

На правах рукописи

В. Фазалова

Фазалова Варвара Равильевна

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ
ОСОБЕННОСТЕЙ ПОПУЛЯЦИЙ НА ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2012

Работа выполнена в лаборатории геносистематики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологического института Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск.

Научный руководитель:

доктор биологических наук
Щербаков Дмитрий Юрьевич
заведующий лабораторией геносистематики,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Лимнологический институт
Сибирского отделения Российской академии наук,
г. Иркутск

Официальные оппоненты:

кандидат биологических наук
Мюге Николай Сергеевич
и.о. заведующего лабораторией популяционной
биологии, Всероссийский научно-
исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии, г. Москва

доктор биологических наук
Политов Дмитрий Владиславович
заведующий лабораторией популяционной
генетики, Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки Институт общей
генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии
наук, г. Москва

Ведущее учреждение:

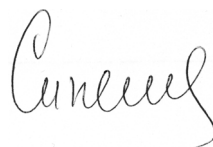
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт проблем экологии и
эволюции имени А.Н. Северцова Российской
академии наук, г. Москва

Защита диссертации состоится 29 ноября 2012 г. в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 002.214.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, д. 3. Тел. (499) 135-62-13, факс: (499) 132-89-62, e-mail: aspirantura@vigg.ru, адрес в Интернете: www.vigg.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН.

Автореферат разослан ____ февраля 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Т.А. Синельщикова

Общая характеристика работы

Актуальность. Исследование механизмов формирования современного генетического разнообразия является одним из важнейших разделов биологии. При изучении факторов, влияющих на генетическую структуру популяций, существует сложность выбора подходящего маркера для адекватного отражения процессов на популяционном уровне; кроме того, изменение частот генов в природных популяциях протекает очень медленно, в так называемом эволюционном масштабе времени. Тем не менее, в последние несколько лет в этой области произошел значительный прогресс, обусловленный двумя причинами. Во-первых, при исследовании генетического разнообразия популяций все более широко стали использоваться молекулярные маркеры благодаря доступности методологии секвенирования нуклеотидных последовательностей. Во-вторых, прогресс вычислительных технологий привел к развитию теоретических исследований с применением индивидуально-ориентированных моделей эволюционной динамики популяций (например, Semovski et al., 2004), целью которых стало исследование механизмов тех эволюционных событий, которые из-за своей длительности не могут быть исследованы экспериментальным путем.

Генетическая структура популяций зависит от баланса противодействующих процессов, направленных на увеличение или потерю генетического разнообразия (Алтухов, 2003). Например, генетическое разнообразие популяции может быть увеличено при появлении мутаций, установлении потока генов с соседствующей популяцией, или при воздействии балансирующего отбора. С другой стороны, снижение генетического разнообразия может произойти, под влиянием генетического дрейфа (в некоторых случаях опосредованного снижением численности популяций) или под давлением очищающего отбора.

Генетическое разнообразие популяций определяется частотами генов, причем распространение генов зависит от выживания и последующего размножения отдельных особей в популяции. В свою очередь, вероятность выживания и размножения отдельной особи определяется демографическими особенностями популяции: максимальной продолжительностью жизни, уровнем смертности ювенильных особей, возрастом половозрелости, числом потомков. В цикле исследований Шварца (1980) была описана взаимосвязь между возрастной и генетической структурами популяции и необходимость учета демографических особенностей природных популяций при исследовании

эволюционных процессов. Так как в настоящее время накоплен достаточно большой объем данных по молекулярному полиморфизму последовательностей ДНК, большой интерес представляет изучение влияния демографической структуры популяции на эволюцию нейтральных маркеров. Одновременный учет подробностей популяционной структуры и имитация эволюции нейтральных маркеров возможны при использовании индивидуально-ориентированного моделирования. В отличие от детерминированных моделей популяций, которые описывают свойства «средней» особи, пренебрегая индивидуальными характеристиками организмов, индивидуально-ориентированное моделирование способно учитывать взаимодействие отдельных особей, их рост и развитие, а также включает возможность добавления к характеристикам особей нейтральных маркеров эволюции (Semovski et al., 2003; 2004).

Изменение условий окружающей среды часто считают ключевым фактором, вызывающим изменения генетического разнообразия популяций. Причем под изменением условий среды может подразумевается несколько факторов: изменение количества пищи, доступности местообитаний, а также многие абиотические изменения. Многие работы, посвященные влиянию изменений условий среды (глобальных изменений климата) на генетическое разнообразие популяций, подробно исследовали влияние географической изоляции или влияние снижения доступности местообитаний (Hewitt, 2000). Однако влияние изменений условий среды не ограничивается только географическими трансформациями ареалов. Поэтому важно исследовать генетическое разнообразие в тех экосистемах, где при изменении условий окружающей среды не возникала географическая изоляция. В таких экосистемах возможно отличить влияние генетического дрейфа в изолированных популяциях от других факторов, влияющих на генетическое разнообразие популяций, таких как изменение численности или давление отбора. Одним из ярких примеров экосистем, эндемичная часть биоразнообразия которого сформировалась и эволюционировала в условиях географической непрерывности, является озеро Байкал (Kozhov, 1963). Из-за расположения в высоких широтах, озеро очень чувствительно к глобальным изменениям климата, которые были идентифицированы на основании уникальной палеолетописи озера (Грачев и др., 1997; 2002; Bradbury et al., 1994; Colman et al., 1995; Williams, 1997; Grachev et al., 1998; Prokopenko et al., 2001). В работе рассматриваются четыре вида гастропод: *Maackia herderiana* (Lindholm, 1909), *Baicalia carinata* (W. Dybowski, 1875), *B. carinatocostata* (W. Dybowski, 1875), *B. turiformis* (W. Dybowski, 1875). Для сравнительных целей, в работу

были включены данные по амфиподе *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899). Известно, что этот вид легко осуществляет инвазии и быстро увеличивает численность при попадании в новые экосистемы (Panov, 1996; Berezina, 2009), что делает возможным предположить, что он может служить хорошим индикатором доступности пищи и местообитаний. Все четыре вида гастропод и *G. fasciatus* по способу питания являются фильтраторами, и характеризуются сходным рационом питания; наблюдения за содержимым желудков гастропод показали, что они главным образом питаются планктонными диатомовыми водорослями (Roeperstorff et al., 2002). Створки этих диатомей составляют значительную часть осадков озера (их обилие отражает биопродуктивность озера), поэтому представляется возможным использовать палеоклиматическую историю озера для изучения влияния прошлых изменений окружающей среды на популяции этих беспозвоночных. При изучении генетического разнообразия популяций сосуществующих видов при изменении условий окружающей среды, в предыдущих работах возникли трудности при объяснении дифференциальных реакций популяций различных видов из-за большого числа биологических отличий между исследованными видами (Marko et al. 2010). Поэтому в данной работе производится сравнение тех видов беспозвоночных, которые обладают очень сходными биологическими характеристиками. Эта особенность выбора объектов исследования должна позволить выделить факторы, ответственные за различный ответ этих видов на одни и те же изменения окружающей среды.

Цель и задачи исследования. Целью работы являлось исследование влияния изменений окружающей среды и демографической структуры популяций на их генетическое разнообразие. Согласно цели были поставлены следующие задачи:

1. С помощью индивидуально-ориентированной модели популяционной динамики изучить скорость эволюции нейтрального маркера в популяциях, в зависимости от их демографической структуры.
2. Исследовать влияние демографической структуры популяции на изменение генетического разнообразия.
3. Исследовать генетический полиморфизм байкальского эндемичного моллюска *M. herderiana* по митохондриальному гену CO1 (первая субъединица цитохромоксидазы).
4. На основе данных по генетическому полиморфизму, реконструировать демографическую историю *M. herderiana* и истории других видов байкальских

беспозвоночных (на основе известных данных об их популяционном полиморфизме).

5. Провести сравнительный анализ генетического разнообразия и демографических историй нескольких видов байкальских беспозвоночных и соотнести их с основными этапами истории экосистемы Байкала.

Научная новизна. В данной работе впервые с использованием индивидуально-ориентированной модели было исследовано влияние возрастной структуры популяций на скорость накопления замен в нейтральных маркерах и изменение генетического разнообразия. Кроме того, в работе впервые была изучена генетическая дифференциация байкальского эндемичного моллюска *M. herderiana*, нуклеотидные последовательности фрагмента гена CO1 мтДНК были депонированы в GENBANK. Впервые проведена реконструкция демографических историй для популяций пяти видов беспозвоночных озера Байкал, и проведено их сопоставление с палеоклиматической летописью озера.

Практическое значение. Теоретическая модель, исследованная в данной работе, позволяет изучение механизмов нейтральных эволюционных процессов и может быть использована для объяснения механизмов формирования генетического разнообразия популяций. Результаты реконструкции прошлых демографических историй байкальских беспозвоночных могут быть полезны для интерпретации влияния глобальных изменений климата на природные популяции и могут быть привлечены для сохранения существующего биоразнообразия.

Декларация личного участия автора. Основная часть работы выполнялась автором самостоятельно: видовая идентификация гастропод *M. herderiana*, выделение ДНК, амплификация гена CO1 мтДНК, и статистическая обработка молекулярно-генетических данных. Самостоятельно была осуществлена реконструкция демографической истории популяции для этих гастропод, а также для других видов байкальских беспозвоночных (по данным, предоставленным к.б.н. Т.Е. Перетолчиной и Ж.В. Петуниной). Аналитическая оценка скорости молекулярной эволюции в зависимости от демографической структуры популяции была выведена д.ф.-м.н. С.В. Семовским, реализация и анализ модели проводилась под его руководством. Видовая идентификация некоторых гастропод была выполнена совместно с д.б.н. Т.Я. Ситниковой и к.б.н. Н.В. Максимовой. Суммарное личное участие автора в работе составляет около восьмидесяти процентов.

Апробация работы и публикации. Материалы диссертации были представлены

на научно-теоретической конференции молодых ученых, посвященной 85-летию ИГУ (Иркутск, 2003), на III Школе-семинаре молодых ученых, аспирантов и студентов г. Иркутска «Математическое моделирование и информационные технологии» (Ангасолка, 2003), на Международном Малакологическом Конгрессе (Антверпен, 2007), на шестой международной конференции «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure» (Новосибирск, 2008), на международной конференции «Speciation in Ancient Lakes, SIAL V» (Охрид, 2009), на пятой Верещагинской Байкальской Конференции (Иркутск, 2010).

По результатам выполненной работы опубликовано 8 работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах.

Структура и объем диссертации. Работа включает следующие разделы: введение, литературный обзор, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список литературы (241 источник). Диссертация изложена на 130 страницах, содержит 36 рисунков, 9 таблиц и 4 приложения.

Содержание работы

Глава 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В первой части главы рассматриваются факторы, влияющие на генетическое разнообразие популяций, изложена суть концепций нейтральной и около-нейтральной теорий эволюции, и теории молекулярных часов. Далее описаны выдвинутые к настоящему времени гипотезы для объяснения вариации скорости молекулярной эволюции. Рассматриваются подходы к оценке динамики популяционного полиморфизма. Первую часть завершает описание теоретических подходов для исследования эволюционных процессов, в том числе моделирование эволюции нейтральных маркеров. Вторая часть литературного обзора посвящена влиянию климатических изменений на генетическое разнообразие популяций. Рассматриваются различные особенности экосистемы озера Байкал. Первая глава завершается очерком биологии тех видов байкальских беспозвоночных, генетический полиморфизм которых исследуется в данной работе.

Глава 2: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Во второй главе подробно описываются использованные методы. Глава начинается описанием индивидуально-ориентированной модели и экспериментальных данных,

использованных для сравнения с результатами модели. Далее описана методика сбора материала, получение нуклеотидных последовательностей и их анализ.

Описание модели

В работе был использован подход, позволяющий рассматривать особенности эволюции нейтральных последовательностей при различных эволюционных сценариях (Semovski et al. 2003; 2004). Первоначальная версия индивидуально-ориентированной модели популяционной динамики, была разработана д. ф.-м. н. С. В. Семовским. В модели рассматриваются особенности эволюции нейтральных маркеров в зависимости от демографической структуры популяции. Рассматривается популяция, динамика роста которой описывается логистическим уравнением, соответствующим размножению при ограниченных ресурсах. Конкуренция между особями задана гауссовой функцией, аналогично работам (Roughgarden, 1972; Rosenzweig, 1978; Seger, 1985; Dieckmann and Doebeli, 1999). Каждой особи в модели соответствует количественный параметр (фенотип) x , определяющий эффективность использования ресурса, то есть экологическую нишу особи. Данный параметр изменяется непрерывно, его значения находятся в интервале $[-1;1]$. В модели интенсивность конкуренции между особями пропорциональна гауссовой функции распределения с максимумом в нуле и дисперсией σ_c^2 , то есть особи, занимающие похожие экологические ниши, конкурируют сильнее. Организмы размножаются со скоростью, которая зависит от емкости среды (количества ресурса). В модели особи раздельнополы, эволюционная диверсификация возможна при введении дополнительных предположений типа ассортативного скрещивания, или при введении более общей зависимости жизнеспособности потомства от генетического расстояния между родителями (Semovski et al., 2004).

Возникающая эволюционная динамика определяется мутационным давлением и действующим стабилизирующим отбором. Формально динамика популяции, определяемая количественным признаком (фенотипом) x , описывается следующим уравнением:

$$dN(x,t)/dt = rN(x,t) \left[1 - N(x,t)/K(x) \int C(x-y)N(y,t)dy \right],$$

где $N(x,t)$ соответствует количеству организмов, имеющих фенотип x в момент времени t , r – скорость роста популяции, $K(x)$ – функция использования ресурса, $C(x-y)$ – функция конкуренции между особями с фенотипами x и y . Использование ресурса определяется как $K(x) = K_0 \exp\left[-(x-x_0)^2/2\sigma_K^2\right]$, где x_0 – оптимальный фенотип, соответствующий максимуму распределения ресурса, K_0 – емкость среды и σ_K^2 –

дисперсия распределения ресурса. Интенсивность конкуренции между особями, различающимися значением фенотипа, описывается гауссианом $C(x - y) = \exp[-(x - y)^2 / 2\sigma_c^2]$, где $(x - y)$ – различие в фенотипах, σ_c^2 – интенсивность конкуренции. Популяция состоит из равного количества самцов и самок, вероятность образования репродуктивных пар зависит от сходства фенотипов потенциальных родителей.

Для того, чтобы воспроизвести нейтральную эволюцию ДНК в индивидуально-ориентированной модели (при этом моделируется ситуация, в которой линия потомков сохраняет нейтральность эволюционирующей нуклеотидной последовательности, подобной, к примеру, нейтральному участку митохондриального генома) вводился целочисленный вектор с возможными значениями элементов из множества $\{1,2,3,4\}$, что соответствовало возможным нуклеотидам в молекуле ДНК. Предполагалось, что мутации, возникающие в данной последовательности, являются нейтральными, то есть не оказывают воздействия на жизнеспособность организмов. Каждый потомок наследует материнскую последовательность, которая способна мутировать с вероятностью μ на поколение на одну последовательность (особь). Каждая особь женского пола (самка) передает потомкам нейтральный участок генома, представленный 1000 нуклеотидами, что соответствует наследованию митохондриального генома от матери (Semovski et al. 2003). При передаче потомкам, в последовательности может возникать мутация с вероятностью 0.2 . Такая относительно высокая вероятность мутаций предполагает «сжатие» числа нескольких поколений в одно, что позволяет сократить время компьютерных вычислений, не искажая общей картины эволюции. В случае мутации случайно выбранный нуклеотид равновероятно принимает значения от 1 до 4. На каждом шаге моделирования определяется среднее расстояние (как число различий) между нейтральными последовательностями всех особей и первоначальной предковой последовательностью (общей для всех особей). Скорость молекулярной эволюции на момент t (время t измеряется в шагах модели, которые представляют собой сезоны размножения) определяется как среднее для популяции расстояние от нейтральных последовательностей на момент t до первоначальной нейтральной последовательности (которая в данной модели была взята общей для всей популяции), отнесённое к t .

Для сравнения результатов модели с экспериментальными данными, в работе было проведено исследование зависимости скорости накопления нуклеотидных замен от возрастной структуры популяции. В первом примере, использовался ген *CytB*

митохондриальной ДНК от различных биологических параметров у представителей отряда *Testudines* (*Черепахи*). Выбор этого отряда был обусловлен несколькими причинами. Во-первых, представители отряда являются достаточно древними для того, чтобы иметь высокий уровень полиморфизма мтДНК. Во-вторых, для представителей этого отряда на момент проведения работы были доступны как данные о генетическом полиморфизме мтДНК, так и данные по особенностям биологии видов. Кроме этого, существуют свидетельства о том, что виды из этого отряда длительное время находятся под действием стабилизирующего отбора (такой же тип отбора рассматривается и в модели) из-за свойственного им консерватизма экологических ниш (Wiens and Graham, 2005; Ernst and Lovich, 2009; Stephens and Wiens, 2009). Для молекулярно-филогенетического анализа использовались последовательности, взятые из банка генов EMBL. В качестве аутгруппы были выбраны три представителя рода *Thamnophis* (*Подвязочные ужы*). Для проверки постоянства скорости молекулярной эволюции использовался пакет программ LINTRE (Takezaki et al., 1995). Филогенетическое древо было построено с помощью программы NJBOOT из этого пакета, по методу связывания ближайших соседей (neighbor-joining, Saitou and Nei, 1987), и затем на основании этого древа проводилась оценка постоянства скорости накопления нуклеотидных замен с использованием двух-кластерного теста (two-cluster test) и теста на длину ветвей (branch-length test). Биологические параметры были взяты отдельно для каждого вида: средний возраст половозрелости, размер выводка — среднее число откладываемых яиц, максимальный возраст, а также отношение среднего времени половозрелости к максимальной продолжительности жизни.

В качестве второго примера, в работе было проведено сопоставление скоростей молекулярной эволюции и демографических особенностей популяций брюхоногих моллюсков (гастропод). Для проверки предположений модели, было проведено исследование влияния возраста полового созревания на скорость молекулярной эволюции у нескольких видов гастропод, включающих байкальские эндемичные виды: *Maackia herderiana* (Lindholm, 1909), *M. costata* (Dybowski, 1875), *Liobaicalia stiedae* (Dybowski, 1875), *Pseudobaicalia zachvatkini* (Kozhov, 1936), *Choanomphalus amauronius* (Bourguignat, 1862), *C. maacki* (Gerstfeldt, 1859), морские виды: *Littorina keenae* (Rosewater, 1978), *L. littorea* (Linnaeus, 1758), *L. obtusata* (Linnaeus, 1758), *L. saxalitis* (Olivi, 1792), *L. fabalis* (Turton, 1825), и наземные виды: *Achatina fulica* (Ferussac, 1821), *Achatinella mustellina* (Mighels, 1845), *Partulina proxima* (Pease, 1862). В качестве

аутгруппы был выбран двустворчатый моллюск *Mytilus trossulus* (Gould, 1850). Данные для вышеперечисленных видов были взяты из базы данных GENBANK (для вида *Maackia herderiana* нуклеотидная последовательность была получена в рамках данной работы). Выравнивание нуклеотидных последовательностей было проведено на глаз по гомологии между отдельными участками последовательностей в программе SEAVIEW, версия 3.2 (Galtier et al., 1996). Программа JMODELTEST, версия 0.1.1 (Posada, 2008) была использована для выбора наиболее подходящей модели нуклеотидных замен (между тремя типами моделей). Филогенетический анализ был выполнен в программе PHYL 3.0 (Guindon et al., 2010), с использованием выбранной модели нуклеотидных замен. Параметры модели замен и возможные варианты топологий древа оптимизировались последовательно до тех пор, пока значение функции правдоподобия продолжало увеличиваться. Оценки достоверности топологии древа была проведены с использованием 100 бутстрепных реплик. Для гастропод оценки относительных скоростей молекулярной эволюции также были проведены на основе измерения длин ветвей от листа к корню филогенетического древа.

Сбор материала, экстракция ДНК, амплификация, и секвенирование

Сбор гастропод был проведен с помощью драги и водолазных работ на Юго-Западной литорали озера на глубинах от 5 до 40 метров. После предварительной сортировки, гастроподы были зафиксированы в 80% этаноле на 24 часа, в последующей заменой этанола на 70% раствор, в котором хранились до экстракции ДНК. Амфиподы вида *G. fasciatus* были собраны с помощью сачков, на глубинах до 1 метра. Животные были зафиксированы в 96% растворе этанола. После инкубации в течение трех дней при температуре 4С, 96% этанол был заменен на 70%, в котором и хранился материал при температуре 4°С. Список станций сбора материала показан в таблице 1. Достаточно небольшое количество особей видов *B. turriiformis* и *B. carinatocostata* использовалось в работе из-за редкой встречаемости этих гастропод, что отражает ранее описанную редкость этих видов (Кожов, 1936). Экстракция ДНК, амплификация, и очистка ПЦР продукта для вида *M. herderiana* была выполнена по стандартным протоколам. Этапы от экстракции ДНК до секвенирования нуклеотидных последовательностей для других видов беспозвоночных проводилась моими коллегами, протоколы опубликованы в работах (Гоманенко и др., 2005) и (Перетолчина и др., 2007). Секвенирование проводилось на базе Лимнологического Института СО РАН с использованием Quick start kit (Beckman Coulter Inc.) на секвенаторе 373A (Applied Biosystems) и CEQ 8800

(Beckman Coulter Inc.) и в Межинститутском Центре Секвенирования ДНК (г. Новосибирск). Нуклеотидные последовательности были выровнены с помощью программы CLUSTALW версии 1.4 (Thompson et al., 1994) и проверены на наличие стоп-кодонов.

Таблица 1. Станции сбора [в скобках указан номер станции] и количество образцов для каждого исследованного вида

| Место сбора | <i>B. carinata</i> | <i>B. carinatocostata</i> | <i>B. turriiformis</i> | <i>G. fasciatus</i> | <i>M. herderiana</i> |
|------------------------|--------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|
| Река Ангара [1] | - | - | - | 7 | - |
| Муринская Банка [2] | 14 | 2 | - | - | 5 |
| Утулик [3] | 3 | - | - | - | - |
| Култук [4] | 5 | 6 | 3 | - | 4 |
| Бухта Половинная [5] | - | 4 | 5 | 17 | 16 |
| Листвянка [6] | - | - | 10 | 7 | 19 |
| Большие Коты [7] | 2 | - | 3 | - | 9 |
| Варначка [8] | - | - | 4 | - | - |
| Бухта Песчаная [9] | 3 | 5 | - | 4 | - |
| Бугульдейка [10] | 2 | - | - | 3 | 25 |
| Бухта Тутайская [11] | 7 | - | - | - | - |
| Ольхонские ворота [12] | 21 | 2 | - | 2 | - |
| Мыс Зундук [13] | - | - | - | 3 | - |
| Всего: | 57 | 19 | 25 | 43 | 78 |

Оценка генетического разнообразия, филогеографический анализ и реконструкция демографических историй

С помощью программы DNASP версии 5.10.00 (Librado and Rozas, 2009) были получены распределения попарных генетических расстояний и оценки генетического разнообразия для каждого вида, а также проведены классические тесты на нейтральность эволюции: тест Таямы (Tajima, 1989), F_s тест (Fu, 1997), и R_2 тест (Ramos-Onsins and Rozas, 2002). Для того, чтобы различить рост популяции от отбора, дополнительно была использована H статистика (Fay and Wu, 2000).

Для анализа филогеографической (или геногеографической по Серебровскому (1928)) структуры видов использовалась программа TCS, версия 1.2.1; «критерий экономности» (Templeton et al., 1992) использовался для оценки максимального числа мутаций, которые разделяют гаплотипы внутри одной и той же сети. Для каждого вида, была проведена оценка значений F_{ST} между всеми парами точек сбора, и помощью программы ARLEQUIN, версия 3.5 (Excoffier et al., 2005). Значения F_{ST} были вычислены как на основе частот гаплотипов, так и с использованием матрицы дистанций между гаплотипами, основанной на модели Кимуры (Kimura, 1980) и на модели Тамура и Ней

(Tamura and Nei, 1993). После этого, получившиеся значения достоверности (p-values), были скорректированы по множественному сравнению (Benjamini and Hochberg, 1995).

Реконструкция демографических историй были проведена с помощью пакета программ BEAST, версия 1.5.1 (Drummond et al., 2005; Drummond and Rambaut, 2007). Модель нуклеотидных замен для каждого набора данных была выбрана с использованием программы JMODELTEST версии 1.0 (Guindon and Gascuel, 2003; Posada, 2008), на основании информационного критерия Акаике (Akaike, 1973). Для видов *B. carinata* и *B. carinatocostata* была выбрана модель нуклеотидных замен Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) (Hasegawa et al., 1985) с пропорцией инвариабельных сайтов (+I) и неоднородной скоростью нуклеотидных замен между оставшимися сайтами, описываемой гамма-распределением (+G). Для других трех видов беспозвоночных наиболее подходящей моделью оказалась HKY. Были запущены цепочки длиной 100 млн. шагов для *M. herderiana*, 20 млн. шагов для *B. carinata* и *G. fasciatus*, и 10 млн. шагов для *B. carinatocostata* и *B. turriiformis*, чтобы обеспечить значение эффективного размера выборки выше 200. Для каждого вида анализ был проведен, как минимум, дважды, и затем результаты сравнивались между собой на сходимость. Данные независимых симуляций были совмещены с использованием программы LOG COMBINER, версия 1.5.1 (Drummond et al., 2005; Drummond and Rambaut, 2007).

Для перевода масштаба времени демографических историй из замен на сайт в годы, для гастропод была выбрана ранее предложенная (Wilke, 2003) скорость дивергенции 1.83% на млн. лет. Вследствие отсутствия калибровки молекулярных часов для амфипод на момент проведения анализа, для *G. fasciatus* было использовано среднее значение скоростей дивергенции (1.6% на млн. лет), предложенных для членистоногих (Quek et al., 2004). После того, как абсолютные временные масштабы были вычислены, демографические истории были сопоставлены с палеоклиматической летописью, временные оценки для которой были произведены по калибровкам радиоуглерода осадочных кернов (Prokopenko et al., 2001; Urabe et al., 2004).

Глава 3: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние возрастной структуры популяции на скорость молекулярной эволюции и генетическое разнообразие

Численные эксперименты, проведенные в рамках работы, свидетельствуют о том, что скорость накопления замен в нейтрально-эволюционирующем маркере может изменяться при вариации количества потомков. При этом при большем количестве

потомков увеличивается среднее число нуклеотидных замен (рисунок 1а). С другой стороны, при большем числе потомков увеличивалось генетическое разнообразие популяций (рисунок 1б). Следовательно, число потомков может иметь существенное значение для эволюции нейтрального участка генома. Механизм этой зависимости представляется следующим: в популяции А в каждом поколении появляется больше потомков. На следующем шаге модели, эти потомки участвуют в конкуренции со своими родителями, так как потомки, как правило, похожи на родителей по фенотипу, то есть

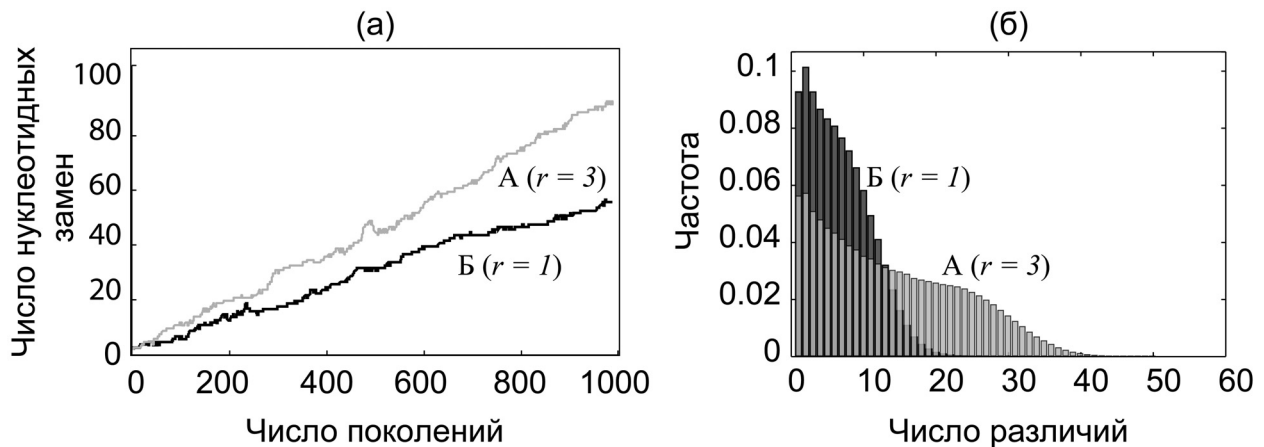


Рисунок 1. Кривые представляют эволюцию среднего расстояния между актуальными и первоначальной нейтральными нуклеотидными последовательностями для двух различных популяций (а). Параметры модели для обоих случаев совпадали (максимальный возраст 5 поколений и те же параметры лимитирования и конкуренции), r – число потомков. Распределения попарных расстояний для различных значений числа потомков (б). Распределения построены на основании средних значений из результатов 10 численных экспериментов для каждого значения продолжительности жизни особей.

занимают идентичные или сильно перекрывающиеся экологические ниши. Более приспособленные и более «удачливые» особи выживают и передают наследственную информацию новому поколению и большая часть из них – это представители нового поколения. В случае Б, поскольку число потомков равно 1, новое поколение и взрослые особи не испытывает такой сильной конкуренции между собой.

Аналитическую оценку скорости молекулярной эволюции, предложенную в работе, ($r_m = 0.15/a$, выведенной из более общей формулы (Jukes and Cantor, 1969), где a – средний возраст самок) возможно сравнить с результатами численных экспериментов. На рисунке 2 показано влияние обратного среднего возраста женской части популяции на скорость молекулярной эволюции, вычисляемую как средний наклон кривой различий от первоначальной нуклеотидной последовательности. Как и

ожидалось, кривая хорошо аппроксимируется линейной зависимостью. Наклон кривой немного отличается от теоретического значения 0.15, видимо, потому, что экспоненциальное приближение недостаточно точно для 1000 поколений.

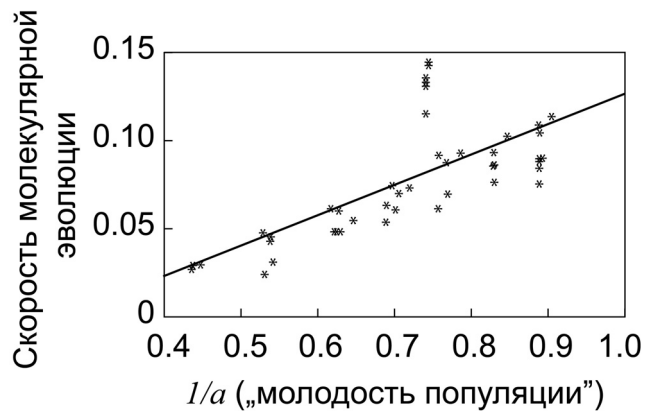


Рисунок 2. Звездочками обозначены значения скорости молекулярной эволюции для различных значений среднего возраста популяции, вычисленные на основании результатов численных экспериментов. Сплошной линией обозначена аналитическая функция, предсказывающая скорость молекулярной эволюции ($r_m = 0.15/a$).

Следовательно, частоту передачи генетической информации (митохондриального маркера) в течение фиксированного числа поколений определяет средний возраст самок популяции, и чем менее часто происходит передача генов, тем ниже скорость накопления нуклеотидных замен. «Старой» является популяция, которая сохраняет много «старых» нейтральных генов, что приводит к существенному замедлению процессов генетического дрейфа. В

работе не рассматривались точные значения для периода времени между двумя сезонами размножения. В данном случае большое значение имеет присутствие большого числа самок «преклонного» возраста, способных передавать свои нейтральные гены, что и определяет разницу в скорости молекулярной эволюции между двумя популяциями, которые могут иметь одну и ту же скорость размножения.

В то время как влияние продолжительности поколения (generation time effect) на скорость молекулярной эволюции было изучено ранее, исследование влияния демографической структуры популяций на эволюционную динамику только начинает развиваться. Влияние продолжительности поколения на скорость молекулярной эволюции связывают с мутациями, возникающими при репликации генетического материала (быстрая смена поколений – больше репликаций – больше мутаций). Однако влияние особенностей демографической структуры на эволюцию нейтральных маркеров является более сложным, и только некоторые аспекты этого влияния были исследованы в данной работе.

Результаты численных экспериментов показывают, что при постоянном возрасте половозрелости, демографическая структура популяции может меняться из-за нескольких

факторов (например, число потомков, максимальная продолжительность жизни). В свою очередь, демографическая структура популяции (а именно, средний возраст самок при рассмотрении эволюции митохондриальных маркеров) определяет динамику накопления замен в маркере нейтральной эволюции и генетическое разнообразие нейтральных маркеров. Следовательно, при рассмотрении вопросов о скорости накопления нуклеотидных замен в маркерах нейтральной эволюции и эволюции генетического разнообразия популяций, важно учитывать не только продолжительность жизни поколения, но и демографическую структуру популяции.

Для объяснения наблюдаемых межвидовых различий в скорости молекулярной эволюции, было проведено сравнение скорости эволюции и биологических особенностей видов. Для каждого вида было вычислено количество нуклеотидных замен (генетическое расстояние), накопленных с момента дивергенции между отрядом Черепахи и аутгруппой. Замечена положительная корреляция ($r = 0.61$, $p = 0.02$) между размером кладки и скоростью молекулярной эволюции у отряда скрытошейные черепахи (*Criptodira*). Для семейства Emedidae между максимальным возрастом и скоростью молекулярной эволюции; между скоростью молекулярной эволюции и отношением максимального возраста к возрасту половозрелости обнаружены отрицательные корреляции со значениями ($r = -0.84$, $p = 0.04$) и ($r = -0.79$, $p = 0.06$), соответственно.

Дополнительно в работе было проведено сопоставление скоростей молекулярной эволюции и демографических особенностей популяций брюхоногих моллюсков (гастропод). Средний возраст полового созревания рассматривался как показатель «молодости популяций». При эмпирической оценке возраста полового созревания у брюхоногих моллюсков для некоторой выборки производится сопоставление скорости роста линейных размеров раковины со степенью развития половой системы. Поэтому можно предположить, что средний возраст полового созревания должен приблизительно отражать средний возраст половой зрелости у самок, который и рассматривается в модели. Корреляционный анализ выявил достоверную отрицательную зависимость между возрастом полового созревания и скоростью эволюции ($r = -0.55$, $p = 0.04$), байкальские гастроподы показали относительно медленные скорости молекулярной эволюции. Для выяснения того, не находятся ли оценки скоростей эволюции, полученные в данной работе, под влиянием плотности узлов древа, был проведено тестирование согласно (Webster et al., 2003; Pagel et al., 2006). Результаты этого теста показали, что полученные оценки скоростей были независимы от плотности узлов древа.

Таким образом, эти результаты позволяют предполагать, что возраст полового созревания может оказывать влияние на скорость молекулярной эволюции. Вероятно, что наблюдаемое в работе замедление скоростей эволюции у байкальских гастропод обусловлено их поздним половым созреванием (Röpstorf and Sitnikova, 2006).

Тем не менее, результаты корреляционного анализа должны быть интерпретированы с осторожностью, так как межвидовые оценки скоростей молекулярной эволюции могут находиться под влиянием филогенетической родственности. В будущем, при появлении данных по особенностям жизненного цикла у большего количества видов гастропод, имеет смысл увеличить количество видов для сравнений внутри родов и семейств, и провести оценку влияния филогенетического родства на корреляционный анализ. В настоящий момент, данные по демографическим особенностям популяций беспозвоночных животных (в частности, для гастропод) достаточно скудны из-за трудоемкости и длительности полевых наблюдений, что ограничивает возможности проведения сравнительного анализа скоростей эволюции.

Влияние изменений окружающей среды на генетическое разнообразие популяций байкальских беспозвоночных

Результаты сравнительного анализа распределений попарных расстояний (Slatkin and Hudson, 1991; Rogers and Harpending, 1992) и оценки генетического разнообразия для каждого исследованного вида показаны на рисунке 3. Формы распределений попарных генетических расстояний для видов *M. herderiana* и *G. fasciatus* похожи между собой, в них большинство попарных сравнений находится в области малых генетических расстояний, и они показывают относительно хорошее совпадение с ожидаемыми распределениями при использовании модели роста популяции. И наоборот, формы распределений попарных расстояний для *B. carinata*, *B. carinatocostata* и *B. turiformis* неровные и скорее мультимодальные, и большая часть попарных сравнений приходится на область больших генетических расстояний.

Далее в работе приведены результаты по пространственной генетической дифференциации видов. Для вида *M. herderiana*, станции сбора были распределены почти по всему ареалу обитания этого вида (Максимова, 2007), при этом обнаружилось наличие очень слабой генетической дифференциации. Кроме того, для этого вида гастропод большинство значений критерия F_{ST} были недостоверными. Виды *B. carinata* и *G. fasciatus* встречаются по всему периметру озера, и предыдущие исследования,

включающие особей вне ареала, рассматриваемого в данной работе, показали, что каждый их этих видов образует единую популяцию на Юго-Западном участке озера (Гоманенко и др., 2005; Перетолчина и др., 2007). Результаты по критерию F_{ST} для вида *G. fasciatus* показывают, что ни одно попарное сравнение не имеет достоверных значений по этому критерию. Для вида *B. carinata*, достоверные значения F_{ST} были получены между некоторыми станциями сбора (исключительно между сравнениями, включающими станции 11 и 12). Подобным образом, оценки значений F_{ST} были достоверными только для небольшого числа станций сбора гастропод *B. carinatocostata*. И наоборот, генетическая дифференциация была выше у *B. turriiformis*, несмотря на

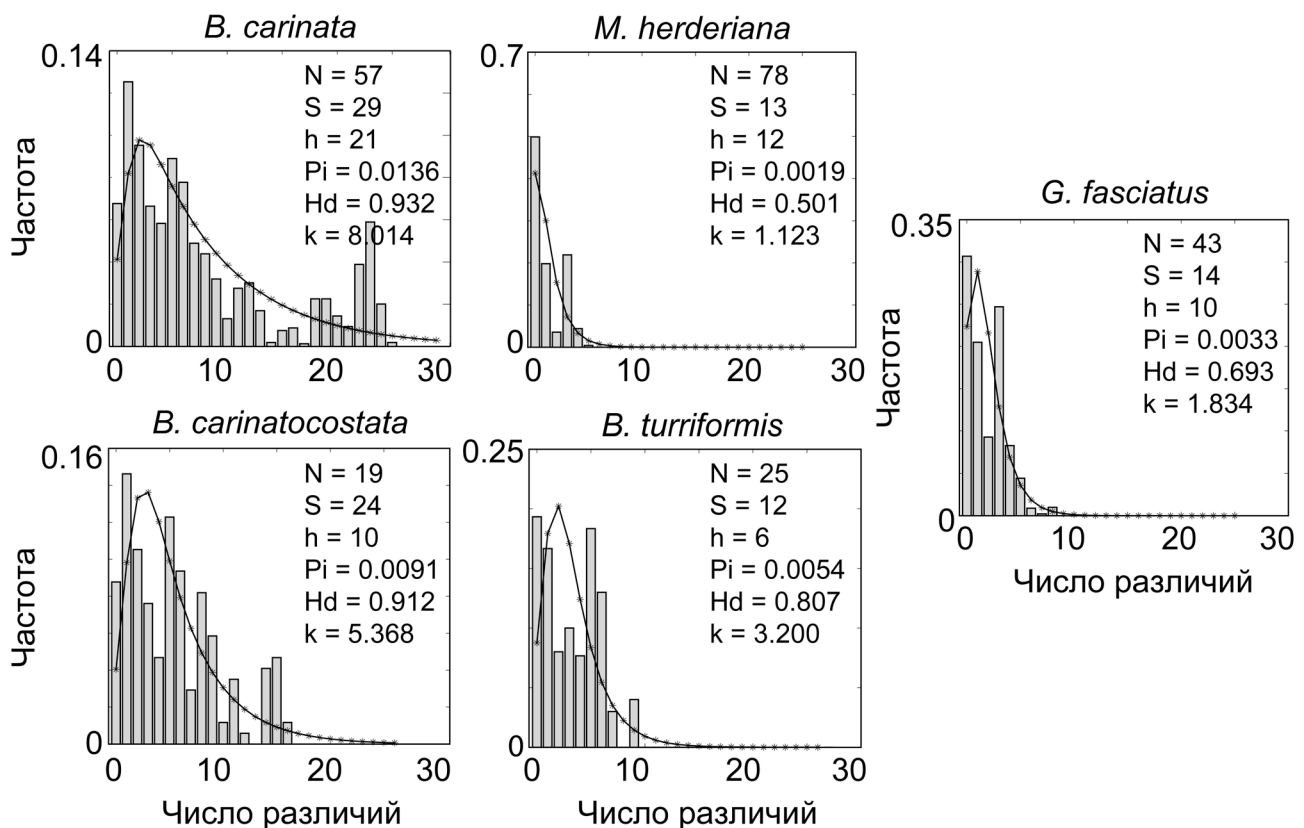


Рисунок 3. Распределение попарных генетических расстояний для исследуемых в работе видов. Наблюдаемые значения показаны на гистограммах, черными линиями обозначены ожидаемые формы распределений согласно модели роста популяции. Генетическое разнообразие: N – число нуклеотидных последовательностей, S – число сегрегирующих сайтов, h – число гаплотипов, Pi – нуклеотидное разнообразие, Hd – разнообразие гаплотипов, k – среднее число нуклеотидных различий.

меньший размер выборки, и анализ F_{ST} для этого вида показал достоверную генетическую дифференциацию между большинством станций сбора. Эти результаты могут свидетельствовать том, что выборки *M. herderiana*, *B. carinata*, *B. carinatocostata* и *G. fasciatus* представляют собой единые популяции без сильного прерывания потока

генов, и поэтому являются подходящими для реконструкции демографических историй. Учитывая более сильную генетическую дифференциацию *B. turriiformis*, реконструкция демографической истории для этого вида, должна быть интерпретирована с осторожностью.

В работе представлены результаты классических тестов на нейтральность эволюции для всех исследованных в работе видов. Единственный вид, для которого один из классических тестов отверг гипотезу нейтральности, – *M. herderiana*, в частности, результаты теста R2 оказались достоверными. Значения уровней достоверности теста R2 и теста Таямы для *G. fasciatus* были низкими, но недостоверными. H тест показал отсутствие очищающего отбора для всех исследованных видов.

У пяти исследованных в этой работе видов было обнаружено три различных филогеографических паттерна (рисунок 4). Как у *M. herderiana*, так и у *G. fasciatus* обнаруживается филогеографический паттерн, в котором центральный гаплотип очень многочисленный и широкораспространенный, и к нему близко относятся несколько менее частовстречаемых гаплотипов. *Baicalia carinatocostata* и *B. turriiformis* показывают совершенно другую филогеографическую структуру, при которой одинаковые гаплотипы никогда не были найдены в более чем одной станции сбора, причем центральный и наиболее многочисленный гаплотип отсутствует. Филогеографическая структура *Baicalia carinata* представляет собой промежуточную картину, с некоторыми относительно многочисленными гаплотипами, найденными в различных станциях сбора, и с редкими гаплотипами, обнаруженными на единственных станциях сбора.

В то время как особенности филогеографической структуры отражают наличие местообитаний и их соединенность, результаты данной работы позволяют предполагать о том, что и внутренние биологические факторы могут играть важную роль в формировании генетической структуры изучаемых видов беспозвоночных. Юго-Западный берег Байкала, который был выбран для сбора материала, представляет собой очень крутой каменистый склон, с небольшими песчаными участками. Поэтому можно было бы предполагать, что виды, населяющие песчаные грунты, показали бы высокий уровень географического структурирования, в то время как виды, предпочитающие каменистые участки, обладали бы филогеографическими паттернами, свидетельствующими о непрерывном потоке генов. Однако результаты, полученные в данной работе, только частично подтверждают эту гипотезу. Что касается вида *M. herderiana*, необходимо принять во внимание следующее: несмотря на то, что в

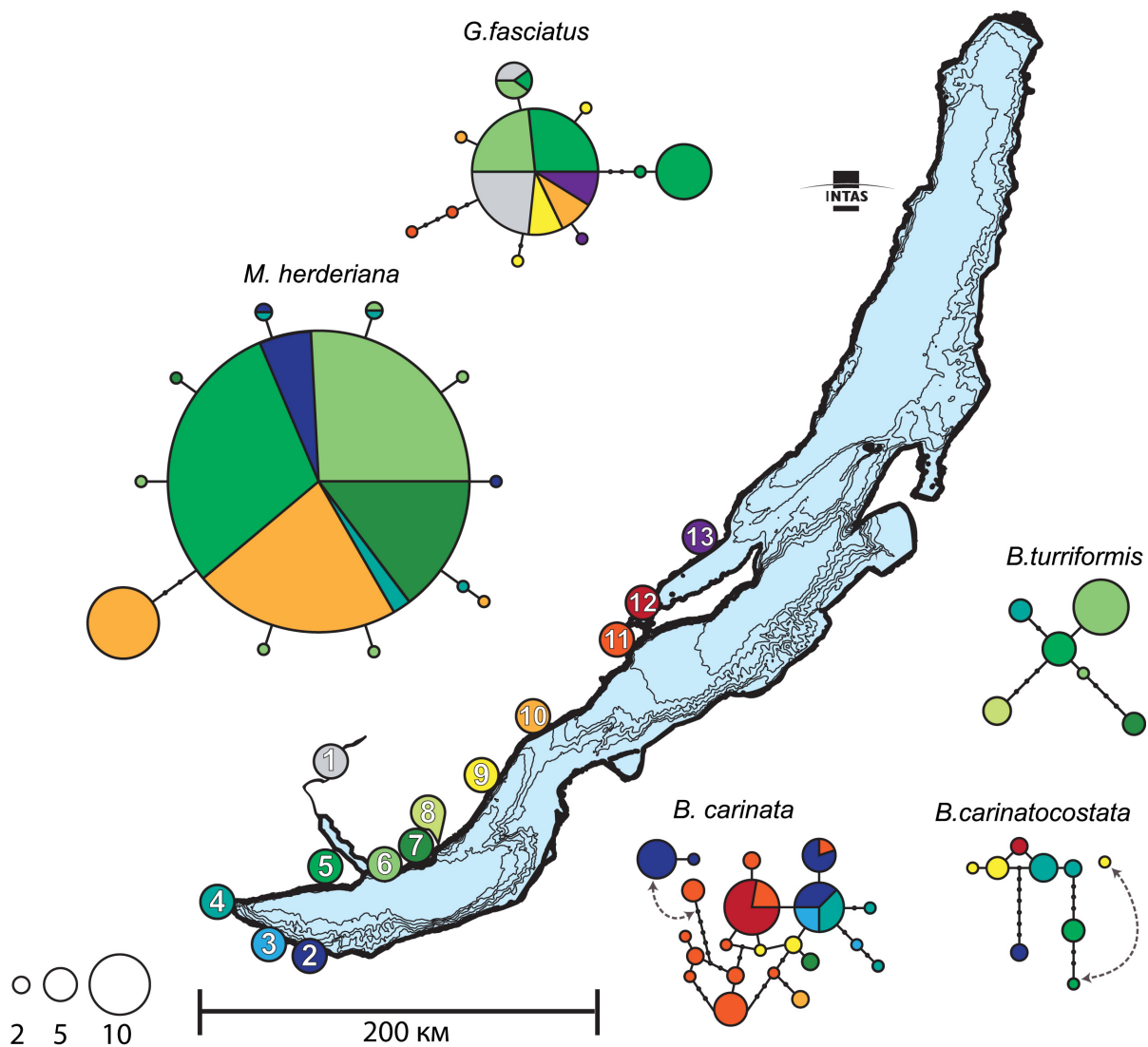


Рисунок 4. Филогеографическая структура видов. Диаметр окружностей в сетях гаплотипов пропорционален количеству нуклеотидных последовательностей (размер пустых окружностей соответствует 2, 5 и 10 особям), цвет соответствует станции сбора, маленькие точки обозначают отсутствующие гаплотипы. Номера внутри окружностей (по береговой линии) соответствуют станциям сбора из таблицы 1. Серыми пунктирными стрелками обозначены соединения между сетями гаплотипов, возникающие при увеличении числа мутаций для критерия экономности (расстояние для обоих случаев равно 11 мутациям).

основном, этот вид населяет каменистые участки, он также встречается на песчаных и илистых участках (Жадин, 1952). В этом отношении *M. herderiana* напоминает амфипод *G. fasciatus*, которые по экологической стратегии являются генералистами, и обитают как на песчаных, так и на каменистых субстратах (Базикалова, 1945; Камалтынов, 2001), и известны тем, что легко осуществляют инвазии в новые местообитания и занимают новые ниши в экосистемах (Panov, 1996; Verezhina, 2009). Эти два вида показали в высокой степени сходные филогеографические паттерны, и результаты свидетельствуют

о наличии высокого уровня потока генов на всем протяжении географического ареала, изученного в работе. Однако, паттерны для трех оставшихся видов, подчеркивают важность скорее индивидуальных биологических характеристик, чем предпочитаемых местообитаний. Действительно, *B. carinata* и *B. carinatocostata* живут на песке, но при этом обладают достаточно различными филогеографическими паттернами. Ранее было показано, что *B. carinata* может увеличивать расселение, откладывая яйца на раковины особей своего вида (Sitnikova et al., 2001; Korobkova et al., 2006), и это может объяснить различие в структурах филогеографических паттернов этих видов. Подобным образом, вид *B. turriiformis*, обитающий на каменистых грунтах, показал высокий уровень географического структурирования, несмотря на отсутствие значительных географических барьеров в районе сбора. Этот малоподвижный вид гастропод населяет поверхность крутых подводных скал, причем особи могут висеть друг на друге (Roepstorf et al., 2002; Korobkova et al., 2006), и известен как узкоспециализированный вид по отношению к питанию и обитанию на отрицательных склонах (Roepstorf et al., 2002). Возможно, что такой высокий уровень специализации мог уменьшить способность *B. turriiformis* к расселению из-за отсутствия подходящих местообитаний.

Реконструкции демографических историй, проведенные в работе, указывают на постоянный размер популяций у видов *B. turriiformis*, *B. carinata* и *B. carinatocostata* на протяжении их эволюционных историй (рисунок 5). И наоборот, результаты реконструкций показывают умеренный рост для популяции *G. fasciatus*, и резкий рост популяции *M. herderiana*. На рисунке 5г показано сравнение протяженности демографических историй для всех исследованных видов, полученных после калибровки с помощью молекулярных часов. Можно заметить, что демографические истории *M. herderiana* и *G. fasciatus* являются достаточно короткими, в противоположность демографическим историям *B. turriiformis*, *B. carinata* и *B. carinatocostata*. Длинные демографические истории *B. turriiformis*, *B. carinata* и *B. carinatocostata* не показывают отклика на климатические флуктуации, которые известны из палеолетописи озера, в то время как более короткие демографические истории *M. herderiana* и *G. fasciatus* демонстрируют увеличение численности популяций. Поэтому можно предположить, что *M. herderiana* и *G. fasciatus* относительно недавно колонизировали Юго-Западное побережье озера Байкал, в то время как остальные виды, исследованные в этой работе, представляют собой более древних обитателей этого ареала. С другой стороны, популяции *M. herderiana* и *G. fasciatus* могли недавно пройти через бутылочное

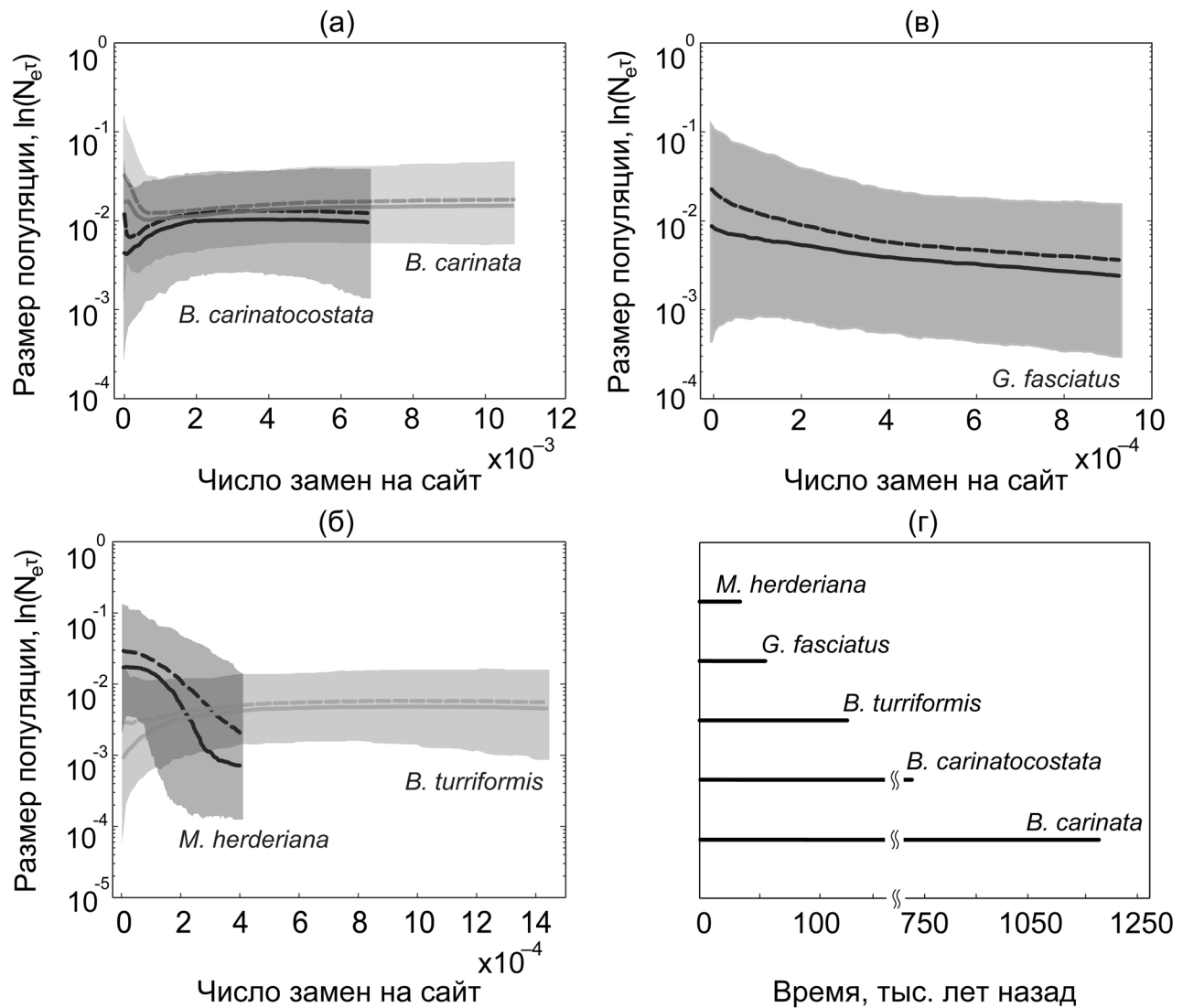


Рисунок 5. Демографические истории популяций (BSP) для видов *B. carinata* и *B. carinatocostata*, населяющих песчаные грунты (а), для видов *M. herderiana* и *B. turriformis*, населяющих каменистые грунты (б) и для экологически пластичного вида *G. fasciatus* (в). Жирные сплошные линии соответствуют средней, жирные пунктирные линии – медиане, тени серого цвета ограничены 95% пределами самого высокого постериорного распределения. Продолжительность восстановленных демографических историй (г).

горлышко, в то время как другие виды смогли поддерживать постоянные размер популяций на протяжении их эволюционных историй. Для выяснения этого, в будущем можно было бы провести анализ генетического полиморфизма ядерных генов, так как генетическое разнообразие аутосомной и ядерной ДНК могут отражать различную скорость восстановления от бутылочного горлышка (Pool and Nielsen, 2007). Калибровка демографических историй, основанных на нуклеотидных последовательностях, известна своей трудностью, особенно когда неизвестны индивидуальные скорости молекулярной эволюции (Arbogast et al., 2002; Pulquério and Nichols, 2007). Тем не менее, такие

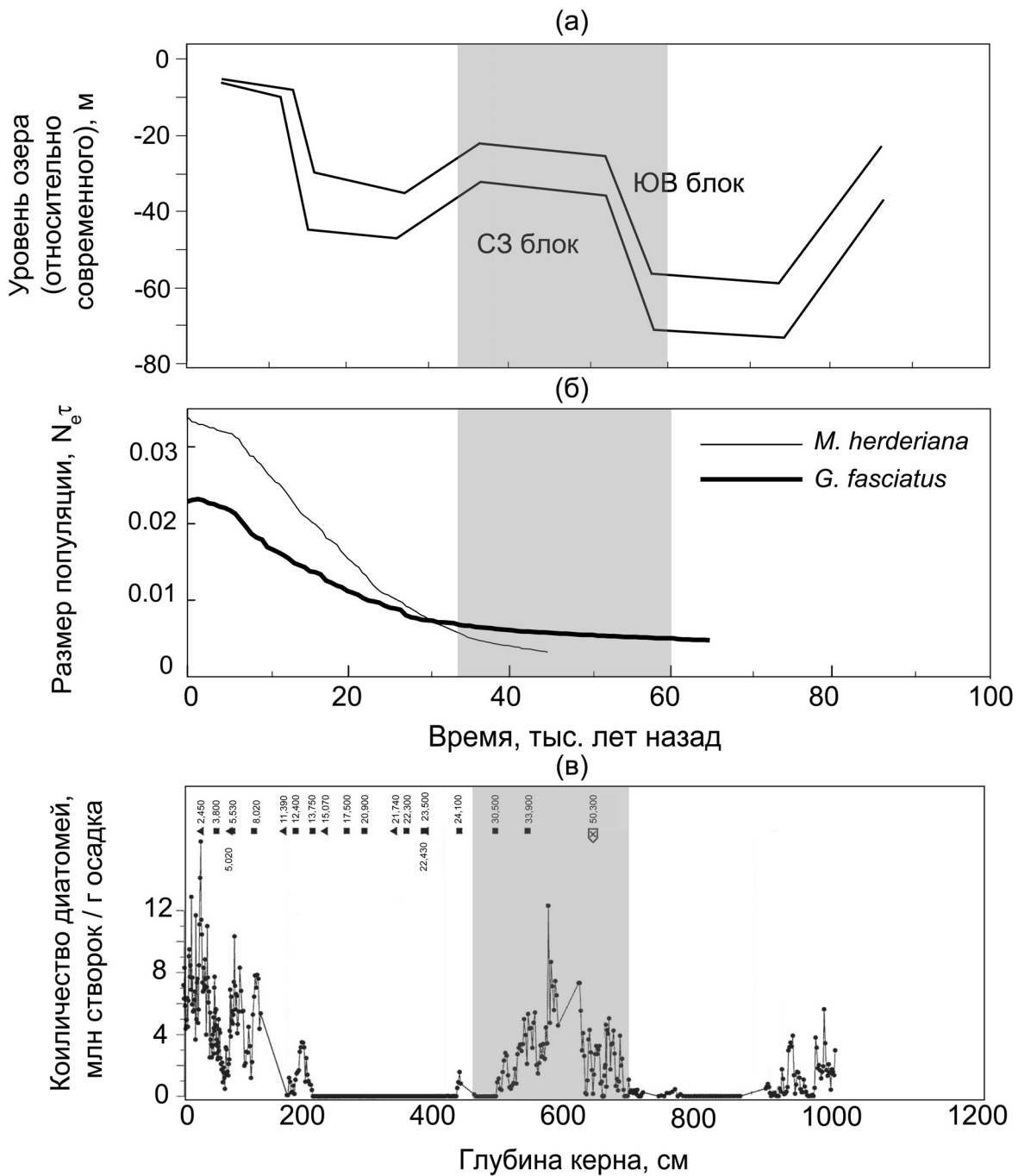


Рисунок 6. Сопоставление откалиброванных демографических историй видов *G. fasciatus* и *M. herderiana* с реконструированной палеоклиматической историей озера. (а) Изменение уровня озера (относительно современного уровня), график воспроизведен согласно оригиналу из работы (Urabe et al., 2004); (б) – изменение численности популяций *G. fasciatus* и *M. herderiana*; (в) – количество диатомей из осадочного керна BDP-93 (диаграмма воспроизведена согласно оригиналу из работы (Prokopenko et al., 2001)). Серые прямоугольники соответствуют стадиям MIS 3

датировки могут предоставить приблизительные оценки времени важных событий, произошедших в эволюционных историях видов. После того, как была выполнена

калибровка демографических историй популяций *M. herderiana* и *G. fasciatus* с применением доступных скоростей молекулярной эволюции, обнаружилось, что начало роста популяций этих двух видов совпадает, и оценивается примерно 25-50 тыс. лет назад (рисунок 6). Следует заметить, что начало роста популяций этих видов произошло в период достаточно высокого уровня озера и совпало с периодом высокого обилия диатомовых водорослей, который датируется примерно этим же периодом. Совпадение начала роста популяций *M. herderiana* и *G. fasciatus* с теплым климатическим периодом указывает на то, что доступность пищи могла сыграть важную роль для роста популяций этих видов. Стоит отметить, что согласно палеолетописи, составленной по створкам диатомей, примерно с 24 до 16 тыс. лет назад численность диатомых была очень низкой, но популяции *M. herderiana* и *G. fasciatus* не показали прекращения роста. Однако данные о фотосинтетических пигментах в осадках озера свидетельствуют о том, что, несмотря на сниженную биопродуктивность озера, зеленые, диатомовые водоросли и динофлагелляты все еще присутствовали в период с 24 до 16 тыс. лет назад (Soma et al. 2006). Поэтому, возможно, что на протяжении этого периода времени вышеперечисленные виды (а также гастроподы *B. turriiformis*, *B. carinata* и *B. carinatocostata*, которые сохраняли размеры своих популяций постоянными и в холодные климатические периоды) полагались на другие источники питания. В любом случае, одновременное увеличение численности, обнаруженное в популяциях *M. herderiana* и *G. fasciatus*, свидетельствует о том, что изменения условий окружающей среды могли вызвать рост популяций этих видов на Юго-Западном побережье Байкала. Высокое сходство демографических историй *M. herderiana* с *G. fasciatus*, вида, известного высокими способностями к инвазиям, свидетельствует о наличии у вида *M. herderiana* потенциала к расселению и увеличению численности при благоприятных условиях окружающей среды.

ВЫВОДЫ

1. Предложен механизм влияния возрастной структуры популяции на скорость накопления нейтральных замен в маркере молекулярной эволюции, наследуемого по материнской линии: при увеличении доли молодых особей в популяции увеличивается скорость накопления нейтральных замен.
2. Установлено влияние возрастной структуры популяции на генетическое разнообразие нейтральных маркеров: увеличение доли молодых особей способствует увеличению генетического разнообразия популяции.

3. Впервые определен генетический полиморфизм эндемичного моллюска *M. herderiana* на основании нуклеотидных последовательностей 78 фрагментов гена CO1 митохондриальной ДНК.
4. Показано отсутствие генетической дифференциации между особями *M. herderiana* из разных местообитаний, в результате выдвинуто предположение, что все исследованные особи принадлежат к единой популяции без признаков выраженной географической изоляции.
5. Реконструкция демографической истории *M. herderiana* на основании полиморфизма мтДНК показала, что эта популяция пережила относительно недавнее резкое увеличение численности, которое, возможно, продолжается в настоящее время.
6. Результаты сравнительного анализа генетического разнообразия и эволюционных историй популяций пяти различных видов беспозвоночных, населяющих один и тот же географический участок озера Байкал показали, что при изменении условий окружающей среды, жесткость экологической специализации вида в значительной степени определяет возможность изменения численности и генетического разнообразия популяций.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи:

1. **Фазалова В.Р.**, Семовский С.В., Щербаков Д.Ю., Менье Г. Исследование влияния демографических факторов популяции и индивидуальных биологических параметров на скорость нейтральной молекулярной эволюции, *Генетика*, 2007 т. 43 №9 с.1172–1180.
2. **Fazalova V.**, Nevado B., Peretolchina T., Petunina J., Sherbakov D. When environmental changes do not cause geographic separation of fauna: differential responses of Baikalian invertebrates. *BMC Evolutionary Biology* 2010, **10**:320.

Тезисы конференций:

1. **Фазалова В.Р.**, Семовский С.В., Щербаков Д.Ю. Влияние различных биологических параметров на скорость накопления нуклеотидных замен в гене *Cytb* митохондриальной ДНК // Вестник Иркутского университета. – Иркутск, 2003. – Спец. вып.: Материалы научно-теоретической конференции молодых ученых, посвященной 85-летию ИГУ. – с. 34.

2. **Фазалова В.** Изучение влияния различных биологических параметров на скорость накопления нуклеотидных замен // III Школа-семинар молодых ученых, аспирантов и студентов г. Иркутска «Математическое моделирование и информационные технологии», Иркутск, 2003. – с. 12.
3. **Fazalova V.**, Sherbakov, D. Genetic differentiation in *Maackia herderiana* // UM – World Congress of Malacologists, Antwerp, 2007. – pp. 60–61.
4. Maximova, N., Sitnikova T.Ya., **Fazalova V.** Habitat-related shell variation of two Baikalian endemic gastropods // UM – World Congress of Malacologists, Antwerp, 2007. – pp. 141–142.
5. **Fazalova V.**, Ivanova Z., Sherbakov D. Differential demographic impact of geological events on molluscan species of different ecological affinities // «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure», Novosibirsk, 2008. – p. 69.
6. **Fazalova, V.**, Nevado, B., Peretolchina, T., Kuzmenkova, Z., Sherbakov D. Signals of differential impact of environmental changes on demographic histories of invertebrates from Lake Baikal // Abstracts of the International Symposium Speciation in Ancient Lakes, SIAL 5, Ohrid, 2009. – pp. 24–25.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность и признательность первому научному руководителю, безвременно ушедшему из жизни, д.ф.-м.н. С.В. Семовскому. Огромная благодарность коллегам из лаборатории геносистематики ЛИИ СО РАН за сотрудничество и теплую рабочую обстановку. Большое спасибо рецензентам С.Н. Мюге и Д.В. Политову за ценные замечания по работе. Дмитрий Юрьевич, спасибо за приглашение работать в вашей уникальной лаборатории и за чуткое руководство. I am very grateful to Ulf and all my IASA friends for international scientific experience. Большое спасибо моей семье за понимание и поддержку. Bruno, it would not work out without you – thank you for inspiring me from the first day we met, for the everyday support, and all the great discussions we had. Различные этапы работ выполнялись при поддержке грантов РФФИ 03-04-20019-БНТС_а «Исследование молекулярной эволюции организмов в древних озерах с использованием современных достижений теории видообразования» и 09-04-00972-а «Исследование эволюционных механизмов формирования сообществ организмов». Сбор материала для экспериментальной части работы был частично поддержан грантом ESF MOLARCH.