из 29 проанализированных диких особей из р. Сухона 8 экз. из Полдарсы и 3 экз. из Тотьмы обладали уникальными специфическими качествами. Наиболее низкие уровни изменчивости (как гаплотипического и нуклеотидного разнообразия, так и количества полиморфных сайтов и степени внутривидовой подразделенности) присущи заводским особям, у диких особей эти показатели на несколько порядков выше. При этом характерно то, что в районе Тотьмы уровни гаплотипического разнообразия выше, чем в районе Полдарсы, а нуклеотидного – наоборот. Именно эти данные позволяют с высокой степенью уверенности говорить о том, что проникновение в Сухону особей, не родственных заводским, имеет очень невысокую вероятность. Фактически это особи P25 и P27, которые вероятно могли проникнуть из северодвинского стада, значительно обогатив популяцию Сухоны именно нуклеотидным разнообразием. То, что часть стада из района Тотьмы характеризуется более низкой внутривидовой подразделенностью и достоверным значением теста на нейтральность, сближаясь с заводским стадом, свидетельствует о несомненном их родстве и единстве происхождения. Также, благодаря возможному скрещиванию заводских по происхождению особей с северодвинскими может объясняться увеличение доли единичных замен в районе Полдарсы.

Таким образом, из 29 обработанных стерлядей р. Сухона, 24 особи имеют заводское происхождение, а три особи – вероятней всего пришлые. С применением байесовского подхода (Дурбин и др., 2006) мы получаем, что относительная выживаемость заводских особей в р. Сухона составляет 0.827 (при размерности приспособленности от 0 до 1), что в принципе соответствует порядку величины относительной приспособленности, получаемой расчетным методом на основании значения  $D$  (-2.04), в этом случае  $W=0.796$ . Следует заметить, что применение именно данного подхода наиболее актуально в случаях недостаточности или ограниченности оценочных параметров и наличия априорных данных.

Высокая степень выживаемости и генетической приспособленности заводской стерляди в естественных условиях подтверждается и в ходе анализа пространственной подразделенности стад стерляди на рассматриваемых участках р. Сухона. Как и ожидалось, минимально подразделена выборка из заводского стада (0.0002), а вот с выборками из

естественных условий отмечена интересная, но закономерная картина: наблюдается последовательное увеличение пространственной подразделенности от района Тотьмы к району Полдарсы. В целом, анализ поло-возрастной структуры и параметров генетической изменчивости (особенно в части мутаций) засвидетельствовал, что обитающее в реке Сухона на участке Тотьма – Полдарса стадо стерляди, вероятней всего, на 80-90% представлено вторым поколением особей, происходящих с Кадуйского рыбзавода. Особо следует отметить, что несмотря на значительную генетическую обедненность заводского стада, в естественных условиях уже во втором поколении наблюдается существенное восстановление генетических популяционных характеристик – рост генетического разнообразия и сбалансированности частот нуклеотидов.

### **Genetic consequences of sterlet reintroduction in the river Sukhona**

Slynko E.E., Slynko Yu.V.

*I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Yaroslavl reg., Russia*

By the middle of the 20th century a catastrophic situation with sterlet stocks was in the basin of the river Northern Dvina and its main tributary of the river Sukhona. Since 1995 the Kaduisk fish farm (OJSC Kaduyryba, later OJSC RTF DIANA) has engaged in reproduction of the sterlet of the Severodvinsk basin. In spring 2000 caviar from 4 females was obtained and juvenile sterlet was grown. For the period from 2000 to 2016, on the sections of the river Sukhona in the Nyuksinskiy and Totmsk districts, about 600 thousand yearlings were released, which were obtained and grown from the producers of the Sukhona sturgeon in OJSC RTF "Diana". To assess the success of reintroduction, a molecular genetic approach based on the analysis of the variability of fragments of one mitochondrial (cyt b) and one ribosomal (18S) loci of DNA was applied. In the course of molecular genetic analysis, 21 "farm" specimens and 29 "wild" sterlet specimens were analyzed. All plant individuals aged 1+ were taken from groups of mixed progeny, formed from different pairs of producers.

Based on phylogenetic, genealogical analyzes and the presence of specific marker substitutions of nucleotides from 29 analyzed wild specimens from the river Sukhona, 8 specimens from Poldarsy and 3 specimens from Totma had unique specific qualities. The lowest levels of variability (both haplotypic and nucleotide diversity, and the number of polymorphic sites and intrapopulation subdivision) are inherent in farm individuals, in wild individuals these levels are several orders of magnitude higher. At the same time, it is characteristic that in the Totma region the levels of haplotype diversity are higher than in the Poldarsy region, and the nucleotide variety is vice versa. It is these data that allow us to state with a high degree of certainty that the penetration into Sukhona of individuals that are not related to farm animals has a very low probability. In fact, these are individuals of P25 and P27, which probably could have penetrated from the Severodvinsk stock, greatly enriching the Sukhona population with the nucleotide variety. Moreover, the fact that part of the stock from the districts of Totma is characterized by a lower intrapopulation subdivision and a reliable value of the neutrality test, drawing closer to the farm stock, indicate their undoubted kinship and unity of origin. Also, due to the possible crossing of farm-by-origin individuals with Severodvinsky ones, the increase in the proportion of single replacements in the Poldarsy region can be explained. Thus, of the 29 treated sterlets of the Sukhona, 24 individuals are of farm origin, and three individuals are most likely alien. With the use of the Bayesian approach (Durbin et al., 2006), we found that the relative survival of plant individuals in the river Sukhona is 0.827 (with the fitness range from 0 to 1), which in principle corresponds to the order of magnitude of the relative fitness obtained by the calculation method based on the value of  $D$  (-2.04), in this case  $W=0.796$ . It should be noted that the application of this approach is most relevant in cases of insufficient or limited evaluation parameters and the availability of a priori data.

A high degree of survival and genetic fitness of the farm sterlet in natural conditions is also confirmed in the course of analysis of the spatial division of sterlet populations in the Sukhona areas



under consideration. As expected, the sample from the farm stock is minimal subdivided (0.0002), but an interesting picture was noted with samples from natural conditions: a gradual increase in the spatial subdivision from the Totma area to the Poldarsy region is observed. In general, the analysis of the sex-age structure and the parameters of genetic variability (especially in terms of mutations) testified that the sterlet, which inhabits the Sukhona River in the Totma-Poldars area, is likely to be 80-90% of the second generation of fish from the Kaduy fish farm. Especially it should be noted that in spite of the considerable genetic depletion of the farm stock, in the natural conditions already in the second generation, there is a significant restoration of the population genetic characteristics - the growth of genetic diversity and the balance of the frequencies of nucleotides.

### **Проблемы эволюционной дивергенции и диверсификации рыб Западной Монголии**

Слынько Ю.В.

*Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН,  
п. Борок, Ярославская обл., Россия*

Надежным индикатором формирования неогеновой биоты Евразии служит ихтиофауна Центральной Азии и прежде всего Монголии. Это обусловлено интенсивностью горообразовательных процессов в регионе на рубеже плиоцена и плейстоцена. Интенсивное изучение палеоистории палеогеновых и неогеновых рыб Палеарктики (Штылько, 1934; Никольский, 1956; Лебедев, 1959; Яковлев, 1961; 1964; Сычевская, Девяткин, 1962; Сычевская, Лебедев, 1971; Сычевская, 1983; 1986; 1989; Голубцов, Малков, 2007) позволило авторам утверждать, что уже в палеогене в Южной Сибири и всей Внутренней Азии (включая Забайкалье и Монголию) сформировалась ихтиофауна неогенового облика, составленная из представителей сино-индийских и нагорноазиатских элементов, которая просуществовала до конца плиоцена. Плиоцен-плейстоценовые преобразования шли как по пути вымирания большей части элементов синбореальной, впоследствии бореальной фауны, вплоть до полного исчезновения, так и по пути вселения арктических и бореально-предгорных элементов (Сычевская, 1983; 1989). Все элементы западномонгольской ихтиофауны считаются сравнительно молодыми: 1.5-2 млн. лет назад, а сама ихтиофауна характеризовалась, как пограничная. Вместе с тем, при кажущейся решенности данных проблем, по всем основным пунктам имеются парадоксальные ситуации. Это касается вопросов зоогеографического деления территории, происхождения эндемичных видов, геологического возраста групп видов, направленности и скорости видообразования. Мы полагали, что разрешение парадоксов возможно с привлечением сравнительно-генетических методов, для выяснения таксономического статуса, филогенетических отношений и филогеографии представителей трех ключевых групп рыб Западной Монголии. Для проведения молекулярно-генетического анализа был изучен полиморфизм нуклеотидной последовательности участка митохондриальной ДНК, включающего ген цитохрома *b* (*Cyt<sub>b</sub>*), у представителей рода *Oreoleuciscus* (алтайские османы) (Слынько, Боровикова, 2012), *Thymallus* (хариусы) (Слынько и др., 2015) и при участии в лабораторной обработке Столбуновой В.В. - *Orthrias* (усатые гольцы) из водоемов Монголии.

На основании оценок величин генетической дивергенции и времени расхождения выявленных генетико-географических групп обосновывается существование трех аллопатрических видов алтайских османов в пределах рода *Oreoleuciscus*. Исходя из полученных оценок дивергенции нуклеотидных последовательностей алтайского османа и гольяна Лаговского, вида наиболее близкого *Oreoleuciscus* sp., примерное время их дифференциации – 17-18 млн. лет назад. Заметим, что Имото с соавт. (Imoto et al., 2009) относили время разделения алтайского османа и гольяна Лаговского несколько дальше – на 35.5 млн. лет назад (рубеж олигоцена и миоцена). Гаплотипы алтайских османов Долины Озер, с одной стороны, и Западной Монголии и Ледовитоморского бассейна, с другой, по-видимому, дивергировали друг от друга около 5.5 млн. лет назад (начало плиоцена), а

популяции двух последних районов утратили связь друг с другом около 3 млн. лет назад (середина плиоцена). Таким образом, становление, расселение и дивергенция алтайских османов полностью приурочены к начальному периоду неогена.

Детальный анализ характера и качества нуклеотидных замен в используемом филогенетическом маркере указывает на надежность видовой дифференциации использованных в анализе видов хариусов. При этом 4 вида – амурский, сибирский, байкальский и монгольский характеризуются несомненной общностью происхождения от единого предка. Европейский же хариус является удаленным дериватом байкальского хариуса. Представленные данные по генеалогическим отношениям хариусов согласуются с представлениями о том, что байкальский хариус наиболее древний вид в группе центрально-азиатских хариусов (Froufe et al., 2005; Книжин, 2009). Пространственное расположение медианных векторов свидетельствует о большем родстве байкальского хариуса с монгольским хариусом, чем с сибирским (Crête-Lafrenière et al., 2012; Шедько и др., 2013). Несмотря на то, что отделение от общего предка трех видов – монгольского, сибирского и байкальского видов хариуса произошло почти одновременно, около 4 млн. лет назад в плиоцене, вероятно, дальнейшая реструктуризация гаплотипов происходила у рассмотренных видов хариусов разными путями. Несомненная близость гаплотипов байкальского хариуса к группе гипотетических предковых (mv) для всей группы гаплотипов евросибирских хариусов позволяет предполагать, что данный вид наиболее родственен вероятному предку, обитавшему по всему Центрально-Азиатскому региону, включая бассейн Долины Озер.

У усатых гольцов отчетливо формируются два кластера, один составляют виды из бассейна Орхона и бассейна Амура (оз. Буйр Нур), а второй, с многочисленными подкластерами, виды из других регионов Монголии, Сибири, Европы, Тибета и Индии. Наиболее оформлен подкластер Большого Алтая и Долины Озер. Следует заметить, что описываемые в таксономической литературе виды *Nemachilius barbatula*, *Barbatula barbatula* и *Orthrias barbatula* практически не различаются между собой и равномерно распределены по размытой группе кластеров. Расчет времени дивергенции осуществляли с использованием оценки времени дивергенции нуклеотидных последовательностей, калиброванную для гена цитохрома *b* мтДНК рыб рода *Cobitis* – 0.68% нуклеотидных замен за 1 млн. лет (Doadrio, Perdices, 2005). Отделение *Triplophysa* от остальных Cobitidae происходит порядка 19 млн. лет назад, а отделение от губачей усатых гольцов – порядка 17 млн. лет назад. Отделение кластера Буйрнур – верховья Орхона от губачей соотносится с 13 млн. лет назад. Отделение остальных групп усатых гольцов, которых можно обозначить как *Nemachilius barbatula* = *Barbatula barbatula* = *Orthrias barbatula* начинается порядка 11-10 млн. лет назад.

Полученная по всем трем группам рыб западной Монголии информация по времени и месте дивергенции предковой группы свидетельствует, что все современные виды происходят от предков амфибореальной фауны, и являются автохтонными элементами региона. Происхождение всех трех групп соотносится с неогеном. Ранее всех обособляются губачи (начало миоцена), затем усатые гольцы и *Oreoleuciscus* (середина миоцена) и самая молодая группа – хариусы (середина плиоцена). Все группы рыб Западной Монголии берут начало от представителей китайского равнинного комплекса и ни в коей мере не являются результатом смещения ледовитоморской и китайской фаун. Видообразование же в пределах каждой группы более-менее связано с упомянутыми тектоническими и климатическими трансформациями региона на рубеже плиоцена и плейстоцена. Все три группы представлены политипическими видами.

## Problems of the evolutionary divergence and diversification of fish in Western Mongolia

Slynko Yu.V.

*I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS, Borok, Yaroslavl reg., Russia*

A reliable indicator of the formation of the Neogene biota of Eurasia is the ichthyofauna of Central Asia and primarily of Mongolia. This is due to the intensity of the mountain-forming processes in the region at the turn of the Pliocene and Pleistocene. Intensive study of the paleohistory of Paleogene and Neogene fish of the Palearctic (Shtylko, 1934, Nikolsky, 1956, Lebedev, 1959; Yakovlev, 1961; 1964; Sychevskaya, Devyatkin, 1962; Sychevskaya, Lebedev 1971; Sychevskaya, 1983; 1986; 1989; Golubtsov, Malkov, 2007) allowed the authors to state that the ichthyofauna of the Neogene form, composed of representatives of Sino-Indian and Nagorno-Asian elements, has existed already in the Paleogene in South Siberia and throughout Inner Asia (including Transbaikalia and Mongolia), which lasted until the end of the Pliocene. Pliocene-Pleistocene transformations proceeded along the path of extinction of the greater part of the elements of the synboreal, later boreal fauna, until complete disappearance, and along the path of invasion of the Arctic and boreal-foothill elements (Sychevskaya, 1983, 1989). All elements of the West Mongolian ichthyofauna are considered relatively young: 1.5-2 million years ago, and the ichthyofauna itself was characterized as a borderline. At the same time, given the apparent resolution of these problems, there are paradoxical situations in all the main points. This concerns the zoogeographical division of the territory, the origin of endemic species, the geological age of groups of species, the direction and speed of speciation. We believed that the resolution of paradoxes is possible with the involvement of comparative genetic methods, to clarify the taxonomic status, phylogenetic relations and phylogeography of representatives of the three key fish groups of Western Mongolia. Polymorphism of the nucleotide sequence of the mitochondrial DNA region, including the cytochrome b gene (Cyt\_b), in representatives of the genus *Oreoleuciscus* (Altai osmans) (Slynko, Borovikova, 2012), *Thymallus* (graylings) (Slynko et al., 2015) has been studied for molecular genetic analysis ) and with the participation in laboratory works of V.V. Stolbunova. - *Orthrias* (moustached loaches) from the reservoirs of Mongolia.

Based on estimates of the genetic divergence magnitude and the time of discrepancy between the identified genetic and geographical groups, the existence of three allopatric species of Altai osmans within the genus *Oreoleuciscus* is substantiated. Based on the obtained estimates of the divergence of the nucleotide sequences of the Altai osman and Lagowsky's minnow, the species of the closest *Oreoleuciscus* sp. the approximate time of their differentiation is 17-18 million years ago. Note that Imoto et al. (Imoto et al., 2009) attributed the time of separation of the Altai Osmans and Lagowsky's minnow somewhat further - by 35.5 million years ago (the boundary of the Oligocene and Miocene). The haplotypes of the Altai Osmans of the Lakes, on the one hand, and of Western Mongolia and the Ledovitomor basin, on the other, apparently diverged from each other about 5.5 million years ago (the beginning of the Pliocene), and the populations of the last two regions lost contact with each other near 3 million years ago (mid-Pliocene). Thus, the formation, resettlement and divergence of the Altai Osmans are completely confined to the initial period of the Neogene.

A detailed analysis of the nature and quality of the nucleotide substitutions in the phylogenetic marker used emphasizes the reliability of the species differentiation of grayling species applied in the analysis. At the same time, four species - Amur, Siberian, Baikal and Mongolian - are characterized by an unequivocal common origin from a single ancestor. European grayling is a remote derivative of the Baikalian grayling. The presented data on the genealogical relations of grayling are consistent with the notion that the Baikal grayling is the most ancient species in the group of Central Asian graylings (Froufe et al., 2005; Knizhin, 2009). The spatial arrangement of the median vectors indicates a greater similarity of the Baikal grayling with the Mongolian grayling than with the Siberian grayling (Crête-Lafrenière et al., 2012; Shedko et al., 2013). Despite the fact that the separation from the common ancestor of three species - Mongolian,

Siberian and Baikal grayling occurred almost simultaneously, about 4 million years ago in the Pliocene, it is likely that further haplotypes' restructuring took place in the various types of grayling in different ways. The undoubted proximity of the Baikalian haplotype to haplotypes of the hypothetical ancestral group (mv) for the whole group of Eurosiberian graylings makes it possible to assume that this species is most closely related to a probable ancestor inhabiting the entire Central Asian region, including the Valley of the Lakes basin.

Two clusters form in the moustached loaches; one consists of species from the Orkhon basin and the Amur basin (Buyr Nur), and the second, with numerous subclusters, of species from other regions of Mongolia, Siberia, Europe, Tibet and India. The most decorated subclass of the Great Altai and the Valley of the Lakes. It should be noted that the species of *Nemachilius barbatula*, *Barbatula barbatula* and *Orthrias barbatula*, described in the taxonomic literature, practically do not differ among themselves and are evenly distributed over clusters. The divergence time was calculated using the time-divergence estimate of the nucleotide sequences calibrated for the cytochrome b gene of the mtDNA of fish of the genus *Cobitis* - 0.68% of the nucleotide substitutions in 1 million years (Doadrio, Perdices, 2005). The Triplophysa branch from the rest of the Cobitidae occurs about 19 million years ago, and the separation from the mustachioed loach is about 17 million years ago. The branch of the Buynur cluster - the upper reaches of Orkhon - from the mustachioed loach is about 13 million years ago. The separation of the remaining groups of baleen loams, which can be designated as *Nemachilius barbatula* = *Barbatula barbatula* = *Orthrias barbatula*, begins about 11-10 million years ago.

The information on the time and place of divergence of the ancestral group obtained for all three groups of fish in western Mongolia shows that all modern species originate from the ancestors of the amphiboreal fauna and are the autochthonous elements of the region. The origin of all three groups is connected with the Neogene. Earlier, all the Gubachi (the beginning of the Miocene), then the mustached loaches and *Oreoleuciscus* (middle of the Miocene) and the youngest group - graylings (mid-Pliocene) are separated. All groups of fish of Western Mongolia originate from representatives of the Chinese plain complex and in no way result from the confluence of the Arctic Ocean and Chinese faunas. But the speciation within each group is more or less connected with the mentioned tectonic and climatic transformations of the region at the turn of the Pliocene and Pleistocene. All three groups are represented by polytypic species.

### **Генетические процессы в популяциях фоновых видов животных на импактных территориях**

Снегин Э.А., Снегина Е.А., Адамова В.В., Бархатов А.С., Шаповалова Е.А.  
*Белгородский государственный национальный исследовательский университет,  
Белгород, Россия*

Двадцатилетние наблюдения (с 1996 по 2016 гг.) за состоянием популяционных генофондов фоновых видов животных (наземных моллюсков и мышевидных грызунов), обитающих в условиях влияния предприятий горно-обогатительного комплекса курской магнитной аномалии (КМА, Белгородская область) привели нас к следующим выводам.

Во-первых, на промышленных территориях в силу чрезмерного дробления ареала, и как следствие, появления узколокальных поселений и дрейфа генов, идет обеднение генофонда и увеличение гомозиготных комбинаций. Этот процесс, вероятно, усиливается естественным отбором в сторону доминирования генетических факторов, наиболее адаптивных к условиям изоляции и к обитанию в импактных зонах. Было показано, что в некоторых случаях гомозиготизация различных популяций исследуемых видов в районе исследования идет по одним и тем же аллелям изоферментов и ДНК.

Во-вторых, данные о генетической подразделенности исследуемых групп также подтверждают выдвинутый нами ранее тезис, что урбанизированный лесостепной ландшафт, в условиях которого обитает большинство изучаемых популяций, нарушает естественные

миграционные процессы, что также приводит к сильной изолированности, дрейфу генов, и ведет к формированию своеобразных популяционных генофондов. Особенности кластеризации выборок и отсутствие корреляции между генетическими и географическими дистанциями между популяциями, свидетельствует о нарушении модели изоляции расстоянием. За период наблюдений индексы подразделенности популяций  $\Phi_{st}$  и  $F_{st}$  у некоторых видов в районе исследования увеличились в два раза, что свидетельствует о продолжающейся тенденции роста степени антропогенной инсультации естественных популяций на юге лесостепи.

В-третьих, наблюдения показывают, что популяционная структура ряда видов в районе исследования соответствует метапопуляционной модели, когда часто вымирающие немногочисленные группы, обитающие в пойменных биотопах, пополняются новыми особями из крупных лесных популяций. Вместе с тем, нами продемонстрировано, что такая реколонизация все чаще становится проблематичной, т.к. естественные биокоридоры, по которым может происходить миграция, разрушаются в ходе необдуманного антропогенного вмешательства.

В-четвертых, все эти явления на фоне снижения аллельного разнообразия, отмеченного нами во многих группах, можно расценивать, как смещение генетического равновесия в сторону увеличения межпопуляционного разнообразия, что подтверждает положения «теории эволюции со смещающимся равновесием» (shifting balance theory of evolution) (Wright, 1970). Полагаем, что это можно расценивать как положительный момент, повышающий устойчивость видов в условиях урбанизации и техногенеза.

Еще одним моментом, косвенно указывающим на повышение жизнеспособности изучаемых популяций, является уменьшение уровня разрушения ДНК (оцененного методом ДНК-комет) в популяциях, длительно обитающих на импактных территориях, по сравнению с группами, недавно подвергшимися воздействию поллютантов (например, оказавшихся под влиянием пестицидов в заповедных участках). Вероятно, естественный отбор аллелей и их комбинаций по генам репарационного комплекса (репарогенов) позволил значительно снизить уровень мутагенной нагрузки в группах из промышленных районов.

### **Genetic processes in populations of common species of animals in the impact areas**

Snegin E.A., Snegina E.A., Adamova V.V., Barhatov A.S., Shapovalova E.A.  
*Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia*

Twenty-year monitoring (from 1996 to 2016) of the population gene pools of common species (terrestrial mollusks and rodents), living in conditions of complex influence of the Kursk Magnetic Anomaly (KMA, Belgorod Region) led us to the following conclusions.

Firstly, due to excessive fragmentation of areas on industrial territories, and as a result, the appearance of narrow local communities and genetic drift, the depletion of the gene pool and increase homozygote combinations take place. Probably this process is enhanced by natural selection in the direction of dominance of genetic factors, which are the most adaptive to conditions of isolation and to life in impact zones. In some cases homozygosity for the same allele of isozymes and DNA are observed in different populations in the study territory.

Second, data on genetic subdivision of study groups also support our earlier thesis that urbanized forest-steppe landscape, in which the most studied populations inhabit, violates the natural migration processes, which also leads to strong isolation, genetic drift, and leads to the formation of peculiar population gene pools. Features clustering of samples and the lack of correlation between genetic and geographic distances reflect a violation of the model of isolation-by-distance. During the observation period subdivision indices  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  in populations of some species in the study area have doubled, reflecting the ongoing upward trend in the degree of anthropogenic insularization of natural populations in the south of the forest-steppe.

Third, the observations show that the population structure of some species in the study area corresponds metapopulation models: small groups that live in the floodplain habitats often replenish with immigrants from the largest forest populations. However, we have demonstrated that such recolonization progressively becomes problematic because natural bio-corridors through which migration can occur, destroyed as consequences thoughtless human intervention.

Fourth, all these phenomena of lower allelic diversity in many studied groups can be estimated as the displacement of genetic equilibrium in the direction of increasing interpopulation diversity that supports the «shifting balance theory of evolution» (Wright, 1970). We consider that this effect increases the stability of species in conditions of urbanization and technogenesis.

Another point, indirectly indicating to improving the viability of the studied populations, is a low level of DNA damage (assessed by comet assay) in populations, which inhabit in impact areas, compared with groups that have been recently exposed of pollutants (eg under the influence of pesticides on conservation areas). Probably, natural selection of alleles and their combinations of genes of repair complex significantly reduces the mutagenic load in groups of industrial areas.

### **Дифференциация симпатрических видов сигов рода *Coregonus* Телецкого озера по микросателлитным локусам**

Соколов В.В., Политов Д.В.

*Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Вопросы генетической дифференциации, эволюционных взаимоотношений и таксономического статуса симпатрических видов сигов рода *Coregonus* (Teleostei: Salmoniformes: Coregonidae) обсуждаются на протяжении уже более ста лет. Классическим примером пары совместно обитающих сигов являются сиви озера Телецкое – олиготрофного водоёма, расположенного в Горном Алтае в верховьях бассейна р. Оби. Несмотря на давно описанные достоверные морфо-физиологические и экологические различия между малотычинковым эврифагом телецким сигом (*C. smitti* Warpachowski, 1900) и карликовым среднетычинковым планктофагом сижком Правдина (*C. pravdinellus* Dulkeit 1949), генетические различия между этими формами до сих пор слабо исследованы. Ранее описанные уровни дифференциации между ними по аллозимным локусам и фрагментам митохондриальной ДНК локусов не достигает значений, характерных для хорошо дивергировавших видов сигов. В настоящей работе мы оценили дифференциацию популяций симпатрических сигов озера Телецкое с помощью микросателлитных локусов - генетических маркёров ядерной локализации, обладающих высокой скоростью мутирования, изменчивость которых отражает недавние микроэволюционные процессы. Исследованы выборки телецкого сига (49 образцов) и сижка Правдина (60 образцов) по девяти тетраплексионным микросателлитным локусам, ранее разработанных для других видов сиговых и лососевых рыб и протестированных нами (*Clatet-1, -9, -10, -15; CLB-102, -116, -127, -129; Sco-211*). Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР-амплификации проводили в полиакриламидном геле с последующей окраской бромистым этидием. Результаты обрабатывали при помощи GenALEx 6.501. Среди исследованных нами 109 рыб по 9 локусам было обнаружено 109 различных аллелей. Из них для обеих популяций общих было 80 аллелей, 9 аллелей оказались специфичными для Телецкого сига, а 20 - для сижка Правдина. Видоспецифичные аллели имеют низкую частоту встречаемости (не выше 2,1 % для Телецкого сига и 5,2 % - для сижка Правдина). Уровень генетической подразделённости между популяциями телецкого сига и сижка Правдина оказался крайне низким ( $F_{ST}=1,1\%$ ), при генетическом расстоянии Нея между ними 0,063. Анализ многолокусных генотипов в программе *STRUCTURE* показал фактическое отсутствие дифференциации по частоте встречаемости реконструированных кластеров. Столь низкая генетическая дифференциация между популяциями по ядерным микросателлитным локусам совпадает с полученными

ранее данными по аллозимам и мтДНК и связана, по всей видимости, с недавней и неполной изоляцией популяций симпатрических сигов озера Телецкого.

Работа поддержана Программами фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» (подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие») и «Эволюция органического мира и планетарных процессов» и проектом РФФИ 16-04-01708.

### **Differentiation of sympatric species of whitefish of the genus *Coregonus* from Lake Teletskoye by microsatellite loci**

Sokolov V.V., Politov D.V.

*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

The problem of genetic differentiation, evolutionary relationships and taxonomic status of sympatric species of the genus *Coregonus* (Teleostei: Salmoniformes: Coregonidae) are a subject of discussion for over than one hundred years. A classic example of a pair of sympatric species are whitefishes inhabiting Lake Teletskoye, an oligotrophic water body located in the Altai Mountains (the Republic of Altai, Russia) in the upper reaches of the Ob River drainage. Despite the fact of well-documented morphophysiological and ecological peculiarities of sparsely-rakered euryphagous Teletsky whitefish (*C. smitti* Warpachowski, 1900) and dwarf medium-rakered planktophagous Pravdin's whitefish (*C. pravdinellus* Dulkeit 1949), genetic differences between them are studied insufficiently yet. The earlier described levels of differentiation between them by allozyme loci and fragments of mitochondrial DNA do not reach values characteristic of well-diverged whitefish species. In this study we estimated differentiation of Lake Teletskoye whitefish populations by means of microsatellite loci which are genetic markers of nuclear localization featuring high mutation rate, and their variability reflecting recent evolutionary events. We studied samples of Teletsky whitefish (49 specimens) and Pravdin's whitefish (60 specimens) by nine tetranucleotide loci, designed earlier for different species of coregonid and salmonid fish species and tested by us (*Clatet-1, -9, -10, -15; CLB-102, -116, -127, -129; Sco-211*). Microsatellite variation was scored electrophoretically on polyacrylamide gels with subsequent ethidium bromide staining. Among the studied 109 fish we detected 109 alleles of nine SSR loci. Out of these, 80 alleles were common for both species; nine alleles were private for Teletsky whitefish, 20 for Pravdin's whitefish. Private alleles were rare with frequencies not exceeding 2.1% for Teletsky whitefish and 5.2% for pravdin's whitefish. The level of genetic differentiation between populations of the two studied species was extremely low ( $F_{ST}=1.1\%$ ) with Nei's genetic distance value 0.063. Analysis of multi-locus genotypes in the *STRUCTURE* software has shown the lack of differentiation in the proportion of initial clusters. Such low level of genetic differentiation for nuclear microsatellite loci coincided with earlier obtained data for allozyme loci and mtDNA and most likely caused by recent isolation and incomplete ceasing of gene flow among sympatric whitefishes of the Lake Teletskoye.

This study was supported by the Programs of Fundamental Research of the Presidium of the Russian Academy of Sciences "Biodiversity of Natural Systems" and "The Evolution of the Organic World and Planetary Processes" and Russian Foundation for Basic Research project #16-04-01708.

## Маркеры коэволюции *Clonorchis sinensis* (Trematoda: Opisthorchiidae) и его хозяев

Солодовник Д.А.<sup>1</sup>, Татонова Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

<sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, Россия

*Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875), китайская печеночная двуустка, имеет важное эпидемиологическое значение, так как вызывает заболевания печени и желчных протоков человека, а также является канцерогенным фактором первой группы. Поэтому изучение различных аспектов, связанных с особенностями её паразитирования, является актуальной задачей. В системе паразит-хозяин устанавливаются сложные коэволюционные взаимоотношения, которые обеспечивают выживание обоих компонентов в природе. Для выявления совместных эволюционных процессов паразита и хозяина все чаще используют методы молекулярной биологии. Цель данной работы – установление особенностей эволюции церкарий *C. sinensis* и их первых промежуточных хозяев с использованием мобильных генетических элементов (ретротранспозона *CsRn1* с длинными концевыми повторами).

Ранее для различных видов трематод было выявлено, что у поколения церкарий из одной редии существует клональная вариабельность, которая, в том числе, может оказывать влияние на поведенческие особенности церкарий и их инвазионную способность. В ходе изучения ретротранспозона *CsRn1* для церкарий *C. sinensis* получены данные об отсутствии изменчивости для паразитов, выделяющихся из одного моллюска, то есть все особи из отдельно взятого хозяина являются клонами материнской спороцисты, полученной из одного мирацидия. Механизм ограничения неясен, однако его может вводить сам паразит, стимулируя иммунную систему хозяина на блокирование повторного заражения. Это защищает моллюска от гибели вследствие чрезмерного накопления в его теле церкарий, а также позволяет спороцистам лучше приспособиться к своему хозяину для наиболее эффективного продуцирования партеногенетических поколений. Такая отлаженная система могла сформироваться только в результате длительных коэволюционных взаимоотношений, поскольку отбор по локусам ретротранспозона *CsRn1* для остальных жизненных стадий *C. sinensis* не обнаружен.

## Coevolution markers of *Clonorchis sinensis* (Trematoda: Opisthorchiidae) and its hosts

Solodovnik D.A.<sup>1</sup>, Tatonova Y.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup>FSCEATB FEB RAS, Vladivostok, Russia

*Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875), the Chinese liver fluke, has a very important epidemiological significance, because it causes diseases of a human liver and bile ducts, and it is a carcinogen factor of the first group. Therefore, a study of different parasitism aspects is an actual goal. In host-parasite system, there are complicated coevolutional relationships, which provide a survival of both components in nature. Recently, the molecular biology methods are more often used to detect coevolutional processes of parasite and its hosts. The aim of this study is to consider an ascertainment of evolution features for *C. sinensis* cercariae and its hosts using mobile genetic elements (*CsRn1* long terminal repeat retrotransposon).

For different trematode species, it was revealed that cercariae from one redia have clonal variability, which can influence the behavioral and infectivity characteristics. In our study based on *CsRn1* retrotransposon of *C. sinensis* cercariae, the absence of variability was obtained for parasites emitted from one snail, that is, all cercariae from separate host are clones of mother sporocyst developed from one miracidium. The mechanism of this limitation is unclear, but a parasite can stimulate the immune system of its host to remove possible reinfection. It may protect a snail from



death caused by excessive number of cercariae. Besides, this mechanism may adapt the sporocysts to their host for a more effective accumulation of parthenogenetic stages. This well-established system could be formed only as result of continuous coevolution processes, because the selection of *CsRn1* retrotransposon loci was not obtained for other developmental stages of *C. sinensis*.

### Генетическое разнообразие манула в России

Сорокин П.А.<sup>1</sup>, Найденко С.В.<sup>1</sup>, Кирилюк В.Е.<sup>2</sup>, Павлова Е.В.<sup>1</sup>, Барашкова А.Н.<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия  
<sup>2</sup>Даурский биосферный заповедник, Забайкальский край, Россия  
<sup>3</sup>ООО «Сибэкоцентр», Россия

Манул (*Otocolobus manul*) – маленькая кошка, обитающая в России в горных степях Алтая, Бурятии и Забайкальского края. Для разработки методов индивидуальной идентификации и анализа популяционно-генетической структуры этого вида нами проведен анализ ДНК, выделенной из проб крови отловленных животных из группировки в Даурском заповеднике в Забайкальском крае. Помимо этого нами анализировались пробы экскрементов и кусочки шкур и костей из Алтая, Тувы, Бурятии. Протестированы 18 микросателлитных локусов, первоначально разработанных для кошек и тигров. Для 8 из них показатель информативности генетического полиморфизма (PIC) оказался больше 0,7, и вероятность идентичности для родственных животных ( $P_{id-sib}$ ) составила  $3.3 \times 10^{-4}$ . Таким образом, эти локусы можно с успехом использовать для индивидуальной идентификации и определения родственных связей при работе с такими пробами как экскременты и моча. Ожидаемая гетерозиготность ( $H_E$ ) по 10 локусам оказалась довольно высокой и очень близка к значениям, описанным для домашних кошек различных пород. Средняя ожидаемая гетерозиготность по всем локусам ( $H_E$ ) составила  $0,64 \pm 0,06$ , средняя наблюдаемая гетерозиготность ( $H_O$ ) составила  $0,66 \pm 0,03$ , среднее число аллелей на локус равно  $5,83 \pm 2,81$ . По аллельным вариантам манулы из Алтая, Тувы, Бурятии не отличались от выборки из Даурского заповедника. Данные об изменчивости микросателлитных локусов позволят статистически достоверно проводить индивидуальную идентификацию, определять численность и исследовать родственные отношения у этого вида. Работа поддержана программой фундаментальных исследований Президиума РАН “Биоразнообразие живых систем”.

### Genetic diversity of Pallas' cat (*Otocolobus manul*) in Russia

Sorokin P.A.<sup>1</sup>, Naidenko S.V.<sup>1</sup>, Kiriliuk V.E.<sup>2</sup>, Pavlova E.V.<sup>1</sup>, Barashkova A.N.<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia  
<sup>2</sup>Daursky Biosphere Reserve (Zapovednik), Zabaikalsky Krai, Russia  
<sup>3</sup>Sibecocenter LLC, Russia

The Pallas' cat (*Otocolobus manul*) is a small cat, living in Russia in the mountain steppes of Altai, Buryatia and Zabaikalsky Krai. To develop methods for the individual identification and analysis of population genetic structure of this species we performed DNA analysis extracted from blood samples from animals caught in Zabaikalsky Krai. In addition, we analyzed samples of excrement and bits of skins and bones from Altai, Tuva, Buryatia. We screened 18 microsatellite loci developed for the domestic cat and tigers. For eight loci the values of the polymorphism information content (PIC) was more then 0.7 and probability of identity for siblings ( $P_{id-sib}$ ) was  $3.3 \times 10^{-4}$ . So these loci are well suited for individual identification and kinship detection from low quality DNA samples such as faces and urine The value of expected heterozygosity  $H_E$  for some loci was quite similar to the one demonstrated for domestic cats. The average value of expected heterozygosity was  $H_E = 0.64 \pm 0.06$ , for the observed heterozygosity  $H_O = 0.66 \pm 0.03$  and for the mean

number of alleles per locus it was  $N= 5.83 \pm 2.81$ . Alleles of microsatellite loci for animals from Altai, Tuva, Buryatia did not differ from the sample of the Daursky Biosphere Reserve. This developed method can be used effectively for monitoring and assessing the number of Pallas' cat on the territory of the entire habitat and to explore the kinships. This study was supported by Program for fundamental scientific research of the Presidium of the Russian Academy of Sciences "Biodiversity of natural systems".

### Генетическое разнообразие гольцов Командорских островов

Сошникова В.А.<sup>1</sup>, Зеленина Д.А.<sup>1</sup>, Павлов С.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

Гольцы рода *Salvelinus* – одна из наиболее интересных в микроэволюционном плане группа лососевых рыб, характеризующаяся сложной популяционной структурой, высокой экологической пластичностью, географической изменчивостью и морфоэкологическим разнообразием. Эволюционный статус многих форм гольцов и их таксономическое положение является предметом длительных научных дискуссий. Исключительное морфологическое разнообразие и сложные межпопуляционные отношения гольцов привели к тому, что исследователи не имеют единого мнения о видовой принадлежности и таксономическом статусе отдельных форм. В силу труднодоступности многие популяции продолжают оставаться малоисследованными. В 80-х годах прошлого века были изучены особенности морфологии гольцов Командорских островов, однако их генетические исследования до настоящего времени не проводились.

Для исследования вариабельности участков митохондриальной ДНК контрольного региона (*D-loop*) и гена цитохрома В (*Cyt B*) были использованы шесть выборок *Salvelinus malma* с Командорских островов; для сравнения использовалась материковая выборка из р. Коль (западная Камчатка), всего было проанализировано 183 особи. Полиморфизм восьми микросателлитных локусов (*Smm3*, *Smm22*, *Smm5*, *Smm10*, *Sco205*, *Smm24*, *SSOSL456*, *Smm21*) был изучен в 6 выборках с Командорских островов и двух выборках с полуострова Камчатка (р. Коль, р. Жупанова).

Изучение митохондриальной ДНК показало, что исследуемые особи *S. malma* несут пять массовых гаплотипов, причем четыре из них включают в себя только выборки, собранные на Командорских островах. Для гольцов Командорских островов характерно наличие большого количества уникальных (обнаруженных в единственной выборке) и редко встречающихся (в 2–3 выборках) гаплотипов. В выборке западнокамчатских гольцов было обнаружено 11 уникальных гаплотипов, из которых один присутствовал у девяти особей. На Командорских островах и в р. Коль выявлено два общих гаплотипа. Микросателлитный анализ выявил достоверные различия между камчатскими и командорскими гольцами.

Уникальность данного исследования состоит в том, что впервые были проведены исследования генетической структуры популяций Командорских гольцов в сравнении с мальмой п-ова Камчатка. Несмотря на сложившееся мнение о низком уровне генетического разнообразия островных популяций, командорские гольцы показали обратное, и их уровень генетического полиморфизма, выявленный в результате исследований митохондриальной ДНК, может считаться сопоставимым с материковой популяцией.

Наличие общих гаплотипов у гольцов Командорских островов и западной Камчатки, а также различие между гаплотипами командорских и камчатских особей в 1–3 нуклеотидных замены указывают на их генетическую близость. Поскольку, согласно Гриценко, мальма п-ова Камчатка принадлежит к генетической линии северной мальмы *Salvelinus malma malma*, мы можем утверждать, что популяции гольцов Командорских островов также принадлежат к генетической линии северной мальмы. Несмотря на существующее мнение о более низком

генетическом полиморфизме популяций островов, в данном случае мы этого не наблюдаем. Учитывая, что классической особенностью становления островных популяционных изолятов является эффект “бутылочного горлышка” и последующего инбридинга, данный факт является хорошим стимулом для продолжения исследований командорских гольцов.

### **Genetic diversity of the Commander Islands charrs**

Soshnina V.A.<sup>1</sup>, Zelenina D.A.<sup>1</sup>, Pavlov S.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Charrs of the genus *Salvelinus* are one of the most interesting groups of salmonids in terms of microevolution, characterized by complex population structure, high ecological plasticity, geographical variability, and morpho-ecological diversity. These fish have circumpolar extension in the north of Eurasia, Alaska, Canada, Greenland. The evolutionary status of many forms of charrs and their taxonomic position is a matter of long scientific discussion. The extraordinary morphological diversity and complex interpopulation relationships of charrs led to the fact that researchers do not have a consensus on species identification and taxonomic status of the individual forms. Owing to inaccessibility, many populations are still scarcely explored. In the 1980s, the morphology of charrs from the Commander Islands was investigated, but their genetic studies have not been conducted yet.

Six groups of samples from the Commander Islands and a mainland sample from the Kol River (western Kamchatka) were used to study the variability of mitochondrial DNA fragments: the control region (D-loop) and cytochrome B gene (Cyt B). The polymorphism of 8 microsatellite loci (*Smm3*, *Smm22*, *Smm5*, *Smm10*, *Sco205*, *Smm24*, *SSOSL456*, *Smm21*) was investigated in 6 samples of the Commander islands charrs and in two samples of the charrs from Kamchatka peninsula (the Kol River, The Zhupanova River).

The mitochondrial DNA analysis showed that the fish studied carried five main haplotypes, and four of them were found in the Commander Islands samples only. The Commander Islands charrs were characterized by a large number of unique (found in a single sample) and rare (in two to three samples) haplotypes. In the sample from Kamchatka peninsula 11 unique haplotypes were identified and one of them presented in nine individuals. Two haplotypes only were common for the Commander Islands and the Kol River. Charrs from the Commander Islands and Kamchatka peninsula differed significantly according to the microsatellite polymorphism investigation.

The uniqueness of this study lies in the fact that, for the first time, the mitochondrial polymorphism of charrs from the Commander Islands was examined in comparison with Dolly Varden from the Kamchatka Peninsula. Despite the common opinion about the low level of genetic diversity of island populations, in the Commander charrs we found the opposite phenomenon. Their level of genetic polymorphism is comparable to that in the population from Kamchatka.

The presence of common haplotypes in the Commander Islands and Kamchatka charrs point out to their genetic closeness. According to Gritsenko, *Salvelinus malma* from Kamchatka Peninsula belongs to the genetic lineage of northern Dolly Varden *Salvelinus malma malma*. Thus, it can be affirmed that the charr populations of the Commander Islands also belong to the same genetic lineage. Taking into account the classical features of island populations formation - the effect of bottleneck and following inbreeding, this phenomenon is a good incentive for further studies of the Commander charrs.

## Новый случай рекомбинации между ядерным и митохондриальным геномами в роде *Calliope*: гипотеза происхождения *Calliope pectoralis*

Спиридонова Л.Н., Вальчук О.П.

Федеральный центр Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, Россия

Род *Calliope* в результате новейших убедительных ревизий выведен из рода *Luscinia*. В последнем списке птиц мира (Dickinson, Christidis, 2014) объем рода включает 4 вида – *C. pectardens*, *C. obscura*, *C. pectoralis* и *C. calliope*. В настоящей работе мы предлагаем гипотезу гибридного происхождения *C. pectoralis* на основе анализа молекулярно-генетических данных и фенотипических признаков. Кроме того мы представляем новый случай рекомбинации между гомологичными последовательностями ядерного и митохондриального геномов, в результате которого возник митотип *C. pectoralis*. Ранее, по данным исследования нуклеотидного полиморфизма гена цитохрома *b* (*cyt b*) мтДНК у *C. calliope*, мы установили источник происхождения его таксон-специфичных гаплотипов – ядерные копии мтДНК (NUMT).

Были исследованы 80 образцов *C. calliope* (мигранты, Южное Приморье) и один образец *C. pectoralis* (север Мьянмы, штат Качин). Анализ фрагмента, включающего ген *cyt b*, три т-РНК, ND6 и контрольный регион (CR) (3,2 т.н.п.), у соловьев-красношеек привел к неожиданным результатам. Продукт гена *cyt b*, полученный из этого фрагмента у 22 особей *C. calliope* имел гетерогенную природу по типу гетероплазмии. Для выяснения природы гетерогенности были клонированы ампликоны 8-ми особей, в результате чего были получены 162 клон гена *cyt b*. Один вариант клонов оказался геном *cyt b* *C. calliope*, а второй – ядерным псевдогеном, гомологичным на 96% гену *cyt b* *C. pectoralis*. Высокая изменчивость клонов NUMT обнаружена не только в единичных мутациях, но и в значительных рекомбинационных перестройках между разными вариантами копий, представленных в ядерном геноме *C. calliope*. Реконструкция связей мт-гаплотипов гена *cyt b* и его ядерных копий методом максимального правдоподобия показала, что все клоны распределились в двух кладах – *C. calliope* и *C. pectoralis*. Полученный результат указывает на родственную связь ядерного псевдогена *C. calliope* и митохондриального гена *C. pectoralis*, что свидетельствует о возможном гибридном происхождении последнего. Вторым родительским видом, по всей вероятности мог быть *C. obscura*. *C. pectoralis* сохранил фенотипические признаки от обоих предполагаемых родителей. Самцы имеют красное горло, белые брови (*C. p. tschebaiewi* еще и белые усы) и черную уздечку от *C. calliope*; черную грудь и черные, с белыми основаниями, внешние рулевые перья от *C. obscura*. Самки похожи на самок *C. calliope*, но более темные и серые. Ювенильные птицы похожи на таковых *C. calliope*. Отличается *C. pectoralis* как от *C. calliope*, так и от *C. obscura* белыми кончиками рулевых, которые в свою очередь характерны только для представителей *C. pectoralis* комплекса.

Рекомбинационное событие могло произойти во время или вскоре после межвидовой гибридизации у гибридной особи *C. calliope* x *C. obscura*. Мы предположили, что перенос ядерной копии гена *cyt b* в мтДНК мог быть следствием симметричной рекомбинации между гомологичными участками ядерного и митохондриального геномов гибридной самки, ставшей основателем вида *L. pectoralis*. Для подтверждения рекомбинационного события между ядерным псевдогеном и мтДНК, было проведено тестирование NUMT и фрагментов мтДНК *C. calliope* (4 подвида), *C. pectoralis*, *Luscinia svecica*, *Larvivora akahige* и *Tarsiger cyanurus* в программе RDP ver. 4. Фрагмент *cyt b*-CR мтДНК *C. pectoralis* оказался рекомбинантным с достоверными значениями вероятности (Chimaera,  $P=1.458 \times 10^{-04}$ ; MaxChi,  $P=3.322 \times 10^{-05}$ ; GENECONV,  $P=1.123 \times 10^{-08}$ ; SiScan,  $P=5.562 \times 10^{-13}$ ).

Таким образом, наши данные показывают потенциальную важность использования NUMT для уточнения филогенетических построений. Изучение ядерных паралогов в

дальнейшем позволит переосмыслить их роль в формировании генетического разнообразия в природе и оценке скорости микроэволюционных процессов.

### **A new case of recombination between the nuclear and mitochondrial genomes in the genus *Calliope*: hypothesis of the origin of *Calliope pectoralis***

Spiridonova L.N., Valchuk O.P.

*Federal Centre for Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, Russia*

The genus *Calliope* as a result of new compelling revision withdrawn from the genus *Luscinia*. In the latest bird list of the world (Dickinson, Christidis, 2014) the genus includes 4 species - *C. pectardens*, *C. obscura*, *C. pectoralis* and *C. calliope*. In this paper, we propose the hypothesis of a hybrid origin of *C. pectoralis*, based on the analysis of molecular genetic data and phenotypic traits. In addition, we present a new case of recombination between homologous sequences of nuclear and mitochondrial genomes, which led to appearance of the mitotype *C. pectoralis*. Earlier, according to a study of the nucleotide polymorphism of cytochrome *b* (*cyt b*) mtDNA of *C. calliope*, we have established the origin of its taxon-specific haplotypes - nuclear copies of mtDNA (NUMT).

We examined 80 samples of *C. calliope* (migrants, Southern Primorye) and one sample of *C. pectoralis* (north of Myanmar, Kachin State). Analysis of fragment, containing the *cyt b* gene, three t-RNA, ND6 and control region (CR) (3.2 kb) in Siberian rubythroat led to unexpected results. Gene product *cyt b*, derived from this fragment in 22 specimens of *C. calliope* had heterogeneous nature of heteroplasmy type. To clarify the heterogenous nature, we cloned amplicons of 8 individuals and obtained 162 clones of *cyt b* gene. One of the clones turned out to be *cyt b* gene of *C. calliope*, and another - a nuclear pseudogene 96% homologous to the *cyt b* gene of *C. pectoralis*. High variability of the NUMT clones was found not only in individual mutations, but also in significant recombination rearrangements between different versions of copies represented in the nuclear genome of *C. calliope*. Reconstruction of relationships of mtDNA haplotypes of the gene *cyt b* and its nuclear copies with using the maximum likelihood method showed that all clones were included into two clades - *C. calliope* and *C. pectoralis*. This result points to the similarity of nuclear pseudogene of *C. calliope* and mitochondrial gene of *C. pectoralis*, suggesting a possible hybrid origin of the latter. The second parent species is likely to be *C. obscura*. *C. pectoralis* preserved phenotypic traits from both supposed parents. Males have a red throat and white eyebrows (*C. p. tschebaiewi* also has a white moustache) and the black bridle from *C. calliope*; black chest and black with white bases outer tail feathers from *C. obscura*. Females are similar to females of *C. calliope*, but more dark and gray. Juvenile birds are similar to those of *C. calliope*. *C. pectoralis* differs both from *C. calliope*, and from *C. obscura* with white tips of tail feathers, which in turn are characteristic only for representatives of *C. pectoralis* complex.

The recombination event could occur during or shortly after interspecific hybridization in a hybrid individual *C. calliope* x *C. obscura*. We assumed that the transfer of nuclear copies of the *cyt b* gene in mtDNA could be the result of symmetric recombination between homologous regions of the nuclear and mitochondrial genomes of a hybrid female, which then became a founder of the species *L. pectoralis*. To confirm the recombination between nuclear pseudogene and mtDNA we conducted testing of NUMT and fragments of mtDNA of *C. calliope* (4 subspecies), *C. pectoralis*, *Luscinia svecica*, *Larvivora akahige* and *Tarsiger cyanurus* in the RDP program ver. 4. A fragment *cyt b*-CR of *C. pectoralis* mtDNA turned out to be recombinant with a reliable probability (Chimaera,  $P=1.458 \times 10^{-04}$ ; MaxChi,  $P=3.322 \times 10^{-05}$ ; GENECONV,  $P=1.123 \times 10^{-08}$ ; SiScan,  $P=5.562 \times 10^{-13}$ ).

Thus, our data suggest the potential importance of using NUMTs to clarify the phylogenetic analysis. Studying nuclear paralogs will further allow rethinking their role in shaping the genetic diversity in the nature and assess the rate of microevolution processes.

## Демография РФ в конце 1990-х. Генетические аспекты

Спицына Н.Х.<sup>1</sup>, Спицын В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Медико-генетический научный центр РАН, Москва, Россия*

Открытие сопряженности полилокусной гетерозиготности генотипа с темпами роста и полового созревания показало, что высокая индивидуальная гетерозиготность определяет высокие темпы полового созревания, ранний возраст первой репродукции, замедляет пострепродуктивный рост, сокращает продолжительность жизни. В какой мере приложимо оно к человеку? Масштабные исследования Ю.П. Алтухова подтвердили существование сильной положительной корреляции. По его оценке современное урбанизированное общество перешло в фазу широкой панмиксии. Резко возросла внутривнутрипопуляционная гетерозиготность и почти стерлись межпопуляционные различия. Делается вывод о том, что акселерация и раннее половое созревание не оставляют места благоприятным геронтологическим прогнозам. С этих позиций возможен совершенно новый взгляд на самый драматический период в новейшей истории России. Так, абсолютное число родившихся детей сократилось с 2.5 млн. в 1987 г. до 1.4 млн. в 2002 г. Естественная убыль населения в период между двумя переписями составила к 2002 г. 7.4. млн. человек. Вклад социальных и экономических факторов в снижении средней продолжительности жизни уже исследован. По данным Росстата в 2005 г. продолжительность жизни мужчин составила 59 лет, женщин – 72.5 лет. Они являются потомками поколения 1930-1940-х годов, наиболее сложных в нашей истории. Многонациональная страна перешла в ХХ в. от подразделенности к панмиксии. Усиление генетической эффективности миграций и процессов смешения способствует разрушению выработанных в поколениях адаптивных комплексов генов, повышается уровень гетерозиготности в популяциях. Растет роль генетической компоненты, влияющей на продолжительность жизни индивидов. И с этих позиций можно предположить, что если бы не произошел распад СССР, и социально-экономические показатели сохранялись неизменными с конца ХХ в., то рост средней продолжительности жизни россиян сначала бы приостановился, а затем неизбежно началось его снижение, возможно лишь не до таких критически низких величин. Об этом свидетельствует большой разрыв между продолжительностью жизни мужчин и женщин. Проявление феномена сверхсмертности российских мужчин, несомненно, в еще большей степени также обусловлено воздействием социальных факторов. При обсуждении генетических аспектов структуры браков (равно как и особенностей генетики репродуктивных процессов) красной нитью проходит концепция дуалистической природы излагаемых фактов, касается ли это кровнородственных, панмиктических или аутбредных браков. Всегда возникает двойственность возможных генетических последствий – с одной стороны и с другой. Так, широкая панмиксия и аутбредные браки увеличивают в популяциях разнообразие генотипов, повышают уровень гетерозиготности индивидов и формируют новые разнообразные генные комбинации. Коренным образом меняется структура родства. В популяциях произошел демографический переход от расширенного типа воспроизводства к простому и суженному, что сопровождается уменьшением численности в новом поколении, переход к однопородности в семьях означает значительное обеднение родственных связей. С другой стороны, новые репродуктивные установки и стереотипы в известной мере могут выступать в качестве сдерживающего механизма роста гетерозиготности в популяциях.

## Demography of the Russian Federation in the late 1990s. Genetic aspects

Spitsyna N.Kh.<sup>1</sup>, Spitsyn V.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Ethnology and Anthropology RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Research Centre for Medical Genetics RAS, Moscow, Russia*

The discovery of an association between polylocus genotypic heterozygosity and rates of growth and puberty, showed that high individual heterozygosity defines high rates of puberty, early age of first reproduction, slows down post-reproductive growth, reduces life longevity. To what extent is it applicable to humans? Large-scale researches of professor Altukhov confirmed an existence of strong positive correlation. In his estimation, modern urbanized society passed into a phase of broad panmixia. Intrapopulation heterozygosity increased sharply and interpopulation differences were almost erased. It is concluded that the acceleration and early puberty do not leave room for favorable gerontological forecasts. From these positions, a completely new view on the most dramatic period in Russia's recent history is possible. Thus, the absolute number of children born decreased from 2.5 million in 1987 to 1.4 million in 2002. The natural decrease in the population between the two censuses had amounted to 7.4 million by 2002. The contribution of social and economic factors in decrease of longevity was already investigated. According to ROSSTAT, in 2005 the longevity of males made up 59 years, and females— 72.5 years. They are descendants of generation of the 1930-1940s, the most difficult period in our country. The multinational country passed in the XX century from an isolated structures to panmixia. Growth of genetically effective migrations and processes of admixture contributes to destruction of the adaptive gene complexes developed over generations, and the population heterozygosity level increases. The role of the genetic component that affects the life expectancy of individuals is growing. And from these positions it can be assumed that if the USSR had not disintegrated and the socioeconomic indicators remained unchanged from the end of the 20th century, then the growth of the average life expectancy of Russians would first be halted, and then its decline would inevitably begin, perhaps not until such critically low values. This is evidenced by the large gap between the life expectancy of men and women. The manifestation of the phenomenon of over-mortality of Russian men is undoubtedly even more strongly conditioned by the impact of social factors. In discussing the genetic aspects of the structure of marriages (as well as the characteristics of genetics of reproductive processes), the concept of the dualistic nature of the facts presented is a red thread, whether it concerns consanguineous, panmictic or outbred marriages. Always there is a duality of possible genetic consequences - on the one hand and on the other. Thus, broad panmixia and outbred marriages increase the variety of genotypes in populations, increase the level of heterozygosity of individuals and form new diverse gene combinations. The structure of kinship changes radically. In populations there was a demographic transition from the extended type of reproduction to the simple and narrowed, which is accompanied by a decrease in the population number in the new generation; the transition to one-child families means a significant depletion of family ties. On the other hand, new reproductive attitudes and stereotypes can to some extent act as a deterrent mechanism of growth of population heterozygosity.

## Генетическая дифференциация популяций желтобрюхой мыши *Sylvaemus witherbyi*: результаты анализа фрагмента контрольного региона митохондриальной ДНК

Стахеев В.В.<sup>1</sup>, Богданов А.С.<sup>2</sup>, Маликов В.Г.<sup>3</sup>, Страдомский Б.В.<sup>1</sup>, Darvish J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт аридных зон ЮНЦ РАН, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Желтобрюхая мышь *Sylvaemus witherbyi* Thomas, 1902 (синонимы – *S. hermonensis*, *S. fulvipectus*) имеет обширный ареал, населяя территории от Босфора на западе до Пакистана на востоке, и от Израиля до юга Украины в широтном направлении. В России этот вид встречается на Кавказе, почти по всей территории Предкавказья, в Крыму. Популяции желтобрюхой мыши, населяющие Крым и юг Украины, а также Таманский полуостров изолированы от основной части ареала (Стахеев и др., 2011, 2015). Ранее, по материалам анализа изменчивости фрагментов митохондриальных генов (*cyt b*, *COI*) было высказано мнение о невысоком генетическом разнообразии *S. witherbyi* и его недавнем, быстром расселении по обширной территории ареала (Челомина и др., 2007; Богданов и др., 2012). Низкая генетическая изменчивость этого вида показана также при исследовании полиморфизма мтДНК локусов на территории Ирана (Shad *et al.*, 2016).

Нами была изучена изменчивость фрагмента (554 п.н.) контрольного региона (*D-loop*) митохондриальной ДНК у 21 желтобрюхой мыши из различных частей ее ареала, включая 2 экземпляра синонимичного "*A. hermonensis*". На ML-дендрограмме желтобрюхие мыши распределились в два заметно обособленных кластера. Один представлен особями, отловленными на северном берегу оз. Маныч-Гудило, второй включает зверьков со всего остального ареала, включая и долину Западного Маныча. Первый кластер имеет базальное расположение, и его ветви отделяются от таковых основного, второго кластера генетическими дистанциями 1,48–2,24%. Следует отметить, что уровень генетической дифференциации видов р. *Sylvaemus*, рассчитанный по изменчивости *D-loop*, значительно уступает межвидовым различиям по другим митохондриальным генам: так, дистанция между *S. witherbyi* и *S. sylvaticus* по *D-loop* составляет 6,69–7,94%, по *COI* – 9,5% (Богданов и др., 2012), по *cyt b* – 11,3% (Челомина, Сузуки, 2006). Вторая клада не имеет выраженной топологии, однако на ней заметно отделение зверьков с территории Предкавказья от общей группы крымских экземпляров, а также от мышей из Ирана и с хребта Копетдаг. Желтобрюхие мыши с территории Турции (Bellinvia, 2004; данные Генбанка) попали в разные подкластеры основной, второй клады филограммы.

Таким образом, наши данные дополняют полученные ранее сведения о генетической дифференциации и истории *S. witherbyi*. Происхождение желтобрюхой мыши в Приманычье нельзя исключить полностью, но мы считаем его маловероятным. Согласно сложившимся представлениям, центром происхождения *S. witherbyi* была Передняя Азия; ископаемые останки мышей, похожих на этот вид, были обнаружены в пещерах Израиля и Ближнего Востока (Musser, Carleton, 2005). Мы предполагаем, что в плейстоцене произошла инвазия анцестральных популяций желтобрюхой мыши на территорию Восточного Предкавказья и Северо-Западного Прикаспия. Через некоторое время миграционный коридор, вероятно, проходивший по западному побережью Каспийского моря, закрылся, оставив после себя изолят в Предкавказье. Позже, уже в голоцене, произошло быстрое расселение *S. witherbyi* с территории Передней Азии двумя путями: через Кавказ, Северо-Западный Прикаспий в Предкавказье, на юг Украины и в Крым, а во втором направлении – в Иран, на Копетдаг и в Пакистан. В Приманычье поздний миграционный поток смешался с древней анцестральной популяцией. Следы предкового полиморфизма, обнаруженные на северном берегу оз. Маныч-Гудило, возможно, были утрачены на большей части ареала *S. witherbyi* в результате дрейфа генов. Однако это предположение требует проверки на большем материале и



исследования малоизученных участков ареала желтобрюхой мыши (территории Израиля, Ирана, Пакистана).

### Genetic differentiation of the yellow-bellied mouse *Sylvaemus witherbyi* populations: the results of the mitochondrial control region analysis

Stakheev V.V.<sup>1</sup>, Bogdanov A.S.<sup>2</sup>, Malikov V.G.<sup>3</sup>, Stradomsky B.V.<sup>1</sup>, Darvish J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Arid Zones of the SSC RAS, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>2</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Zoological Institute RAS, Saint Petersburg, Russia*

<sup>4</sup>*Ferdowsi University of Mashhad, Iran*

The yellow-bellied mouse *Sylvaemus witherbyi* Thomas, 1902 (syn. *S. hermonensis*, *S. fulvipectus*) has a large distribution area from the Bosphorus strait in the west to Pakistan in the east, and from Israel to Southern Ukraine in the latitudinal direction. In Russia the species occurs in the Caucasus, the Ciscaucasus, the Crimea. *S. witherbyi* populations from the Crimea and Southern Ukraine, on the one hand, as well as from the Taman peninsula, from the other hand, are isolated from the rest part of distribution area (Stakheev et al., 2011, 2015). The previous studies, carried out by the analysis of several mitochondrial genes (*cyt b*, *COI*) fragments variability, showed the low genetic polymorphism of *S. witherbyi*, probably, due to its recent and rapid expansion (Chelomina et al., 2007; Bogdanov et al., 2012). The low genetic polymorphism of the species was revealed by mitochondrial loci investigations in Iran too (Shad et al., 2016).

We studied the variability of the mitochondrial control region fragment (*D-loop*, 554 bp) in 21 yellow-bellied mice from different parts of its distribution area, including 2 specimens of synonymous "*A. hermonensis*". At the ML-dendrogram the yellow-bellied mice were grouped in two notably separated clusters. One of them was combined by specimens from the Northern shore of the Manych-Gudilo Lake, the other cluster was presented by animals from the rest part of distribution area including the Western Manysh floodplain. At the dendrogram the first cluster is basally located and its branches are separated from the main, the second cluster is separated by genetic distances 1,48–2,24%. It should be noted that the genetic differentiation level at the *D-loop* between species of *Sylvaemus* genera is significantly less than interspecies differences at other mitochondrial genes. So, distances between *S. witherbyi* and *S. sylvaticus* specimens at *D-loop* are 6,69–7,94%, at *COI* – 9,5% (Bogdanov et al., 2012), at *cyt b* – 11,3% (Chelomina, Suzuki, 2006). Topology of the second, main cluster is not distinct, however, some insulation of the Ciscaucasian mice from the Crimean group as well as animals from Iran and the Kopetdag Ridge is quite obvious. The yellow-bellied mice from Turkey (Bellinvia, 2004; GenBank data) were distributed in different subclusters of main, second cluster of phylogram.

Thus, our results add the former data on genetic differentiation and history of *S. witherbyi*. Formation of the species in the territory near the Manysh River may not be excluded totally but we consider the proposition as unlikely. According to the common opinion, the formation center of *S. witherbyi* was in Asia Minor. Remains of mice, which are similar to the species, were found in Israel and Middle East caves (Musser, Carleton, 2005). We propose that invasion of ancestral populations of the yellow-bellied mouse happened in Pleistocene to the territory of the Eastern Ciscaucasia and the North-Western Caspian shore. Later, migration pass through the Western shore of Caspian See disappeared and the isolated population stayed in the Ciscaucasia. More later, in Holocene, *S. witherbyi* rapidly migrated from Asia Minor by two ways: through the Caucasus, the North-Western Caspian shore to the Ciscaucasia, Southern Ukraine and the Crimea, in the first direction, and to Iran, the Kopetdag Ridge, Pakistan, in the second direction. At the Manysh floodplain territory the recent migration wave mixed with the ancient ancestral population. Traces of the ancestral polymorphism, found on the Northern shore of the Manych-Gudilo Lake, were probably missed in the main part of *S. witherbyi* distribution area due to gene drift. However, the

proposition needs additional investigations using representative material from insufficiently studied populations of *S. witherbyi* (from Iran, Israel, Pakistan).

### **Видообразование. Эпигенетические аспекты**

Стегний В.Н.

*Томский государственный университет, Томск, Россия*

Рассматриваются принципиальные аспекты видообразования на генетическом и эпигенетическом уровнях. Обосновываются эпигенетические механизмы видообразования, среди которых выделяются гетерохроматиновые модификации и изменения пространственной организации хромосом в герминативных клеточных системах. Оцениваются молекулярно-цитогенетические принципы реорганизации видовых геномов при видообразовании. Постулируется, что главным событием, приводящим к видоспецифичной фиксации генных, хромосомных, геномных мутаций и гетерохроматиновых модификаций, является перестройка пространственной организации хромосом в ядре. Обсуждается значение гипотезы Ю.П.Алтухова и Ю.Г.Рычкова о значении генетического мноморфизма в видообразовании и приводятся аргументы в её пользу. Предполагается, что эпигенетические реорганизации видовых геномов - основа видообразования у эукариот, при этом главным механизмом видообразования является изменение архитектуры хромосом.

### **Speciation. Epigenetic aspects**

Stegniy V.N.

*Tomsk State University, Tomsk, Russia*

We consider the basic aspects of speciation on the genetic and epigenetic levels. Settle epigenetic mechanisms of speciation, among which are heterochromatic modifications and changes in the spatial organization of chromosomes in germ cell systems. Evaluated molecular cytogenetic principles of species genome reorganization during speciation. It is postulated that the major event leading to species-specific fixation gene, chromosome, genome mutations and modifications of heterochromatin, is the restructuring of the spatial organization of chromosomes in the nucleus. The significance of Yu.P.Altukhov and Yu.G.Rychkov hypothesis about the meaning of the genetic monomorphism in speciation is discussed and arguments in its favor are presented. It is expected that the epigenetic reorganization of species genomes is the basis of speciation in eukaryotes and therewith the main mechanism of speciation is a change in chromosome architecture.

### **Гипермутабельная фракция клеток в популяциях микроорганизмов**

Степченкова Е.И.<sup>1,2</sup>, Лада А.Г.<sup>3</sup>, Инге-Вечтомов С.Г.<sup>1,2</sup>, Павлов Ю.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова, РАН, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*Медицинский центр университета штата Небраска, Омаха, США*

Мутагенез имеет огромное значение для эволюции, но в тоже время он играет негативную роль в развитии наследственных и онкологических заболеваний, а также в старении. Современные представления о молекулярных механизмах мутагенеза сформировались в основном благодаря исследованиям с использованием микробных моделей – бактерий и дрожжей. Понимание этого процесса существенно менялось в течение времени. В 40-е годы прошлого века Лурия и Дельбрюк доказали, что мутагенез имеет

случайную природу. Позже стало очевидно, что скорость мутирования сильно варьирует у разных видов, в различных тканях и участках генома, а также зависит от условий окружающей среды. Наиболее яркими примерами таких вариаций являются адаптивный мутагенез у микроорганизмов, соматический мутагенез в иммунных тканях высших эукариот и катаегис в раковых клетках. Классические закономерности мутационного процесса, описанные Лурия и Дельбрюком, применимы только для быстро делящихся клеток микроорганизмов, не испытывающих ограничительное влияние среды. В данном случае большинство новых мутаций возникает в результате неточной репликации. Природные популяции микроорганизмов и клетки многоклеточных делятся гораздо реже, чем клетки в лабораторных культурах, и способны мутировать вне зависимости от репликации, что указывает на существование дополнительных факторов, способных влиять на скорость мутирования в естественных условиях.

Мы провели исследования, направленные на проверку гипотезы о неоднородности распределения скорости мутирования в микробной популяции. Мы показали, что геномы диплоидных клеток дрожжей, подвергшихся селекции на наличие новой мутации в репортерном гене, перегружены дополнительными «пассажирскими» мутациями, которые часто образуют кластеры. Мы предположили, что клетки, несущие множественные мутации, происходят из особой субпопуляции гипермутабельных клеток. Однако повышение скорости мутирования в ходе длительного периода может существенно снижать жизнеспособность таких гипермутабельных клеток. Нам удалось показать, что гипермутабельность имеет временный характер. С использованием технологии секвенирования следующего поколения мы оценили объем фракции гипермутабельных клеток. Временное повышение скорости мутирования у небольшой фракции клеток популяции может иметь адаптивное значение, поскольку в стационарных культурах микроорганизмов репликация не может служить источником достаточного числа новых мутаций, необходимых для повышения генетического разнообразия в популяции. Полученные нами результаты указывают на то, что в данном случае рекомбинация может существенно стимулировать мутационный процесс в неделящихся клетках. Причины, лежащие в основе временного гипермутабельного фенотипа, пока неизвестны. Такими причинами могли бы быть эпигенетические изменения генов, регулирующих активность ферментов репликации или эндогенных мутаторов. Особого внимания и изучения заслуживает такой потенциальный источник временных сдвигов скорости мутирования, как повреждения ДНК. В данном случае можно предположить следующий механизм: если в транскрибируемой цепи какого-либо из генов, контролирующей стабильность генома, возникает повреждение, то это незамедлительно должно отразиться на скорости мутирования в данной клетке.

### **Fraction of hypermutable cells in microbial populations**

Stepchenkova E.I.<sup>1,2</sup>, Lada A.G.<sup>3</sup>, Inge-Vechtomov S.G.<sup>1,2</sup>, Pavlov Y.I.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Saint Petersburg branch of Vavilov Institute of General Genetics, Saint Petersburg, Russia*

<sup>2</sup>*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*

<sup>3</sup>*University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA*

Mutagenesis is important in evolution but plays a negative role in heritable diseases, cancer and aging in humans. Most of the modern knowledge on molecular mechanisms of mutation generation has been obtained in bacterial and yeast microbial models. Understanding of the process has been changing during the time. In 1940's Luria and Delbruck proved that mutations occur randomly and do not depend on selection pressure. Later, it became clear that mutation rates substantially vary among different species, tissues, genome locations, and also depend on environmental conditions. The most striking examples of these variations are observed during adaptive mutagenesis in microbes, somatic hypermutation in immune tissues of higher eukaryotes or *kataegis* in cancer cells. Classical laws of mutagenesis are applicable for rapidly dividing microbial

cells not suffering the limiting impact of the environment. In this case most mutations occur as errors during replication. Natural populations of microorganisms and cells in multicellular organisms divide with much lower rate than laboratory cultures and can mutate in growth-independent manner, suggesting a complexity of processes that may influence mutation rates in natural conditions.

Here we tested the hypothesis of unevenness of mutation rates among individual cells in microbial population. We have shown that genomes of yeast diploid cells selected for a new mutation in a reporter gene are saturated with passenger mutations with occasional occurrence of clusters. We assume that cells whose genomes are overloaded with mutations originate from a subpopulation of hypermutable cells. Constant hypermutable phenotype severely reduces fitness. We found that hypermutable phenotype is transient. Using Next Generation Sequencing we estimated the size of the hypermutable fraction. Transient increase in mutation rate may have adaptive significance. In stationary microbial cultures replication is not a significant source of new mutations. We found that recombination is factor assisting mutation process. The causes of transient hypermutability are unknown. It could be epigenetic changes in regulation of repair and replication enzymes or endogenous mutators. One not fully appreciated source of the temporary shifts in mutation rates is unrepaired damage of DNA. If transcribed strand of a gene controlling genome stability in a cell is damaged it will immediately affect mutation rates in this cell.

### **Происхождение и структура популяции симпатрических форм жилой нерки – кокани озера Кроноцкое, Камчатка**

Стоклицкая Д.С.<sup>1</sup>, Зеленина Д.А.<sup>1</sup>, Маркевич Г.Н.<sup>2</sup>, Мюге Н.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Кроноцкий государственный заповедник, Россия

Озеро Кроноцкое образовалось на Камчатке 10-14 тыс. лет назад в результате подпруживания реки лавовыми потоками вулкана Крашенинникова. Водоем расположен на высоте 372 м над уровнем моря и имеет площадь 246 кв.км, является одним из самых глубоких на Камчатке – максимальная глубина 136 м и средняя - 58 м (Аракельянц, Ткаченко, 2012). В настоящее время вытекающая из озера река Кроноцкая считается непроходимой для анадромных лососей по причине высоких (до 4 м) водопадов и достигающей 8 м/с скорости течения (Агарков, 1976). Для озера описаны две трофические формы жилой нерки-кокани *Oncorhynchus nerka* – планктофаги и бентофаги. Планктофаги отличаются от бентофагов меньшими размерами тела и большим числом жаберных тычинок, более поздними сроками нереста (Куренков, 1997). Высказывалось предположение, что две формы произошли от ранней и поздней рас анадромной нерки, которые оказались изолированы в озере при формировании дамбы (Куренков, 1979, McPhail, 1997).

Образцы кокани для генетического анализа были собраны в ходе экспедиций 2011-2014 гг. на нерестилищах бентофагов - в ручьях Аланд и Малаховый, в озере близ острова Конради (Ла-Манш); на нерестилищах планктофагов в реках Узон и Унана, в озере близ истока р. Кроноцкая. Для каждой особи регистрировалась длина, вес, пол, а также число жаберных тычинок. Сборы были проанализированы по 7 высокополиморфным микросателлитным локусам (*One108*, *One109*, *One111*, *One114*, *Ots253b*, *Ots422*, *Omm1082* (Olsen et al., 2000, Rexroad et al., 2002, Williamson et al, 2002)), также были определены нуклеотидные последовательности фрагментов генов *CytB* и  $\beta$ -субъединицы МНС-2.

Результаты проведенного Assignment test в программе Structure показали четкое разделение исследованных особей кокани на две группировки, в целом соответствующие двум трофическим формам, отмеченным Куренковым, что говорит о высокой генетической обособленности форм. Число жаберных тычинок в двух генетических формах хотя и перекрывается, но имеет два четких максимума. Среднее число тычинок у бентофагах

равнялось 33,5, а у планктофагов – 39,9. Секвенирование гена *CytB* указывает на монофилетическое происхождение кокани Кроноцкого озера. Самый массовый гаплотип ON-K1 представлен в обеих трофических формах, встречается и в анадромных выборках нерки из различных нерестовых рек Камчатки. Большинство остальных выявленных гаплотипов отличаются от гаплотипа ON-K1 на 1-2 замены и являются уникальными, т.е. сформировавшимися в озере. Интересно, что гаплотип ON-K2, являющийся вторым по массовости в озере, представлен почти исключительно среди бентофагов, а у планктофагов отсутствует. Исследование полиморфизма гена комплекса гистосовместимости показало что бентофаги (как с озерным, так и с речным нерестом) гомогенны по локусу MHC-2 $\beta$  и представлены гомозиготами или по одному (выборки двух смежных лет из р. Аланд, озерное нерестилище Ла-Манш), или по другому аллелю (нерестилище в ручье Малаховый). В то же время планктофаги, нерестящиеся как в реке Унана, так и в реке Узон, крайне полиморфны по данному локусу, что может свидетельствовать о более широком спектре патогенов или паразитофауны, которым подвержена данная трофическая форма.

В выборках, собранных неподалеку от истока р. Кроноцкой отмечен ряд гаплотипов *CytB*, нигде более в озере не выявленных, но встречающихся у анадромной нерки Камчатки. Это позволяет предположить, что в исключительных случаях производители проходной нерки могут попадать в озеро. При этом проходные рыбы не мигрируют в озеро, а нерестятся только в районе истока, и, судя по отсутствию «морских» гаплотипов у прочих группировок кокани в озере, их потомки имеют низкую выживаемость по сравнению с жилыми формами.

Полученные данные свидетельствуют, что две описанные С.И. Куренковым трофические формы кокани генетически изолированы и с большой вероятностью являются результатом симпатрического видообразования у потомков небольшой группы рыб-основателей.

### **The origin and population structure of sympatric forms of residential sockeye salmon (kokanee) in Lake Kronotskoe, Kamchatka peninsula**

Stoklitskaya D.<sup>1</sup>, Zelenina D.<sup>1</sup>, Markevich G.<sup>2</sup>, Mogue N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Kronotsky State Natural Biosphere Reserve, Russia*

Lake Kronotsky was formed 10-14 thousand y.a. as a result of the lava flows of the Krasheninnikov volcano. The water body is located at 372 m a.s.l. and has an area of 246 km<sup>2</sup>. It is one of the deepest in Kamchatka - a maximum depth of 136 m and an average depth of 58 m (Arakelyants, Tkachenko, 2012). At present, the Kronotskaya River flowing from the lake is considered impassable for anadromous salmonids due to high (up to 4 m) waterfalls (Agarkov, 1976). Two trophic forms (pelagic and benthic) of resident sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* (kokanee) are described in the lake. Pelagic form differs from benthic by smaller body size and a large number of gill rakers, and later spawning periods (Kurenkov, 1997). It has been suggested that the two forms originated from the early and late races of anadromous sockeye salmon, which were isolated in the lake during the formation of the dam (Kurenkov, 1979, McPhail, 1997).

Kokanee samples were collected in 2011-2014 at different spawning sites for both forms. For each specimen, length, weight, sex, and number of gill rakers were recorded. The collections were analyzed for 7 high polymorphic microsatellite loci (*One108*, *One109*, *One111*, *One114*, *Ots253b*, *Ots422*, *Omm1082* (Olsen et al., 2000, Rexroad et al., 2002, Williamson et al., 2002)), nucleotide sequence of *CytB* and the  $\beta$ -subunit of MHC-2 sequences.

The results of the Assignment test in the Structure program showed a clear division of the examined kokanee into two groups corresponding to the two trophic forms noted by Kurenkov, which indicates a high genetic isolation between forms. The number of gill rakers in two genetic forms, although overlapping, has two clear maxima. The average number of rakers in benthics was 33.5, and in pelagic forms - 39.9. Analysis of the *CytB* gene indicates the monophyletic origins of

the Kronotsky Lake kokanee. The most common *CytB* haplotype ON-K1 is present in both trophic forms, and it also occurs in anadromous samples of sockeye salmon from various spawning rivers in Kamchatka. Most of the other detected haplotypes differ from the ON-K1 haplotype by 1-2 substitutions and are unique, i.e. formed in the lake. Interestingly, the ON-K2 haplotype, which is the second most abundant in the lake, found almost exclusively among benthic fish, and is absent in pelagic form. The study of polymorphism of the gene of the histocompatibility complex showed that benthic are homogeneous at the MHC-2 $\beta$  locus and are all represented by homozygotes of one or another allele. At the same time, pelagic plankton feeders, spawning both in the river Unana and in the Uzon River, are extremely polymorphic at this locus, which may indicate a broader spectrum of pathogens or parasites which this trophic form is faced.

Samples collected near the source of the river Kronotsky has few haplotypes *CytB*, which were not found in the lake outside this area, but known in anadromous sockeye salmon of Kamchatka. This suggests that sockeye can occasionally enter the lake and spawn only in the river outflow area and there are inferiorly adapted in relation to living forms.

Obtained data indicate that the two described by S.I. Kurenkov's trophic forms of kokanee are genetically isolated and most likely are the result of sympatric speciation in lake population, formed by small group of sockeye salmon founders.

### **Генетическое разнообразие domestцированных видов животных *Bos taurus* и *Bos grunniens* Монголии и России**

Столповский Ю.А.<sup>1</sup>, Свищева Г.Р.<sup>1</sup>, Оюн Н.Ю.<sup>1</sup>, Урум А.В.<sup>2</sup>, Цэндсүрэн Ц.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт Биологии Монгольской академии наук*

Ключевой вопрос в сохранении сельскохозяйственных животных или «культурного» биоразнообразия животных – сохранение породного многообразия. При сохранении породы в качестве потенциального материала для последующего использования в селекции очень важно сберечь весь ее генофонд, поскольку, в настоящее время, в большинстве случаев, нам неизвестно, какими именно генами или их сочетаниями определяются хозяйственно-важные признаки породы (вида). С точки зрения сохранения domestцированного вида – единицей сохранения является сама порода, ее генетическая структура и в разнообразии.

В рамках проекта проведено сравнительное молекулярно-генетическое исследование пород и популяций крупного рогатого скота (КРС) *Bos taurus* (18 выборок) и одомашненных яков *Bos grunniens* (8 выборок) России и Монголии, общей численностью 791 животное. Выполнен комплексный статистический анализ стандартной панели, включающей 15 микросателлитных маркеров для КРС и яков (*Eth3*, *Cssm66*, *inra023*, *ilsts006*, *Tgla227*, *Tgla126*, *Tgla122*, *Sps115*, *Eth225*, *Tgla53*, *Csrm60*, *Bm2113*, *Bm1824*, *Eth10*, *BM1818*); у КРС обнаружено 274, у яков 105 аллелей. По большинству маркеров наблюдалось разделение объединенной выборки на три основные группы: яки, европейский и азиатский КРС. Анализ генотипических данных микросателлитов показал высокую внутри- и межпопуляционную дифференциацию.

Впервые для исследуемых популяций определен «географический центр происхождения». Выявлена зависимость ожидаемой гетерозиготности и коэффициента инбридинга от расстояния между локализацией выборки и «географическим центром происхождения». Наиболее приближенными к «географическому центру происхождения» оказались - серая украинская (серая степная) порода, имеющая древнейшее происхождение и сохранившаяся в России, на территории Горного Алтая, тагильская порода, которая сохранилась в единственном генофондном хозяйстве в Пермском крае и сформировалась к началу XVIII века, и алтайский скот, который издревле разводят древний народ теленгиты (образцы крови взяты на границе Тувы и Республики Алтай).

Мы исследовали зависимость ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) и коэффициента инбридинга ( $F_{IS}$ ) от расстояния между локализацией выборки и географическим выборочным центром ( $D_{IS}$ ). В нашем исследовании показано, что ожидаемая гетерозиготность ( $H_E$ ), как у европейского, так и азиатского скота, имеет более высокие значения в зоне их разведения на расстоянии в 2000-2500 км от предполагаемого «географического центра происхождения» ( $D_{IS}$ ). Иными словами, зона наибольшей генетической изменчивости (полиморфности) выявлена у пород, которые разводятся в настоящее время от «выборочного географического центра» на расстоянии более 2000 км. Повышенные показатели ожидаемой гетерозиготности (изменчивости), по-видимому, обусловлены межпородными скрещиваниями с местными породами или адаптацией к месту обитания и условиям содержания. В тоже время в популяциях яка мы наблюдали иную картину. Ожидаемая гетерозиготность практически не зависит от «географического центра происхождения» яка. При этом коэффициент инбридинга ( $F_{IS}$ ) выше в популяциях яка и наоборот ниже у европейского скота, в зависимости от удаления их зон разведения от «географического центра происхождения». В популяциях яка значения коэффициента инбридинга выше при разведении около 1000 км, а у пород КРС около 2000 км от  $D_{IS}$ . Показатели коэффициента инбридинга у азиатских пород практически независимы от «географического центра происхождения».

Работа поддержана в рамках гранта РФФИ № 16-54-44060 «Генетическое разнообразие локальных пород domestцированных видов животных Российской Федерации и Монголии».

### **Genetic diversity of the domesticated animal species (*Bos taurus* and *Bos grunniens*) of Mongolia and Russia**

Stolpovsky Yu.A.<sup>1</sup>, Svishcheva G.R.<sup>1</sup>, Oyun N.Yu.<sup>1</sup>, Urum A.V.<sup>2</sup>, Tsensursen Ts.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Institute of Biology of the Mongolian Academy of Sciences*

The key issue in the conservation of farm animals or the ‘cultural’ biodiversity of animals is the preservation of breed diversity. If the breed is preserved as a potential material for subsequent use in breeding, it is very important to conserve all of its gene pool, since, at present, in most cases, we do not know what genes or gene combinations determine the economically important characteristics of the breed. From the conservation of the domesticated species point of view - the unit of conservation is the breed itself, its genetic structure and diversity.

Within the project, a comparative molecular genetic study of cattle breeds and domesticated populations of *Bos Taurus* (18 samples) and *Bos Grunniens* (8 samples) of Russia and Mongolia was carried out, 791 animals in total.

A complex statistical analysis of a standard panel including 15 microsatellite markers for cattle and yaks (*Eth3*, *Cssm66*, *inra023*, *ilsts006*, *Tgla227*, *Tgla126*, *Tgla122*, *Sps115*, *Eth225*, *Tgla53*, *Csrm60*, *Bm2113*, *Bm1824*, *Eth10*, and *BM1818*) was performed; Cattle was found to have 274 alleles, yaks have 105 alleles. For most markers, the combined (joint) sample was divided into three main clusters: yaks, European cattle and Asian cattle. Analysis of Genotypic data of microsatellites showed high intra- and inter-population genetic differentiation.

For the first time, a ‘geographical center of origin’ is defined for the populations under study. The dependence between the expected heterozygosity and the coefficient of inbreeding on the distance between the localization of the sample and the ‘geographical center of origin’ is revealed. The most approximate to the ‘geographical center of origin’ were the gray Ukrainian (gray steppe) breed, which had the oldest origin and was preserved in Russia, on the territory of the Gorny Altai, the Tagilian breed, which was preserved in a single gene pool in the Perm region and was formed by the beginning of the 18th century, and Altai cattle, which has been bred by the

ancient people Telengits (samples of blood taken at the border of Tuva and the Republic of Altai) since ancient times.

This study was supported by grant RFBR № 16-54-44060 “Genetic diversity of native breeds of domesticated animal species of the Russia and Mongolia”.

### **Genomic insights on migration and hybridization in the Norway-Siberian spruce complex**

Sullivan A.R.<sup>1</sup>, Fagnäs Z.<sup>1</sup>, Zhao W.<sup>1</sup>, Meng J.<sup>1</sup>, Polyakova T.A.<sup>2</sup>, Shatokhina A.V.<sup>2</sup>,  
Shilkina E.A.<sup>3</sup>, Cherosov M.M.<sup>4</sup>, Zakharov E.S.<sup>4</sup>, Krutovsky K.V.<sup>2,5,6,7</sup>, Mudrik E.A.<sup>2</sup>,  
Politov D.V.<sup>2</sup>, Wang X.-R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Ecology and Environmental Science, Umeå University, Sweden*

<sup>2</sup>*Laboratory of Population Genetic, Vavilov Institute of General Genetics RAScience, Russia*

<sup>3</sup>*Centre of Forest Health, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>4</sup>*Institute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Russia*

<sup>5</sup>*Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen, Germany*

<sup>6</sup>*Laboratory of Forest Genomics, Genome Research and Education Center, Siberian Federal University, Russia*

<sup>7</sup>*Department of Ecosystem Science and Management, Texas A&M University, USA*

Understanding how trees responded to their environments in the past may help us predict how they might respond to ongoing climate change now. As boreal-alpine species, most *Picea* (Pinaceae) species occupy habitats that were previously covered by ice as recently as 8,000 years ago, which implies recent and large-scale migration, especially in Europe and North America. In Europe, patterns of genetic structure and diversity in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) have been interpreted as the signal of post-glacial recolonization from geographically disparate refugia. However, recent studies have suggested a more complex Pleistocene history, potentially involving glacial persistence at high-latitudes, extensive introgression from Siberian spruce (*P. obovata* Ledeb.), and cryptic species diversity. As a result, the speed and routes of post-glacial recolonization in *P. abies* are still unclear, as well as extent of introgression, if any, from *P. obovata*.

To gain a genome-wide view of genetic structure in the *P. abies-obovata* complex, we used a genotyping-by-sequencing (GBS) approach to genotype ~9,000 SNP loci in 1,119 individuals from 131 populations. Our range-wide collection spanned from the Norwegian coast to Magadan Oblast and from the Arctic Circle south to Bulgaria. Six population clusters were identified in this study, corresponding to: 1) the Baltics, west-central Russia, and southern Sweden/Finland; 2) Norway and central-northern Sweden, and 3) alpine Fennoscandia-Kola Peninsula through the Urals, 4) western Europe and the Alps, 5) the Carpathians and Balkans, and 6) Siberian spruce east of the Ob river. Our results support a complex history of the interactions between *P. abies* and *P. obovata* but differ from prior studies in the relationships among these groups. Namely, we found evidence that the Fennoscandian-Ural cluster represents a distinct lineage closely related to *P. obovata* with only little evidence of introgression from *P. abies*. Ongoing work will assess the relative contributions of post-glacial migration, isolation by distance and ecology under Pleistocene and contemporary environments, hybridization, and speciation to the genetic structure in the *P. abies-obovata* complex using spatially-explicit demographic and ecological models.



## Генетическая дифференциация популяций волка (*Canis lupus* L.) Сибири по микросателлитным локусам и мтДНК

Талала М.С.<sup>1</sup>, Бондарев А.Я.<sup>2</sup>, Захаров Е.С.<sup>3</sup>, Павлов П.М.<sup>2</sup>, Плис К.<sup>4</sup>,  
Поярков А.Д.<sup>5</sup>, Енджеевска Б.<sup>4</sup>, Политов Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия<sup>4</sup>

<sup>2</sup>ФГБУ «Центрхотконтроль», Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

<sup>5</sup>Институт биологии млекопитающих ПАН, Беловежа, Польша

<sup>6</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

Волк (*Canis lupus* L.) является широко распространённым крупным хищником, имеющим большое экологическое и социо-экономическое значение. Его восстановленный ареал охватывает большую часть Северного полушария. В течение последних двух веков произошло снижение численности и сокращение ареала волка, как вследствие прямого преследования человеком, так и по причине фрагментации естественных местообитаний. В некоторых частях ареала это привело к снижению уровня генетической изменчивости отдельных популяций. На территории Сибири волк широко распространён. Низкая плотность поселений человека и сохранение естественных местообитаний позволяют волку поддерживать высокую численность, вероятно составляя ядро видового генофонда. Выраженная способность к миграциям вместе с территориальностью и стайным образом жизни обуславливают структуру вида, которая на территории исследования изучена слабо. Используя молекулярные методы, мы предприняли попытку прояснить популяционно-генетическую структуру вида в данной части ареала. Мы исследовали образцы 496 особей волка, добытых охотниками в 2007-2016 гг. в различных регионах Сибири (Алтай, Тыва, Красноярский край, Бурятия, Забайкальский край, Якутия) и Европейской части России (Кавказ, Ленинградская обл. и др.; приведены в качестве аутгруппы) с помощью 6 микросателлитных локусов. Для 133 особей провели анализ последовательностей контрольного региона митохондриальной ДНК (190 п.н.). Анализ мтДНК показал высокий уровень гаплотипического (0,92) и нуклеотидного (0,02) разнообразия сибирских волков. Медианная сеть гаплотипов выявила наличие предположительно как древних, широко распространённых гаплотипов, так и производных, приуроченных к определённым регионам: 1) Алтай + Тыва; 2) Забайкалье + Бурятия и 3) Якутия. По микросателлитным локусам обнаружен высокий уровень полиморфизма, но статистически значимых различий показателей аллельного и генного разнообразия между выборками не выявлено. Среднее значение показателя ожидаемой гетерозиготности  $H_E$  относительно высоко и составляет 0,685. Низкие попарные значения показателя генетической подразделённости  $F_{ST}$  (0,007-0,07; среднее 0,06) свидетельствуют о том, что популяции волка различных территорий Сибири связывает активный поток генов. Результаты различных типов анализа межпопуляционной дифференциации указывают на наличие определенной пространственной структуры для исследованных выборок. Многомерный анализ по матрице генетических дистанций (РСОА) показал группирование выборок между собой, соответствующее их взаимному географическому расположению. Наблюдались три основных группировки: 1) Алтай + Тыва; 2) Забайкалье + Бурятия и 3) Якутия. Результаты кластеризации многолокусных гаплотипов в программах Geneland и STRUCTURE также демонстрировали наличие пространственной подразделённости. Мы наблюдали явное изменение характера распределения вклада различных генетических кластеров ( $K=3$ ) в генофонд изученных выборок волка как с запада на восток, так и с юга на север. Было показано соответствие выявленной генетической структуры данным о динамике численности и распространении подвидов серого волка на территории исследования.

Работа выполнена при поддержке подпрограммы «Генофонды живой природы и их сохранение» программы фундаментальных исследований РАН «Биоразнообразие природных систем».

### **Genetic differentiation of wolf (*Canis lupus* L.) populations in Siberia by microsatellite loci and mtDNA**

Talala M.S.<sup>1</sup>, Bondarev A.Ya.<sup>2</sup>, Zakharov E.S.<sup>3</sup>, Pavlov P.M.<sup>2</sup>, Plis K.<sup>4</sup>,  
Poyarkov A.D.<sup>5</sup>, Jędrzejewska B.<sup>4</sup>, Politov D.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow*

<sup>2</sup>*FGBU "Centrophotcontrol", Moscow*

<sup>3</sup>*Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk*

<sup>4</sup>*Mammal Research Institute of the Polish Academy of Sciences, Białowieża, Poland*

<sup>5</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow*

The wolf (*Canis lupus* L.) is a widespread large predator of great ecological and socio-economic importance. Its restored range covers most of the Northern Hemisphere. Over the past two centuries, wolf experienced a decrease in population size and a reduction of the species range, both as a result of direct human persecution and the fragmentation of natural habitats. In some parts of the range these factors have led to a decrease in the level of genetic variability of individual populations. In Siberia, the wolf is widespread and maintaining a large population size due to the low density of human settlements and the presence of natural habitats. Siberian wolf populations are likely forming the core of a species gene pool. High migration ability along with a territoriality of family groups, determine the population structure of the species, which is poorly studied by genetic methods. Using two classes of molecular genetic markers, we studied genetic structure of wolf populations in Siberia. We analyzed samples of 496 wolf specimens that were hunted during the programs for population regulation in 2007-2016 in various regions of Siberia (Altai Krai, the Altai Republic, the Tyva Republic, Krasnoyarsk Krai, the Republic of Buryatia, Zabaykalsky Krai, the Sakha (Yakutia) Republic) and the European part of Russia (used as an outgroup). For 133 individuals, the sequences of the mitochondrial DNA control region (190 b.p.) were analyzed. Analysis of mtDNA showed a high level of haplotype (0.92) and nucleotide (0.02) diversity of Siberian wolves. Analysis of a reduced median haplotype network revealed both presumably ancient wide-spread mtDNA haplotypes and derived variants confined to particular regions: 1) Altai and Tyva, 2) Transbaikalia and Buryatia and 3) Yakutia. All 496 individuals were analyzed by 6 microsatellite loci, which demonstrated a high level of polymorphism. However, no statistically significant differences in the indices of allelic and gene diversity between the samples were found. The average value of the expected heterozygosity  $H_E$  is relatively high (0.685). Low pairwise  $F_{ST}$  values (0.007-0.07, mean 0.06) indicate that wolf populations of different territories of Siberia are connected by active gene flow. The results of different types of interpopulation differentiation analysis indicate the presence of a certain spatial structure for the samples studied. Multivariate analysis of the genetic distance matrix (PCoA) showed grouping of samples corresponding to their mutual geographical location. Major observed clusters were: 1) Altai and Tyva, 2) Transbaikalia and Buryatia and 3) Yakutia. The results of clustering of multi-locus haplotypes in programs Geneland and *STRUCTURE* also demonstrated the presence of spatial subdivision. We observed a clear change in the distribution pattern of the contribution of various genetic clusters ( $K = 3$ ) to the gene pool of the studied wolf samples both in west – east and south – north directions. The correspondence of the revealed genetic structure to the available data on population dynamics and distribution of subspecies of the wolf in the study area was demonstrated.

This work was supported by the subprogram "Gene pools of living nature and their conservation" of the Fundamental Research Program of the Presidium of Russian Academy of Sciences "Biodiversity of Natural Systems.

## Индивидуальная гетерозиготность и фенотипическая изменчивость *Pinus sylvestris* L.

Тараканов В.В.<sup>1,2</sup>, Горошкевич С.Н.<sup>3</sup>, Тихонова И.В.<sup>4</sup>, Политов Д.В.<sup>5</sup>, Шуваев Д.Н.<sup>6</sup>,  
Зацепина К.Г.<sup>1</sup>, Экарт А.К.<sup>4</sup>, Белоконь М.М.<sup>5</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>5</sup>, Кальченко Л.И.<sup>6</sup>,  
Фахрутдинова В.В.<sup>1</sup>, Ткачёв А.В.<sup>7</sup>, Чанкина О.В.<sup>8</sup>, Ефимов В.М.<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Западно-Сибирское отделение Института леса СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, Томск, Россия

<sup>4</sup>Институт леса им. В.Н. Сукачёва СО РАН, Красноярск, Россия

<sup>5</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>6</sup>Центр защиты леса по Алтайскому краю – филиал ФГБУ «Рослесозащита»,  
Барнаул, Россия

<sup>7</sup>Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск,  
Россия

<sup>8</sup>Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>9</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

По данным Ю.П. Алтухова, полученным преимущественно на различных видах животных, гетерозиготность ускоряет обмен веществ и половое созревание, но отрицательно коррелирует с продолжительностью жизни и размерами особей (1989; 1990; 1996; 1999; 2003; 2004). При этом в популяциях, по его мнению, поддерживается некий оптимальный уровень гетерозиготности. Эти гипотезы способствовали развитию аналогичных исследований на длительно живущих древесных растениях и разработке новых гипотез, которые можно с определённой условностью объединить в 2 группы.

Согласно первой из них в популяциях хвойных растений действует балансирующий отбор, основанный на преимуществе гетерозигот (Mitton, 1978; Духарев, 1979; Животовский, Духарев, 1985; Старова и др., 1990). В частности, в условиях высокой внутривидовой конкуренции может быть адаптивен соматический гетерозис по скорости роста. Отмечается, что «плата за преимущество гетерозигот» в виде сегрегационного груза также может иметь адаптивное значение для популяции, поскольку особи с генетическим грузом создают лесную среду на начальном этапе развития насаждений, уменьшая конкуренцию с травянистыми растениями, и играют роль «подгона» для быстрорастущих оптимально гетерозиготных деревьев (Тараканов и др., 2007). Важные следствия для проверки этой гипотезы – положительная (скорее всего криволинейная) связь между размерами деревьев и их индивидуальной гетерозиготностью ( $H_0$ ); редукция лимитов гетерозиготности с возрастом насаждений; унимодальность распределений  $H_0$ .

Согласно второй гипотезе, развиваемой С.Н. Горошкевичем и коллегами на основе взглядов Ю.П. Алтухова и собственных исследований (Горошкевич, неопубликованные данные; Петрова и др., 2004; 2010), селективная ценность гетерозигот более чётко выявляется в жёстких экологических условиях и меняется с возрастом насаждений. Оптимально гетерозиготные генотипы со средними параметрами  $H_0$  имеют преимущество лишь на стадиях от всходов до средневозрастных деревьев. К возрасту спелости, вследствие раннего плодоношения и меньшей продолжительности жизни, они начинают отставать в росте и погибать. Важные следствия для проверки этой гипотезы – «прогиб» или даже двувершинность кривой распределения оценок гетерозиготности деревьев в спелых и перестойных насаждениях, которые должны особенно резко проявляться при анализе внутри групп деревьев одинакового размера и селекционного статуса («минусовых», «нормальных», «плюсовых» деревьев).

Следствия из рассмотренных и других гипотез проверены на основе анализа распределений  $H_0$  по аллозимным локусам и связей оценок  $H_0$  с фенотипическими особенностями деревьев в искусственных и естественных популяциях сосны обыкновенной.

Полученные результаты частично подтверждают выдвинутые гипотезы, но недостаточны для окончательного выбора между ними.

### **Individual heterozygosity and phenotypic variability of *Pinus sylvestris* L.**

Tarakanov V.V.<sup>1,2</sup>, Goroshkevich S.N.<sup>3</sup>, Tihonova I.V.<sup>4</sup>, Politov D.V.<sup>5</sup>, Shuvaev D.N.<sup>6</sup>,  
Zatsepina K.G.<sup>1</sup>, Ekart A.K.<sup>4</sup>, Belokon M.M.<sup>5</sup>, Belokon Yu.S.<sup>5</sup>, Kalchenko L.I.<sup>6</sup>,  
Fakhrutdinova V.V.<sup>1</sup>, Tkachev A.V.<sup>7</sup>, Chankina O.V.<sup>8</sup>, Efimov V.M.<sup>9</sup>

<sup>1</sup>*West-Siberian Branch of the Sukachev Institute of Forest SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Institute of Climatic and Ecological Systems Monitoring SB RAS, Tomsk, Russia*

<sup>4</sup>*V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>5</sup>*N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>6</sup>*Center of Forest Protection over the Altai Area – Affiliated Branch of FSBI “Roslesozashchita (Russian Forest Protection)”, Barnaul, Russia*

<sup>7</sup>*N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>8</sup>*Institute of Chemical Kinetics and Burning SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>9</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

According to the data of Yu.P. Altuhov, obtained mainly in different animal species, heterozygosity accelerates substance exchange and puberty, but it negatively correlates with individuals' lifetime and dimensions (1989; 1990; 1996; 1999; 2003; 2004). Thereat, in his opinion, some optimal heterozygosity level is maintained in populations. These hypotheses contributed to the development of analogous investigations in long-living woody plants and a development of the new hypotheses which, with a certain conditionality, can be divided into two groups.

According to the first of them, the balancing selection based on the predominance of heterozygotes, leads to homozygotes reduction in trees ontogenesis (Mitton, 1978; Dukharev, 1979; Zhivotovsky, Dukharev, 1985; Starova et al., 1990), the somatic multilocus heterosis that provides a victory in trees competition for light and nutrition being meant as a genetic mechanism. It is mentioned that the “payment for heterozygotes predominance” as a segregation load may have its adaptive meaning for a population, as individuals with the genetic load create a forest medium at the initial stage of trees development, decreasing the competition with herbaceous plants, and play the role of “fitting” for fast-growing optimal-heterozygous trees (Tarakanov et al., 2007). The important sequences for checking this hypothesis are positive (most likely curvilinear) connection between trees dimensions and their individual heterozygosity ( $H_0$ ); reduction of heterozygosity limits with trees age, unimodality of distributions  $H_0$ .

According to the second hypothesis, being developed by S.N. Goroshkevich and his colleagues, based on the outlooks of Yu.P. Altuhov and their own investigations (Goroshkevich, unpublished data; Petrova et al., 2004; 2010), the selective value of heterozygotes changes with trees age. Optimal-heterozygous genotypes with average  $H_0$  parameters have their advantage only at the stages from shoots to average-aged trees. To the age of ripeness, as a consequence of early fruit-bearing and shorter lifetime, they begin to fall behind in their growth and die. The important sequences for checking this hypothesis are the deflection and even double-top trees heterozygosity estimates distribution curve in mature and overmature trees, which should manifest themselves drastically, especially when analyzing inside the groups of trees of the same dimensions and selection status (“minus-”, “normal-” and “plus-trees”).

The sequences from the considered hypotheses were checked based on the analysis of  $H_0$  distributions over allozyme loci and the connections of  $H_0$  estimates with trees phenotypic peculiarities in the artificial and natural populations of *Pinus sylvestris* L. The received results partially confirm the put forward hypotheses, but are insufficient for a final choice between them.

## Изменение генетического разнообразия в реликтовых популяциях эндемика Урала *Gypsophila uralensis* (Caryophyllaceae) на Европейском Северо-Востоке России

Тетерюк Л.В., Чадин И.Ф., Шадрин Д.М., Пылина Я.И.  
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Скальные выходы редки и фрагментированы на равнинах Европы. Как среда обитания они существуют со времен оледенений и мало трансформированы человеком в голоцене. Сохранившиеся на них гляциальные реликты используются для моделирования последствий влияния фрагментации и длительной изоляции на их популяции (Tang et al., 2010; Martinez-Nieto et al., 2013; Walisch et al., 2015). В составе реликтового скального флористического комплекса на известняках Европейского Северо-Востока России встречается *Gypsophila uralensis* Less., высокогорный эндемик Урала. Реликтовые фрагменты вида сохранились на Приполярном Урале, в таежной зоне – на территории Архангельской области и Республики Коми (Средний Тиман). По образцам из Архангельской области описан *Gypsophila uralensis* Less. subsp. *pinogensis* (Perf.) Kamelin (= *G. pinogensis* Perf.) (Красная книга Российской Федерации, 2008). Целью нашей работы было изучение уровня и структуры генетического разнообразия реликтовых популяций *G. uralensis* s.l.

Молекулярно-генетические исследования проведены на базе ЦКП «Молекулярная биология» ИБ Коми НЦ УрО РАН. С помощью метода AFLP проанализировано 35 образцов из 5 популяций: Архангельская обл. – Вижево (locus classicus для *G. uralensis* subsp. *pinogensis*), Республика Коми - Кожим (Приполярный Урал), Светлая (Тиман), Мыла (Тиман), Пижма (Тиман). С помощью пяти комбинаций селективных праймеров (*EcoRI*-AGG/*MseI*-CAG, *EcoRI*-ACA/*MseI*-CTC, *EcoRI*-ACG/*MseI*-CAA, *EcoRI*-ACG/*MseI*-CTC) получено 573 AFLP-фрагмента ДНК длиной от 50 до 500 п.н., из которых 99,3% – полиморфные. Для обработки результатов использованы программы ARLEQUIN, GENALEX, R, PAUP, STRUCTURE.

Наибольшее число фрагментов ДНК, максимальные значения полиморфности локусов и ожидаемой несмещенной гетерозиготности, внутривидового генетического разнообразия Неи выявлены в популяции Кожим с Приполярного Урала. В реликтовых популяциях лесной зоны постепенное снижение этих показателей (в ряду Светлая → Пижма → Вижево → Мыла) совпадает с градиентом уменьшения их численности. Это указывает на то, что основной проблемой сохранения генетического разнообразия реликтовых популяций вида являются их небольшие размеры и низкая численность. В образцах из Вижево (*G. uralensis* subsp. *pinogensis*) пониженное генетическое разнообразие сочетается с высокими показателями индекса частоты редких AFLP фрагментов (DW). Рассчитанные индекс фиксации ( $F_{ST}$ ) и дистанция Неи ( $D$ ) указывают на генетическую дифференциацию между изученными популяциями на внутривидовом уровне. Наиболее значительные различия обнаруживают популяции Вижево (*G. uralensis* subsp. *pinogensis*) и Кожим (*G. uralensis* subsp. *uralensis*). Группа тиманских популяций (Мыла, Пижма, Светлая), также неоднородная по структуре, занимает промежуточное положение – она обособлена как от уральской части ареала, так и от реликтовых популяций Архангельской области.

Показано, что все реликтовые популяции *G. uralensis* s.l. на Европейском Северо-Востоке России генетически уникальны. Для выявления генетической структуры вида в ареале, понимания времени дивергенции его реликтовых популяций необходимо привлечение материалов с Южного Урала как основной области современного распространения вида.

Работа выполнена при частичной поддержке проекта РФФИ-Север 16-44-110167 «Оценка состояния и динамики популяций редких видов растений, грибов и животных, занесенных в Красные книги Республики Коми и Российской Федерации» и Правительства Республики Коми.

## The genetic diversity of relict populations of the Ural endemic *Gypsophila uralensis* (Caryophyllaceae) in the Northeast of European Russia

Teteryuk L.V., Chadin I.F., Shadrin D.M., Pylina J.I.  
*Institute of biology Komi SC URD RAS, Syktyvkar, Russia*

Rocky outcrops are rare and fragmented on the plains of Europe. As a habitat the rocky outcrops exists at the time of glaciations and hardly transformed by man during the Holocene. The preserved glacial relics are used to model consequences of the fragmentation and prolonged isolation on their populations (Tapd et al., 2010; Martinez-Nieto et al., 2013; Walisch et al., 2015).

*Gypsophila uralensis* Less. is the Ural alpine endemic species, found in the composition of the relict floristic complex of limestone outcrops of the Northeast of European Russia. Relict fragments of the areal of *G. uralensis* still exist in the Subpolar Urals and in the taiga zone on the territory of the Arkhangelsk region and the Komi Republic (Middle Timan). The samples from the Arkhangelsk region have been described as *Gypsophila uralensis* Less. subsp. *pinegensis* (Perf.) Kamelin (= *G. pinegensis* Perf.) (The Red Data Book of the Russian Federation, 2008). The purpose of this research was to study of the level and structure of genetic diversity of relict populations of *G. uralensis* s.l.

The molecular genetic studies carried out on the basis of SFC "Molecular biology" biology, Komi SC UB RAS. With using the AFLP method the 35 samples from 5 populations have been analyzed: the Arkhangelsk region – «Vizhevo» (locus classicus for *G. uralensis* subsp. *pinegensis*), the Komi Republic – «Kozhim» (Subpolar Urals), «Svetlaia» (Middle Timan), «Myla» (Middle Timan), «Pizhma» (Middle Timan). With help of five combinations of selective primers (*EcoRI*-AGG/*MseI*-CAG, *EcoRI*-ACA/*MseI*-CTC, *EcoRI*-ACG/*MseI*-CAA, *EcoRI*-ACG/*MseI*-CTC) we have received 573 AFLP-DNA fragments with a length of from 50 to 500 BP, of which 99.3% were polymorphic. For process the results we used the programs ARLEQUIN, GENALEX, R, PAUP, STRUCTURE. The highest indices of genetic diversity were identified in the Kozhim population (Subpolar Urals). In relict populations of the forest zone a gradual decrease of indicators genetic diversity (the number of Svetlaia → Pizhma → Vizhevo → Myla) coincides with the gradient of decreasing their size. This indicates that the main problem for conservation of genetic diversity of relict populations of *Gypsophila uralensis* are their small size. Low genetic diversity of plants from the Vizhevo (*G. uralensis* subsp. *pinegensis*) is combines with high index of the frequency of rare AFLP fragments (DW).

Among studied populations was found intraspecific genetic differentiation. The most significant differences were found between the Vizhevo population (*G. uralensis* subsp. *pinegensis*) and the Kozhim (*G. uralensis* subsp. *uralensis*). The group of the Middle Timan populations (Myla, Pizhma, Svetlaia) are also heterogeneous in structure, occupies an intermediate position. They are isolated and from the Ural part of the area, and from relict populations in Arkhangelsk region. Shown that all relict populations of *G. uralensis* s.l. in the Northeast of European Russia are genetically unique.

Our research was executed at partial support of the project RFBR-North 16-44-110167 "Assessment of the status and dynamics of populations of rare species of plants, fungi and animals listed in the Red Data Book of the Komi Republic and the Russian Federation" and the Government of the Komi Republic.

## Применение ГИС и анализа метеорологической базы данных для изучения адаптивной нормы реакции популяций и групп популяций основных лесообразующих видов хвойных

Тихонова И.В., Корец М.А.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (ФИЦ КНЦ СО РАН), Красноярск, Россия

Как известно, любая популяция и протекающие в ней процессы не могут рассматриваться вне связи ее со средой обитания. Неслучайно поэтому появилось новое направление генетики – «экологическая генетика». Для развития этого направления и изучения взаимосвязей между генотипом и средой необходимо получение как можно более полной экологической характеристики видов, популяций видов, отдельных особей, т. е. сведений об их норме реакции. Несмотря на то, что норма реакции видов, по общему признанию (Тимофеев-Ресовский, 1966; Шмальгаузен, 1968; Тараканов, Глотов, 1985; Алтухов, 1989; Драгавцев, 2008 и др.), является одной из фундаментальных проблем современной биологии, она мало исследована, особенно в отношении лесных древесных растений. Между тем, эти знания имеют большое практическое значение, учитывая средообразующую роль и хозяйственную ценность лесов. Необходимо при этом отметить, что долго живущие древесные растения, особенно широко распространенные виды хвойных, – это удобный объект для такого исследования. Благодаря длительным метеорологическим наблюдениям на значительной территории, с одной стороны, неподвижности и долгожительству особей, с другой, можно, используя только метеорологическую базу данных, получить примерные количественные оценки адаптивной нормы реакции популяций лесных древесных видов.

В связи с выше сказанным, целью проводимых нами исследований была оценка адаптивной нормы реакции популяций основных лесообразующих видов хвойных с помощью методов ГИС и анализа изменчивости условий произрастания видов на территории Средней Сибири в границах 85-125° в. д. и 51-73° с. ш. за период 1960-2013 гг. В результате проведенного исследования выявлены закономерности пространственно-временной изменчивости гидро-термических условий произрастания хвойных видов, установлены адаптивные нормы реакции видов (*Picea obovata* Ledeb., *Larix sibirica* Ledeb. с *L. gmelinii* (Rupr.) Rupr.), *Pinus sibirica* Du Tour., *Pinus sylvestris* L., *Abies sibirica* Ledeb.) и их ценопопуляций по амплитудам годовых температур, осадков и расчетных климатических индексов в пределах исследуемой части ареалов. Установлены примерные экологические и географические границы климатического оптимума перечисленных видов на территории Средней Сибири. Определена структура изменчивости климата для отдельных ландшафтов и природно-климатических зон. Отмечено значительное пространственное разнообразие и большая стабильность по годам метеорологических показателей в горах Южной Сибири: более влажных и теплых на северном макросклоне Западного Саяна, более сухих и холодных на южном макросклоне Западного Саяна и в юго-восточной части Восточного Саяна, а также во внутренних горах Тувы. Анализ данных свидетельствует о том, что средние значения температуры, характерные для северной тайги, и даже более низкие температуры часто наблюдаются и в среднетаежной зоне. То же наблюдается в лесостепной зоне, где нередко отмечаются годы с отрицательными среднегодовыми температурами воздуха (реже – по сочетанию тепла и увлажнения), характерные для зоны южной тайги. Поэтому в центральной части ареалов видов может сохраняться значительное число особей, устойчивых к пограничным условиям роста, а в горных популяциях на южной границе их ареалов – большое разнообразие генотипов, потенциально устойчивых к комплексам условий произрастания более северных широт средней тайги. Необходимо, однако, отметить, что в пределах ареала выделены пункты (ценопопуляции) с достаточно узкой адаптивной нормой реакции, что необходимо учитывать при заготовке семян. Результаты исследования могут быть использованы для уточнения «Лесосеменного районирования территории». Данный

подход может иметь большую перспективу для целей установления эколого-генетической структуры видов наряду с критериями, основанными на анализе географических расстояний (тест Мантелы и др.).

### **Application of GIS and meteorological data base for the study of adaptive norm of reaction of populations and groups of populations of the main coniferous forest-forming species**

Tikhonova I.V., Korets M.A.

*Sukachev Institute of Forest, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (FSC SB RAS),  
Krasnoyarsk, Russia*

As it is known, studying any population and the processes occurring in it is necessary to consider the environment of its habitat. Therefore the "ecological genetics" as a new field of genetics was forming. For the development of this field and for the studying of relationship between the genotype and the environment it is necessary to obtain the fullest ecological characteristics of species, populations of species and individual trees or information about their norm of reaction. Despite of the general recognition the norm of reaction of species is one of the fundamental problems of modern biology (Timofeev-Resovskii, 1966; Schmalhausen, 1968; Tarakanov, Glotov, 1985; Altukhov, 1989; Dragavtsev, 2008 and others), it isn't sufficiently investigated, especially for forest tree plants. Meanwhile, this knowledge are very important for practice, considering the environment-forming role and economic value of the woods. It should be to note that the long-living woody plants, especially widespread species of conifers, are the convenient object for such a study. Due to prolonged meteorological observations covering a large territory, as well as, to immobility of long-living trees it is possible to obtain an approximately quantitative evaluation of adaptive norm of reaction of populations of forest tree species, using only the meteorological database.

In connection with mentioned above thought, the purpose of our research was the evaluation of adaptive norm of reactions of populations of the forest forming conifer species using GIS techniques and the analysis of variability of conditions of species growth in Central Siberia for the last 50 years. It has been revealed the features of spatial and temporal variability of hydro-thermal conditions of coniferous species habitat and adaptive norm of reaction of species were established, as well as the amplitudes of annual temperature, precipitation and climate indices in habitats of populations were calculated within the studying part of areas of *Picea obovata* Ledeb., *Larix sibirica* Ledeb. with *L. gmelinii* (Rupr.) Rupr.), *Pinus sibirica* Du Tour., *Pinus sylvestris* L., *Abies sibirica* Ledeb.. We found the ecological and geographical boundaries of climatic optimum for five coniferous species in Central Siberia. The peculiarities of structure of climate variability for particular landscapes and climatic zones were established. A significant spatial diversity and greater stability data of meteorological parameters in time were noted in the mountains of Southern Siberia. More humid and warm conditions take place at the northern slope of Western Sayan, a dry and cool climate there is in the southern slop of Western Sayan and in east- southern slope of Eastern Sayan, as well as in the interior mountains of Tuva. The analysis of the data shows the average values of the temperature observed in the northern taiga forest, and even lower temperatures are often take place in the middle-taiga zone. The same is observing in the forest-steppe zone, where the negative mean annual air temperature, typical for the southern taiga zone often occur (rarely by a combination of heat and moisture). Thus, in the central part of the species areas a significant number of individuals that are resistant to the boundary conditions of growth can be maintained. As well as in the mountain populations on the southern border of the areas a wide variety of genotypes potentially resistant to a range of growth conditions of more northern latitudes (middle taiga) can there are. However, it should be noted that within the area a some populations are characterized by narrow adaptive norm of reaction, which should be considered in the practice of forestry. The results of this investigation could be used to development of "forest seed zoning". This approach can have great perspective for purposes of the studying of tree species ecological and



genetic structure, together with criteria based on the analysis of the geographical distances (Mantel test, etc.).

### **Изучение генетического разнообразия клонов семи сортов винограда с использованием ISSR, IRAP и iPBS маркеров**

Трошин Л.П., Звягин А.С., Милованов А.В.

*Кубанский государственный аграрный университет, Краснодар, Россия*

Представлены результаты генотипирования 14 клонов семи сортов винограда технического и столово-кишмишного направления с использованием трех маркерных систем: ISSR, IRAP и iPBS. Ретротранспозоны широко распространены в растительных геномах и широко применяются для изучения клонового разнообразия рода *Vitis* L. в качестве маркерных систем. Большое количество копий и широкое распространение в геноме делают данные элементы мощным средством изучения генетического разнообразия. Использование последовательностей ретроэлементов, таких как Tv<sub>v</sub>-1 и Vine-1, в качестве источника информативных маркеров IRAP (inter retrotransposon amplified polymorphism) могут оптимизировать процесс генотипирования, так как обладают возможностью одновременно амплифицировать много локусов в геноме. В последнее время появились новые ретротранспозонные маркеры – iPBS (inter primer binding site). iPBS маркеры – это молекулярно-генетические маркеры, которые являются специфичными к сайтам связывания т-РНК. Данный метод хорош тем, что происходит амплификация ещё большего количества локусов, что облегчает задачу по поиску различий между клонами. Помимо выше описанных, существуют ISSR (inter simple sequence repeat) маркеры, которые также позволяют амплифицировать большое количество аллелей, что также дает возможность легче выявлять различия внутри клоновых популяций. Таким образом, целью нашего исследования мы поставили обнаружения полиморфных локусов у семи популяций клонов.

В качестве исследуемого материала мы использовали 14 клонов 7 сортов: 1. Анчелотта P81K14, 2. Анчелотта P81K17 контроль, 3. Грюнер Вельтлинер P155K15, 4. Грюнер Вельтлинер P155 K11 контроль, 5. Инкроче P7K18, 6. Инкроче P7K14 контроль, 7. Санджовезе P110K17, 8. Санджовезе P110K11 контроль, 9. Сира P30K7, 10. Сира P30K19 контроль, 11. Цвайгельт P134K10, 12. Цвайгельт P134 K14 контроль, 13. Юпитер таманский, 14. Юпитер контроль. Для изучения генотипов использовались 6 молекулярных маркеров: (CT)9G, (GA)9C, Vine-1 RaR, Tv<sub>v</sub>-1 FaF, iPBS 2373 и iPBS 2074. Выделение ДНК проводили ЦТАБ-методикой. Параметры разделения продуктов амплификации: 6% ПААГ, 80В, 7 часов. Пластины геля выдерживались в бромистом этидии 15 минут и фотографировались в ультрафиолетовом свете.

Маркер (CT)9G выявил от 5 до 6 аллелей, но без полиморфизма. Маркер (GA)9C показал от 7 до 14 аллелей, выявлены отличия между клонами сортов Сира и Цвайгельт. Маркер Vine-1 выявил от 5 до 11 аллелей, отличия обнаружены у клонов сортов Инкроче, Анчелотта и Грюнер Вельтлинер. Маркер Tv<sub>v</sub>-1 выявил от 7 до 18 аллелей, различия обнаружены у клонов сортов Анчелотта, Санджовезе и Юпитер. Маркер iPBS2373 показал от 7 до 16 аллелей, отличия обнаружены между клонами сортов Анчелотта, Санджовезе и Юпитер. Маркер iPBS2074 выявил от 6 до 22 аллелей, обнаружены различия между клонами сортов Санджовезе и Грюнер Вельтлинер.

Таким образом, при помощи молекулярно-генетических маркеров были выявлены различия между клонами 7 сортов. При этом маркеры (CT)9G и (GA)9C показали низкий уровень полиморфизма или не показали его вообще. Остальные же маркеры, основанные на ретротранспозонной активности, показали высокий уровень полиморфизма, что делает их более эффективными при поиске различий между близкородственными клонами. Все изученные клоны 7 сортов винограда (не включая контрольные генотипы) переданы в

Госсорткомиссию Российской Федерации и зарегистрированы как новейшие сорта винограда, полученные в результате клоновой селекции.

### **Study of clone genetic diversity of 14 clones of seven grapevine varieties using ISSR, IRAP and iPBS markers**

Troshin L.P., Zviagin A.S., Milovanov A.V.  
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia*

Представлены результаты по генотипированию 14 клонов семи сортов винограда технического и столово-кишмишного направления с использованием трех маркерных систем: ISSR, IRAP и iPBS. Retrotransposons are widespread in plant genomes, and is widely used to study the clonal diversity of the genus *Vitis* L. as marker system. A large number of copies and wide distribution of these elements in the genome makes them a powerful tool for studying the genetic diversity. Using of such retroelements as Tvv-1 and Vine-1, as a source of informative IRAP (inter retrotransposon amplified polymorphism) markers can optimize the genotyping process, as they have ability to simultaneously amplify many loci in the genome. In recent years, new retrotransposon markers - iPBS (inter primer binding site) were developed. iPBS markers - a molecular genetic markers that are specific to the binding sites of the tRNA. This method is better, because amplified more loci, which makes it easier to find the differences between clones. In addition to the above described, were developed ISSR (inter simple sequence repeat) markers, which are also allows to amplify a large number of alleles, what is makes it easier to identify differences in clonal populations. Thus, the purpose of our study is to detect polymorphic loci in seven populations of clones.

As a plant material, we used 14 clones of 7 varieties: 1. Ancelotta R81K14 2. Ancelotta R81K17 control 3. R155K15 Grüner Veltliner 4. Grüner Veltliner R155 K11 control 5. Inkroche R7K18 6. Inkroche R7K14 control 7. R110K17 Sangiovese 8. Sangiovese R110K11 control 9. R30K7 Syrah 10. Syrah R30K19 control 11. Zweigelt R134K10 12. Zweigelt P134 K14 control 13. Jupiter tamanskii 14. Jupiter control. To study the genotypes 6 molecular markers were used: (CT)9G, (GA)9C, Vine-1 RaR, Tvv-1 FaF, iPBS 2373 and iPBS 2074. DNA extraction was performed with CTAB-method. Settings of amplification products segregation: 6% PAGE, 80V, 7 hours. PAGE gel plates were kept in ethidium bromide for 15 minutes and photographed with UV.

Marker (CT)9G showed from 5 to 6 alleles, but without polymorphism. Marker (GA)9C showed from 7 to 14 alleles and detected differences between clones of Syrah and Zweigelt varieties. Vine-1 marker revealed from 5 to 11 alleles, the differences found in clones of varieties Inkroche, Ancelotta and Grüner Veltliner. Tvv-1 marker revealed from 7 to 18 alleles, the differences detected in clones of varieties Ancelotta, Sangiovese and Jupiter. iPBS2373 marker indicated from 7 to 16 alleles, the differences found between clones of Ancelotta, Sangiovese and Jupiter varieties. iPBS2074 revealed from 6 to 22 alleles differences among clones of Sangiovese and Grüner Veltliner varieties were detected.

Thus, by using molecular genetic markers were identified differences between the 14 clones of 7 varieties. (CT) 9G and (GA) 9C markers showed a low level of polymorphism, or did not show it at all. Other markers, which are based on retrotransposon activity, showed a high level of polymorphism, which makes them more effective for polymorphism searching between closely related clones. All studied clones of 7 grapevine varieties (except control genotypes) submitted to the Gossortkomissia of Russian Federation and registered as the newest grapevine varieties, as the result of clonal selection.

## **Популяции - аллельные вариации. Видообразование — через перераспределение экспрессии структурных генов**

Трувеллер К.А.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия*

Анализ генетических дистанций между разными уровнями дифференциации от популяционного до таксонов разного ранга при разложении их на вклад структурных локусов по составу аллелей идентичных, сходных и различающихся на материале из беспозвоночных и позвоночных животных (Трувеллер, Чернышов, 2010) показал, что внутривидовые — популяционные различия сводятся к полиморфизму по аллозимным частотным различиям, а межвидовые состоят в мономорфном перераспределении экспрессии структурных, часто амплифицированных, локусов белков, характерном и для тканевой дифференциации.

## **Populations – differ by allelic variations. Speciation – through rearrangement of the structural genes expression**

Truveller K.A. (Treheller C.A.)

*Lomonosov's Moscow State University, Biological Department, Moscow, Russia*

Analyzing genetic distances between various levels of differentiation from population up to ranks of taxons with their resolution of inputs of the structural genes by allelic composition into identical, similar and different, basing on the data from various groups of invertebrates and vertebrates (Truveller, Chernyshov, 2010) revealed, that the intraspecific – population differences were restricted by polymorphism with allozymes frequencies, though the interspecific consist in monomorphic rearrangement of the structural genes expression often amplified protein loci, which both is peculiar to the tissues differentiation.

## **Оценка видовой специфичности генома большого суслика *Spermophilus major* по данным изменчивости маркеров митохондриальной и ядерной ДНК**

Тухбатуллин А.Р., Капустина С.Ю., Брандлер О.В.

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Межвидовая гибридизация была описана во многих систематических группах. В случаях гибридизации, сопровождающейся интенсивной интрогрессией возникает вопрос о механизмах сохранения специфичности видовых геномов. Эта проблема наиболее актуальна для видов, имеющих обширные зоны перекрывания ареалов с близкими видами. Один из наиболее интересных случаев представляет собой большой суслик (*Spermophilus major* Pallas, 1778), имеющий зоны вторичного контакта на западной, южной и восточной границах ареала с 5 близкими видами: малым (*S. pygmaeus*), крапчатым (*S. suslicus*), желтым (*S. fulvus*), краснощеким (*S. erythrogeus*) и короткохвостым (*S. brevicauda*) сусликами. Межвидовые гибриды жизнеспособны и плодовиты. Процесс гибридизации сопровождается интенсивной интрогрессией чужеродных генов в геном большого суслика (Ермаков и др., 2002; Титов и др., 2005; Спиридонова и др., 2005, 2006 и др.). При этом *S. major* является хорошим зоологическим видом, имеющим ряд специфических экологических и морфофизиологических особенностей. Недостаток имеющихся к настоящему времени данных о внутривидовой генетической изменчивости большого суслика не позволяет надежно отделить его геном от геномов, контактирующих с ним близких видов.

Задачей настоящего исследования является поиск молекулярно-генетических маркеров, позволяющих надёжно идентифицировать геном большого суслика на достаточно

репрезентативной выборке из разных частей ареала. Исследованы 58 образцов *S. major*, собранных в 2016 г. из 11 точек в северной и центральной частях ареала (Республика Татарстан, Башкортостан, Свердловская область) и 6 образцов из Коллекции замороженных и фиксированных тканей диких животных, поддерживаемой в ИБР РАН. Для сравнительного анализа использовались 12 образцов *S. brevicauda*, 9 – *S. fulvus*, 4 – *S. erythrogegens* и 4 – *S. pygmaeus* из той же коллекции. Дополнительно использованы последовательности маркеров митохондриальной и ядерной ДНК *S. suslicus*, *S. pygmaeus* и *S. fulvus* из ГенБанка (GenBank NCBI). Определены нуклеотидные последовательности контрольного региона мтДНК длиной 1006-1010 п.н. и фрагмента 8 интрона гена *SmcY* (*δiSmcY*) - 393 п.н. Выравнивание последовательностей и дальнейший анализ изменчивости проводили в пакете программ MEGA7.

Анализ изменчивости контрольного региона мтДНК показал, что большой суслик достоверно отличается от всех 5 граничащих с ним видов. Наименьшие различия обнаружены между *S. major* и *S. brevicauda*. Большинство образцов *S. major* идентичны по *δiSmcY*, за исключением суслика из Стерлибашевского района Республики Башкортостан, у которого имеется уникальная замена А/Г в положении 197, и образца из Самарской обл. (AY898764, GenBank), который отличается заменой С/Г в 330 позиции, имеющейся у других видов. Исследованный фрагмент *δiSmcY* является маркерным признаком, дифференцирующим *S. major* от близких видов, за исключением *S. brevicauda*. Проблема идентификации генома большого суслика требует дальнейшего подбора видоспецифичных молекулярно-генетических маркеров и включения в анализ материала из восточной и южной частей ареала этого вида.

### **Estimate of species specificity of *Spermophilus major* genome according to variability of mitochondrial and nuclear DNA markers**

Tukhbatullin A.R., Kapustina S.Yu., Brandler O.V.  
*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia*

Interspecific hybridization has been found in many taxonomic groups. In a case of hybridization accompanied by an intensive introgression we have a question about mechanisms for saving the species genome specificity. It is the topical problem for species having wide contact zones with closely related species. One of the most interesting cases is a russet ground squirrel (*Spermophilus major* Pallas, 1778) having some secondary contact zones with 5 closely related species: *S. pygmaeus*, *S. suslicus*, *S. fulvus*, *S. erythrogegens* and *S. brevicauda* on the Western, Southern and Eastern boundaries of its range. Hybrids of *S. major* with all this species are viable and fertile. The hybridization is attended by an intensive introgression of another's genes into *S. major* genome (Ermakov et al., 2002; Titov et al., 2005; Spiridonova et al, 2005, 2006, etc.). Nevertheless *S. major* is a good zoological species. It has some specific ecological, morphological and physiological characteristics. Now the lack of available data on intraspecific genetic variability of *S. major* does not allow to distinguish this genome from genomes of closely related species reliably.

A task of this study is to search for molecular-genetic markers allowing the identification reliable of the *S. major* genome basing on a representative sample from different parts of its range. We studied 58 samples of *S. major*, collected in 2016 from 11 locations in the Northern and central parts of the range (Republics of Tatarstan and Bashkortostan and Sverdlovsk region) and 6 samples from the Collection of frozen and fixed tissues of wild animals maintained in the IDB RAS. Some samples from this Collection were used for a comparative analysis: *S. brevicauda* - 12, *S. fulvus* - 9, *S. erythrogegens* - 4 and *S. pygmaeus* - 4. In addition, some sequences of mitochondrial and nuclear DNA markers of *S. suslicus*, *S. pygmaeus* and *S. fulvus* from GenBank NCBI were used. Nucleotide sequences of mtDNA control region (1006-1010 bp) and a fragment of intron 8 *SmcY* gene

(*δiSmcY*) (393 bp) were identified. Sequence alignments and the further analysis of variability were performed in MEGA7 software package.

An analysis of a variation of mtDNA control region shown significant difference *S. major* from all species contacting with them. The smallest differences were found between the *S. major* and *S. brevicauda*. The most of *S. major* samples have same *δiSmcY*, except for the sample from Sterlibashevsky district in Bashkortostan Republic. It has a unique substitution A/G at locus 197. Also, a sample AY898764 from Genbank (Samarskaya region) has substitution C/G at locus 330. The last substitution was detected in some other species. The studied fragment of *δiSmcY* is a marker feature for differentiation of *S. major* from closely related species except for *S. brevicauda*. The problem of identification of *S. major* genome needs in further selection of species specific molecular genetic markers and an inclusion in the analysis a material from the Eastern and Southern parts of *S. major* area.

### **Создание судебной референтной базы данных для ДНК-идентификации в Республике Беларусь**

Удина И.Г.<sup>1</sup>, Веремейчик В.М.<sup>2</sup>, Котова С.А.<sup>2</sup>, Цыбовский И.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Государственное учреждение "Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь", Минск, Республика Беларусь

ДНК-идентификация применяется в судебной медицине и криминалистике для установления отцовства и биологического родства, установления личности преступников и жертв терактов, различных стихийных бедствий таких, как цунами и землетрясения, катастроф, крушений, а также погибших в различных войнах. Для проведения статистических расчетов при проведении ДНК-идентификации необходимо создание популяционных баз данных по судебным аутосомным микросателлитам (STR), которые используются как референтные базы данных (reference data bases). Формирование судебных баз ДНК-данных для судебной экспертизы требует сбора образцов, проведенного с учетом структуры популяции.

Для населения Республики Беларусь разработана судебная референтная база данных на основе 18-ти аутосомных микросателлитов (STR) с использованием популяционных данных, «семейного» массива генотипов, полученного при проведении экспертиз по установлению отцовства, и массива генотипов из базы криминалистического учета. По данным анкетирования изученные популяционные выборки состоят на 80% из этнических белорусов и на 20% из лиц других национальностей или смешанных по происхождению. Объединенная база данных включает генотипы 12346 жителей Республики Беларусь из 118 региональных выборок, изученных по 18 аутосомным микросателлитам: 16 тетраплектидных STR (*D2S1338*, *TPOX*, *D3S1358*, *CSF1PO*, *D5S818*, *D8S1179*, *D7S820*, *TH01*, *vWA*, *D13S317*, *D16S539*, *D18S51*, *D19S433*, *D21S11*, *F13B* и *FGA*) и два пентануклеотидных STR (Penta D и Penta E). По распределению генотипов 18 судебных STR исследованные выборки находятся в равновесии Харди-Вайнберга. Достоверные отличия не выявлены как между отдельными популяциями, так и между выборками из различных историко-этнографических регионов Республики Беларусь (Западное и Восточное Полесье, Поднепровье, Понеманье, Поозерье и Центр), что указывает на отсутствие выраженной генетической подразделенности. Достоверных различий между изученными тремя массивами генотипов также не выявлено, что позволило их объединить и рассматривать суммарную выборку как единую судебную референтную базу данных для 18 судебных STR-локусов. Отличия между референтной базой Республики Беларусь и русскими и украинцами по распределению спектра аутосомных STR также не выявлены, что соответствует близкому генетическому родству трех восточнославянских народов, обусловленному общим происхождением и интенсивными взаимными миграциями. По

отдельным STR-локусам установлены достоверные различия между референтной базой Республики Беларусь и популяциями южных и западных славян. Показана необходимость использования собственной референтной базы данных для обеспечения судебно-экспертной практики в Республике Беларусь, так как обнаружено несколько достоверных различий между частотами судебных микросателлитов в Республике Беларусь и частотами, рекомендованными производителями стандартных наборов для ДНК-идентификации — фирмами “Promega” и “Applied Biosystems”. Рекомендовано использование отдельных судебных баз данных для столицы Республики Беларусь — Минска как мегаполиса со смешанным населением и спецификой генетико-демографических процессов, а также для районов с компактным проживанием этнических меньшинств, особенно для меньшинств неславянского происхождения.

Работа частично поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: Современное состояние и проблемы развития» Подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов»

### **Developing forensic reference database for DNA-identification in the Republic of Belarus**

Udina I.G.<sup>1</sup>, Veremeichik V.M.<sup>2</sup>, Kotova S.A.<sup>2</sup>, Tsybovsky I.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*State Institution "Scientific Practical Center of the State forensic Expertise Committee of Belarus Republic", Minsk*

In forensic medicine and criminalistics, DNA-identification is used for paternity testing, establishing biological relationship, personal identification of victims of acts of terrorism, various natural calamities such as tsunamis and earthquakes, catastrophes and crashes, and dead in numerous wars, and criminals. For performance of statistical calculations during DNA-identification, developing population data bases by forensic autosomal microsatellites (STR), which are used as reference data bases, is necessary. Formation of forensic DNA data bases for forensic expertise needs taking in consideration population structure during collecting of samples.

In population of the Republic of Belarus Republic, developing forensic reference database by 18 autosomal microsatellites (18 STR) using population data, «familial» dataset obtained during expertise performing for paternity cases and criminalistic registration dataset is described. Basing on questionnaire data, population samples studied consist from 80% ethnic Belorussians and 20% of persons of other or mixed ethnic origin. In the total dataset, genotypes of 12346 inhabitants of Belarus Republic from 118 regional samples studied by 18 autosomal STR: 16 tetranucleotide STR (*D2S1338*, *TPOX*, *D3S1358*, *CSF1PO*, *D5S818*, *D8S1179*, *D7S820*, *TH01*, *vWA*, *D13S317*, *D16S539*, *D18S51*, *D19S433*, *D21S11*, *F13B* и *FGA*) and two pentanucleotide STR (Penta D and Penta E) – are included. The samples studied are in Hardy-Weinberg equilibrium according to genotype distribution. Significant differences were not found between distinct populations and between groups from different historical ethnographic regions of the Republic of Belarus (Western and Eastern Polesye, Podneprovye, Ponemanye, Poozerye and Center) that indicates the absence of prominent genetic differentiation. Significant differences between three large datasets were not observed that allowed us to combine three datasets and consider the united dataset as forensic reference database for the Republic of Belarus by 18 forensic STR. Differences between the forensic reference database and Ukrainians and Russians were, also, not found, that corresponds to close genetic relationship of three Eastern Slavic nations mediated by common origin and intensive mutual migrations. Significant differences were observed between the forensic reference database of the Republic of Belarus and South and Western Slavic populations by several loci. Necessity of using national reference database for support of forensic expertise practice in the Republic of Belarus was demonstrated, as significant differences were observed between the frequencies of several forensic microsatellites in the Republic of Belarus and the frequencies recommended by firms “Promega” and “Applied Biosystems” producing standard sets for DNA-identification. It is

recommended to create special forensic data bases for the capital of the Republic of Belarus – Minsk as megalopolis with mixed population and specific genetic-demographic processes and, also, for regions with compact residence of ethnic minorities, especially, of non-Slavic origin,

The work is partly supported by the Program of Fundamental Researches of RAS Presidium «Alive nature: Modern state and problems of development» Subprogram «Dynamics and conservation of gene pools».

### **Генетическое разнообразие и популяционная структура вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. острова Валаам**

Федоренко О.М., Зарецкая М.В.

*Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия*

*Arabidopsis thaliana* (L.) – один из наиболее изученных объектов генетики растений. Однако экспериментальные исследования проводятся в основном на лабораторных гомозиготных линиях. Изучение природных популяций этого модельного вида имеет важное значение для использования богатства и уникальности их генетического разнообразия в последующих экспериментах с участием *A. thaliana* при решении различных конкретных задач.

Анализ генетического разнообразия и популяционной структуры *A. thaliana* острова Валаам предпринято с целью выявления молекулярно-генетических механизмов и микроэволюционных процессов в условиях изоляции вида на острове, представляющего северную периферию его ареала. Оценена вариабельность 95 RAPD-локусов растений из 4-х локальных мест произрастания их на острове. Выявлен повышенный уровень генетического разнообразия изученных групп растений (средние значения  $P_{95\%}=29,2\%$  и  $H_E=0,092$ ) по сравнению с другими самоопылителями. Однако генетическая изменчивость *A. thaliana* Валаама оказалась ниже по сравнению с континентальными популяциями арабидопсиса Карелии, проанализированными нами ранее. Предполагается, что это связано с расположением острова в более южных широтах и более мягким климатом его, а также может зависеть от низкой интенсивности миграционного потока генов с материка из-за изолированного положения вида на острове. Выявлен высокий уровень генетического сходства по Нею изученных групп растений (среднее  $I_N=0,949$ ). С помощью статистик генного разнообразия Нея установлено, что на межгрупповую изменчивость ( $G_{ST}$ ) приходится 39,0% общего генного разнообразия, что невелико для инбредных видов. Полученные данные позволяют предположить, что вид *A. thaliana* представлен на Валааме единой подразделенной популяцией, в которой отдельные субпопуляции связаны между собой миграционными взаимодействиями. Такая популяционная структура противодействует инбридингу, присутствующему в природных популяциях ограниченной численности, и способствует сохранению генетического разнообразия, которое является основой адаптации и выживания популяций.

### **Genetic diversity and population structure of the species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. of the island of Valaam**

Fedorenko O.M., Zaretskaya M.V.

*Institute of Biology of KarRC RAS, Petrozavodsk, Russia*

*Arabidopsis thaliana* (L.) – one of the most studied objects of plant genetics. However experimental studies are carried out generally on laboratory homozygous lines. Study of *A. thaliana* natural populations is important as the abundance and uniqueness of their genetic variety can be used in the subsequent experiments with this model species for the solution of various problems. The genetic diversity and population structure of *Arabidopsis thaliana* on Valaam Island was

investigated. The purpose of the study was to detect the molecular genetic mechanisms and microevolutionary processes in insulate populations of *A. thaliana* on an island lying in the northern periphery of the species range. The variability at 95 RAPD-loci was evaluated in *A. thaliana* from four localities on the island. A higher level of genetic diversity was revealed (average value  $P_{99\%}=29.2\%$ ;  $H_E=0.092$ ) in comparison with other self-pollinators. The genetic variability of *A. thaliana* on Valaam was however lower than in previously investigated mainland populations of *Arabidopsis* in Karelia. This fact is supposedly due to the island's southerner location and milder climate, and may also depend on the low rate of gene flow from the mainland because of the species' isolation on the island. The level of Nei's genetic similarity of the studied groups of plants was high (average  $I_N=0.949$ ). Nei's gene diversity statistics showed that 39.0 % of the total gene diversity was explained by between-group variability ( $G_{ST}$ ), which is quite low for inbred species. The findings allow to suggest that species *A. thaliana* in Valaam is one whole subdivided population and each subpopulation are connected with others by migratory interactions. Such population structure counteracts inbreeding which is presented at the isolated populations with limited size and promotes preservation of genetic diversity which is a basis of adaptation and survival of populations.

### Особенности генетической структуры популяций аллотетраплоидных видов рода *Dactylorhiza* на территории России и Республики Беларусь по данным изоферментного анализа

Филиппов Е.Г.<sup>1</sup>, Андропова Е.В.<sup>2</sup>, Козлова О.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ботанический сад УрО РАН, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Центральный ботанический сад Национальной Академии Наук Беларуси, Минск, Беларусь

Род *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski (Orchidaceae) является одним из наиболее многочисленных родов умеренной зоны. Для представителей характерна высокая изменчивость морфологических признаков, часто можно обнаружить межвидовые гибриды. В роде имеется группа гибридных таксонов, стабилизированных полиплоидизацией генома. Аллотетраплоидные виды в основном произошли при гибридизации *D. fuchsii* (Druce) Soó и *D. incarnata* (L.) Soó и имеют тетраплоидный уровень:  $2n=80$ . В России и Беларуси имеется 4 вида с европейским происхождением: *D. majalis* (Rchb.) P.F.Hunt & Summerh, *D. longifolia* (L.Neum.) Aver. (= *D. baltica* (Klinge) Orlova), *D. traunsteineri* (Saut.) Soó и *D. russowii* (Klinge) Holub. Недавно был описан новый вид сибирского происхождения *D. sibirica* Efimov. В Республике Беларусь также было найдено несколько популяций гибридов с неопределенным систематическим статусом. Материал для изучения был собран из 36 популяций аллотетраплоидных и гибридных таксонов. Изоферментный анализ был проведен для 540 растений. Материалом служили свежие листья. В анализе учитывалось 8 генных локусов: *Pgi*, *NADhd*, *Skdh*, *Gdh*, *Pgm*, *Dia*, *Adh* и *Idh*.

Определены частоты встречаемости аллелей в изученных выборках. Родительские виды – *D. fuchsii* и *D. incarnata* различаются по дифференцирующим аллелям локусов *Pgi*, *Skdh*, *Pgm*, *Dia* и *NADhd*. Изоферментный анализ четко показывает гибридное происхождение и наличие обоих геномов родительских видов в изученных выборках. Изучаемые виды произошли в результате гибридизации *D. fuchsii* и *D. incarnata* с последующей стабилизацией генома. Выявлены отличительные особенности аллельной структуры для разных видов. Высокая степень мономорфности генома среди выборок одного вида свидетельствуют об их происхождении от единичных особей. Кластерный анализ на основании генетических дистанций Nei (1978) разделит изучаемые выборки на группы соответствующие отдельным видам. Наиболее тесную группу формируют популяции сибирского аллотетраплоида *D. sibirica*, возникшего в результате гибридизации сибирских растений *D. incarnata* и *D. fuchsii*. У него присутствует аллель *D. incarnata*, характерный для



восточной части ареала этого вида. Популяции *D. baltica* - более широко распространенного вида, также группируется в единый кластер, хотя отдельные выборки попали в одну группу с *D. traunsteineri* и выборками особей неопределенного таксономического статуса из Беларуси. Популяции *D. russowii* из Уральского региона, который считается близким к *D. traunsteineri*, образовали одну группу с *D. majalis*.

### Special features of the genetic structure population of *Dactylorhiza* allotetraploid species from Russia by allozyme analysis data

Philippov E.G.<sup>1</sup>, Andronova E.V.<sup>2</sup>, Kazlova V.N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Botanical garden of UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

<sup>2</sup>Komarov Botanical Institute RAS, Saint-Petersburg, Russia

<sup>3</sup>Central Botanical Garden NAS of Belarus, Minsk, Belarus

The Genus *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski (Orchidaceae) is one of the most numerous genera of the temperate zone. Individuals are characterized by a high variability of morphological signs and frequently it is possible to reveal interspecies hybrids. In the genus there is a group of hybrid taxa, stabilized by polyploidization of the genome. Allotetraploid species mainly occurred during hybridization of *D. fuchsii* (Druce) Soó and *D. incarnata* (L.) Soó and they have  $2n=80$ . In Russia and Belarus there are 4 species of European origin: *D. majalis* (Rchb.) P. F. Hunt & Summerh, *D. longifolia* (L. Neum.) Aver. (= *D. baltica* (Klinge) Orlova), *D. traunsteineri* (Saut.) Soó and *D. russowii* (Klinge) Holub. It was recently described a new species of Siberian origin *D. sibirica* Efimov. Some hybrid populations with uncertain taxonomic status were reveal in the Republic of Belarus.

The material for study was collected from 36 populations of different species which belong to allotetraploids. Isozyme analysis was conducted for 540 plants. The samples were taken from fresh leaves. The analysis took into account the 8 gene loci: *Pgi*, *Nadh*, *Skdh*, *Gdh*, *Pgm*, *Dia*, *Adh*, and *Idh*. The frequencies of the occurrence of alleles in the studied samples are determined. Parental species *D. fuchsii* and *D. incarnata* was varied in the alleles of the loci *Pgi*, *Skdh*, *Pgm*, *Dia* and *NADhd*. Isozyme analysis clearly shows a hybrid origin and the availability of both genomes of parental species in the studied samples. The studied species resulted from hybridization of *D. fuchsii* and *D. incarnata*, with subsequent stabilization of the genome. The distinctive special features of allelic structure for the different species are revealed. The high degree of monomorphism of the genome among samples of the same species indicate that their origin from a single individuals. The cluster analysis on the basis of genetic distances Nei (1978) divided the studied samples into the groups those corresponding to separate species. The closest group forms the populations of Siberian allotetraploid *D. sibirica*, arisen as a result of the hybridization of the Siberian plants *D. incarnata* and *D. fuchsii*. The allele, characteristic for the eastern part of the area *D. incarnata*, is present in this species. Populations of *D. baltica* - is more widespread species; it is grouped into the united cluster also, although a same separate samples were combined with *D. traunsteineri* and with the samples of indeterminate taxonomic status from Belarus'. Populations of *D. russowii* from Ural region, which are considered to be close to *D. traunsteineri*, were combined in one group with *D. majalis*.

## Характеристика аллелофонда северного оленя (*Rangifer tarandus* L., 1758) на основе данных микросателлитного анализа

Харзинова В.Р.<sup>1</sup>, Соловьева А.Д.<sup>1</sup>, Денискова Т.Е.<sup>1</sup>, Крамаренко А.С.<sup>2</sup>, Лайшев К.А.<sup>3</sup>,  
Охлопков И.М.<sup>4</sup>, Зиновьева Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский институт животноводства им. Л.К.Эрнста,  
Дубровицы, Московская обл., Россия

<sup>2</sup>Николаевский национальный аграрный университет, Николаев, Украина

<sup>3</sup>Северо-Западный центр междисциплинарных исследований проблем продовольственного обеспечения, Россия

<sup>4</sup>Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

Одной из задач государственного биомониторинга в Российской Федерации является своевременное выявление изменений, происходящих в популяциях охотничьих животных. Дикий северный олень (*Rangifer tarandus* L., 1758) – один из важнейших охотничьих видов копытных страны, составляющий основу экономического дохода коренных народов Крайнего Севера. В настоящее время на территории России обитают крупнейшие в Евразии таймырская и якутская популяции диких северных оленей, изучение биоразнообразия которых является актуальным. Широкое применение для изучения аллелофонда и решения вопросов популяционной и эволюционной генетики диких и сельскохозяйственных животных, получили микросателлиты ДНК (STR-локусы). Таким образом, целью нашего исследования стал анализ аллелофонда и степени генетической дифференциации популяций дикого северного оленя на основе полиморфизма STR-локусов. В качестве биологического материала для исследований использовались образцы ткани таймырской (ТАИ,  $n=57$ ) и якутской (YAK,  $n=40$ ) популяций северного оленя, отобранные в различных географических регионах Таймырского Автономного округа и Якутии. Полиморфизм 14 STR-локусов определяли на основании авторских методик с использованием ДНК-анализатора ABI 3130xl. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения GenAIEx v.6.5.1 и STRUCTURE v.2.3.1. Олени популяции YAK характеризовались большими значениями среднего числа аллелей, числа эффективных и частных аллелей ( $N_A=10,89\pm 0,99$ ,  $N_E=5,66\pm 0,59$ ,  $P_R=3,11\pm 0,63$ ), в сравнении с оленями популяции ТАИ ( $N_A=9,78\pm 0,76$ ,  $N_E=5,55\pm 0,62$ ,  $P_R=2,00\pm 0,24$ ). Вместе с тем, таймырская популяция превосходила якутскую в отношении числа информативных аллелей ( $6,22\pm 0,49$  против  $6,11\pm 0,42$ , соответственно). Уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_O$ ) составил  $0,628\pm 0,058$  для особей из популяции ТАИ и  $0,669\pm 0,047$  для особей из популяции YAK, а ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) –  $0,797\pm 0,026$  и  $0,806\pm 0,022$ , соответственно. Обе популяции характеризуется смещением генетического равновесия в сторону дефицита гетерозиготности, о чем свидетельствуют позитивные оценки коэффициента инбридинга ( $F_{is_{ТАИ}}=0,218$  и  $F_{is_{YAK}}=0,193$ ). При проведении кластерного анализа, четкой дифференциации исследуемых популяций выявлено не было. В данной работе, на основе анализа микросателлитов, дана характеристика аллелофонда и генетической структуры популяций дикого северного оленя и показано, что олени якутской популяции характеризуются более высоким уровнем генетического разнообразия. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 16-16-10068.

## Characteristic of allele pool of reindeer (*Rangifer tarandus* L., 1758) based on microsatellite analysis

Kharzinova V.R.<sup>1</sup>, Solovieva A.D.<sup>1</sup>, Deniskova T.E.<sup>1</sup>, Kramarenko A.S.<sup>2</sup>, Layshev K.A.<sup>3</sup>,  
Okhlopkov I.M.<sup>4</sup>, Zinovieva N.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>L. K. Ernst Institute of Animal Husbandry, Podolsk, Dubrovitzы-60, Moscow region, Russia

<sup>2</sup>Mykolaiv National Agrarian University, Mykolaiv, Ukraine

<sup>3</sup>Northwest Center for Interdisciplinary Research on Food Supply Problems, Russia

<sup>4</sup>Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia

The main task of the biological monitoring in the Russian Federation is the duly detection of changes in the populations of game animals. Wild reindeer (*Rangifer tarandus* L., 1758) is one of the most important hunting ungulate species of the country and provides an economic income for the indigenous peoples of the Far North. Currently, the Eurasian largest Yakut and Taimyr populations of wild reindeer inhabit the territory of Russia. Because of that the biodiversity studies is of great importance for both populations. Microsatellites (STR-loci) is widely used for allele pool studying and for addressing issues of population and evolutionary genetics of wild and farm animals. Thus, the aim of our study was to analyze allele pool and degree of genetic differentiation of wild reindeer populations based on polymorphism of STR-loci. Biological materials for the research were tissue samples including Taimyr (TAI, n = 57) and Yakut (YAK, n = 40) reindeer populations, collected in different geographical regions of the Taimyr Autonomous Region and Yakutia. We determined polymorphism of 14 STR loci based on the author's methods with using a DNA analyzer ABI 3130xl. Statistical processing of the data was performed in GenAIEx v.6.5.1 and in STRUCTURE v.2.3.1 software. The YAK population was characterized by greater number of average, effective and private alleles ( $N_A=10,89\pm 0,99$ ,  $N_E=5,66\pm 0,59$ ,  $P_R=3,11\pm 0,63$ ), compared with the TAI population ( $N_A=9,78\pm 0,76$ ,  $N_E=5,55\pm 0,62$ ,  $P_R=2,00\pm 0,24$ ). However, Taimyr population exceeded Yakut regarding the number of informative alleles ( $6,22\pm 0,49$  vs.  $6,11\pm 0,42$ , respectively). The level of observed heterozygosity ( $H_O$ ) was  $0,628 \pm 0,058$  for individuals from the TAI population and  $0,669\pm 0,047$  for individuals from the YAK population, and expected heterozygosity ( $H_E$ ) was  $0,797\pm 0,026$  and  $0,806\pm 0,022$ , respectively. We found that both populations deviated from genetic equilibrium for heterozygosity deficit, what was confirmed by the positive values of an inbreeding coefficient ( $F_{IS}TAI=0,218$  and  $F_{IS}YAK=0,193$ ). Cluster analysis did not identify a clear differentiation of the studied populations. In this paper, based on analysis of microsatellites, we characterized allele pool and genetic structure of wild reindeer populations and detected that the deer of the Yakut population showed higher level of genetic diversity that animals of the Taimyr population. The work was supported by the Russian Science Foundation, the project № 16-16-10068.

### Филогеография и генетическое разнообразие копытных лесных и открытых ландшафтов

Холодова М.В., Баранова А.И.

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Москва, Россия*

На примере двух систематически близких широкоареальных видов копытных – лося (*Alces alces*) и северного оленя (*Rangifer tarandus*), рассматриваются особенности формирования филогеографической структуры и характера распределения генетического разнообразия по ареалу у копытных, адаптированных преимущественно к обитанию в лесных или открытых ландшафтах. Данные анализировали в свете оценки влияния глобальных перестроек климата, ландшафтов и экосистем в период плейстоцена-голоцена на изменение численности животных, структуры их ареала, образование рефугиумов, а также процессов колонизации и реколонизации различных регионов Евразии. Основной маркер –

гипервариабельный фрагмент контрольного региона – наиболее изменчивый участок мтДНК. Дополнительно привлекались данные по полиморфизму микросателлитных локусов и аллелей консервативного гена прионного белка (PRNP). В филогеографической структуре лося четко выделяются три основные гаплогруппы: европейская, восточно-сибирская и американская. Европейская гаплогруппа включала 4 подгруппы: центрально-европейскую, скандинавскую, уральскую и западносибирскую. Присутствие достаточно четко обособленных гаплогрупп мтДНК свидетельствует о существовании на ареале лося в холодные периоды плейстоцена, особенно в последний ледниковый максимум, нескольких рефугиумов. Эти данные в целом согласуются с изменениями площади лесов в Евразии в плейстоцене-голоцене. Присутствие в современных популяциях лося Западной и Восточной Сибири гаплотипов всех трех основных гаплогрупп отражает процессы колонизации и реколонизации разных частей ареала по мере восстановления лесных экосистем. Для отдельных гаплогрупп и ряда региональных популяций лося отмечены низкие показатели генетического разнообразия. Противоположная картина наблюдалась у дикого северного оленя: практически неструктурированный филогеографический паттерн, сравнительно высокий уровень генетического разнообразия, отмеченный даже для малочисленных в настоящее время группировок. Все это указывает на процветание вида в холодные периоды плейстоцена, характеризующиеся широкими пространствами открытых ландшафтов, занятых пригодными для обитания вида экосистемами. Интересно, что данные по распространению аллелей консервативного ядерного гена прионного белка (PRNP) по ареалу лося и северного оленя также сходны с филогеографической структурой мтДНК: у лося – низкий полиморфизм и четкое разделение между западной и восточной частью ареала, у северного оленя – высокий полиморфизм и отсутствие региональных различий в распределении аллелей. Предполагается, что современные климатические условия, осложненные антропогенным воздействием, в будущем могут привести к фрагментации ареала и снижению численности отдельных региональных группировок дикого северного оленя, способствуя их генетическому обособлению. Этот процесс косвенно подтверждается разделением региональных группировок дикого северного оленя на отдельные кластеры по данным анализа полиморфизма микросателлитных локусов. Используемые дополнительно данные по генетике сайгака (*Saiga tatarica*), являющегося наряду с северным оленем представителем плейстоценовой "мамонтной фауны", показало высокое сходство между филогеографическими структурами этих обитателей открытых ландшафтов. Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» и гранта РФФИ № 17-04-01351.

### **Phylogeography and genetic diversity of ungulates of forest and open landscapes**

Kholodova M.V., Baranova A.I.

*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia*

The specificity of the formation of a phylogeographic structure and the distribution of genetic diversity across the range in ungulate, predominantly of forest or open landscapes is considered using two species that are systematically close, having wide ranges: moose (*Alces alces*) and reindeer (*Rangifer tarandus*). The data were analyzed in the light of the assessment of the impact of global rearrangements of climate, landscapes and ecosystems during the Pleistocene-Holocene on the change in the population number, the structure of their ranges, the formation of refugia, and the processes of colonization and recolonization of different regions of Eurasia. The main marker was the hypervariable fragment of the control region - the most variable region of mtDNA. Additionally, data on the polymorphism of microsatellite loci and alleles of the conserved prion protein gene (PRNP) were used. Three main haplogroups were clearly visible in the phylogeographical structure of the moose: European, East Siberian and American. The European haplogroup included 4 subgroups: Central European, Scandinavian, Ural and West Siberian. The

presence of sufficiently isolated mtDNA haplogroups indicates the existence of several refugia across the moose range during the cold stages of the Pleistocene, especially in the last glacial maximum. These data are generally consistent with changes in forest area in Eurasia in the Pleistocene-Holocene. The presence in the modern moose populations in Western and Eastern Siberia haplotypes of all three major haplogroups reflects the processes of colonization and recolonization of different parts of the range that occurred as forest ecosystems recovered. For individual haplogroups and a number of regional moose populations, low rates of genetic diversity were noted. A completely opposite picture was observed in wild reindeer: an almost unstructured phylogeographical pattern, a comparatively high level of genetic diversity, found even in today's small populations. All this indicates the prosperity of the species during the cold periods of the Pleistocene, characterized by wide spaces of open landscapes with suitable ecosystems. Interestingly, the data on the distribution of alleles of the conserved nuclear gene PRNP in the range of moose and reindeer are rather similar to the phylogeographic structure of mtDNA: in moose - the low polymorphism and clear division between the western and eastern parts of the range, in reindeer - high polymorphism and absence of regional differences in the distribution of alleles. It is assumed that modern climatic conditions, complicated by anthropogenic impact, can lead to the future fragmentation of the range and decrease in the number of some regional populations of wild reindeer, contributing to their genetic isolation. This process is indirectly confirmed by the division of regional groups of wild reindeer into separate clusters based on the analysis of polymorphism of microsatellite loci. Additional genetic data on the Saiga antelope (*Saiga tatarica*), which along with the reindeer was one of the representatives of the Pleistocene "mammoth fauna", showed a high similarity of phylogeographic structures between these two ungulates of open landscapes. This work was supported by the Program of Fundamental Research of the Presidium of the RAS "Biodiversity of Natural Systems" and the RFBR grant No. 17-04-01351.

#### **Генетическая структура нерки *Oncorhynchus nerka* Камчатки, Чукотки и материкового побережья Охотского моря по данным анализа изменчивости локусов ОНП**

Хрусталева А.М.

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии,  
Москва, Россия*

Проанализированы данные по изменчивости 45 локусов ОНП в 17 выборках из 10 крупнейших водоемов воспроизводства нерки на азиатском побережье Тихого океана. Общая картина генетической неоднородности нерки на рассматриваемой части ареала хорошо согласуется с пространственно-географической структурой данного вида, в частности выборки формируют северную и южную группы. Кроме того, популяции, приуроченные к водоемам, расположенным на субпериферии ареала, Чукотка, Охотский район, а также р. Палана, значительно дифференцированы от так называемых популяционных ядер данного вида – крупнейших популяционных комплексов азиатского побережья, рек Озерная и Камчатка, и группировки многочисленных второстепенных стад озерно-речных систем Корякского нагорья. С помощью кластеризации в программе STRUCTURE 2.3.4 были идентифицированы пять групп популяций, среди которых самостоятельно дифференцируются выборки из рек Палана и Охота, а также группы популяций Юго-Западной Камчатки, Северо-Восточной Камчатки и Чукотки и бассейна р. Камчатка. Характер кластеризации выборок хорошо коррелирует с результатами иерархического анализа молекулярной изменчивости (AMOVA).

Обсуждаются возможные причины высокой дивергенции паланской и охотской популяций с привлечением собственных данных по нейтральным маркерам (микросателлитные локусы, мтДНК). Вероятно, высокая степень дивергенции нерки рек Палана и Охота обусловлена обоюдным вкладом адаптивных (локальный отбор) и

демографических (дрейф генов, снижение эффективной численности) процессов, имевших место в данных популяциях.

### **Genetic structure of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* of Kamchatka, Chukotka and continental coast of the Sea of Okhotsk inferred from the SNP analysis data**

Khrustaleva A.M.

*Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Variability of 45 SNP loci in 17 samples from 10 major sockeye salmon spawning watersheds in Asian coast of the Pacific Ocean was examined. The general pattern of genetic heterogeneity of sockeye salmon is well corresponded to spatial-geographic structure of the species. In particular all samples can be divided into south and north groups. In addition populations from subperipheral watersheds (Chukotka, Okhota region, Palana River) are much differentiated from so called nuclear populations (i.e. major population complexes of the Asian coast) of the Ozernaja River, Kamchatka River, and a group of numerical secondary stocks of lake-river systems of the Karjak upland. By clusterization in STRUCTURE 2.3.4 five population groups were identified. Among them samples from the Palana River and the Okhota River, as well as South-West Kamchatka group, and North-East Kamchatka and Chukotka group, and the Kamchatka River watershed group were separated. The clusterization character was well conformed with AMOVA results.

Possible causes of high divergence of the Palana and Okhota River populations are discussed with inclusion of own neutral markers data (microsatellite loci, mtDNA). Probably, the high divergence of the Palana and Okhota River sockeye salmon is caused by both impact of adaptive (local selection) and demographic (gene drift, effective number decrease) processes occurred in these populations.

### **Исследование применения методов количественной оценки внутривидового разнообразия**

Царев А.П.

*Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии, Воронеж, Россия*

При изучении межвидового и внутривидового разнообразия у древесных видов растений до настоящего времени используются фенотипические признаки. При этом, по исследованиям А.И. Ирошникова (1996) потомств популяций в географических культурах, как правило, фиксируется 20-30 процентный и более уровень межвидовой генетической изменчивости. Наряду с этим в последние десятилетия разными исследователями проводится изучение популяций различными методами генетического анализа (изоферментного, молекулярного и др.). К сожалению, результаты, получаемые различными методами анализа, не всегда совпадают, что затрудняет выбор их практического использования. В связи с этим представляется, что для получения более полных и объективных результатов необходимы были бы параллельные исследования генотипическими и фенотипическими методами, что обеспечивало бы, кстати, и взаимный контроль результатов. Особенно такие подходы полезны при изучении количественных признаков растений.

Для оценки внутривидового разнообразия лесных древесных растений используется целый ряд количественных фенотипических признаков. Их можно разбить на разные группы:

- признаки, оцениваемые при лесоустройстве (высота, диаметр, объем ствола, запас, товарность и др.);

- морфологические признаки (ширина, плотность и архитектура крон, угол прикрепления сучьев и их толщина, длина и цвет хвои, окраска цветков и стробиллов, характеристика, шишек и семян и др.);
- фенологические признаки (время начала и конца вегетации, продолжительность периода осыпания, созревание плодов и семян и др.);
- специфические биологические признаки (плотность древесины, таннидность, смолистость, содержание тех или иных веществ и др.);
- экологические признаки (светолюбие, теневыносливость, засухоустойчивость, зимостойкость и др.).

Для изучения варьирования признаков, разбиения на группы или кластеры, оценки внутри- и межпопуляционного разнообразия видов могут быть использованы некоторые методы математического анализа. К ним можно отнести таксономический анализ Хельвига, кластерный и изотропный анализы, координатный метод комплексной оценки (М.Н. Егоров, 1997). Кроме того, для оценки разнообразия могут быть использованы показатели популяционной изменчивости по полиморфным признакам (Л.А. Животовский, 1979, 1980).

В исследованиях зарубежных специалистов для изучения особенностей проявления тех или иных закономерностей используются и некоторые методы, которые нашли применение при оценке разнообразия экосистем. Среди них известны индекс К. Шеннона и показатель энтропии – *H*, индекс Симпсона – *D* и др. (Shannon-index, 2017; Современная иллюстрированная энциклопедия: Математика..., 2007; Т. Standovar, 1996 и др.). В представленном исследовании использованы информационная мера К. Шеннона и показатель Л.А. Животовского для оценки внутривидового разнообразия сосны обыкновенной в средней тайге Республики Карелия.

### **The study of intra-population diversity by quantitative assessment methods**

Tsarev A.P.

*All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russia*

To study interpopulation and intrapopulation diversity in woody plant species up to the present time are used phenotypic traits. These researches are shown big level of signs variability. Thus, according to the research of population's progenies of geographical provenances it is usually fixed about 20-30% or higher level of interpopulation genetic variation (A. I. Iroshnikov, 1996). In addition, in recent decades, different researchers conducted the populations study by various methods of genetic analysis (isozyme, molecular, etc.). Unfortunately, the results obtained by different methods of analysis do not always coincide, making it difficult to choose their practical use. In this regard, it appears that to obtain a more complete and objective results would be needed parallel studies of genotypic and phenotypic methods, which would, by the way, and the mutual control of the results. Such approaches are particularly useful by the study of quantitative traits in plants.

To assess intraspecific diversity of forest woody plants used a variety of phenotypic characteristics. They can be divided into different groups:

- Signs that are measured in the forest inventory (height, diameter, stem volume, stock volume, marketability, etc.)
- Morphological features (width, density and architectonics of the crowns, the angle of the branch attachment and branch thickness, length and color of the needles, the color of flowers and strobiles, feature of cones and seeds, etc.)
- Phenological characteristics (start and end of the vegetation season, the duration of the growth period, the maturation of fruits and seeds, etc.)
- Specific biological traits (wood density, tannin content, resinous, content of certain substances, etc.)

- Environmental characteristics (light-demanding, shade tolerance, drought tolerance, winter hardiness, etc.).

To study the variation of characteristics, splitting into groups or clusters, evaluating intra- and interpopulation diversity of species can be used some methods of mathematical analysis. These include taxonomic analysis Helwig, cluster and isotropic analyses, coordinate method for comprehensive assessment (M.N. Egorov, 1997). In addition to diversity assessments can be used indicators of population variability for polymorphic characteristics (L.A. Zhivotovsky, 1979, 1980). In researches of foreign specialists to study the manifestation of those or other peculiarities there are used and some methods that have found application in the assessment of ecosystems diversity: C. Shannon index and a measure of entropy –  $H$ , Simpson index -  $D$ , a. o. (Shannon-index, 2017; Modern illustrated encyclopedia - Mathematics..., 2007; T. Standovar et al., 1996). In the present study used the Shannon and Zhivotovsky indexes for assessment of Scots pine intrapopulation diversity in middle taiga of Karelia.

### Анализ внутривидовой изменчивости сортов ржи

Цветкова Н.В.<sup>1,2</sup>, Тихенко Н.Д.<sup>1</sup>, Войлоков А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Филиал Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Свободноопыляемые сорта культурной ржи близки к панмиктическим популяциям, благодаря действию жёсткой гаметофитной системы несовместимости. Самонесовместимость способствует поддержанию полиморфизма по нейтральным и селектируемым признакам, а также ведёт к распространению спонтанных рецессивных мутаций. Сорта ржи фенотипически однородны, однако им свойственен аллозимный полиморфизм. Исследованы семь сортов ржи, районированных в разных эколого-географических зонах бывшего СССР. Для трёх изозимных локусов  $\beta$ -*Glu*, *Sod2* и *Aat3* выявлен диаллельный полиморфизм. Для локусов *AadhNADP* и *Px7* выявлено три и пять аллелей соответственно. Как правило, у всех сортов в каждом локусе преобладает один и тот же аллель. Для диаллельных локусов соблюдается соотношение генотипов, соответствующее равновесию Харди-Вайнберга. Неожиданным явился недостаток гетерозигот по локусу *AadhNADP*, обнаруженный у трёх из семи сортов (Чулпан, Таловская 15, Вамбо) и по локусу *Px7*, обнаруженный у сорта Волхова. Вероятно, что причину отклонений следует искать, исходя из установленного сцепления этих локусов с локусами, контролирующими реакцию самонесовместимости – *T* и *S* соответственно. Типичным свойством аллогамных видов является мутационный груз. Для вскрытия гетерозиготности растений ржи по спонтанным мутациям используются самосовместимые (автофертильные) мутанты (Смирнов, Соснихина, 1984). Гибриды самонесовместимых растений с такими мутантами также автофертильны. В потомстве от самоопыления сорто-линейных гибридов легко выявить расщепление по рецессивным мутациям, находящимся в гетерозиготном состоянии у исходного растения популяции. Использование этого подхода показало, что сорт Вятка, как и образец сорно-полевой ржи, в одинаковой степени насыщены рецессивными мутациями, затрагивающими всё разнообразие визуально регистрируемых признаков - от летальности до стерильности. В среднем каждое растение изученных популяций несёт более двух рецессивных мутаций с морфологическим проявлением. Выявленное разнообразие позволило идентифицировать гены, затрагивающие синтез воска, антоциана и хлорофилла в отдельных частях растения, длину и ломкость стебля, строение колоса и его частей, включая отсутствие или стерильность тычинок. Другой подход использовали для вскрытия изменчивости генов ржи, со специфическим проявлением на генотипическом фоне мягкой пшеницы сорта Chinese spring. Такие гены обнаружены в межвидовых скрещиваниях у многих растений и животных, их негативное взаимодействие ведёт к летальности или стерильности межвидовых гибридов.



Подход заключался в скрещивании набора из 100 инбредных линий ржи с пшеницей Chinese spring и анализе пшенично-ржаных гибридов. Отсутствие родства или дальнее родство линий обеспечивало генотипическое разнообразие. Гомозиготность линий ржи обуславливала единообразие гибридов по анализируемым признакам. В ходе этой работы были идентифицированы пять линий ржи, дающие при скрещивании с пшеницей невсхожие семена и две линии, гибриды которых с пшеницей характеризуются остановкой развития в стадии трёх листьев и гибнут, не переходя к кущению. Гибридологический анализ позволил установить аллелизм мутаций эмбриональной летальности у пяти линий и проростковой летальности у двух линий ржи. Установленные гены не аллельны, но сцеплены. Они картированы в хромосоме 6R вблизи точки разрыва эволюционной транслокации. Наш опыт говорит о высоком уровне изменчивости генома культурной ржи, сохраняемом благодаря существованию ржи в ходе её эволюции, окультуривания и научной селекции в виде взаимообогащающих, открытоопыляемых популяций. Работа поддержана программой Президиума РАН ” Биоразнообразии природных систем”, Грантом Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-9513.2016.4.

### **Analysis of intra-population variability in rye varieties**

Tsvetkova N.V.<sup>1,2</sup>, Tikhenko N.D.<sup>1</sup>, Voylovkov A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Saint Petersburg Branch of the Vavilov Institute of General Genetics RAS,  
Saint Petersburg, Russia*

<sup>2</sup>*Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*

Open-pollinated rye varieties are close to panmictic populations, thanks to the action of a rigid system of gametophyte incompatibility. Self-incompatibility helps to maintain polymorphism for neutral and selected traits and leads to the abundance of spontaneous recessive mutations in rye varieties. Rye varieties are phenotypically homogeneous, but they exhibit allozyme polymorphism. Seven rye varieties, produced for different eco-geographical zones of the former USSR, were studied. For three isozyme loci  *$\beta$ -Glu*, *Sod2* and *Aat3* diallelic polymorphism was identified in all varieties. For loci *AadhNADP* and *Px7* three and five alleles were revealed, respectively. As a rule, in all varieties at each locus the same allele is prevalent. For diallelic loci observed ratio of genotypes corresponds to Hardy-Weinberg equilibrium. Unexpected deficit of heterozygotes for locus *AadhNADP*, detected in three of the seven varieties (Chulpan, Talovskaya 15, Vambo) and for locus *Px7*, found in a variety of Volkhova, was observed. It is likely that the cause of the deviations may be associated with the linkage of these loci to loci controlling self-incompatibility reaction - *T* and *S*, respectively. Typical property of allogamous species is mutational load. For the detection of heterozygosity in rye plants for spontaneous mutations self-compatible (self-fertile) mutants are used (Smirnov, Sosnikhina, 1984). Hybrids of self-incompatible plants from population with such mutants are also self-fertile. In inbred progeny of hybrids segregation for recessive mutations is easily observed for plants heterozygous for this mutation. This approach showed that the Vyatka variety, as well as weedy rye is equally saturated with recessive mutations, affecting the diversity of visually recorded traits - from the lethality to sterility. On average, each plant of studied population carries more than two recessive mutations having morphological expression. The observed diversity allowed the identification of genes that affect the synthesis of wax, anthocyanin and chlorophyll in different parts of plants, stem length and brittleness, structure of ear and its parts, including the lack or sterility of stamens. Another approach was used for the discovery of rye genes with specific expression on the genotype background of soft wheat variety Chinese spring. Such genes are found in interspecific crosses of many plants and animals, their negative interaction leads to lethality or sterility of distant hybrids. The approach consisted of crosses of 100 inbred lines of rye with wheat Chinese spring and analysis of wheat-rye hybrids. The lack of relationship or distant lines relationship provided genotypic diversity. Homozygosity of rye lines determines the uniformity of hybrids for analyzed traits. In the course of this work five lines of rye have been identified,

producing ungerminating seeds in crosses with wheat and two lines, hybrids of which with wheat are characterized by arrest of the development at the stage of three leaves and die without transition to tillering. Segregation analysis revealed allelism for mutations of embryo lethality in four lines and seedling lethality in two lines of rye. Identified genes are not allelic, but linked. They were mapped in 6R chromosome close to breakpoint of evolutionary translocation. Our experience indicates a high level of variability of the rye genome, which was preserved thanks to the rye existence in the course of its evolution, domestication and breeding as mutually enriching, open-pollinating populations.

This work was supported by a program of the Presidium of RAS "Biodiversity of nature systems", a Grant of The President of RF for supporting of Leading scientific schools NSH-9513.2016.4.

### **Молекулярно-генетическая идентификация таксонов различного уровня в отряде Парнокопытные при исследовании следов с мест незаконной охоты**

Цыбовский И.С., Котова С.А., Рыбакова В.И., Рябцева А.О., Недзвецкая Д.Э., Спивак Е.А.  
Государственное учреждение «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Беларусь

Возможность решения вопроса о происхождении биологического материала от конкретного вида животного (рода, семейства, подотряда и т.п.) важна в экспертно-криминалистической практике, особенно в расследовании преступлений экологического и природоохранного характера. Наиболее распространенным преступлением такого рода является незаконная охота (браконьерство). Судебно-экспертное исследование биологических следов с мест незаконной охоты в своем большинстве проводится в отношении объектов, не имеющих выраженных морфологических или физиологических характеристик (пятна крови, смывы с инструментов, фрагменты мышечной ткани и т.п.). Детальная информация для конкретизации объекта может быть получена только молекулярно-генетическим исследованием особенностей ДНК-маркеров.

Основными объектами незаконной охоты являются филогенетически родственные виды отряда Парнокопытные – лось (*Alces alces*), олень (*Cervus elaphus*), косуля (*Capreolus capreolus*), дикий кабан (*Sus scrofa*). Эффективным подходом к исследованию широкой группа родственных видов, для которых отсутствуют детальные сведения о структуре геномов, является адресная перекрестная амплификация (cross-amplification), базирующаяся на консервативных праймер-связывающих участках, имеющих схожие последовательности среди близкородственных видов.

Перекрестную применимость STR-локусов устанавливали путем проведения ПЦР с использованием праймеров бычьих, оленьих и свиных маркеров для тестирования образцов ДНК следующих видов животных: бык, олень, лось, косуля и кабан. Показано, что четыре бычьих микросателлита (*ETH225*, *TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*), семь оленьих (*T156*, *T530*, *C01*, *T268*, *C273*, *T172*, *T193*) и два маркера северного оленя карибу (*RT9*, *RT24*) успешно амплифицируются у всех представителей подотряда Жвачные и не амплифицируются у представителей подотряда Нежвачные. Свиные микросателлиты, наоборот, успешно амплифицируются у представителей подотряда Нежвачные, но не амплифицируются у представителей подотряда Жвачные.

Один бычий STR-маркер (*BM1824*) амплифицируется как у представителей семейства Полорогие, так и у представителей семейства Оленевые, но продукт ПЦР значительно различается по своим аллельным размерам. Идентифицировать принадлежность одному из семейств подотряда Жвачные можно также на основе бычьих STR-маркеров (*BM2113*, *ETH10*, *ETH3*, *TGLA227*, *HEL1*). Эти локусы амплифицируются только у представителей семейства Полорогие и не амплифицируются у видов семейства Оленевые.

На основе переноса праймеров можно выделить STR-локусы, чьи особенности позволяют дифференцировать виды в составе семейства Оленевые и однозначно идентифицировать принадлежность того или иного биологического материала одному из видов. Три бычьих STR-маркера (*TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*) амплифицируются у представителей всех трех видов и при этом имеют размерные диапазоны аллелей, различные у каждого вида. Например, у маркера *TGLA122* фрагмент длиной 134 п.н. свидетельствует о принадлежности лосю, фрагменты с размерами 126-128 п.н. характерны для косули, фрагменты в диапазоне 149-151 п.н. – для оленя. Размеры фрагментов указаны для автоматического ДНК-секвенатора «MegaBACE 750» («Amersham Biosciences», США). Маркер северного оленя *RT24* проявляется у оленя благородного одним фрагментом 185 п.н., у косули также амплифицируется один фрагмент, но размером 192 п.н., у лосей этот маркер полиморфен и характеризуется аллелями с размерным диапазоном 240-266 п.н. (AB3500, Applied Biosystems).

### **Molecular genetic identification of taxa of different levels within the order *Artiodactyla* based on traces from poaching crime scenes**

Tsybovsky I.S., Kotova S.A., Rybakova V.I., Rabcava A.A., Nedzvedskaya D.E., Spivak E.A.  
*Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Examination, Minsk, Belarus*

The ability to link biological material to the species (genus, family, suborder, etc.) it originates from is important in forensic science and especially in investigations of environmental crimes, of which illegal hunting (poaching) is the most common. Forensic investigation of poaching sites typically involves biological specimens (blood stains, fragments of muscle) that do not display clear morphological or physiological characteristics. Detailed information for specimen identification can therefore only be obtained via molecular genetic study of DNA markers.

The main targets of poaching are phylogenetically related species of *Artiodactyla* such as the moose (*Alces alces*), red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*), and wild boar (*Sus scrofa*). In the absence of detailed information on genome structures, an efficient approach to the study of a wide group of closely related species is cross-amplification based on conserved primer-binding regions, which have similar sequences in such species. The cross-applicability of STR loci was determined by PCR using cow, red deer, roe deer, moose, and wild boar DNA samples and primers specific to DNA from the cow, red deer, and pig.

We showed that four bovine microsatellites (*ETH225*, *TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*), seven deer microsatellites (*T156*, *T530*, *C01*, *T268*, *C273*, *T172*, *T193*), and two reindeer microsatellites (*RT9*, *RT24*) can be successfully amplified in all the members of the suborder *Ruminantia* but not in the members of the suborder *Suina* (*Nonruminantia*). Similarly, pig microsatellites are successfully amplified in the members of *Suina* but not *Ruminantia*. Although one cow STR-marker (*BM1824*) is amplified in both the members of the *Bovidae* and *Cervidae* families, the corresponding PCR products differ substantially in allele size. It is also possible to discriminate between the *Ruminantia* families by using bovine STR markers (*BM2113*, *ETH10*, *ETH3*, *TGLA227*, *HEL1*). These loci are only amplified in the members of the *Bovidae* family but not of the *Cervidae* family.

Based on cross-amplification, it is possible to find STR loci whose characteristics allow the differentiation of the species within the *Cervidae* family and unequivocal assignment of biological material to a single species. Three bovine STR-markers (*TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*) are amplified in all the three species but exhibit species-specific allele ranges. For example, for the *TGLA122* marker, fragment lengths of 134, 126-128, and 149-151 bp identify the species as the moose, roe deer, and red deer, respectively. The above fragment sizes are for the automatic DNA sequencer MegaBACE 750 (Amersham Biosciences, USA). While the *RT24* marker of the reindeer produces single fragments of 185 bp and 192 bp, respectively, in the red deer and roe deer, it is

polymorphic in the moose, resulting in allele sizes within 240-266 bp (for the automatic DNA sequencer AB3500, Applied Biosystems).

### **Гибридная зона между хромосомными расами обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus* L.) с кольцевым гексавалентом у гибридов**

Черепанова Е.В.<sup>1</sup>, Кривоногов Д.М.<sup>2</sup>, Щегольков А.В.<sup>2</sup>, Орлов В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Нижегородский государственный университет (Арзамасский филиал)  
им. Н.И. Лобачевского, Арзамас, Россия

Изучение гибридных зон между внутривидовыми кариотипическими формами очень интересно в аспекте проблем микроэволюционных процессов на хромосомном и генном уровне. Обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus* Linnaeus, 1768), благодаря исключительному полиморфизму по Робертсоновским (Rb) транслокациям, представляет собой идеальный объект для исследования хромосомных гибридных зон. Предварительное исследование зоны контакта хромосомных рас Нерусса (Rb транслокации: *go, hi, kr, mn, pq*) и Пенза (*gm, hn, io, kr, pq*) в бассейне реки Цна (Рязанская обл, Шацкий р-н) показало, что раса Нерусса населяет северо-восточный, а раса Пенза – юго-западный берег р. Аза. Межрасовые гибриды – комплексные гетерозиготы *gm/mn/hn/hi/io/go* – были выявлены на юго-западном берегу р. Аза. Эту зону можно классифицировать как бимодальную (частота гибридов - 0.22). У гибридных самцов шесть метацентриков неполной гомологии формируют кольцевой гексавалент (RVI) на стадии первого деления мейоза.

Особенность изученной гибридной зоны состоит в том, что гибриды выявлены только на территории, населенной представителями расы Пенза. Можно предположить, что к формированию такой структуры гибридной зоны привели следующие факторы: 1) небольшое ограничение миграции бурозубок; 2) низкая плотность популяций расы Нерусса вблизи зоны контакта; 3) этнологические различия между расами. Для уточнения информации о структуре гибридной зоны Нерусса – Пенза и определения роли каждого из факторов требуется анализ дополнительных выборок на соседних территориях.

### **Hybrid zone between chromosome races of the common shrew (*Sorex araneus* Linnaeus, 1768) with ring-shaped hexavalent in hybrids**

Cherepanova E.V.<sup>1</sup>, Krivonogov D.M.<sup>2</sup>, Shchegol'kov A.V.<sup>2</sup>, Orlov V.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>A.N. Severtzov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Nizhniy Novgorod State University named in honour N.I. Lobachevskiy (Arzamas branch),  
Arzamas, Russia

The study of hybrid zones between intraspecies karyotypic forms is of great interest in the aspect of chromosomal and genic microevolutionary processes. The common shrew (*Sorex araneus* Linnaeus, 1768), due to its exclusive polymorphism for Robertsonian (Rb) translocations, is a perfect object to study chromosomal hybrid zones. The initial study of the contact zone of chromosome races Neroosa (Rb translocations: *go, hi, kr, mn, pq*) and Penza (*gm, hn, io, kr, pq*) in the Tsna River basin (The Ryazan' region, Shatsk distr.) revealed that the Neroosa race inhabits the northeast bank, and the Penza race inhabits the southwest bank of the Aza River. Interracial hybrids – complex heterozygotes *gm/mn/hn/hi/io/go* – were noted on the southwest bank of the Aza River. This hybrid zone may be classified as bimodal (frequency of hybrids – 0.22). In hybrid males six metacentrics with monobrachial homology form the ringed hexavalent (RVI) at the first meiotic stage.

The presence of hybrids only in the territory inhabited by the Penza race is a peculiar feature of this hybrid zone. One may suppose that the following factors led to the formation of such a

hybrid zone: 1) light restriction in migration of shrews; 2) low population density of the *Neroosa* race near the contact zone; 3) ethological differences between the races. The analysis of additional samples from the neighbouring territories is required to clarify the structure of the *Neroosa* – Penza hybrid zone and to determine the significance of afore-mentioned factors.

### **Популяционная структура сосны обыкновенной в островных борах Русской равнины**

Чернодубов А.И.

*Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова,  
Воронеж, Россия*

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) на территории Русской равнины сформировала в процессе эволюции большое количество различных биотипов в частности эдафических: боры на песках (Усманский, Хреновской, Старо-Оскольский, Кременской, Ново-Московский, Черкасский), на меловых обнажениях (Жигулевский, Хвалынский, Стенки-Изгорья, Бекарюковский, Славянский), которые отличаются по различным признакам и показателям (Сукачев, 1938; Правдин, 1964; Мамаев, 1972; Бобров, 1978).

Дискуссионный до настоящего времени вопрос о понятии «популяция» для древесных пород: ее объем, границы, является она последней элементарной единицей или нет? Изучение островных боров было начато с рассмотрения некоторых фенотипических или морфолого-анатомических признаков и показателей - хвои, шишек, семян. Проанализировав полученный материал на основе коэффициентов изменчивости, дисперсионного анализа мы получили противоречивые данные об их ценности для изучения структуры популяций. И только использование методов многомерного анализа (факторного, кластерного) позволило выделить наиболее информативные показатели: индекс шишек и цвет семян.

Использование биохимических показателей: монотерпенов (эфирные масла) и изоферментов также не дало однозначных ответов на возможность их использования для рассмотрения популяционной структуры островных боров. И только использование всех трех групп показателей и признаков – морфометрических показателей хвои, шишек, семян, монотерпенов эфирных масел из хвои и изоферментов с применением факторного анализа позволило выявить наиболее ценные и информативные. Установлено что 56.2% всей дисперсии приходится на первый фактор - изоферменты, которые к тому же имеют отрицательную связь с остальными признаками и факторами. Второй фактор, вклад которого в накопленную дисперсию составляет 21.6%, приходится на длину хвои, полнозернистость семян, длину и диаметр шишек. Наиболее константным и с отрицательным значением является индекс или форма шишек. Третий фактор (дисперсия 9.2%) приходится на компоненты монотерпеновой фракции эфирных масел.

Таким образом, комплексное изучение островных боров юга Русской равнины с применением многомерного анализа (факторного) показало, что они имеют свои естественные границы, изолированы друг от друга фенологически, пространственно, различаются друг от друга по генетическим, фенотипическим признакам и показателям и выступают как самостоятельные популяции. Являются ли они последней самостоятельной единицей вида *Pinus sylvestris* L.? Нет. По нашему мнению – каждый из изученных островных боров состоит из группы микропопуляций принятых в лесоведении как типы леса или типы лесорастительных условий с главной лесообразующей породой – сосной со спутниками, своими почвенными разностями, напочвенным покровом и так далее.

## Population structure of Scots pine island forests of the Russian plain

Chernodubov A.I.

*Voronezh state forestry engineering University named after G.F. Morozov, Voronezh, Russia*

Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on the territory of the Russian plain have formed in the course of evolution a large number of different biotypes in particular edaphic: forests on Sands (Usman, Khrenovskaya, Old-Oskol, Kreminna, Novo-Moscow, Cherkasy), on chalk outcrops (Zhigulevsk, Khvalynskaya, Wall-Izhora, Becherucci, Slavic), which differ according to various criteria and indicators (Sukachev, 1938; Pravdin, 1964; Mamaev, 1972; Bobrov, 1978).

Discussion to date the question of the concept of "population" for tree species: its scope, boundaries, it is the last elementary unit or not? The study of insular coniferous forests was begun with a consideration of some phenotypic or morphological-anatomical characteristics and indicators of pine needles, cones, seeds. After analyzing the material on the basis of coefficients of variation, analysis of variance, we have received conflicting information about their value for the study of population structure. Only the use of multivariate analysis (factor, cluster) allowed to identify the most informative indicators: the index of cones and color of seeds.

The use of biochemical indicators: monoterpenes (essential oils) and isozyme also did not give a definite answer to the possibility of their use for consideration of population structure of insular coniferous forests. And usage of all three groups of key figures and characteristics – morphometric indices of pine needles, cones, seeds, monoterpenes of essential oils from pine needles and isoenzymes with the use of factor analysis has allowed to identify the most valuable and informative. Established that 56.2 % of the variance was explained by the first factor - isoenzymes, which also have negative correlation with other traits and factors. The second factor, whose contribution to the accumulated dispersion is 21.6 %, to account for the length of the needles, polnozernistost seed, the length and diameter of cones. Most konstatnin and with a negative value is the index or the shape of cones. The third factor (the variance of 9.2 %) in the components of the monoterpene fraction of essential oils.

Thus, a comprehensive study of insular coniferous forests of southern Russian plain with the use of multivariate analysis (factor) showed that they have their natural boundaries, isolated from each other geologicheski, spatial, differ from each other in the genetic, phenotypic signs and indicators and act as an independent population. Are they the last individual of the species *Pinus sylvestris* L.? No. In our opinion, each one of the studied hog island consists of a group of micro-populations adopted in forestry as forest types or types of forests with the main forest-forming species is pine with the satellites, their soil differences, ground cover and so on.

### Изучение полиморфизма первичной структуры гена вирулентности *Avr2* *Phytophthora infestans* в популяции Московской области

Чижик В.К., Мартынов В.В.

*Московский государственный областной университет, Москва, Россия*

Фитофтороз представляет собой серьезную проблему современного картофелеводства. Это заболевание наносит существенный экономический ущерб, так как вызывает значительные потери урожая картофеля. Возбудителем этого заболевания является оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Для борьбы с фитофторозом необходимо всестороннее изучение вызывающего его патогена и особенностей его взаимодействия с организмом-хозяином, в том числе и на молекулярно-генетическом уровне. Как известно, для преодоления базальной защитной системы растения у *P. infestans* существуют эффекторные белки, кодируемые соответствующими генами вирулентности (*Avr* генами), но эти белки могут распознаваться комплементарными им R-белками растения. Мутации в *Avr* генах приводят к возникновению форм эффекторных белков, которые избегают

распознавания R-белками растения, что обеспечивает развитие заболевания. Накопление этих мутаций приводит к значительному полиморфизму генов вирулентности у *P. infestans*.

Целью данной работы было изучение полиморфизма гена вирулентности *Avr2 P. infestans* на молекулярном уровне в популяции Московской области. Ранее было показано, что ген *Avr2* представлен у *P. infestans* двумя формами: авирулентной (*AVR2*) и вирулентной (*AVR2-like*), между которыми существуют различия в нуклеотидной последовательности. Полиморфизм этих двух форм изучали при помощи ПЦП с использованием двух пар праймеров, специфичных по отношению к *AVR2* и *AVR2-like*, и последующего анализа полученных ампликонов методом SSCP. Для определения нуклеотидных последовательностей полиморфных вариантов авирулентной и вирулентной форм гена *Avr2*, зоны электрофоретической подвижности, обнаружившие полиморфизм по результатам SSCP-анализа, были затем отсекарованы.

При помощи вышеописанных методов было проанализировано 38 полевых образцов патогена, собранных на территории четырех районов Московской области. В результате было установлено, что обе формы гена встречаются не во всех образцах, при этом в популяции Московской области преобладает авирулентная форма гена. Преобладание *AVR2* в исследованной популяции может свидетельствовать об отсутствии соответствующего гена устойчивости *R2* у сортов, возделываемых в агроценозах Московской области, но также и о регуляции вирулентности/авирулентности *P. infestans* на уровне экспрессии соответствующего гена. Применение SSCP-анализа позволило дополнительно охарактеризовать полиморфизм первичной структуры авирулентной и вирулентной форм гена *Avr2* и его распределение среди исследуемых образцов, а секвенирование полиморфных вариантов позволило выявить особенности нуклеотидной последовательности, обуславливающие этот полиморфизм. В итоге, по результатам SSCP-анализа было выявлено 7 вариантов генотипов, ассоциированных с полиморфизмом гена *Avr2*. Также было установлено, что распределение этих генотипов среди образцов исследованной популяции имеет пространственно-зависимый характер. Таким образом, в ходе выполнения данной работы впервые было проведено популяционно-генетическое изучение гена *Avr2 P. infestans* на молекулярном уровне и показано, что для популяции *P. infestans* в Московской области характерна высокая степень полиморфизма первичной структуры этого гена. Кроме того, были выявлены территориальные особенности распределения этого полиморфизма.

### **The study of the primary structure polymorphism of virulence gene *Avr2* in the population of *Phytophthora infestans* from the Moscow region**

Chizhik V.K., Martynov V.V.

*Moscow State Regional University, Moscow, Russia*

The late blight disease is a strong problem of modern potato husbandry. This disease causes a significant loss of the potato crop resulting in huge economic damage. The causative pathogen of this disease is an oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. In order to successfully withstand the late blight it is necessary to conduct comprehensive studies of this pathogen and its interactions with the host organism, including studies on the molecular genetic level.

As it is known, in order to overcome the plant basal immunity *P. infestans* has effector proteins encoded by the corresponding virulence genes (*Avr* genes). However these effector proteins can be recognized by the complementary R-proteins of the host plant. Mutations in *Avr* genes result in occurrence of the effector proteins which avoid recognition by R-proteins that in turn enables the development of the disease. The accumulation of these mutations leads to significant polymorphism of virulence genes in *P. infestans*.

The goal of the present study was to investigate the nucleotide sequence polymorphism of virulence gene *Avr2* in the population of *P. infestans* from the Moscow region. As previously reported, *Avr2* gene exists in *P. infestans* in two forms: avirulent (*AVR2*) and virulent (*AVR2-like*),

which are different by their nucleotide sequences. In the present study, polymorphism of these two forms was studied using PCR with two pairs of primers specific for *AVR2* and *AVR2-like*, respectively, and the SSCP technique was applied to analyze obtained amplicons. In order to reveal the primary structure polymorphism of these two forms of *Avr2* gene, obtained by SSCP technique bands with different electrophoretic mobility were cloned and sequenced.

Using the abovementioned methods 38 field samples of the pathogen from four districts of the Moscow region were analyzed. The analysis results show that not all samples have both forms of the gene, meanwhile the avirulent form of this gene is prevalent in the population from the Moscow region. Prevalence of *AVR2* form in the studied population may indicate to the absence of the corresponding resistance gene *R2* in varieties, which are cultivated in farmed ecosystems of the Moscow region, but also to the regulation of virulence/avirulence of *P. infestans* on the level of expression of the corresponding gene. Using the SSCP-analysis made it possible to further study the polymorphism of the primary structure of avirulent and virulent forms of *Avr2* gene and distribution of this polymorphism among the analyzed samples. Furthermore, sequencing the polymorphic variants enabled to reveal features of the nucleotide sequence, causing said polymorphism. As a result, overall 7 variants of genotypes associated with *Avr2* gene polymorphism were identified using the SSCP-analysis. It was also found that the distribution of these genotypes among the samples of the studied population had a spatially dependent manner. Thus, the first molecular genetic study of *Avr2* gene in the population of *P. infestans* from the Moscow region is here provided. The population of *P. infestans* in the Moscow region is shown to have a high degree of polymorphism of the primary structure of the said gene. In addition, the spatial features of distribution of this polymorphism were characterized.

### **Изолирующие механизмы в дивергенции близких форм комаров *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera, Culicidae)**

Шайкевич Е.В.<sup>1</sup>, Федорова М.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup>Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Две формы комара *Culex pipiens* (*f. pipiens* и *f. molestus*) не имеют морфологических отличий, но обладают хорошо выраженными поведенческими и физиологическими особенностями. Известно, что у комаров *f. pipiens* репродуктивная активность ограничена определенным временем суток. Напротив, у комаров *f. molestus* нарушены ритмы летной активности и спаривание происходит вне зависимости от времени суток. Выявлены различия в структуре двух генов циркадных ритмов *period* (*per*) и *timeless* (*tim*) между *f. pipiens* и *f. molestus*. Наши результаты показали, что естественный отбор способствовал закреплению мутаций и уменьшил разнообразие генов *per* и *tim* у комаров *f. molestus* по сравнению с *f. pipiens*. Причиной этого может быть так называемый эффект бутылочного горлышка, сопровождавший процесс заселения комарами *f. molestus*, обладающими адаптивными гаплотипами циркадных генов, подходящих биотопов, а именно, подвалов домов, в зоне умеренного климата центральной и северной Европы.

Показано, что все виды, подвиды и формы комплекса *Culex pipiens* (*C. pipiens f. pipiens*, *C. pipiens f. molestus*, *C. quinquefasciatus*, *C. p. pallens*) различаются по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям гена *tim*, что доказывает функциональную значимость белка Timeless (TIM). У *C. pipiens* (*f. pipiens* и *f. molestus*) обнаружены 23 переменных последовательности первого экзона гена *tim* и выявлены фиксированные мутации T960A и G968T. Эти замены приводят к изменению аминокислотных последовательностей белка TIM (S320T и Q322H). Гистидин в позиции 322 характерен для всех комаров с отсутствием ритмов летной и репродуктивной активности - *f. molestus*. Для комаров *f. pipiens* с ритмичной летной и репродуктивной активностью в течение суток характерны серин (S320) и глутамин (Q322) в последовательности белка TIM. Таким



образом, одним из механизмов, приводящих к репродуктивной изоляции форм на начальных этапах дивергенции, являются изменения в ДНК генов, кодирующих эндогенные циркадные ритмы и, соответственно, ритмы репродуктивной активности.

У *C. pipiens* ранее были выявлены случаи одно- и двусторонней цитоплазматической несовместимости (ЦН) в скрещиваниях между особями, зараженными различными штаммами эндосимбиотической бактерии *Wolbachia pipientis*. Генотипирование бактерий в исследованных популяциях *C. pipiens* показало, что для *f. pipiens* характерно заражение *W. pipientis* двух групп – wPip\_II и wPip\_III, комары *f. molestus* инфицированы wPip\_IV. Было проведено 35 индивидуальных скрещиваний между *C. pipiens* в четырех возможных направлениях. Отсутствие или резкое снижение количества потомства мы наблюдали в скрещиваниях самок *f. pipiens*, зараженных wPip\_II (III), с самцами *f. molestus* (wPip\_IV), и особенно в скрещиваниях самки *f. molestus* (wPip\_IV) с самцами *f. pipiens* (w\_PipII). Полученные нарушения развития личинок или полное отсутствие потомства могут объясняться цитоплазматической несовместимостью, которую вызывают различающиеся штаммы *W. pipientis*. Наши результаты доказывают экспериментально, что симбиотическая бактерия также может служить механизмом изоляции двух форм *C. pipiens*, *f. pipiens* и *f. molestus*.

Работа была поддержана РФФИ, гранты N 14-04-0112914, N 16-04-00091 и Европейской комиссией в рамках FP7-261391 "EuroWestNile research project".

### **Mating isolation mechanisms in the divergence of the forms of *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera, Culicidae)**

Shaikovich E.V.<sup>1</sup>, Fyodorova M.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

The two forms of *Culex pipiens* (*f. pipiens* and *f. molestus*) are morphologically identical, but have notably distinct biological features. Mating activity of *f. pipiens* is restricted within the crepuscule period. In contrast, males of *f. molestus* have irregular locomotor and mating activity. Such temporal differences in mating activity may represent the temporal isolation between two forms. The differences in nucleotide sequences and especially in amino acid sequences of the circadian rhythm genes, *period* (*per*) and *timeless* (*tim*), were evaluated between *f. pipiens* and *f. molestus*. Our results suggest that natural selection favors fixed mutations and the reduction of diversity of the genes *per* and *tim* in mosquitoes of the *f. molestus* compared with the *f. pipiens*, and provides some advantage to the habitat in undergrounds for *f. molestus* in temperate European climate.

Variations in nucleotide and amino acid sequences between species and forms of *Culex pipiens* complex (*C. pipiens f. pipiens*, *C. pipiens f. molestus*, *C. quinquefasciatus*, *C. p. pallens*) were found. The detected fixed amino acid substitutions may appear essential for functioning of the circadian rhythm protein Timeless (TIM) in *Culex pipiens*. 23 distinct haplotypes and fixed mutations T960A and G968T were found in exon 1 of the gene *tim*. This substitutions in DNA sequences resulted in two amino acid substitutions (S320T и Q322H). Histidin in position 322 was detected in all *f. molestus*, i.e. mosquitoes without the circadian rhythm in mating activity. Serine (S<sup>320</sup>) and Glutamine (Q<sup>322</sup>) were found in *f. pipiens* with endogenous rhythms of mating activity. Thus, one of the mechanisms that lead to reproductive isolation of *C. pipiens* forms at the initial stages of divergence may be the changes in the DNA of genes encoding circadian rhythms of reproductive activity.

Unidirectional or bidirectional cytoplasmic incompatibility (CI), an embryonic mortality, was earlier observed when infected males mate either with uninfected females or with females infected by an incompatible *Wolbachia pipientis* strain in *C. pipiens*. Bacterial strains from the examined *C. pipiens* populations were genotyped and assigned to one of the groups (wPip\_I to wPip\_V). The

mosquitoes *f. pipiens* are infected with bacteria belonging to groups wPip\_II and wPip\_III, *f. molestus* - wPip\_IV. 35 individual crosses were conducted between *C. pipiens* of both forms in four possible directions. The absence or drastic reduction in the number of offspring we have observed in crosses of females *f. pipiens*, infected with wPip\_II (III), with males *f. molestus* (wPip\_IV), and especially in crosses of females *f. molestus* (wPipIV) with males *f. pipiens* (wPip\_II). Increased mortality during larval development can be explained by CI, which produce different strains of *W. pipientis*. The obtained results prove experimentally that symbiotic bacteria can also provide the isolation mechanism between two forms of *C. pipiens*, *f. pipiens* and *f. molestus*.

This work was supported by the Russian Foundation of Fundamental Research, grants N 14-04-0112914, N 16-04-00091 and the European Commission in the framework of FP7-261391 EuroWestNile research project.

### **Изменчивость микросателлитных локусов природных популяций рачка артемии (*Artemia partenogenetica*) соляных водоемов Казахстана.**

Шалгимбаева Г.М.<sup>1</sup>, Волков А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Казахский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Алма-Ата, Казахстан*

<sup>2</sup> *Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии Москва, Россия*

Казахстан богат мелководными, гипергалинными водоемами, фауна которых представлена зачастую одним видом – жаброногим рачком артемией (*Artemia spp*). Уникальность этого рачка состоит в его эффективной адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды. В среде, где другие животные уже не могут развиваться, артемия «процветает» в монокультуре. Научный интерес к этому виду вызван его исключительной осморегулирующей способностью, разнообразием физиологических, биохимических и морфологических свойств отдельных популяций, существованием полиплоидии и партеногенеза наряду с двуполом способом размножения. В то же время, научных работ, посвященных вопросам внутривидового генетического разнообразия не много.

Оценка генетического разнообразия популяций рачка *Artemia partenogenetica* получена на основе анализа изменчивости 8 микросателлитных локусов ДНК (*Apdq02*, *Arspm1*, *Arpm26*, *Arpm20*, *Aupm15*, *Aupm21*, *Arpm4* и *Aupm16*), взятой от 106 цист и рачков из 8 водоемов Северного Казахстана и двух “морских” выборок артемии: Залива Чернышева Малого Аральского моря и пересохшего залива Каспийского моря – Сор Кайдак. Число аллелей на локус в исследованных выборках варьировало от 1 (в большинстве выборок Северного Казахстана по локусу *Arpm4*) до 8 (локус *Apdq02* в выборке Залива Чернышева). Среднее значение аллелей по всем локусам в совокупности составляло 3,038 и колебалось от 3,875 (Залива Чернышева) до 1,875 (оз. Маралды, Северный Казахстан). Равновесие Харди–Вайнберга соблюдалось в большинстве выборок (кроме локусов *Aupm15*, *Arpm4*) за исключением выборки из оз. Маралды. Максимальные значения гетерозиготности наблюдались в выборке из Залива Чернышева ( $H_O=0,550$ ;  $H_E=0,528$ ). В выборке Сор Кайдак наблюдался дефицит гетерозигот ( $H_O=0,399$ ;  $H_E=0,548$ ), минимальный уровень гетерозиготности обнаружен в оз. Маралды ( $H_O=0,301$ ;  $H_E=0,244$ ), что может быть следствием крайне низкого аллельного разнообразия (4 из 8 локусов представлены одним аллелем). Уровень попарной межвыборочной дифференциации  $F_{ST}$  показал наибольшие значения между “морскими” выборками (Сор Кайдак и Залив Чернышева) и озерами Северного Казахстана (от 0,072 до 0,197), в то время, как между выборками артемии из озер Северного Казахстана значения  $F_{ST}$  колебались от 0,012 до максимального значения 0,084. Максимальные значения индекса несмещенного генетического разнообразия (Nei, 1978) присутствовали в выборках Сор Кайдак и Залив Чернышева ( $H_E=0,592$  и 0,539 соответственно). Минимальное значение – в выборке из оз. Маралды ( $H_E=0,260$ ).

Основные показатели генетической изменчивости из двух регионов Казахстана выявили, что популяции рачка из “морских” выборок характеризуются более высоким уровнем внутривидового разнообразия, нежели популяции из водоемов северного Казахстана.

### **Microsatellite variability of the brine shrimp *Artemia (Artemia partenogenetica)* populations of salinity reservoirs in Kazakhstan**

Shalgimbayeva G.M.<sup>1</sup>, Volkov A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Kazakh Research Institute of Fisheries, Alma-Aty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*All Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia*

Kazakhstan is rich in its shallow hyperhaline water reservoirs, fauna of which is often represented by a single species - brine shrimp *Artemia (Artemia spp)*. The uniqueness of this crustacean consists of its effective adaptation to environmental unfavorable factors. *Artemia* is widespread as monoculture in environment where other animals can no longer survive.

Scientific interest in this species is due to its exceptional osmosis regulation, physiological, biochemical and morphological properties, along with an existence of polyploidy and parthenogenesis or sexual reproduction. At the same time, there are not many scientific researches devoted to the issues of its genetic diversity.

The estimation of *Artemia partenogenetica* genetic diversity is based on the variability of 8 STR loci (*Apdq02*, *Apcpm1*, *Appm26*, *Appm20*, *Aupm15*, *Aupm21*, *Appm4* and *Aupm16*). DNA was isolated from 106 cysts and adult brine shrimps collected from 8 reservoirs of Northern Kazakhstan and two "marine" samples of *Artemia*: Chernyshev Bay of the Small Aral Sea and the Caspian Sea - Sor Kaidak. The number of alleles per locus in the samples varied from 1 (in most samples of Northern Kazakhstan, STR locus *Appm4*) to 8 (the *Apdq02* locus in the Chernyshev Bay).

The average allele number of all loci was 3,038 and varied from 3,875 (Chernyshev Gulf) to 1,875 (Lake Maraldy, Northern Kazakhstan). The Hardy-Weinberg equation was observed in most samples (except the loci *Aupm15*, *Appm4*) with the exception of the sample from the Lake Maraldy. The maximum level of heterozygosity were observed in the Chernyshev Bay ( $H_O=0.550$ ;  $H_E=0.528$ ). In the Sor Kaidak sample, deficit of heterozygotes was observed ( $H_O=0.399$ ;  $H_E=0.548$ ), the minimum level of heterozygosity was found in the Lake Maraldy ( $H_O=0.301$ ;  $H_E=0.244$ ), which may be a consequence of an extremely low allelic diversity (4 out of 8 loci are represented by one allele).

The meaning of pairwise  $F_{ST}$  showed the highest values between the "marine" samples (Sor Kaidak and Chernyshev Gulf) and the lakes of Northern Kazakhstan (from 0.072 to 0.197), whereas the  $F_{ST}$  values among the lakes of Northern Kazakhstan ranged from 0.012 to the maximum 0.084. The maximum values of Nei's 1978 gene diversity were in "marine" samples ( $H_E=0.592$  and 0.539, respectively). The minimum value was in the sample from the Lake Maraldy ( $H_E=0.260$ ).

The higher level of molecular diversity as revealed by major indices in "marine" *Artemia* populations compared to brine shrimps from Northern Kazakhstan lakes.

### **Изменчивость аллозимных локусов в ценопопуляциях *Plantago major* L. из зон радиоактивного и химического загрязнения**

Шималина Н.С., Антонова Е.В., Позолотина В.Н.

*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

Изучена генетическая структура природных ценопопуляций подорожника большого, длительное время испытывающих действие радиоактивного или химического загрязнения. Зона радиоактивного загрязнения – Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС), сформировавшийся в 1957 году в результате аварии на ПО Маяк. Основные загрязнители –

$^{90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$ . В настоящее время мощности поглощенных доз для подорожника зоны ВУРСа (от 19 до 156 мкГр/час) классифицируются как малые. В градиенте загрязнения выбраны три площадки. Зона химического загрязнения расположена вблизи Карабашского медеплавильного завода, основные компоненты выбросов которого – диоксид серы и полиметаллическая пыль. Уровни токсической нагрузки в зоне влияния КМЗ превышают фоновые значения в 5-42 раза. В зоне химического загрязнения были выбраны четыре площадки. Две фоновые площадки находились вне зон техногенного воздействия.

Были проанализированы 13 ферментных систем. Шесть из них (FDH, PGI, SKDH, 6-PGD, DIA и GDH) были мономорфны во всех популяциях. Зоны активности систем PGM, SOD, IDH, EST-с и EST-f были полиморфными, но трудно интерпретируемыми, поэтому от их анализа пришлось отказаться. Полиморфными и хорошо различимыми оказались две ферментные системы: ADH (1 локус кодируется 2 аллелями) и GOT (*Got-1* кодируется 3 аллелями, *Got-2* – 5 аллелями). По отдельным локусам всех изученных ферментов показаны значимые различия между выборками из разных зон. Однако какой-либо связи с уровнями радиоактивного или химического загрязнения при этом не выявлено. Во всех зонах, включая фоновые, встречались редкие (<1%) аллели. Можно предполагать, что за длительный период (60 лет – ВУРС и более 100 лет – КМЗ) воздействия техногенных факторов в ценопопуляциях прошел отбор наиболее устойчивых организмов. Определенную роль при этом играл эффект основателя. Доля полиморфных локусов в разных ценопопуляциях варьировала от 11 до 33%. Среднее число аллелей на локус в выборках изменялось от 1.33 до 1.67. Высокий уровень инбридинга в ценопопуляциях привел к преобладанию гомозиготных генотипов. Коэффициент инбридинга по всем изученным локусам у каждой особи относительно ценопопуляции в целом ( $F_{IS}$ ) составлял у подорожника 50%, а инбридинг особи относительно вида ( $F_{IT}$ ) – 56,7%. Коэффициент инбридинга в ценопопуляции относительно вида в целом ( $F_{ST}$ ) свидетельствует о том, что только 13.2% от выявленной генетической изменчивости распределяется между выборками, а 86.8% реализуется за счет внутривидовой изменчивости. Эти значения хорошо соответствуют полученным нами ранее результатам (Позолотина и др., 2008). Анализ генетических расстояний по всем изученным ферментным системам свидетельствует о том, что определенной связи генетической структуры ценопопуляций с химическим или радиоактивным загрязнением среды обитания не наблюдается.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-01023).

### **Enzyme variability in *Plantago major* L. populations from the zones of radioactive and chemical contamination**

Shimalina N., Antonova E., Pozolotina V.

*Institute of Plant & Animal Ecology, Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russia*

Genetic structure of natural *Plantago major* L. populations growing for a long time under conditions of radioactive or chemical contamination was investigated. The zone of radioactive contamination is in the Eastern Ural Radioactive trace (EURT), which appeared in 1957 after the accident at the Mayak Production Association; main pollutants are  $^{90}\text{Sr}$  and  $^{137}\text{Cs}$ . The contemporary absorbed dose rates for the maternal plants in the EURT zone (19-156  $\mu\text{Gy h}^{-1}$ ) are classified as low-level exposure. Three sites along the pollution gradient were chosen. The zone of chemical contamination is situated near the Karabash copper smelting plant (KCSP); main pollutants in the region include sulfur dioxide and polymetal dust. Toxic loads for the plots in the zone of chemical pollution exceed the background level by a factor of 5-42. Four sites were chosen in the zone of chemical pollution. Two background sites were located beyond the zones of chemical and radiation impact.

We analyzed the variability of 13 enzyme systems. Six enzyme systems (FDH, PGI, SKDH, 6-PGD, DIA, GDH) were monomorphic in all populations. Systems EST-с и EST-f, PGM, SOD,

IDH have been rejected because they were not recognizable. Polymorphic and well recognizable were two enzyme systems: ADH (1 locus with two alleles) and GOT (*Got-1* has 3 alleles and *Got-2* has 5 alleles). Significant differences were shown between samples of different zones in allele frequencies of certain loci for all enzyme systems. However, there was no relation to levels of radioactive or chemical contamination. Rare alleles (<1%) were found in all zones including background sites. It may be assumed that during a long period (60 years in the EURT zone and more than 100 years near the KCSP) of man-made influence, selection of the most stable organisms was occurred. In addition, founder effect played specific role. Proportion of polymorphic loci in different populations varied from 11% to 33%. Mean number of alleles per locus in samples varied from 1.33 to 1.67. High rates of inbreeding in populations lead to predominance of homozygote genotypes. The inbreeding coefficient for all studied loci within individuals relative to the population ( $F_{IS}$ ) was equal to 50 %; the inbreeding coefficient relative to the specie ( $F_{IT}$ ) – 56.7%. The inbreeding coefficient within subpopulations, relative to the total ( $F_{ST}$ ) indicates that only 13.2% of genetic differentiation is divided among populations, and 86.8% of genetic differentiation is accomplished within population. This values accord with our previous results for plants from the EURT zone (Pozolotina et al., 2008). Estimation of genetic distances for all investigated enzyme systems shows that no relation of genetic structure of populations to radioactive or chemical contamination levels was revealed.

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 15-04-01023).

### **Степень и характер взаимосвязи между филлоксероустойчивостью и качеством урожая в потомстве $F_1$ винограда**

Шихлинский Г.М., Акперов А.И., Мамедова Н.Х.

*Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан*

Успешным завершением иммуноселекционного процесса является выведение сортов, сочетающих в себе устойчивость и хорошее качество продукции. В селекции необходимо выяснить, есть ли связь между этими признаками в потомстве семян  $F_1$ . Перед нами была поставлена задача изучить закономерности наследования признаков устойчивости винограда к филлоксере и качества урожая в потомстве  $F_1$  от комбинаций скрещивания различных по устойчивости родительских компонентов, включая сорта и формы новой селекции (сложные межвидовые гибриды), обладающие хорошим качеством урожая. Определяли взаимосвязь между филлоксероустойчивостью и качеством урожая в  $F_1$  от семи типов комбинаций скрещивания.

Анализ полученных данных по изучению степени взаимосвязи филлоксероустойчивости и качества урожая в потомстве  $F_1$  при скрещивании устойчивых материнских компонентов (XV-21-13) с толерантными отцовскими компонентами (сложный межвидовой гибрид или европейский сорт) приводит нас к убеждению, что несмотря на то, что во всех комбинациях одна и та же материнская форма, но получены разные результаты. В двух комбинациях, (XV-21-13 x СВ-12-375) и (XV-21-13 x Саперави), коэффициент корреляционного отношения между филлоксероустойчивостью и качеством урожая очень низкий и недостоверный. Однако, следует отметить, что в комбинации (XV-21-13 x СВ-12-375) обратная связь между этими признаками значительно высокая и достоверная, при всех трех уровнях значимости. Совсем другая картина наблюдается в комбинации (XV-21-13 x СВ-12-375) свободного опыления, где коэффициент корреляционного отношения ( $\mu_{x/y}=0.74$  и  $\mu_{y/x}=0.64$ ;  $P \geq 0.95$ ;  $P \geq 0.99$ ;  $P \geq 0.999$ ) самый высокий и в высшей степени достоверный. Практическое значение этого показателя очень высокое – 54.76% общей вариации зависит от изменчивости другого признака, а 45.24% приходится на долю остаточной вариации, не зависящей от связи признаков между собой.

При изучении взаимосвязи филлоксероустойчивости с качеством в потомстве  $F_1$  при скрещивании толерантных материнских компонентов с восприимчивыми отцовскими компонентами установлено, что взаимосвязь между этими признаками средняя. Сильная связь выявлена только в комбинации XV-19-17 x V-101-10 ( $\mu_{x/y}=0.34$  и  $\mu_{y/x}=0.49$ ). Коэффициент корреляционного отношения в данной семье имеет реальный смысл, так как он достоверен при всех трех уровнях его значимости ( $P \geq 0.95$ ;  $P \geq 0.99$ ;  $P \geq 0.999$ ). Практическое значение данного показателя всего 11.56% общей вариации признака филлоксероустойчивости зависит от изменчивости другого, связанного с ним признака (качества), а 88,44% составляют остаточную вариацию, которая не зависит от связи признаков между собой. А в остальных семьях этой группы связь между филлоксероустойчивостью и качеством урожая низкая и недостоверная.

Анализируя полученные данные по изучению степени взаимосвязи филлоксероустойчивости с качеством в потомстве  $F_1$  при скрещивании толерантных материнских форм (сложные межвидовые гибриды) с восприимчивыми сортами европейского винограда приходим к выводу, что в данной группе преобладают показатели, свидетельствующие о наличии слабой связи между указанными признаками. В комбинациях скрещивания, как СВ-12-375 x Греческий розовый, СВ-12-375 x Агостенга и СВ-12-375 x Фетяска мускатная, коэффициенты корреляционного отношения между филлоксероустойчивостью и качеством, низкие и статистически недостоверные. Независимое наследование признаков доказывает отсутствие сцепления между генами, контролирующими указанные признаки. Определенная связь в этой группе выявлена в комбинации СВ-18-315 x Мускат темно-синий ранний, где  $\mu_{x/y}=0.26$  и  $\mu_{y/x}=0.44$ . Эти показатели свидетельствуют, что их практическое значение незначительное.

Изучение взаимосвязи филлоксероустойчивости с качеством урожая в группе скрещиваний восприимчивых компонентов с толерантными компонентами показало, что получены приблизительно аналогичные результаты. В трех семьях XI-38-55 x Маршал Фош, XV-13-12 x Пламенный и V-83-3 и XV-37-52 коэффициенты корреляционных отношений (соответственно  $\mu_{x/y}=0.16$ ;  $\mu_{x/y}=0.15$ ;  $\mu_{x/y}=0.02$ ), низкий и статистически недостоверный, указывающий на независимое наследование изучаемых признаков. Только в группе Ркацители x СВ-12-375 коэффициент корреляционного отношения значительно высокий и статистически достоверный. Этот показатель имеет реальный смысл, так как он достоверен при всех трех уровнях значимости ( $\mu_{x/y}=0.5$ ; и  $\mu_{y/x}=0.91$ ;  $P \geq 0.95$ ;  $P \geq 0.99$  и  $P \geq 0.999$ ). В этой комбинации 25% общей вариации признака филлоксероустойчивости зависит от изменчивости признака качества урожая, а 75% - остаточная вариация.

В группе скрещиваний слабовосприимчивых материнских компонентов с сильновосприимчивыми европейскими сортами получены различные результаты, в зависимости от родительских компонентов. В комбинации скрещивания XI-38-55 x Марсельский черный ранний, где  $\mu_{x/y}=0.38$  и  $\mu_{y/x}=0.58$ , только 14.44% общей вариации признака филлоксероустойчивости зависит от изменчивости другого, связанного с ним признака качества урожая, а 85.56% составляет остаточную вариацию. В двух семьях V-102-53 x Мускат темно-синий ранний (0.08) и V-83-3 x Мугурел (0.3) получены очень низкие и недостоверные показатели взаимосвязи.

При изучении взаимосвязи филлоксероустойчивости и качества урожая потомства  $F_1$  при скрещивании восприимчивых материнских компонентов с толерантными отцовскими компонентами установлена средняя связь между филлоксероустойчивостью и признаком качества. Самый низкий коэффициент отмечен в комбинации Греческий розовый x XV-18-43 ( $\mu_{x/y}=0.16$ ), самый высокий при скрещивании комбинации XV-143-11 x XV-10-73 ( $\mu_{x/y}=0.32$ ;  $\mu_{y/x}=0.5$ ). В двух остальных комбинациях XI-22-54 x XI-12-59 и Греческий розовый x XIV-18-28 коэффициенты корреляции низкие и недостоверные, что доказывает отсутствие сцепления между генами, контролирующими указанные признаки.

Результаты определения коэффициентов корреляционных отношений между филлоксероустойчивостью и качеством урожая в потомстве  $F_1$  при различных типах

скрещивания показали, что в основном имеется средняя связь между указанными признаками в зависимости от типа скрещивания и от устойчивости родительских пар. Полученные данные свидетельствуют о возможной связи признаков, контролирующей устойчивость к филлоксере, болезням и качество урожая. Одновременно это свидетельствует о возможности выведения сортов винограда пригодных для корнесобственного культивирования, не требующих химической защиты от болезней и обладающих хорошим качеством продукции.

### **The extent and nature of the relationship between resistance to phylloxera and crop quality in F<sub>1</sub> offspring of grapes**

Shikhlini N.M., Akparov A.I., Mamedova N.Kh.  
*Genetic Resources Institute of Azerbaijan NAS, Baku, Azerbaijan*

The results of determination of the coefficients of correlation relations between phylloxera resistance and crop quality of F<sub>1</sub> offspring with different various crossing types showed that basically there is an average relationship between indicated characteristics depending on the type of crossbreeding and of sustainability of parental couples. The received data indicate to possible relationship signs, controlling resistance to phylloxera, disease and crop quality.

### **Генетический и эпигенетический мониторинг популяций некоторых животных в Латвии**

Шкутэ Н.А.  
*Иститут наук о жизни и технологий Даугавпилсского университета, Латвия*

Для оценки состояния популяционных генофондов и прогнозирования их динамики в соответствии с принципом Алтухова Ю.П. в анализ субпопуляционной структуры должны быть включены демографические, морфометрические и фенотипические данные, оценка индивидуальных генотипов должна быть произведена по максимально возможному числу полиморфных генных локусов. По такому принципу в нашей лаборатории начат генетический мониторинг местных симпатрических популяций гляциореликтов сиговых, интродуцированных, естественных, искусственно воспроизводимых и других популяций рыб (например, ряпушки (*Coregonus albula* L.), озерной корюшки (*Osmerus eperlanus morpha sprinchus* Pallas), кумжи (*Salmo trutta* L.) и др.), а также моллюсков (*Dreissena polymorpha* Pallas) и амфибий (*Bombina bombina* L.). В результате пятилетнего мониторинга *C. albula* в озерах Латвии были выявлены изменения в микросателитных локусах и выравнивание частот микросателитных аллелей. Обнаружены генетические различия в искусственно воспроизводимых в Латвии популяциях *S. trutta*, и эти генетические различия сравнены с местной популяцией *S. trutta*. Произведенная оценка генетической структуры инвазивного вида *Dreissena* в Латвии показала более высокую генетическую вариабельность этой популяции по сравнению с таковыми европейскими популяциями.

В соответствие с государственной программой исследований EVIDEnT 4.6. “Freshwater ecosystem services and biodiversity” выявлены фенотипические и морфологические различия в популяциях типичных рыб (европейский окунь *Perca fluviatilis*, обыкновенная плотва *Rutilus rutilus*), разделенных искусственными водоразделами водохранилищ по реке Даугава, и начаты исследования генетической структуры популяции окуня с использованием микросателитных маркеров.

Эпигенетические изменения генома, например, энзиматическое метилирование ядерной ДНК, могут отражать адаптивные реакции организма в изменяющихся условиях среды. Поэтому анализ метилирования ДНК, также был включен в систему генетического мониторинга. Для этого в нашей лаборатории был успешно апробирован и применен

люминометрический метод, который основан на пиросеквенировании с использованием метилчувствительных и нечувствительных рестриктаз. В рамках этой же программы исследований EVIDEnT 4.6. нами начаты исследования эпигенетических изменений у некоторых гидробионтов под влиянием различных абиотических и биотических факторов. Так, было показано, что под влиянием антропогенной нагрузки в естественных водоемах относительный уровень общего метилирования ДНК в мышцах ротана (*Perccotus glenii* Dybowski) повышен до 30%. Таким образом, метилирование ядерной ДНК может служить индикатором влияния окружающей среды на организмы и популяции в целом.

### **Genetic and epigenetic monitoring of some animal population in Latvia**

Škute N.

*Institute of Life Sciences and Technologies, Daugavpils University, Latvia*

In according to Yu.P. Altukhov' principle, for assessment of population gene pool status and dynamic the subpopulation structure analysis should involve the demographical, morphological, phenotypic date, evaluation of individual genotypes should involve the maximum possible number of polymorphic gene loci. In concordance to this principle the genetic monitoring of local sympatric glacio relicts Coregonidae, introduced, native, artificial reproduced and others fish populations (for example, vendace (*Coregonus albula* L.), lake smelt (*Osmerus eperlanus morpha sprinchus* Pallas), trout (*Salmo trutta* L.), mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) and amphibian (*Bombina bombina* L.) was started in our laboratory. In the result of *C. albula* five-year genetic monitoring in Latvian lakes, the difference in allelic variation and frequency where detected. It was found, that the genetic structure of artificial reproduced *S. trutta* population are different from local native population. The evaluation of zebra mussel genetic structure show that Latvian population compared with other european zebra mussel population was a high genetic variability.

In according to National Research program EVIDEnT 4.6. "Freshwater ecosystem services and biodiversity" we found the phenotypic and morphological difference between typical freshwater fishes (european perch *Perca fluviatilis*, common roach *Rutilus rutilus*) from artificial reservoir in river Daugava. The study of *P. fluviatilis* genetic structure by microsatellite markers was started. The epigenetic changes of genome, for example, an enzymatic methylation of nuclear DNA can be reflect the adaptive reaction in organism during changing environmental. Because the analysis of DNA methylation was included in genetic monitoring also. For this the luminometric method, which based on DNA pyrosequencing, with methylsensitive and non methylsensitive restriction, has been tested and used in our laboratory. According the research program EVIDEnT 4.6 we began to explore the epigenetic changes in some hydrobionts under influence of different biotic and abiotic factors. It was shown, that under influence of anthropogenic factors the relative level of total DNA methylation in Chinese sleeper (*Perccotus glenii* Dybowski) was increased by 30 %. Therefore total DNA methylation can be used as indication of environmental factor influence on organism and population level.

### **Исследование генетических маркеров мтДНК и Y-хромосомы в популяционной генетике**

Шулимова Е.А.

*Кубанский государственный технологический университет, Краснодар, Россия*

С 90-х гг. XX в. исследование генетических маркеров мтДНК и Y-хромосомы стало преобладающим в популяционной генетике. Особенностью данных маркеров является, то, что мтДНК передаётся только по женской линии, а Y-хромосома – по мужской. На данный момент наиболее изученной является мтДНК. Y-хромосома по своей структуре гораздо крупнее мтДНК, следовательно, она содержит в себе больше информации для изучения, а



также Y-хромосома показывает уникальную чувствительность к различиям между популяциями. Информативность мтДНК определяется наличием большого числа полиморфных сайтов и отсутствием рекомбинации между ними, что позволяет реконструировать наиболее глобальные, массовые миграции народов с учётом «материнской линии». Однако данные мтДНК не обнаруживают различий между отдельными народами, но с её помощью возможно выявить географические регионы или лингвистические группы. Y-хромосома в отличие от мтДНК дает возможность проследить генетические различия между популяциями, относящимися к одному и тому же народу, а также показывает генетическое положение индивидуумов среди популяций. Но всё же, как ни парадоксально, мтДНК позволяет дифференциально проследить популяционные процессы (миграции, динамики численности и т.д.), в различной степени затрагивающие представителей как мужского, так и женского пола. В частности, она позволяет «избавиться» от информации о потоках «частных» миграций, связанных с военными походами, затрагивающих отцовскую часть генома, и проследить наиболее массовые миграции населения, представляющие наиболее консервативные и стабильные пласты генофонда.

Результаты исследования мтДНК и Y-хромосомы являются важными в решении ряда проблем. Например, определения пола палеоантропологических остатков, поскольку большинство из них имеют фрагментарный характер. Изучение генетических маркеров мтДНК и Y-хромосомы позволили установить:

- наиболее древние из всех известных изменений мтДНК произошли в Африке примерно 150 - 190 тыс. лет назад, затем новые мутации происходят в Европе примерно 50 тыс. лет назад, в Азии около 60 - 80 тыс. лет назад, в Австралии 70 тыс. лет назад, а в Америке 21 - 22 тыс. лет назад;

- анализ Y-хромосомы показал следы как минимум трёх миграций из Африки, проходивших 1.7 млн. лет назад, 840 - 420 тыс. лет назад и 150 - 80 тыс. лет назад.

Таким образом, результаты исследований генетических маркеров мтДНК и Y-хромосомы могут применяться для обоснования теорий и гипотез о происхождении, миграции и структуре древних популяций человека.

## **The study of genetic markers of mtDNA and Y-chromosome in population genetics**

Shulimova E.A.

*The Kuban State Technological University, Krasnodar, Russia*

Since the 90s of XX century the study of genetic markers of mtDNA and Y-chromosome became dominant in population genetics. A feature of these markers is that mtDNA is transmitted only through the female line, and Y-chromosome – through the male line. At the moment, the most studied is the mtDNA. Y-chromosome by its structure is much larger than mtDNA, therefore it contains more information for the study, as well as the Y-chromosome shows a unique sensitivity to differences among populations. The mtDNA informative content is determined by the presence of a large number of polymorphic sites and the lack of recombination between them, which allows to reconstruct the most global, mass migration of peoples with respect to "maternal line". However, mtDNA data do not reveal differences between separate ethnic groups, but with its help it is possible to identify geographical regions or linguistic groups. The Y-chromosome in contrast to the mtDNA makes it possible to trace genetic differences between populations belonging to the same ethnic group, as well as the genetic status of individuals among populations. But, paradoxically mtDNA allows to differentially track population processes (migration, population dynamics, etc.), in varying degrees involving both males and females. In particular, it allows to "get rid" of information on "private" migration flows, associated with military campaigns, involving paternal part of genome, and to track the mass migration of the population, representing the most conservative and stable strata of the gene pool.

The study of mtDNA and Y-chromosome is important in solving a number of problems. For example, the sex determination of fossils, as most of them are fragmented. The study of genetic markers of mtDNA and Y-chromosome has allowed to establish:

- the most ancient of all known changes in mtDNA occurred in Africa about 150 - 190 thousand years ago, then new mutations occur in Europe about 50 thousand years ago, in Asia around 60 - 80 thousand years ago, in Australia, 70 thousand years ago, but in America 21 - 22 thousand years ago;

- analysis of the Y-chromosome showed traces of at least three migrations out of Africa, held 1.7 million years ago, 840 - 420 thousand years ago, and 150 - 80 thousand years ago.

Thus, the results of studies of genetic markers of mtDNA and Y-chromosome can be used to substantiate the theories and hypotheses about the origin, migration and structure of ancient human populations.

### **Новые представители рода *Metagonimus* (Trematoda: Heterophyidae) юга Дальнего Востока России**

Шуменко П.Г., Татонова Ю.В., Беспрозванных В.В.  
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток, Россия

До недавнего времени на территории Восточной и Юго-Восточной Азии было описано 8 видов трематод рода *Metagonimus* - *M. yokogawai* Katsuradai, 1912, *M. takahashii* Suzuki, 1930, *M. miyatai* Saito, Chai, Kim, Lee & Rim, 1997, *M. minutes* Katzuta, 1932, *M. katsuradai* Izumi, 1935, *M. otsurui* Shimazu & Urabe, 2002, *M. hakubaensis* Shimazu, 1999, *M. ovatus* Yokogawa, 1913. Представители этого рода вызывают тяжелые желудочно-кишечные расстройства человека и имеют высокое эпидемиологическое значение в данном регионе. На юге Дальнего Востока России выявлено 2 вида: *M. yokogawai* и *M. katsuradai*, которые по морфологии всех стадий и жизненным циклам соответствуют описанным ранее представителям рода *Metagonimus*. Однако морфологические критерии не всегда достаточны для определения видового статуса трематод. Первоначально целью нашего исследования было описание генетического разнообразия *M. yokogawai*, однако, согласно генетическим данным было установлено, что данные образцы не принадлежат к виду *M. yokogawai*. Позже при помощи генетических маркеров мы обнаружили, что образцы *M. katsuradai* из Приморского края (Россия) также не принадлежат к виду *M. katsuradai*. Таким образом, было установлено, что оба вида являются новыми для науки, и их валидность подтверждается генетическими данными.

### **New representatives of genus *Metagonimus* (Trematoda: Heterophyidae) in the Russian Southern Far East**

Shumenko P.G., Tatonova Y.V., Besprozvannykh V.V.  
FSCEATB FEB RAS, Vladivostok, Russia

Until now, in East and South-East Asia, eight species of *Metagonimus* have been described: *M. yokogawai* Katsuradai, 1912, *M. takahashii* Suzuki, 1930, *M. miyatai* Saito, Chai, Kim, Lee & Rim, 1997, *M. minutes* Katzuta, 1932, *M. katsuradai* Izumi, 1935, *M. otsurui* Shimazu & Urabe, 2002, *M. hakubaensis* Shimazu, 1999, *M. ovatus* Yokogawa, 1913. The representatives of this genus cause severe gastrointestinal disorders and have important epidemiological significance in this region. In the Russian Southern Far East, two species, *M. yokogawai* and *M. katsuradai*, were found. These species correspond to earlier described *Metagonimus* representatives by morphology of the developmental stages and life cycles. However, morphological criteria only are not always sufficient for status definition of trematodes. The original aim of our study was to describe the genetic diversity of *M. yokogawai* in Primorsky region (Russia), but we have obtained that these

samples don't belong to *M. yokogawai* according genetic data. Later we found using genetic markers that second species is also not *M. katsuradai*. Thus, it was found these species are new for science, and their validity was based on genetic data.

### **Разработка маркеров мтДНК для популяционно-генетических исследований ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.)**

Экерт А.К.<sup>1</sup>, Семериков В.Л.<sup>2</sup>, Полежаева М.А.<sup>2</sup>, Семерикова С.А.<sup>2</sup>, Дымшакова О.С.<sup>2</sup>,  
Кравченко А.Н.<sup>1</sup>, Ларионова А.Я.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – Обособленное подразделение  
ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия*

<sup>2</sup>*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия*

В данном сообщении представлены предварительные результаты исследований по поиску и разработке маркеров мтДНК, полиморфных в популяциях ели сибирской. На основе полногеномного сиквенса мтДНК ели европейской ([http://dendrome.ucdavis.edu/ftp/Genome\\_Data/genome/Paab/](http://dendrome.ucdavis.edu/ftp/Genome_Data/genome/Paab/) (Nystedt, et al., 2013)), с использованием программы Tandem Repeats Finder (Benson, 1999), было отобрано 24 фрагмента, содержащих тандемные повторы. В результате их ресеквенирования у ряда деревьев ели сибирской у двух фрагментов, обозначенных нами как PicMts-2 и PicMts-23, была обнаружена изменчивость. Полиморфный участок фрагмента PicMts-2, расположенный в диапазоне 42031 – 42084 п.о. контига MA\_10325005, был представлен двумя вариантами, один из которых содержит две копии минисателлитного мотива AGTCCGCTTTACCCATTC, а второй – три копии. Для идентификации аллельных вариантов в локусе PicMts-2 продукт амплификации (1543 – 1561 п.о.) с парой праймеров F:GGCCTACCTCTAAGGGACTA и R:CAACAAAACACCCATACAGA перед электрофорезом в 6% полиакриламидном геле обрабатывался эндонуклеазой AluI. Исследование 21 популяции ели сибирской показало, что аллель с 3 копиями мотива является общим для всех изученных популяций, второй аллель – обнаружен лишь в одной из алтайских популяций, причем с высокой частотой встречаемости – 43.3%.

Аналогичный методический подход был использован при анализе фрагмента PicMts-23, микросателлитный участок которого расположен в диапазоне 36156 – 36179 п.о. контига MA\_10362105. Амплификация этого фрагмента проводилась с праймерами F:ССТСТААТСТТТАТТТГТТСТГ и R:AGCTCATCTTTGTTTCATTCАА, а выявление полиморфизма осуществлялось путем рестрикции ПЦР продукта (1541 – 1553 п.о.) эндонуклеазой *Hinf*I и последующего электрофореза в 6% полиакриламидном геле. Идентифицированные аллельные варианты локуса PicMts-23 соответствовали 3, 4 и 5 повторам мотива AGTAAG. Наиболее распространенным в изученных популяциях ели сибирской оказался аллель с 4 повторами. Аллель с 3 повторами встречался в шести популяциях, а аллель с 5 повторами – лишь в одной популяции у одного дерева.

Кроме того, в 15 популяциях ели сибирской была исследована изменчивость митохондриального локуса mh44, описанного ранее (Bastien et al., 2003) у ели европейской. Амплификация проводилась с парой праймеров F:GTCCCAGAACTCACAGCTTTA и R:TTCACTTGATACTCACCCSS. Разделение продуктов амплификации осуществлялось в 2% агарозном геле. Выявленные аллельные варианты этого локуса были ресеквенированы с той же парой праймеров. Обнаружено 13 аллелей, различающихся по числу повторов 32 нуклеотидного минисателлитного мотива. В соответствии с обозначением аллельных вариантов по Bastien et al. (2003) изменчивость локуса mh44 у ели сибирской может быть представлена, как (PaTR1)<sub>1-13</sub>+(PaTR2b)<sub>1</sub>. Число аллелей в отдельных популяциях варьировало от 1 до 9. Наиболее распространенным оказался аллель, представленный одной копией мотива (в среднем частота более 50%). Средние частоты остальных аллелей не превышали 10%, хотя в отдельных популяциях встречаемость некоторых из них достигала

значительных величин. Так, в изолированной популяции с острова Ольхон частота аллеля, представленного шестью копиями мотива, составила 83%. Полиморфизм исследованных нами локусов мтДНК свидетельствует о том, что они могут быть использованы в популяционно-генетических исследованиях ели сибирской.

Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант 13-04-00777 а).

### **The development of mtDNA markers for population genetic studies of Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.)**

Ekart A.K.<sup>1</sup>, Semerikov V.L.<sup>2</sup>, Polezhaeva M.A.<sup>2</sup>, Semerikova S.A.<sup>2</sup>, Dymshakova O.S.<sup>2</sup>,  
Kravchenko A.N.<sup>1</sup>, Larionova A.Ya.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center RAS, Siberian Branch Solitary Unit V.N. Sukachev Institute of Forest SB RAS, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology UB RAS, Ekaterinburg, Russia*

In this report some preliminary results of studies on the identification and development of mtDNA markers polymorphic in populations of Siberian spruce are presented. Based on whole-genome mtDNA sequence of Norway spruce ([http://dendrome.ucdavis.edu/ftp/Genome\\_Data/genome/Paab/](http://dendrome.ucdavis.edu/ftp/Genome_Data/genome/Paab/) (Nystedt et al., 2013)) and program Tandem Repeats Finder (Benson, 1999) 24 fragments that contains tandem repeats were selected. As a result of resequencing these fragments in a number of Siberian spruce trees the variability was detected in two of them, designated by us as PicMts-2 and PicMts-23. A polymorphic region of the fragment PicMts-2, located in the range of 42031 up to 42084 bp of contig MA\_10325005, was represented by two variants, one of which contains two copies of minisatellite motif AGTCCGCTTTACCCATTC, and the second – three copies. To identify allelic variants of the locus PicMts-2 the product of amplification (1543 – 1561 bp) with a pair of primers F:GGCCTACCTCTAAGGGACTA and R:CAACAAAACACCCATACAGA before electrophoresis in 6% polyacrylamide gel was treated by the endonuclease AluI. A study of 21 populations of Siberian spruce showed that allele comprising three copies of the motif was common to all studied populations, the second allele was found only in one of the Altai populations with high frequency of occurrence – 43.3%.

The same methodological approach was used for the analysis of the fragment PicMts-23, microsatellite site of which is situated in the range of 36156 up to 36179 bp of contig MA\_10362105. Amplification of this fragment was performed with primers F:CCTCTAATCCTTTATTTGTTTCG and R:AGTCATCTTTGTTTCATTCAA, and the identification of polymorphism was carried out by restriction of the PCR product (1541 – 1553 bp) by the endonuclease *HinfI* and subsequent electrophoresis in a 6% polyacrylamide gel. The identified allelic variants of the locus PicMts-23 corresponded to 3, 4, and 5 repeats of AGTAAG motif. The most common in the studied populations of Siberian spruce was the allele with 4 tandem repeats. The allele with 3 repeats met in six populations, and the allele with 5 repeats – in one tree in a single population only.

In addition, the variability of the mitochondrial locus mh44 described earlier (Bastien et al., 2003) in Norway spruce was studied in 15 Siberian spruce populations. Amplification was carried out with a pair of primers F:GTCCAGAACTCACAGCTTTA and R:TTCACCTTGATACTCACCCCC. Separation of the amplification products was performed in 2% agarose gel. The identified allelic variants of this locus were resequenced the same pair of primers. It found 13 alleles differing in the number of repeats of 32 nucleotide minisatellite motif. In accordance with the designation of allelic variants according to Bastien et al. (2003), the variability of mh44 locus in Siberian spruce may be represented as (PaTR1)<sub>1-13</sub>+(PaTR2b)<sub>1</sub>. The number of alleles in individual populations varied from 1 to 9. The most common allele (frequency more than 50%, on average) was submitted by one copy of the motif. The average frequencies of the other alleles did not exceed 10%, although in individual populations the occurrence of some of them

reached significant values. So, in an isolated population from the Olkhon Island the frequency of allele represented by six copies of a motif, was 83%. Polymorphism of the studied loci mtDNA suggests that they can be used for population genetic studies of Siberian spruce.

This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant no. 13-04-00777 a).

### ***Wolbachia* у чешуекрылых насекомых Хабаровского края: разнообразие и филогенетический анализ гаплотипов бактерии**

Юдина М.А.<sup>1,2</sup>, Быков Р.А.<sup>1</sup>, Дубатолов В.В.<sup>3</sup>, Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup>*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*

<sup>3</sup>*Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия*

Бактерии рода *Wolbachia* – это матерински-наследуемые внутриклеточные симбионты членистоногих и некоторых нематод. Генетическое разнообразие этого рода разделяют на более чем полтора десятка супергрупп (филетических линий), две из которых наиболее часто представлены у насекомых. *Wolbachia* описана у представителей всех главных отрядов насекомых, из которых наиболее изучены симбиотические ассоциации чешуекрылых, перепончатокрылых и двукрылых насекомых. Но даже внутри этих отрядов остается много таксономических групп, которые еще не изучены на инфицированность. У бабочек *Wolbachia* выявлена в 17 семействах, в то время как весь отряд насчитывает до 200 семейств. Целью данной работы является определение статуса инфицированности и установление генетического разнообразия *Wolbachia* у видов чешуекрылых насекомых, большинство из которых рассматриваются впервые.

Проанализировано 255 видов чешуекрылых насекомых, всего 519 образцов, собранных на территории Хабаровского края. Инфицированность *Wolbachia* показана для 34 видов бабочек, принадлежащих к 11 семействам, в пяти из которых бактерия обнаружена впервые. Анализ генотипических профилей изолятов симбионта выявил как широко распространенные у чешуекрылых гаплотипы, так и новые генотипические профили *Wolbachia*. Выявлены факты мультиинфицированности бабочек, которые можно объяснить 1) горизонтальным переносом бактерии от других видов насекомых, 2) дивергенцией штаммов в одной родословной линии. В докладе, на основании анализа наших и литературных данных, дается характеристика распространенности *Wolbachia* в целом для отряда Lepidoptera и приводятся филогенетические данные генетического разнообразия бактерии *Wolbachia* у представителей отряда.

Поддержано РФФИ № 16-04-00980 и БП № 0324-2016-0002.

### ***Wolbachia* symbiont in Lepidoptera hosts of Khabarovsk region: Diversity and phylogenetic analysis of bacterial haplotypes**

Yudina M.A.<sup>1,2</sup>, Bykov R.A.<sup>1</sup>, Dubatolov V.V.<sup>3</sup>, Ilinsky Yu.Yu.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

<sup>3</sup>*Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk, Russia*

*Wolbachia* bacteria are maternally-inherited endosymbionts that are found in arthropods and some nematodes. Genetic diversity of this genus is subdivided into over a dozen supergroups (phyletic lines), two of which are the most abundant in insects. *Wolbachia* symbionts have been found in all main insect orders, and three orders, in particular Lepidoptera, Hymenoptera and Diptera, are the most studied. However, in these orders there are many taxa unexamined yet. For

instance, *Wolbachia* in Lepidoptera were reported in 17 families although this order contains about 200 families. Here we try to find *Wolbachia* infection and to characterize isolates in Lepidoptera species that were not studied earlier.

In total 255 species and 519 samples that were collected in Khabarovsk region were examined. *Wolbachia* infection was found in 34 species of 11 families, the infection in five families was found for the first time. Analysis of *Wolbachia* multilocus haplotypes had revealed both widespread in Lepidoptera variants and new ones. We also found some facts of multi-infection that could be interpreted by 1) horizontal transmission of symbiont between different hosts and, 2) divergence of ancestral haplotype within host lineage. In the report, we present genetic pattern of *Wolbachia* in Lepidoptera based on the original findings and data that were earlier reported by other authors. Supported by RFBR № 16-04-00980 and BP № 0324-2016-0002.

### Полиморфизм популяций неморальных реликтов черневых лесов гор Южной Сибири

Ямских И.Е.<sup>1</sup>, Куцев М.Г.<sup>2</sup>, Мариничева А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>2</sup>Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

Неморальные реликты – уникальная группа растений, сохранившаяся в составе черневых лесов Алтая, Кузнецкого Алатау, Западного и Восточного Саян, Хамар-Дабана с третичного времени. Объекты наших исследований – *Anemone baicalensis* Turcz. ex Ledeb., *Brunnera sibirica* Stev., *Cruciata krylovii* (Iljin) Pobed., *Galium odoratum* L., *Stachys sylvatica* L., *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch, *Waldsteinia tanzybeica* Stepanov – относятся к числу неморальных реликтов и занесены в сводки редких и исчезающих растений различного уровня. Эти виды характеризуются дизъюнктивными ареалами и имеют ограниченное распространение на территории гор Южной Сибири. К настоящему времени отсутствуют сведения о морфологической и генетической структуре их популяций. Цель работы заключается в анализе генетического полиморфизма популяций третичных реликтов.

Генетический полиморфизм популяций реликтов изучали с помощью RAF-PCR (Randomly Amplified DNA Fingerprinting) ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeats) и RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA) методов. Внутривидовое разнообразие оценивали с помощью таких показателей, как процент полиморфных локусов ДНК ( $P$ , %), генетическое разнообразие Нея, информационный индекс Шеннона. В качестве меры межвидовой дифференциации популяций использовали коэффициент подразделенности ( $G_{ST}$ ). Генетические дистанции ( $D$ ) между популяциями определяли по формуле М. Нея (1978).

В ходе исследований выявлено, что *Anemone baicalensis*, *Waldsteinia ternata* и *W. tanzybeica*, имеющие узкие и разорванные ареалы южно-сибирского типа, характеризуются сравнительно низким уровнем генетической изменчивости ( $P=47-69\%$  для популяций ветреницы и  $P=40-71\%$  для вальдштейний) и высокой степенью межвидовой дифференциации (коэффициент подразделенности составляет 0.31 и 0.44 соответственно). Это связано с их консервативной реликтовой природой, ограниченным распространением и длительной генетической изоляцией. Встречаются только в пределах черневых лесов Западного Саяна и Хамар-Дабана. Морфологические и генетические различия двух видов вальдштейнии подтверждают их видовую обособленность. *Brunnera sibirica* и *Cruciata krylovii* также произрастают только на территории Южной Сибири, однако вследствие достаточно широкой экологической амплитуды по отношению к увлажнению, они встречаются как в черневых, так и в подтаежных и горно-таежных лесах. Для популяций данных видов характерен относительно высокий уровень генетической изменчивости ( $P=80-97\%$ ) и средняя степень дифференциации (коэффициент подразделенности составляет 0.20 и 0.18 соответственно). Для *Stachys sylvatica* и *Galium odoratum*, обладающих широкими ареалами евразийского типа, отмечается очень высокий уровень внутривидового

генетического полиморфизма (90-100%) и слабая степень генетической дифференциации (коэффициент подразделенности – 0.09 и 0.14). Например, популяции чистеца лесного, обитающие в разных частях ареала, демонстрируют очень высокую степень генетического сходства (значения коэффициента Нея не превышают  $D=0.08$ ).

Работа выполнена при поддержке КГАУ «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» в рамках участия в конкурсе по организации научных стажировок студентов, аспирантов и молодых ученых.

### **Nemoral relics population polymorphism from Southern Siberian mountainous chern forests**

Yamskikh I.E.<sup>1</sup>, Kutzev M.G.<sup>2</sup>, Marinicheva A.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia*

<sup>2</sup>*Altaysky State University, Barnaul, Russia*

Nemoral relics is an unique group of plants, preserved from the Tertiary period in chern forests (chern forests - *Abies sibirica* and *Populus tremula* humid forests which are replaced Tertiary broadleaf forests) in Southern Siberian mountains (Altay, Kuznetsk Alatau, Western and Eastern Sayan Mountains and Khamar-Daban). Objects of our research - *Anemone baicalensis* Turcz. ex Ledeb, *Brunnera sibirica* Stev, *Cruciata krylovii* (Iljin) Pobed, *Galium odoratum* L., *Stachys sylvatica* L., *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch, *Waldsteinia tanzybeica* Stepanov are the nemoral relics that listed in the Red Data Books at various levels. These species are characterized by disjunctive areals and have limited distribution in Southern Siberian mountains. There are no data about morphological and genetic structure of their populations.

The major goal is to analyze genetic polymorphism of Tertiary relict populations. Genetic polymorphism was studied by RAF-PCR (Randomly Amplified DNA Fingerprinting) ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeats) and RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA) techniques. Intrapopulation diversity was assessed using indicators such as the percentage of polymorphic DNA loci ( $P$ , %), Nei's genetic diversity, Shannon information index. Coefficient  $G_{ST}$  was used as a measure of interpopulation population differentiation. Genetic distance ( $D$ ) between populations was determined by the formula M. Ney (1978). *Anemone baicalensis*, *Waldsteinia ternata* and *W. tanzybeica* are grown only in chern forests. They have narrow and isolated areals of the Southern Siberian type, characterized by a relatively low level of genetic variation ( $P=47-69\%$  for *Anemone* and  $P=40-71\%$  *Waldsteinia* populations) and a high degree of inter-population differentiation (coefficient  $G_{ST}$  is 0.31 and 0.44, correspondingly). Southern Siberian areals formed due to their conservativatism, limited distribution and longtime genetic isolation. The morphological and genetic differences between two species of *Waldsteinia* confirmed their species isolation. *Brunnera sibirica* and *Cruciata krylovii* are distributed also only in South Siberia. However, due to relatively wide ecological humidity amplitude they are expanded not only in chern forests, but in the sub-taiga and mountain taiga altitudinal belts as well. Populations of these species are characterized by a relatively high level of genetic variation ( $P=80-97\%$ ) and average degree of differentiation ( $G_{ST}$  is 0.20, and 0.18, correspondingly). *Stachys sylvatica* and *Galium odoratum* have of the Eurasian areal type, characterized by very high level of intra-population genetic polymorphism (90-100%) and low degree of genetic differentiation ( $G_{ST}$  is 0.09 and 0.14). For example, populations of *Stachys sylvatica* from various locations evidence high degree of genetic similarity (Nei coefficient does not exceed  $D=0.08$ ).

Supported by "Krasnoyarsk Regional Fund of scientific and technical activities support" within the framework of participation in the tender for the organization of scientific training of students and young scientists.

## ISSR-анализ полиморфизма подроста *Quercus robur* L. на заброшенных сельскохозяйственных землях

Янбаев Р.Ю.

Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

Изменение аграрного сектора экономики России привело к значительному увеличению неиспользуемых площадей (Залесов и др., 2010; Люри и др., 2010) – начиная с 90-х годов прошлого века заброшены около 43 млн га сельскохозяйственных угодий. Большая часть этой территории зарастает разнообразной древесно-кустарниковой растительностью. Масштабность этого процесса и высокая стоимость рекультивации земель могут в ближайшем будущем потребовать их перевод в лесной фонд. Соответственно, актуальным становится исследование особенностей генофонда новых лесов с целью подготовки рекомендаций для практики лесного хозяйства.

Лесозарастание бывших сельскохозяйственных земель в первую очередь осуществляется главным образом видами-пионерами - сосной обыкновенной, березой повислой и осиной. Однако в ходе обследования дубравы на северной границе ареала (Куединский район Пермского края) в ООПТ «Дубовая гора» на заброшенном пастбище, примыкающем к хвойно-широколиственному насаждению с участием в виде примеси дуба черешчатого, нами обнаружен участок относительно интенсивного зарастания подростом этого вида. На заложенной там пробной площади (дано название DGun1) случайным образом отобраны 32 растения, листья которых использованы для ISSR-анализа полиморфизма. Выборка подроста DGun2 того же объема отобрана под пологом древостоя в «окнах» возобновления.

Для характеристики полиморфизма выборок подроста нами использован метод ISSR-анализа (Inter Simple Sequence Repeats). Выделение ДНК проводили из листьев 32 растений на одну выборку. Для проведения лабораторного анализа использованы праймеры, ранее применявшиеся при исследованиях в других дубравах дуба черешчатого Южного Урала (Янбаев, 2017): M1, M3, M27, X1 и X11. Для разделения продуктов амплификации использовался электрофорез в 1.7 %-ном агарозном геле (в 1x TBE буфере). Окрашивание осуществлялось в растворе с бромистым этидием, фотографирование - в проходящем ультрафиолетовом свете. Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с применением компьютерной программы POPGENE 1.31 и специализированного макроса GenAlEx6. Для характеристики полиморфизма и дифференциации выборок применены следующие параметры: доля полиморфных локусов  $P_{95}$  с использованием 5 %-ного критерия полиморфности, среднее число аллелей  $N_A$ , эффективное число аллелей  $N_E$ , ожидаемая гетерозиготность  $H_E$ , показатель подразделенности выборок  $G_{ST}$ . Методы проведенных исследований более подробно описаны в работах (Молекулярная..., 2007; Янбаев, 2017).

Праймеры M1, M3, M27, X11 и X1 позволили установить, что при объединении всех растений в одну группу доля полиморфных фрагментов ДНК составляет 61,9 %, 80,0 %, 81,0 %, 79,2 %, 81,0 % и 76,6 %%, соответственно. У подроста на заброшенном пастбище обнаружены 76 полиморфных вариантов, под пологом древостоя – 68. При этом по всем праймерам первая выборка была полиморфнее или же доля полиморфных фрагментов была одинакова в обеих группах. В группах подроста DGun1 и DGun2 установлены следующие средние показатели полиморфизма ДНК:  $H_E=0.215\pm 0.017$  и  $0.208\pm 0.017$ ,  $N_A=1.77\pm 0.43$  и  $1.66\pm 0.47$  ( $1.94\pm 0.23$ ),  $N_E=1.35\pm 0.35$  и  $1.33\pm 0.32$ , соответственно.

Таким образом, при зарастании заброшенного пастбища у подроста дуба черешчатого по всем использованным показателям формируется более высокая полиморфность, чем под пологом леса. Для оценки уровня этих различий можно воспользоваться данными по другому нашему исследованию (Янбаев, 2017). В нем с использованием тех же праймеров сравнивается полиморфизм выборки подроста (ARun) природного древостоя (находится в зоне широколиственных насаждений с высоким участием дуба черешчатого на территории



Архангельского района Республики Башкортостан), деревьев прилегающего к нему участка лесных культур (выборка ARse1) и их потомства естественного происхождения (ARse2). Получены следующие показатели полиморфизма ДНК:  $H_E=0.202\pm 0.016 - 0.249\pm 0.015$ ,  $N_A=1.75\pm 0.43 - 1.86\pm 0.35$ ,  $N_E=1.31\pm 0.31 - 1.40\pm 0.31$ . Таким образом, несмотря на географическую изоляцию и небольшое число деревьев репродуктивного возраста полиморфизм в насаждении «Дубовая гора» если и снижен, то ненамного. Более высокие показатели выборки DGun1, по сравнению с группой подроста DGun2 мы объясняем тем, что под пологом древостоя меньше возможностей для пространственного распространения желудей на относительно большие расстояния, что видимо приводит к их большей локализации вблизи материнских деревьев. Повышенный полиморфизм подроста на заброшенном пастбище, наоборот, может быть объяснен снижением уровня семейной кластеризации из-за большей дальности разноса семян, возможно – животными и птицами.

Доля межвыборочного генетического разнообразия в общем разнообразии (показатель подразделенности выборок)  $G_{ST}$  по праймерам M1, M3, M27, X11 и X1 в пермском насаждении и на участке естественного возобновления составил значения 0.226, 0.065, 0.053, 0.129 и 0.062 (в среднем 0.099). Этот уровень выше, чем в архангельских выборках, почти в 1.5 раз. Там лишь  $6.7\pm 0.6\%$  генетической изменчивости приходится на долю ее межвыборочной составляющей. Кроме того, по отдельным праймерам он изменяется незначительно (0.089, M1; 0.052, M3; 0.065, M27; 0.069, X11; 0.061, X1). Большую вариабельность уровня межвыборочной подразделенности подроста насаждения «Дубовая гора» по отдельным праймерам можно объяснить географической изоляцией дубравы и небольшой численностью плодоносящих особей (несколько десятков), вследствие чего возрастает роль случайных факторов в формировании изменчивости потомства.

Исследованная в данной работе дубрава не представляет собой насаждение, характерного для широколиственных лесов Южного Урала с доминированием или большим участием в составе дуба черешчатого. В то же время ее исследование поможет пролить свет, как формируется генофонд популяций на границе ареала вида. Кроме научного значения таких работ, на их основе можно прогнозировать процессы формирования генетического разнообразия в «пограничных» популяциях при расширении ареала из-за глобального изменения климата – возможность этого сценария в научной среде в последние годы активно обсуждается.

### **ISSR-analysis of polymorphism in the undergrowth of *Quercus robur* L. on abandoned agricultural lands**

Yanbaev R.Y.

*Bashkir State Agrarian University, Ufa, Russia*

Changes in the agrarian sector of the Russian economy led to a significant increase in unused area (Zalesov et al., 2010; Lurie et al., 2010) – since the 90-ies of the last century about 43 million hectares of agricultural land was abandoned. A large part of this area is overgrown with various trees and shrubs. The magnitude of this process and the high cost of reclamation may lead to need of transferring them to the forest Fund. Accordingly, the study of gene pool of new forests with the aim of preparing recommendations for the practice of forestry becomes actual.

The former agricultural land is mainly overgrown with species-pioneers - scots pine, birch and aspen. However, the survey of the oaks on the northern border of the area (Kueda district of the Perm region) of «Dubovaya gora» in an abandoned pasture adjacent to coniferous and broad-leaved planting with the participation of admixtures of *Quercus robur*, we found the area relatively intensive overgrowing of this species undergrowth. On its plot (named DGun1) we randomly selected 32 plants, the leaves of which were used for ISSR analysis of polymorphism. A sample of the undergrowth DGun2 of the same amount selected under the canopy of the forest in regeneration "windows".

For the polymorphism characterization of the undergrowth samples we used the method of ISSR analysis (Inter Simple Sequence Repeats). DNA extraction was performed from leaves of 32 plants per selection. For laboratory analysis of the used primers previously used in studies in other oak forests of pedunculate oak in the Southern Urals (Yanbaev, 2017).

Primers M1, M3, M27, X11 и X1 has allowed to establish, that if to consider all the plants as one group, the proportion of polymorphic DNA fragments is 61.9%, 80.0%, 81.0%, 79.2%, 81.0% and 76.6 percent, respectively. The undergrowth on an abandoned pasture detected 76 polymorphic variants, under the canopy of the forest – 68. In this case, among all the primers the first sample was more polymorphic or the proportion of polymorphic fragments was similar in both groups. In groups of undergrowth DGun1 and DGun2 the following average values of DNA polymorphism was established:  $H_E=0.215\pm 0.017$ , and  $0.208\pm 0.017$ ,  $N_A=1.77\pm 0.43$  and  $1.66\pm 0.47$  ( $1.94\pm 0.23$ ),  $N_E=1.35\pm 0.35$  and  $1.33\pm 0.32$ , respectively.

Thus with the overgrowing of the abandoned pasture, a higher polymorphism of all the used parameters is formed in the young tree of the pedunculate oak, than under the canopy of the forest. To assess the level of these differences, one can use the data of our research (Yanbaev, 2017). Using the same primers, the polymorphism of the growing sampling (ARun) of the natural tree stand is compared (located in the zone of deciduous plantations with a high density of the pedunculate oak in the Arkhangelsk region of the Republic of Bashkortostan), the trees of the adjacent forest crop (sampling ARse1) and their natural progeny Origin (ARse2). The following parameters of DNA polymorphism were obtained:  $H_E=0.202\pm 0.016$  -  $0.249\pm 0.015$ ,  $N_A=1.75\pm 0.43$  -  $1.86\pm 0.35$ ,  $N_E=1.31\pm 0.31$  -  $1.40\pm 0.31$ . Thus, despite the geographical isolation and a small number of trees of reproductive age, the polymorphism in the "Dubovaya Gora" plantation, if reduced, not to a high extend. The higher DGun1 sample size, compared with the DGun2 young growth group, is explained by the fact that under the tree canopy there are fewer possibilities for spatial distribution of acorns over relatively large distances, which apparently leads to their greater localization near the mother trees. The increased polymorphism of the young growth on the abandoned pasture, on the contrary, can be explained by a decrease in the level of family clustering due to the greater seed spreading, possibly by animals and birds.

The share of inter-sample genetic diversity in general diversity (an indicator of differentiation of samples)  $G_{ST}$  for the primers M1, M3, M27, X11 and X1 in Perm implantation and in the area of natural regeneration made up 0.226, 0.065, 0.053, 0.129 and 0.062 (0.099 on the average). This level is almost 1.5 times higher than in Arkhangelsk samples. There only  $6.7\pm 0.6\%$  of genetic variation is accounted for by its inter-sample component. In addition, for individual primers it is modified slightly (0.089, M1; 0.052, M3; 0.065, M27; 0.069, X11; 0.061, X1). The great variability of the inter-sample differentiation level of the "Dubovaya gora" plantation undergrowth for individual primers can be explained by the geographical isolation of oak woods, and a small number of fruiting individuals (a few tens), so that the role of random factors in shaping the variability of the offspring increases.

The oak stand investigated in this work is not a forest typical of deciduous forests of the Southern Urals with dominance or a large share of pedunculate oak. At the same time its study will help to shed some light on the way the gene found of populations on the border of species area is formed. Besides the scientific value of such works they may help to predict processes of genetic diversity formation in "boundary" populations during the species area expansion due to global climate change – the possibility of this scenario in the scientific community in recent years has been actively discussed.

## Состояние дубрав Южного Урала и результаты изучения полиморфизма микросателлитной ДНК дуба черешчатого

Янбаев Р.Ю.<sup>1</sup>, Деген Б.<sup>2</sup>, Янбаев Ю.А.<sup>3</sup>, Редькина Н.Н.<sup>3</sup> Габитова А.А.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

<sup>2</sup>Институт лесной генетики Тюнена, Германия

<sup>3</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) на Южном Урале обладает рядом характеристик, которые могут отражаться на генетическом разнообразии популяций и их дифференциации. По территории региона проходит восточная географическая граница ареала вида, что предопределяет экстремальность условий его существования. Дубовые леса здесь расположены на геоморфологических элементах разного исторического возраста, в том числе в Камско-Бельском понижении (в равнинном Башкирском Предуралье), на западных склонах Южного Урала, Уфимском и Зилаирском плато, встречаются также в низкогорьях восточных склонов Южного Урала. Дубравы относятся к различным растительным зонам Башкортостана: широколиственнолесной зоне с подзонами широколиственно-хвойных лесов и широколиственных лесов, лесостепи и степи, они сформировались за счет расселения в послеледниковый период из местных рефугиумов и миграции из убежищ Поволжья. Существовавшие ранее интенсивные генетические потоки между насаждениями Башкирского Предуралья в настоящее время могут быть разрушены из-за фрагментации лесов в ходе многовекового сельскохозяйственного освоения территории, и-за чего лесистость в Республике Башкортостан снизилась с 72% до менее чем 40%, а доля насаждений с преобладанием дуба в общей лесопокрытой площади уменьшилась почти на 44%. Из-за указанных антропогенных, а также естественных причин большое число дубрав представлено географически изолированными насаждениями восточнее основной границы ареала. В течение нескольких последних десятилетий происходила деградация дубовых лесов в результате воздействия неблагоприятных природно-климатических процессов (в первую очередь, из-за экстремально низких зимних температур), сопровождающихся распространением заболеваний и периодическим увеличением численности энтомовредителей. Поэтому перед лесохозяйственной отраслью региона остро стоят вопросы о будущем дуба в регионе, о перспективах его естественного и искусственного воспроизводства. Для ответа на них могут быть полезными результаты молекулярно-биологических исследований с применением современных генетических маркеров.

Нами с применением 9 микросателлитных локусов в 8 насаждениях исследованы уровни генетического разнообразия и межпопуляционной дифференциации дуба черешчатого на территориях Республики Башкортостан, Оренбургской области и Пермского края. Установлено, что указанные выше природные и антропогенные процессы и факторы не привели к сравнительно большим изменениям в генофонде популяций. Об этом свидетельствуют сравнительно близкие значения аллельного разнообразия и гетерозиготности выборок, а также относительно небольшие генетические расстояния между ними.

## **Conditions of oak forests in the Southern Urals and results of investigations of microsatellite DNA polymorphism in the pedunculate oak**

Yanbaev R.Y.<sup>1</sup>, Degen B.<sup>2</sup>, Yanbaev Y.A.<sup>3</sup>, Redkina N.N.<sup>3</sup>, Gabitova A.A.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Bashkirian State Agrarian University, Ufa, Russia*

<sup>2</sup>*Tuennen Institute of Forest Genetics, Germany*

<sup>3</sup>*Bashkirian State University, Ufa, Russia*

Pedunculate oak (*Quercus robur* L.) of the Southern Urals has a number of characteristics that can affect the genetic diversity of populations and their differentiation. The eastern geographical species margin passes through this territory. This determines its location outside of the optimal conditions of existence. Oak forests of the region are located on geomorphological elements of different historical ages, including the Kamko-Belsky lowlands (Bashkir Cis-Urals), on the western slopes of the Southern Urals, the Ufa and Zilair plateaus, they found in low hillsides of the eastern slopes of the Southern Urals. Oak forests belong to different vegetation areas of Bashkortostan: broad-leaved forest zone with sub-zones of broad-leaved-coniferous forests and broad-leaved forests, forest-steppes and steppes. They formed due to resettlement in the post-glacial period from local refugia and migration from the shelters of the Volga region. The previously intense genetic flows between the plantations of the Bashkir Preduralis can be now destroyed due to fragmentations of forests during the centuries of agricultural development of the territory. Forests in the Republic of Bashkortostan therefore declined from 72% to less than 40%. The proportion of stands with a predominance of oak in the total forest area has decreased by almost 44%. A large number of oak forests are represented by geographically isolated stands to the east of the main species margin due to these anthropogenic as well as natural processes. The degradation of oak forests over the past few decades has been due to various natural and climatic factors (primarily extremely low winter temperatures). They were accompanied by the spread of diseases and a periodic increase in the number of insects. Therefore, questions about the future of oak in the region and the prospects for its natural and artificial reproduction are acute for the forestry sector in the region. The results of molecular biological studies using modern genetic markers can be useful for answering them.

We investigated the levels of genetic diversity and among-population differentiation of oak stands in the territories of the Republic of Bashkortostan, Orenburg and Perm regions. Nine microsatellite loci are used to study eight stands. It was established that the above-mentioned natural and anthropogenic processes and factors did not lead to comparatively large changes in the gene pool of populations. Relatively close values of allelic diversity and heterozygosity of samples, as well as relatively small genetic distances between them suggest this.

### **О десятилетнем опыте сотрудничества России и Германии по генетике популяций лесных древесных растений**

Янбаев Ю.А.

*Башкирский государственный университет, Уфа, Россия*

Научное сотрудничество России (СССР) и Германии имеет долговременную и успешную историю. В данном сообщении приводится анализ опыта десятилетнего сотрудничества исследовательских групп Института лесной генетики фон Тюнена и университетов Республики Башкортостан по генетике популяций лесных древесных растений, который может быть полезен для понимания перспектив такой кооперации.

В 2007 г. в действующую Программу сотрудничества между Федеративной Республикой Германия и Российской Федерацией в области аграрных исследований, осуществляемой между Министерством продовольствия и сельского хозяйства ФРГ и Российской академией сельскохозяйственных наук, были включены Институт лесной

генетики фон Тюнена (руководитель проекта с немецкой стороны Б. Деген) и Башкирский государственный университет (Ю.А. Янбаев). Впоследствии начатый совместный проект «3/07: Ecological genetic investigations with respect to biodiversity and monitoring» отдельными протоколами продлевался, но уже с Башкирским государственным аграрным университетом, на 2009-2011 и 2012-2013 гг.

Проект предусматривал взаимный обмен специалистами, при котором расходы на ежегодное пребывание приглашенных несла принимающая сторона. В ходе сотрудничества осуществлялись совместные экспедиции, шесть российских участников получили доступ к научной информации и к опыту партнера, возможность освоения новых молекулярно-биологических методов исследований и проведения части экспериментальных работ в ФРГ. В результате кооперации по изучению генетики популяций дуба черешчатого на восточной границе ареала вида достигнуты результаты, отличающиеся научной новизной и практической значимостью (опубликованы в 15 статьях в отечественных и зарубежных изданиях). Сотрудничество позволило российской стороне повысить эффективность подготовки научно-педагогических кадров. Части работы по проекту 3/07 включены в материалы диссертации на соискание ученой степени доктора наук (Редькина, 2009) и трех кандидатский диссертаций (Габитова, 2012; Юсупова, 2012; Янбаев, 2017). Участие в Программе стало платформой для подготовки новых проектов. В рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг. получены средства на проведение Второй международной молодежной научной конференции молодых ученых России и Германии «Научные исследования в современном мире: проблемы, перспективы, вызовы» (2010 г.), Международной конференции с элементами научной школы для молодежи «ЕС - Россия: 7-я Рамочная программа в области биотехнологии, сельского, лесного, рыбного хозяйства и пищи» (2010 г.). Выполнен грант РФФИ 12-04-97047-р\_поволжье\_а «Исследования эффективности межпопуляционного генетического потока у древесных растений в условиях антропогенной фрагментации лесов (на примере дуба черешчатого)» (2012-2013 гг.). С 2014 г. проект 3/07 после присоединения Российской академии сельскохозяйственных наук к Российской академии наук прекратил свое существование. Однако налаженные связи между партнерами из России и Германии позволили разработать новые проекты. В их числе исследование, профинансированное Лесной службой США «US-Russia-Germany: research program to support a robust and reliable timber supply with genetic verification» (2012-2015), посвященное геногеографическим исследованиям лиственниц (*Larix sibirica* Ledeb., *L. gmelinii* (Rupr.) Litv. и *L. olgensis* A. Henry) и дуба монгольского (*Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb). В докладе будет сделано обобщение наиболее важных результатов десятилетнего научного сотрудничества, а также приведена презентация еще неопубликованных данных.

### **On the ten-year experience of cooperation between Russia and Germany in the field of populations genetics of forest tree species**

Yanbaev Y.A.

*Bashkirian State University, Ufa, Russia*

Russia (USSR) and Germany have had an old and successful history of cooperation in the field of science. An analysis of our experience of the ten-year cooperation of research groups of the Thünen Institute of Forest Genetics and two universities of the Republic of Bashkortostan in the field of populations genetics of forest tree species is presented in this report, which may be useful for the understanding of prospects for such cooperation.

The Thünen Institute of Forest Genetics (project leader from the German side is B. Degen) and the Bashkir State University (Y.A. Yanbaev) were included in 2007 into the current Program of cooperation between the Federal Republic of Germany and the Russian Federation in the field of agrarian research (it conducted out by the Ministry of Food and Agriculture of Germany and the

Russian Academy of Agricultural Sciences). Subsequently, the joint project "3/07: Ecological genetic investigations with respect to biodiversity and monitoring" was extended by additional protocols, but with the Bashkir State Agrarian University, for 2009-2011 and 2012-2013.

The project provided a mutual exchange by specialists. The costs for the annual visits of the visitors were supplied by the host country. Joint expeditions were carried out. Six Russian participants had an access to scientific information and to the partner's experience, to a possibility of studying new molecular-biological methods of research and conducting a part of experimental works in Germany. The results, having a scientific novelty and practical significance, were achieved as a result of cooperation in studying the genetics of populations of oak tree spicules on the eastern border of the species margin (they were published in 15 papers in Russian and foreign journals). Cooperation allowed the Russian side to improve the efficiency of the training of scientists. Parts of the project work 3/07 used in dissertations of doctor of science (Redkina, 2009) and three Ph.D. theses (Gabitova, 2012; Yusupova, 2012; Yanbaev, 2017). Participation in the Program has become a platform for new projects. Funds were received for the 2<sup>nd</sup> international scientific conference of young scientists of Russia and Germany "Scientific research in the nowadays world: problems, prospects, challenges" (2010), the international conference with elements of school for youth "EU-Russia: 7th Framework program in the field of biotechnology, agriculture, forestry, fisheries and food "(2010) within the framework of the Federal Target Program" Scientific and Scientific-pedagogical personnel of Innovative Russia" for 2009-2013. The grant of RFBR 12-04-97047-p\_поволжье\_a "Investigations of efficiency of gene flow among populations of forest tree species under conditions of anthropogenic fragmentation of forests (a case study of the pediculate oak)" (2012-2013). The Project 3/07 was completed in 2014 after the accession of the Russian Academy of Agricultural Sciences into the Russian Academy of Sciences. However, the well-established contacts between the partners from Russia and Germany allowed us to develop new projects, including a study funded by the US Forest Service "US-Russia-Germany: research program to support a robust and reliable timber supply with genetic verification" (2012-2015 ). It included genogeographical studies of the larch (*Larix sibirica* Ledeb., *L. gmelinii* (Rupr.) Litv. and *L. olgensis* A. Henry) and the mongolian oak (*Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb). A generalization of the most important results of this ten-year scientific cooperation will be done in the report and a presentation of unpublished data will be provided.

### **A holistic approach to genetic conservation in *Pinus strobiformis***

Waring K.<sup>1</sup>, Cushman S.<sup>2</sup>, Eckert A.<sup>3</sup>, Renteria L. F.<sup>4</sup>, Sniezko R.<sup>5</sup>, Still Ch.<sup>6</sup>, Wehenkel Ch.<sup>7</sup>, Whipple A.<sup>8</sup>, Wing M.<sup>9</sup>

<sup>1</sup>*School of Forestry, Northern Arizona University, Flagstaff, AZ, USA*

<sup>2</sup>*USDA Forest Service, Flagstaff, AZ, USA*

<sup>3</sup>*Virginia Commonwealth University, Richmond, VA, USA*

<sup>4</sup>*San Diego State University; San Diego, CA, USA*

<sup>5</sup>*Dorena Genetic Resource Center, USDA Forest Service, OR, USA*

<sup>6</sup>*Forest Ecosystems and Society, Oregon State University, Corvallis, OR, USA*

<sup>7</sup>*Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera, Universidad Juárez del Estado de Durango, Durango, México*

<sup>8</sup>*Northern Arizona University, Flagstaff, AZ, USA*

<sup>9</sup>*Oregon State University, Corvallis, OR, USA*

A collaborative team of researchers from the US and Mexico have begun an exciting new research project funded by The National Science Foundation's Macrosystems Biology program. We will study ecological and evolutionary processes affecting the distribution of southwestern white pine (*Pinus strobiformis*; SWWP), an important tree species of mixed conifer forests in the Southwest US and Mexico. Sustainability and the ecological function of SWWP is threatened by rapidly changing climate, and a non-native tree disease, white pine blister rust. Our goal is to

determine how gene movement among populations, adaptation to disease and drought, heritable changes beyond DNA mutations, and a changing environment interact to govern the success of southwestern white pine. To meet this goal, we will develop and utilize the following tools: 1) common gardens; 2) epigenetics innovation; 3) tree disease resistance testing; 4) remote sensing and tree physiology; 5) genomics; and 6) landscape ecology and genomics computer modeling.

We established three common gardens using the Southwest Experimental Garden Array, a new genetics-based research platform that allows scientists to quantify the ecological and evolutionary responses of species to changing climate conditions. 51 populations (194 families, 11,764 seedlings) outplanted at 3 different elevations in 2015 and 2016. Growth and adaptive traits are being measured. These include basic tree data plus tree physiology on a subsample. Drought trials are planned for future years. Results will be linked to resistance trials, epigenetic and genetic architecture research, and input into spatial models.

### **Improving the productivity, resistance, and adaptability in poplar – Development of genetic markers for aspen**

von Wuehlisch G., Fladung M.

*Thuenen-Institute for Forest Genetics, Grosshansdorf, Germany*

The joint German-Russian co-operation project with the acronym “MaRussiA” focuses on the improvement of poplar in eastern and western Europe (Russia respectively Germany), where the aspen species *Populus tremula* is indigenous and distributed widely. In economically active target regions of St. Petersburg and Moscow, wood is intensively used and the efficiency of wood production needs to be raised. Large areas of abandoned land can be put into use by producing wood, a renewable resource forecast to be required more intensely in future. Background and objective of the joint research project is the development of genetic markers for marker-assisted selections (MAS). Such markers would represent major advances in forest tree breeding *e.g.* for accelerating the breeding process. Different full-sib families were provided by the Russian partners, and two with the highest progeny numbers were chosen for the establishment of genetic maps. Several hundreds of microsatellite (SSR) markers were tested in the parents for heterozygosity and mapping ability, and 30-40 SSR markers were successfully selected covering all 19 chromosomes. An already available, with SSR- and SNP-markers highly saturated *P. tremula* × *P. tremuloides* map (Pakull et al. 2009) will serve as reference map. The available full-sib progenies will be tested in field trials to phenotype productivity and resistance characters, *e.g.* heart rot and drought. Segregating populations will be identified and QTL analyses for the phenotyped traits will be performed. These QTLs will be mapped on the respective genetic maps and association studies with SSR- and/or SNP-markers will be performed. The SSR- and/or SNP-markers linked to QTLs will be used to screen already available *P. tremula* and *P. tremuloides* total genomic sequences to identify putative candidate genes. Further, crosses between two aspen species, *e.g.* *P. tremula* and *P. tremuloides*, have the side-effect of hybrid vigor or heterosis, meaning the improved quality of traits in a hybrid offspring.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

<b>Автор</b>	<b>Страница</b>	<b>Автор</b>	<b>Страница</b>
Абрамов А.В.	84	Бочарова Е.С.	42
Абрамсон Н.И.	5, 6, 36, 207	Брагина Е.Ю.	11
Авилова К.В.	84	Брандлер О.В.	297
Адамова В.В.	266	Брем Г.	91, 102
Акперов А.И.	323	Брийя Й.	137
Амвросов Д.Ю.	49, 51	Брынцев В.А.	43
Андрианов Б.В.	78	Бурлуцкая М.Ю.	64
Андропова Е.В.	302	Бутовская М.Л.	45
Антонова Е.В.	8, 321	Бутовская П.Р.	45
Антосюк О.Н.	10	Быков Р.А.	46, 111, 331
Артюшин И.В.	84	Вагайцева К.В.	47
Ахметов А.Р.	161	Вальчук О.П.	274
Ахметова В.Л.	151	Васильев В.П.	49, 51
Бабушкина Н.П.	11	Васильев Ю.А.	53
Баженов Ю.А.	207	Васильева Е.Д.	49, 51
Базаров Б.В.	86	Ваулин О.В.	54
Байталюк А.А.	200	Велегжанинов И.О.	236
Баканова М.Л.	241	Велисевич С.Н.	56
Балановская Е.В.	13	Веремейчик В.М.	299
Балановский О.П.	13	Вершубская Г.Г.	133
Балашов Д.А.	15	Ветчинникова Л.В.	58
Банникова А.А.	17, 84, 104	Виммерс К.	91, 102
Барабанова Л.В.	18	Виноградова С.В.	74
Баранова А.И.	20, 123, 305	Внукова Н.И.	119
Барашкова А.Н.	271	Войлоков А.В.	310
Барминцева А.Е.	22, 49, 182	Волков А.А.	200, 219, 320
Бархатов А.С.	266	Волков В.А.	223
Баскевич М.И.	24, 26, 159	Волков Я.А.	74
Батиева Е.Ф.	237	Волкова П.Ю.	156
Бекмухамедов А.А.	28	Володин В.А.	74
Белоконь М.М.	29, 31, 33, 67, 84, 104, 158, 178, 188, 289	Воронецкий В.И.	60
Белоконь Ю.С.	29, 31, 33, 67, 104, 158, 178, 188, 289	Воронова А.Н.	62
Белых Е.С.	236	Габитова А.А.	337
Бёме И.Р.	188	Гаврикова Е.П.	64
Беспрозванных В.В.	328	Гайфуллина Л.Р.	249
Билоконь С.Ю.	33	Галкин А.П.	114
Блехман А.В.	78	Галкина С.А.	18
Бобохужаев Ш.У.	28	Ганджа А.И.	130, 138
Богданов А.С.	26, 278	Гараева А.Ф.	11
Болдбаатар Ш.	259	Гарбар А.В.	166
Болдырев С.В.	154	Гатауллин А.Р.	191, 249
Большаков В. В.	34	Гашев С.Н.	84
Бондарев А.Я.	287	Гераськин С.А.	156
Бондарева О.В.	36	Гладырь Е.А.	193
Боронникова С.В.	37, 64, 161, 189	Гнутиков А.А.	225
Ботвиньев О.К.	39	Година Е.З.	65
Бочарова А.В.	41	Голиков А.М.	67
		Голубцов А.С.	149
		Гомбоева Д.Е.	11
		Гончарова И.А.	11



<b>Автор</b>	<b>Страница</b>	<b>Автор</b>	<b>Страница</b>
Гончарова Р.И.	69	Зиновьева Н.А.	91, 102, 304
Гордеев М.И.	70	Золотарева Е.И.	104
Гордеева Н.В.	72	Зотова А.А.	106
Гориславец С.М.	74	Ибрагимхаджаев С.У.	28
Горошкевич С.Н.	76, 289	Иванеха Е.В.	15, 107
Горошко О.А.	176	Иванов П.Ю.	89
Горячева И.И.	78	Иванова А.Д.	109
Грачева А.С.	53, 80	Иванова С.А.	41
Григоренко Е.Л.	186	Илинский Ю.Ю.	46, 111, 331
Григоркина Е.Б.	82	Ильинов А.А.	113
Грицышин В.А.	84, 231	Ильяшенко Е.И.	176
Громов А.Р.	172	Имекина (Долинина) Д.О.	145
Грошева А.Н.	237	Инге-Вечтомов С.Г.	114, 280
Гущина Е.С.	202	Иовлева О.В.	114
Давыдов А.В.	20	Кабилов М.Р.	86
Дамбуева И.К.	86	Калашников А.Е.	134, 193
Деген Б.	337	Калашникова Л.А.	134
Демидова Е.Ю.	88	Калинин А.А.	115
Денисенко А.Д.	89, 240	Кальченко Л.И.	289
Денискова Т.Е.	91, 102, 304	Камалов Р.М.	117
Джапаридзе Л.А.	36	Камалова И.И.	117, 119
Джаубермезов М.А.	151	Камионская А.М.	74
Дикий И.В.	33	Капустина С.Ю.	297
Дмитриев С.Г.	159	Карпеченко И.Ю.	218
Доцев А.В.	91, 102	Карпеченко Н.А.	218
Дубатолов В.В.	331	Картавцев Ю.Ф.	121
Дуброва Ю.Е.	93, 94	Карунас А.С.	151
Дубровная О.В.	229	Каскинова М.Д.	191
Дубурс Г.Я.	69	Кашенцева Т.А.	176
Дудников А.Ю.	95	Кашинина Н.В.	123
Дума В.В.	15, 107	Каштанов С.Н.	124, 126
Дума Л.Н.	15, 107	Кипень В.Н.	128, 130, 138
Дымшакова О.С.	329	Кирилук В.Е.	271
Ельников А.Н.	170	Климов А.В.	227
Енджеевска Б.	287	Кловач Н.В.	170
Ермаков О.А.	109	Кобец М.Н.	132
Ефимов В.М.	289	Кобец Ю.Н.	132
Ефимова А.П.	31, 217	Ковалевская В.Б.	237
Животовский Л.А.	97	Ковпак Н.Е.	257
Жигунов А.В.	99, 223	Козлов А.И.	133
Жукова О.В.	186	Козлова О.Н.	302
Жуланов А.А.	37	Коломейцев С.Г.	123
Журина Н.В.	130, 138	Колосова А.А.	74
Загоскина А.С.	204	Коновалов А.Д.	225
Зарецкая М.В.	301	Конусова О.Л.	202
Захаров Е.С.	31, 33, 84, 287	Коптев В.В.	134
Захаров И.А.	78	Корец М.А.	293
Зацепина К.Г.	289	Корнилова Т.И.	135
Звягин А.С.	295	Косицына А.И.	89
Зеленина Д.А.	101, 170, 272, 282	Костин Д.С.	137
Землемерова Е.Д.	231	Котова С.А.	130, 138, 299, 312

<b>Автор</b>	<b>Страница</b>	<b>Автор</b>	<b>Страница</b>
Кравченко А.Н.	329	Минина В.И.	241
Крамаренко А.С.	304	Миронова Т.А.	24, 172
Кривоногов Д.М.	24, 314	Михайлова Е.И.	18
Крутовский К. В.	29, 139, 254	Морева И.Н.	173
Кузищин К.В.	256	Морозова И.Ю.	237
Кулиев В.М.	140	Москаев А.В.	70
Куликов В.В.	123	Мудрик Е.А.	29, 176, 178
Кулланда С.В.	237	Муха Д.В.	179, 204
Курбатова О.Л.	53, 80, 142	Мухаметзянова А.Ш.	10
Кухлевский А.Д.	197, 257	Мухин И.А.	181
Куцев М.Г.	332	Мюге Л.Н.	182
Кучер А.Н.	11, 143, 202	Мюге Н.С.	22, 49, 182, 184, 282
Лавренченко Л.А.	137, 172	Найденко С.В.	271
Лавряшина М.Б.	145	Наумова О.Ю.	186
Лада А.Г.	280	Недзвецкая Д.Э.	312
Лазебная И.В.	147, 204	Нечаева А.В.	188
Лазебный О.Е.	45, 147	Нечаева Ю.С.	37, 189
Лайшев К.А.	304	Низовцев Д.С.	84
Ларионова А.Я.	329	Николенко А.Г.	191, 249
Лебедев В.С.	104, 231	Новак К.	193
Лебедева М.В.	99, 223	Новикова Т.Н.	169
Левенкова Е.С.	124	Овчинникова Н.Ф.	195
Лёвин Б.А.	149	Одинцова В.В.	186
Левкоев Э.А.	223	Олейник А.Г.	197, 257
Литвинов С.С.	151	Оленев Г.В.	82
Лопичева О.Г.	181	Орешкова Н.В.	254
Лхагважаргал С.	259	Орлов А.М.	200
Любашевский Н.М.	152	Орлов В.Н.	314
Лялина Е.В.	154	Орлова Е.А.	106
Мазунин И.О.	46	Орлова С.Ю.	200
Майстренко Т.А.	236	Островерхова Н.В.	202
Макаренко Е.С.	156	Охлопков И.М.	91, 304
Макеева В.М.	158	Оюн Н.Ю.	204, 284
Маликов В.Г.	278	Павличенко В.В.	225
Малыгин В.М.	159	Павлов П.М.	287
Мамедова Н.Х.	323	Павлов С.Д.	272
Мариничева А.Н.	332	Павлов Ю.И.	280
Маркевич Г.Н.	282	Павлова Е.В.	271
Мартыненко Н.А.	161	Павлова С.В.	115, 206
Мартынов В.В.	316	Пардаев А.Р.	28
Марусин А.В.	41	Петрова Е.А.	56
Маслов А.А.	163	Петрова Т.В.	6, 207
Медведев Д.А.	49, 51	Петросян В.Г.	251
Межжерин С.В.	166	Пильганчук О.А.	89, 209, 240
Мельник П.Г.	167	Плис К.	287
Мельнов С.Б.	128	Победоносцева Е.Ю.	53, 80
Мещерский И.Г.	124, 126	Позолотина В.Н.	321
Милованов А.В.	295	Полежаева М.А.	329
Милютин Л.И.	169	Политов Д.В.	29, 31, 33, 67, 84, 158, 176, 178, 211, 268, 287, 289
Минеева Т.В.	170		
Минеева Т.М.	101		

<b>Автор</b>	<b>Страница</b>	<b>Автор</b>	<b>Страница</b>
Полякова О.И.	213	Сарычев Е.И.	188
Полякова Т.А.	29, 178, 215, 217, 218	Сафронова Л.Д.	251
Поморцев А.А.	154	Свищева Г.Р.	126, 284
Пономарева Е.В.	219, 256	Селиванова Д.С.	88
Пономарева М.В.	219	Семенова А.В.	253
Попов А.В.	221	Семериков В.Л.	254, 329
Поскряков А.В.	249	Семерикова С.А.	254, 329
Постельных К.А.	176	Семке А.В.	41
Потапов С.Г.	26	Сергеев А.А.	256
Потокина Е.К.	99, 223	Сердюкова А.П.	119
Поярков А.Д.	287	Сермягин А.А.	102
Пришневская Я.В.	64	Сирин А.А.	163
Протопопова М.В.	225	Сиротова А.А.	234
Прошкин Б.В.	227	Скурихина Л. А.	197, 257
Пустовойт С.П.	228	Слуквин А.М.	69
Путинцева Ю. А.	254	Слынько Е.Е.	259, 261
Пучнина Е.В.	89	Слынько Ю.В.	261, 263
Пыкало С.В.	229	Смирнова М.А.	200
Пылина Я.И.	236, 291	Смуров А.В.	158
Радченко О.А.	173	Снегин Э.А.	266
Раевский Б.В.	112	Снегина Е.А.	266
Ракитин С.Б.	82	Соболева О.А.	241
Распопова А.А.	231	Соколов В.В.	268
Рачек Е.И.	49, 51	Соловьева А.Д.	304
Редькина Н.Н.	337	Соловьёва Е.Н.	109
Редько А.Н.	53	Солодовник Д.А.	270
Рейер Х.	91, 102	Сомова М.М.	124
Рекубратский А.В.	15, 107	Сорокин П.А.	271
Рембала К.	138	Сошнина В.А.	101, 272
Рисованная В.И.	74	Спивак Е.А.	312
Рожнов В.В.	124, 126	Спиридонова Л.Н.	274
Романов А.Г.	145	Спицын В.А.	276
Романов Д.А.	78	Спицына Н.Х.	276
Рубцов А.С.	233	Стариченко В.И.	152
Рудко А.А.	11	Стахеев В.В.	278
Румянцев Д.Е.	234	Стегний В.Н.	280
Русанов А.В.	158	Степанов В.А.	41, 47
Рутовская М.В.	104	Степченкова Е.И.	280
Рыбак А.В.	236	Стоклицкая Д.С.	101, 282
Рыбакова В.И.	312	Столповский Ю.А.	284
Рыжкова А.В.	241	Страдомский Б.В.	278
Рычков С.Ю.	186, 237	Строганов А.Н.	253
Рябцева А.О.	130, 138, 312	Сурин В.Л.	88, 109
Савенков В.В.	240	Суслов В.В.	111
Савченко Я.А.	241	Сулова Е.Г.	158
Салимов В.С.	243	Схальяхо Р.А.	145
Салменкова Е.А.	72, 246	Талала М.С.	287
Саломашкина В.В.	248	Тараканов В.В.	289
Салтыкова Е.С.	191, 249	Тарасов О.В.	82
Сапельников С.Ф.	24	Татонова Ю.В.	270, 328
		Тереханова Н.В.	184

<b>Автор</b>	<b>Страница</b>	<b>Автор</b>	<b>Страница</b>
Тесаков А.С.	207	Чернодубов А.И.	315
Тетерина А.А.	200	Чернышенко О.В.	234
Тетерюк Л.В.	291	Чижик В.К.	316
Тимошина И.А.	132	Шадрин Д.М.	236, 291
Титов А.Ф.	58	Шайкевич Е.В.	318
Тихенко Н.Д.	310	Шалгимбаева Г.М.	320
Тихонова И.В.	289, 293	Шаповалова Е.А.	266
Ткачѳв А.В.	289	Шатохина А.В.	29, 178, 217
Тонких А.К.	28	Шварц Е.А.	26
Трофимова Н.В.	151	Шималина Н.С.	321
Трошин Л.П.	295	Шихлинский Г.М.	323
Трувеллер К.А.	297	Шкутѳ Н.А.	325
Тухбатуллин А.Р.	297	Шпигальская Н.Ю.	89, 209, 240
Тхоренко Б.А.	145	Шубина Е.А.	219
Тычинских З.А.	145	Шуваев Д.Н.	289
Удина И.Г.	45, 53, 299	Шулимова Е.А.	326
Ульянич П.С.	99, 223	Шуменко П.Г.	328
Ульянова М.В.	145	Щегольков А.В.	314
Урум А.В.	284	Щепетов Д.М.	200
Учаева В.С.	45, 53	Щипанов Н.А.	115, 206
Фахрутдинова В.В.	289	Экарт А.К.	289, 329
Федоренко О.М.	301	Юдина М.А.	46, 111, 331
Федоренко О.Ю.	41	Ямских И.Е.	332
Федорова М.В.	318	Янбаев Р.Ю.	334, 337
Филиппов Е.Г.	302	Янбаев Ю.А.	337, 338
Филиппова О.В.	132		
Формозов Н.А.	109		
Фрейдин М.Б.	11		
Хайнце Б.	161		
Харзинова В.Р.	304		
Харьков В.Н.	47		
Хидиятова И.М.	151		
Хляп Л.А.	26, 104		
Холодова М.В.	20, 123, 248, 305		
Хрусталева А.М.	307		
Хусаинова Р.И.	151		
Хуснутдинова Э.К.	151		
Царев А.П.	308		
Цветаева Н.В.	88		
Цветкова Н.В.	310		
Цитриков Д.Ю.	11		
Цыбовский И.С.	128, 130, 138, 299, 312		
Цэндсурѳн Ц.	284		
Чадин И.Ф.	236, 291		
Чанкина О.В.	289		
Чекалова Т.М.	106		
Чекунова А.И.	251		
Челомина Г.Н.	62		
Чепинога В.В.	225		
Черепанова Е.В.	24, 314		

## INDEX OF AUTHORS

<b>Author</b>	<b>Page</b>	<b>Author</b>	<b>Page</b>
Abramov A.V.	85	Bolshakov V.V.	34
Abramson N.I.	5, 7, 36, 208	Bondarev A.Ya.	288
Adamova V.V.	267	Bondareva O.V.	36
Akhmetov A.R.	162	Boronnikova S.V.	38, 65, 162, 190
Akhmetova V.L.	151	Botvinyev O.K.	40
Akparov A.I.	325	Bragina E.Yu.	12
Aminov N.Kh.	165	Brandler O.V.	298
Amvrosov D.Yu.	50, 52	Brem G.	92, 103
Andrianov B.V.	79	Bryja J.	137
Andronova E.V.	303	Bryntsev V.A.	44
Aneva I.	8	Burlutskaya M.Y.	65
Antonova E.V.	9, 322	Butovskaya M.L.	46
Antosyuk O. N.	11	Butovskaya P.R.	46
Artyushin I.A.	85	Bykov R.A.	47, 112, 331
Aviolva K.V.	85	Chadin I.F.	237, 292
Babushkina N.P.	12	Chankina O.V.	290
Bailón-Soto C.E.	16	Chekalova T.M.	107
Baitaliuk A.A.	201	Chekunova A.I.	252
Bakanova M.L.	243	Chelomina G.N.	63
Balanovskaya E.V.	14	Chepinoga V.V.	226
Balanovsky O.P.	14	Cherepanova E.V.	25, 314
Balashov D.A.	16	Chernodubov A.I.	316
Bannikova A.A.	18, 85, 105	Chernyshenko O.V.	236
Barabanava L.V.	19	Cherosov M.M.	286
Baranova A.I.	21, 123, 306	Chizhik V.K.	317
Barashkova A.N.	271	Cushman S.	340
Barhatov A.S.	267	Dambueva I.K.	87
Barmintseva A.E.	23, 50, 183	Darvish J.	278, 279
Baskevich M. I.	25, 27, 161	Davydov A.V.	21
Batieva E.F.	239	Degen B.	338
Bazarov B.V.	87	Demidova E.Y.	88
Bazhenov Yu.A.	208	Denisenko A.D.	90, 241
Bekmukhamedov A.A.	29	Deniskova T.E.	92, 103, 305
Belokon M.M.	30, 32, 34, 68, 85, 105, 159, 179, 188, 290	Dmitriyev S.G.	161
Belokon Yu.S.	30, 32, 34, 68, 105, 159, 179, 188, 290	Dotsev A.V.	92, 103
Belykh E.S.	237	Dubatolov V.V.	331
Beme I.R.	188	Dubrova Y.E.	94, 95
Bergmann F.	97	Dubrovnaya O.V.	230
Besprozvannykh V.V.	328	Duburs G.J.	70
Bilokon S.Yu.	34	Dudnikov A.Ju.	96
Blekhman A.V.	79	Duma L.N.	16, 108
Bobokhujaev Sh.U.	29	Duma V.V.	16, 108
Bocharova A.V.	42	Dyky I.V.	34
Bocharova E.S.	43	Dymshakova O.S.	330
Bogdanov A.S.	27, 279	Dzhaparidze L.A.	36
Boldbaatar Sh.	260	Dzhaubermezov M.A.	151
Boldyrev S.V.	155	Eckert A.	340
		Efimov V.M.	290
		Efimova A.P.	32, 217
		Ekart A.K.	290, 330

<b>Author</b>	<b>Page</b>	<b>Author</b>	<b>Page</b>
Elnikov A.N.	171	Ilyashenko E.I.	177
Ermakov O.A.	110	Ilynov A.A.	113
Evtimov I.	8, 97	Imekina (Dolinina) D.O.	146
Fagernäs Z.	286	Inge-Vechtomov S.G.	114, 281
Fakhrutdinova V.V.	290	Iovleva O.V.	114
Fedorenko O.M.	301	Ivanekha E.V.	16, 108
Fedorenko O.U.	42	Ivanov P.Yu.	90
Filipstsova O.V.	132	Ivanova A.D.	110
Fladung M.	341	Ivanova S.A.	42
Formozov N.A.	110	Jędrzejewska B.	288
Freidin M.B.	12	Kabilov M.R.	87
Fyodorova M.V.	319	Kalashnikov A.E.	134, 194
Gabitova A.A.	338	Kalashnikova L.A.	134
Gagov V.	97	Kalchenko L.I.	290
Gaifullina L.R.	250	Kalinin A.A.	115
Galkin A.P.	114	Kamalov R.M.	118
Galkina S.A.	19	Kamalova I.I.	118, 120
Gandzha A.I.	131, 139	Kamionskaya A.M.	75
Garaeva A.F.	12	Kapustina S.Yu.	298
Garbar A.V.	166	Karpechenko I.Y.	219
Gashev S.N.	85	Karpechenko N.A.	219
Gataullin A.R.	192, 250	Kartavtsev Yu.Ph.	122
Gavrikova E.P.	65	Karunas A.S.	151
Geras'kin S.A.	157	Kashentseva T.A.	177
Gladyr E.A.	194	Kashinina N.V.	123
Gnutikov A.A.	226	Kashtanov S.N.	125, 127
Godina E.Z.	66	Kaskinova M.D.	192
Golikov A.M.	68	Kazlova V.N.	303
Golubtsov A.S.	150	Kharkov V.N.	48
Gomboeva D.E.	12	Kharzinova V.R.	305
Goncharova I.A.	12	Khidiyatova I.M.	151
Goncharova R.I.	70	Kholodova M.V.	21, 123, 249, 306
Gordeev M.I.	71	Khrustaleva A.M.	308
Gordeeva N.V.	73	Khusainova R.I.	151
Gorislavets S.M.	75	Khusnutdinova E.K.	151
Goroshkevich S. N.	77, 290	Kipen V.N.	129, 131, 139
Goroshko O.A.	177	Kiriliuk V.E.	271
Goryacheva I.I.	79	Klimov A.V.	227
Gracheva A.S.	53, 81	Klovach N.V.	171
Granlund K.	79	Kobets M.N.	132
Grigorenko E.L.	187	Kobets Yu.N.	132
Grigorkina E.B.	83	Kolomeytsev S.G.	123
Gritsyshin V.A.	85, 232	Kolosova A.A.	75
Gromov A.R.	173	Konovalov A.D.	226
Grosheva A.N.	239	Konusova O.L.	203
Guliyev V.M.	141	Koptev V.V.	134
Gushchina E.S.	203	Korets M.A.	294
Heinze B.	16, 162	Kornilova T.I.	136
Hlyap L.A. (Khlyap L.A.)	27, 105	Kositsina A.I.	90
Ibragimhadjaev S.U.	29	Kostin D.S.	137
Ilinsky Yu.Yu.	47, 112, 331	Kotova S.A.	131, 139, 300, 313

<b>Author</b>	<b>Page</b>	<b>Author</b>	<b>Page</b>
Kovalevskaya V.B.	239	Mezhzherin S.V.	166
Kovpak N.E.	258	Mikhailova E.I.	19
Kozlov A.I.	133	Milovanov A.V.	296
Kramarenko A.S.	305	Milyutin L.I.	170
Kravchenko A.N.	330	Mineeva T.M.	101
Krивonogov D.M.	25, 314	Mineeva T.V.	171
Krutovsky K.V.	30, 140, 255, 286	Minina V.I.	243
Kucher A.N.	12, 144, 203	Mironova T.A.	25, 173
Kukhlevsky A.D.	198, 258	Moreva I.N.	174
Kulikov V.V.	123	Morozova A.	175
Kullanda S.V.	239	Morozova I.Yu.	239
Kurbatova O.L.	54, 81, 143	Moskaev A.V.	71
Kutzev M.G.	333	Mudrik E.A.	30, 177, 179, 286
Kuzishchin K.V.	257	Mugue L.N.	183
Lada A.G.	281	Mugue N.S.	23, 50, 183, 185, 283
Larionova A.Ya.	330	Mukha D.V.	180, 205
Lavrenchenko L.A.	137, 173	Mukhametzyanova A.S.	11
Lavryashina M.B.	146	Mukhin I.A.	181
Layshev K.A.	305	Naidenko S.V.	271
Lazebnaya I.V.	148, 205	Naumova O.Yu.	187
Lazebny O.E.	46, 148	Nechaeva A.V.	188
Lebedev V.S.	105, 232	Nechaeva Yu.S.	38, 190
Lebedeva M.V.	100, 224	Nedzvedskaya D.E.	313
Levenkova E.S.	125	Nikolenko A.G.	192, 250
Levin B.A.	150	Nizovtsev D.S.	85
Levkoev E.A.	224	Novak K.	194
Lhagvajargal S.	260	Novikova T.N.	170
Litvinov S.S.	151	Odintsova V.V.	187
Lopicheva O.G.	181	Okhlopkov I.M.	92, 305
Lyalina E.V.	155	Oleinik A.G.	198, 258
Lyubashevsky N.M.	153	Olenev G.V.	83
Makarenko E.S.	157	Oreha J.	199
Makeeva V.M.	159	Oreshkova N.V.	255
Malikov V.G.	279	Orlov A.M.	201
Malygin V.M.	161	Orlov V.N.	314
Mamedova N.Kh.	325	Orlova E.A.	107
Marinicheva A.N.	333	Orlova S.Yu.	201
Mariscal-Lucero S. del R.	16	Ostroverkhova N.V.	203
Markevich G.	283	Ovchinnikova N.F.	195
Martynenko N.A.	162	Oyun N.Yu.	205, 285
Martynov V.V.	317	Pardaev A.R.	29
Marusin A.V.	42	Pavlichenko V.V.	226
Maslov A.A.	165	Pavlov P.M.	288
Maystrenko T.A.	237	Pavlov S.D.	273
Mazunin I.O.	47	Pavlov Y.I.	281
Medvedev D.A.	50, 52	Pavlova E.V.	271
Mehdiyeva S.P.	165	Pavlova S.V.	116, 206
Melnik P.G.	168	Petrosyan V.G.	252
Melnov S.B.	129	Petrova E.A.	57
Meng J.	286	Petrova T.V.	7, 208
Mescherskii I.G.	125, 127	Philippov E.G.	303

<b>Author</b>	<b>Page</b>	<b>Author</b>	<b>Page</b>
Pilganchuk O.A.	90, 210, 241	Rybakova V.I.	313
Plis K.	288	Rychkov S.Yu.	187, 239
Pobedonostseva E.Yu.	54, 81	Ryzhkova A.V.	243
Polezhaeva M.A.	330	Safronova L.D.	252
Politov D.V.	30, 32, 34, 68, 85, 159, 177, 179, 212, 269, 286, 288, 290	Salimov V.S.	245
Polyakova O.I.	214	Salmenkova E.A.	73, 247
Polyakova T.A. (Poliakova T.A.)	30, 179, 216, 217, 219, 286	Salomashkina V.V.	249
Pomortsev A.A.	155	Saltykova E.S.	192, 250
Ponomareva E.V.	220, 257	Sapelnikov S.F.	25
Ponomareva M.V.	220	Sarychev E.I.	188
Popov A.V.	222	Savchenko Ya.A.	243
Poskrjakov A.V.	250	Savenkov V.V.	241
Postelnykh K.A.	177	Selivanova D.S.	88
Potapov S.G.	27	Semenova A.V.	253
Potokina E.K.	100, 224	Semerikov V.L.	255, 330
Poyarkov A.D.	288	Semerikova S.A.	255, 330
Pozolotina V.	322	Semke A.V.	42
Presnenskaya Y.V.	65	Serdyukova A.P.	120
Proshkin B.V.	227	Sergeev A.A.	257
Protopopova M.V.	226	Sermyagin A.A.	103
Puchnin E.V.	90	Shadrin D.M.	237, 292
Pustovoit S.P.	229	Shaikevich E.V.	319
Putintseva Yu.A.	255	Shalgimbayeva G.M.	321
Pykalo S.V.	230	Shapovalova E.A.	267
Pylina Ya.I.	237, 292	Shatokhina A.V.	30, 179, 217, 286
Rabtsava A.A.	131, 139, 313	Shcepetov D.M.	201
Rachek E.I.	50, 52	Shchegol'kov A.V.	314
Radchenko O.A.	174	Shchipanov N.A.	116, 206
Raevsky B.V.	113	Shikhlinski H.M.	325
Rakitin S.B.	83	Shilkina E.A.	286
Raspopova A.A.	232	Shimalina N.	322
Rebala K.	136	Shpigalskaya N.Yu.	90, 210, 241
Recoubratsky A.V.	16, 108	Shubina E.A.	220
Redkina N.N.	338	Shulimova E.A.	327
Redko A.N.	54	Shumenko P.G.	328
Renteria L. F.	340	Shuvaev D.N.	290
Reyer H.	92, 103	Shvarts E.A.	27
Reyes-Martínez A.	16	Sirin A.A.	165
Risovannaya V. I.	75	Sirotova A.A.	236
Romanov A.G.	146	Skhalyaho R.A.	146
Romanov D.A.	79	Skurikhina L.A.	198, 258
Rozhnov V.V.	125, 127	Škute N.(Shkute N.)	175, 199, 326
Rubtsov A.S.	234	Slukvin A.M.	70
Rudko A.A.	12	Slynko E.E.	260, 262
Rumyantsev D.E.	236	Slynko Yu.V.	262, 265
Rusanov A.V.	159	Smirnova M.A.	201
Rutovskaya M.V.	105	Smurov A.V.	159
Rybak A.V.	237	Snegin E.A.	267
		Snegina E.A.	267
		Sniezko R.	340
		Soboleva O.A.	243



<b>Author</b>	<b>Page</b>	<b>Author</b>	<b>Page</b>
Sokolov V.V.	268	Tukhbatullin A.R.	298
Solodovnik D.A.	270	Tychinskih Z.A.	146
Solovieva A.D.	305	Uchaeva V.S.	46, 54
Solovyeva E.N.	110	Udina I.G.	46, 54, 300
Somova M.N.	127	Ulianich P.S.	100, 224
Sorokin P.A.	271	Ulyanova M.V.	146
Soshnina V.A.	101, 273	Urum A.V.	285
Spiridonova L.N.	275	Vagaitseva K.V.	48
Spitsyn V.A.	277	Valchuk O.P.	275
Spitsyna N.Kh.	277	Vasil'ev V.P.	50, 52
Spivak E.A.	313	Vasil'eva E.D.	50, 52
Stakheev V.V.	279	Vasiliev Yu.A.	54
Starichenko V.I.	153	Vaulin O.V.	55
Stegniy V.N.	280	Velegzhaninov I.O.	237
Stepanov V.A.	42, 48	Velisevich S.N.	57
Stepchenkova E.I.	281	Veremeichik V.M.	300
Still Ch.	340	Vershubskaya G.G.	133
Stoklitskaya D.S.	101, 283	Vetchinnikova L.V.	59
Stolpovsky Yu.A.	285	Vinogradova S.V.	75
Stradomsky B.V.	279	Vnukova N.I.	120
Stroganov A.N.	253	Volkov A.A.	201, 220, 321
Sullivan A.R.	286	Volkov V.A.	224
Surin V.L.	88, 110	Volkov Y.A.	75
Suslov V.V.	112	Volkova P.Yu.	157
Suslova E.G.	159	Volodin V.A.	75
Svishcheva G.R.	127, 285	von Wuehlisch G.	341
Talala M.S.	288	Voronetsky V.I.	61
Tarakanov V.V.	290	Voronova A.N.	63
Tarasov O.V.	83	Voylokov A.V.	311
Tatonova Y.V.	270, 328	Wang X.-R.	286
Tcitrikov D.Yu.	12	Waring K.	340
Terekhanova N.	185	Wehenkel Ch.	16, 340
Tesakov A.S.	208	Whipple A.	340
Teterina A.A.	201	Wimmers K.	92, 103
Teteryuk L.V.	292	Wing M.	340
Tihonova I.V.	290, 294	Wohlmuth A.	16
Tikhenko N.D.	311	Yamskikh I.E.	333
Timoshyna I.A.	132	Yanbaev R.Y.	335, 337
Titov A.F.	59	Yanbaev Y.A.	337, 339
Tkachev A.V.	290	Yudina M.A.	47, 112, 331
Tkhorenko B.A.	146	Zagoskina A. S.	205
Tonkikh A.K.	29	Zakharov E.S.	32, 34, 85, 286, 288
Trofimova N.V.	151	Zakharov I.A.	79
Troshin L.P.	296	Zaretskaya M.V.	301
Truveller K.A. (Treheller C.A.)	297	Zatsepina K.G.	290
Tsarev A.P.	309	Zelenina D.A.	101, 171, 273, 283
Tsensursen Ts.	285	Zemlemerova E.D.	232
Tsvetaeva N.V.	88	Zhao W.	286
Tsvetkova N.V.	311	Zhelev P.	8, 97
Tsybovsky I.S.	129, 131, 139, 300, 313	Zhigunov A.V.	100, 224
		Zhivotovsky L.A.	98

<b>Author</b>	<b>Page</b>
Zhukova O.V.	187
Zhulanov A.A.	38
Zhurina N.V.	131, 139
Zinovieva N.A.	92, 103, 305
Zolotareva E.I.	105
Zotova A.A.	107
Zviagin A.S.	296

## Спонсоры конференции

### ООО «СкайДжин»

Компания **SkyGen** – быстрорастущий игрок на рынке продукции для life science лабораторий в России и СНГ. Мы обеспечиваем быстрые поставки оборудования, пластика и реактивов, а также специализируемся на сервисном обслуживании. Мы предлагаем гибкие условия работы и большой ассортимент продукции. Большая часть производителей в нашем портфолио - это прямые, эксклюзивные поставки продукции таких компаний, как New England Biolabs, Macherey-Nagel, Agilent Technologies, Nimagen, EdgeBio, IDT, Bio Molecular Systems, Opentrons, Dornier, Gilson, CAPP, GEB, NeoFroxx.

Компания SkyGen представляет широкий выбор продукции для генной инженерии по доступным ценам, включая широкое портфолио ДНК-полимераз, эндонуклеаз рестрикции, лигаз и др., реагентов для CRISPR/Cas9, реагентов для создания библиотек ДНК для NGS (Illumina, ION), компетентные клетки и многое другое.

115093, г. Москва, ул. Люсиновская д.36 стр.1,  
Тел.: +7 (495) 215-02-22, бесплатная линия: 8 800 333-12-26,  
info@skygen.com, www.skygen.com

### ООО «Диаэм»

Компания **Диаэм** – крупнейший поставщик современного лабораторного оборудования на Российском рынке. Каталог компании насчитывает более 500 000 наименований приборов, реагентов и расходных материалов для медицинских и научно-исследовательских лабораторий.

В каталоге компании представлено оборудование таких ведущих фирм, как: Abcam, Binder, Thermo, Bio-Rad, Corning, Eppendorf, Olympus, Nikon, Zeiss, Sanyo, Sigma-Aldrich.

- Антитела и наборы для проведения иммунологических исследований
- Биохимические и гематологические анализаторы
- Гистологическое оборудование: микротомы, системы проводки препаратов и окраски
- ИФА-анализ: сканеры, промыватели и термостаты для планшет
- Конфокальные и мультифотонные системы
- Микроскопы исследовательского уровня и для рутинных работ
- Генетические анализаторы для проведения скрининга наследственно обусловленных заболеваний
- CO<sub>2</sub>-инкубаторы и термостаты
- Системы изучения и оценки экспрессии генов
- Шкафы биологической безопасности для работы с биологическими пробами
- Наборы и реагенты для проведения эпигенетических исследований

129345, г. Москва, ул. Магаданская, д. 7 корп. 3,  
Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный)  
Отдел продаж: sales@dia-m.ru, www.dia-m.ru

Подписано в печать 10.04.17 г.  
Усл.п.л. 44,25  
Тираж 191 экз.

Отпечатано в типографии «ВАШ ФОРМАТ»  
г. Москва, ул. Донская, 32.  
(495)749-45-84  
[www.kniga-premium.ru](http://www.kniga-premium.ru)



Ю.П. Алтухов – анализ мономорфизма как явления реального в природе



Лаборатория популяционной генетики им. академика Ю.П. Алтухова (06 апреля 2017 г.):

нижний ряд, слева направо: к.б.н., с.н.с. Тетушкин Е.Я.; к.б.н., с.н.с. Полякова Т.А.; асп. Талала М.С.; к.б.н., с.н.с. Шатохина А.В.; н.с. Гордон Н.Ю.; к.б.н., с.н.с. Мудрик Е.А.; д.б.н., зав.лаб. Политов Д.В.;

верхний ряд, слева направо: н.с. Белоконь Ю.С.; в.н.с., к.б.н. Салменкова Е.А.; к.б.н., с.н.с. Гордеева Н.В.; д.б.н., г.н.с. Курбатова О.Л.; к.б.н., н.с. Грачева А.С.; к.б.н., с.н.с. Белоконь М.М.

Юрий Петрович Алтухов (1936-2006) - выдающийся генетик-популяционист, академик РАН, организатор науки, директор Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (1992-2006), основатель и руководитель (1972-2006) лаборатории популяционной генетики ИОГен РАН, автор сотен фундаментальных научных трудов, в том числе 5 монографий, основатель отечественной научной школы популяционной генетики.

