

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ  
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

*На правах рукописи*

**Петунина Жанна Владимировна**

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ  
МИКРОСПОРИДИЙ И ИХ ХОЗЯИНА – БАЙКАЛЬСКОЙ  
АМФИПОДЫ *GMELINOIDES FASCIATUS***

03.02.08 – экология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель  
доктор биологических наук  
Д.Ю. Щербаков

Иркутск, 2015

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>5</b>
<b>Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....</b>	<b>16</b>
1.1. Амфиподы озера Байкал .....	16
1.1.1. Роль амфипод в экосистеме озера Байкал.....	17
1.1.2. Эволюция амфипод в озере Байкал .....	19
1.1.3. Байкальская амфипода <i>Gmelinoides fasciatus</i> .....	22
1.2. Популяционные процессы и факторы, влияющие на генетическое разнообразие популяции .....	28
1.3. Механизмы видообразования. Аллопатрическое и парапатрическое видообразование. Экология и видообразование .....	33
1.3.1. Следы демографических изменений в популяциях .....	43
1.4. Паразиты как один из возможных факторов симпатрического или парапатрического видообразования.....	50
1.4.1. Соотношение разнообразия паразитов и хозяев в экосистемах .....	59
1.4.2. Коэволюция паразита и хозяина .....	60
1.5. Микроспоридии .....	64
1.5.1. Общая характеристика микроспоридий.....	64
1.5.2. Филогения микроспоридий.....	66
1.5.3. Инфицирование .....	70
<b>Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....</b>	<b>74</b>
2.1. Сбор материала .....	74
2.2. Экстракция ДНК .....	77
2.3. Молекулярные методы диагностики микроспоридий .....	78
2.4. Амплификация ДНК.....	79
2.5. Методы очистки амплифицированных фрагментов.....	80
2.6. Определение нуклеотидной последовательности .....	81
2.7. Оценка генетического разнообразия популяций .....	81
2.8. Филогенетический анализ.....	84

<b>Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>	<b>87</b>
3.1. Популяционная структура <i>G. fasciatus</i> озера Байкал.....	87
3.2. Основные характеристики популяций <i>G. fasciatus</i> .....	94
3.3. Демографическая история популяций <i>G. fasciatus</i> .....	97
3.4. Микроспоридии и их разнообразие у <i>G. fasciatus</i> .....	105
3.5. Микроспоридии юго-западной популяции <i>G. fasciatus</i> .....	110
3.6. Возможная роль микроспоридий в формировании межпопуляционных барьеров у <i>G. fasciatus</i> .....	111
<b>Заключение .....</b>	<b>114</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>116</b>
<b>Список используемой литературы.....</b>	<b>118</b>

## Список используемых в работе сокращений

БТШ – белок теплового шока

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК– митохондриальная ДНК

п.н. – пар нуклеотидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

рДНК– рибосомальная ДНК

РНК – рибонуклеиновая кислота

рРНК– рибосомальная РНК

СПИД– синдром приобретенного иммунодефицита

ТЭМ – трансмиссионный электронный микроскоп

ЦТАБ– цетилтриметиламмоний бромид

ЭДТА– этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭР – эндоплазматический ретикулум

CO1 – ген, кодирующий первую субъединицу митохондриальной цитохром с-оксидазы

EF – фактор элонгации (translation elongation factor)

RPB1 – большая субъединица РНК-полимеразы II (the largest subunit of RNA polymerase II)

rRNA– рибосомальная РНК

sHSP – малые белки теплового шока

SSU – малая субъединица рРНК (small subunit)

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

Исследование экологических обстоятельств видообразования абсолютно необходимо для понимания движущих сил эволюции. Как отмечал С.С.Четвериков (1983) – «В эволюционном развитии органического мира протекают два процесса: (1) дифференциация, распадение, приводящая, в конце концов, к видообразованию, - в основе его лежит изоляция; (2) другой ведет к адаптации, к прогрессивной эволюции органической жизни и причиной его является борьба за существование и вытекающий из нее естественный отбор [100]. Роль внешних факторов в эволюции организмов выступает в высшей степени ясно. Для каждого конкретного организма изменялось не только физическое его окружение, изменялся комплекс организмов (биоценоз), с которым он связан как непосредственной пищевой связью (пищевой материал, с одной стороны, и хищники, и паразиты с другой), так и различными формами конкуренции и другими косвенными зависимостями. Это изменение биотических факторов среды являлось решающим для существования тех или иных форм жизни, оно непосредственно определяло преобразование организмов и, в частности, влияло на темп их эволюции» [103].

Одним из самых богатых возможностями объектов такого рода исследований является озеро Байкал – уникальный водоем нашей планеты по многим характеристикам: древний возраст, большие глубины, низкие температуры, огромные объемы пресной воды, толщина донных осадков, уровень эндемизма и высокое разнообразие флоры и фауны [44, 45, 46, 97, 98, 140, 141]. Эволюционные события, сформировавшие современное разнообразие населения озера, разворачивались в широких пределах – от 10 до 70 млн. лет [20, 23, 54, 61, 99, 273, 287]. В Байкале по данным на 2001 год описано 2570 видов и подвидов животных, из которых большинство составляют эндемики [38]. Таким образом, Байкал превосходит другие

древние пресноводные озера мира по видовому разнообразию и уникальности его обитателей [98, 140, 141, 284, 285].

Объяснение механизмов, которые создали в относительно ограниченной экосистеме такое колоссальное разнообразие жизни, важно не только для познания Байкала, но и для общей теории видообразования.

Амфиподы – один из наиболее интересных элементов байкальской фауны, в виду того, что они относятся к группам с наиболее глубоко выраженным эндемизмом из байкальских обитателей [44, 45, 46, 97, 98, 140, 141, 304], число их насчитывает более 347 видов из 71 рода [38, 93, 275]. Объяснение механизма возникновения и поддержания такого большого количества видов является одной из основных задач исследования озера.

Особый интерес вызывает разнообразие паразитов, инфицирующих амфипод [52, 79, 82]. Являясь промежуточными хозяевами некоторых видов паразитов, они потенциально открывают путь для проникновения паразитических видов-палеарктов в экосистему озера. С этим же связаны уникальные случаи усложнения жизненных циклов паразитов, не присущие им в других водоемах [52].

Для экосистемы Байкала характерны паразиты, развивающиеся без промежуточных хозяев (63% видов). Например, фауна паразитов рыб Байкала выглядит обедненной в сравнении с таковой водоемов Европы и Западной Сибири, за счет отсутствия в озере ряда специфичных паразитов. В отличие от рыб-хозяев, с весьма высокой долей эндемиков (56%), у паразитов отмечено только 15,7% эндемичных видов и подвидов. Это свидетельствует о разных темпах видообразования у паразитов, в сравнении с другими группами, эндемизм которых составляет 56 – 100% (рыбы, моллюски, ракообразные) [85].

Паразитофауна беспозвоночных Байкала изучена слабее, чем фауна хозяев. Не полностью учитывается потенциальное разнообразие симбионтов и паразитов ряда таксономических групп беспозвоночных гидробионтов.

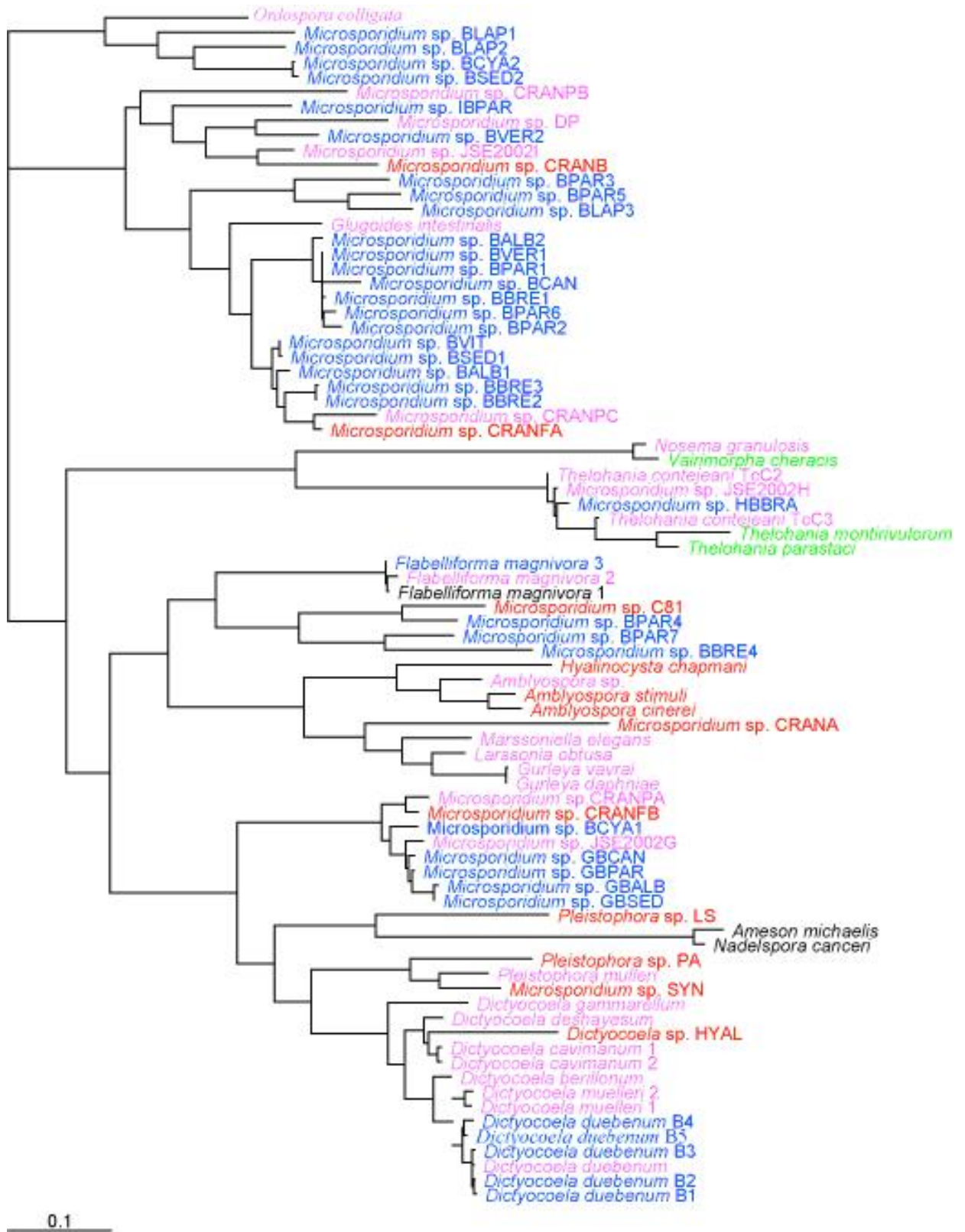
Паразиты составляют существенную долю в видовом разнообразии

практически любой экосистемы. Более того, они могут принимать участие в видообразовательных процессах у хозяев [139, 142, 143]. Обычно число видов паразитов равно, либо сопоставимо с числом видов хозяев, населяющих данную экосистему [191, 234]. Известное к настоящему времени разнообразие паразитов в Байкале является в этом смысле исключением, поскольку в Байкале существует выраженный дефицит таксономического разнообразия паразитов, и еще больший дефицит разнообразия видоспецифических паразитов [76, 77, 78, 80, 84, 86].

Недавно было показано [259, 321], что микроспоридии, известные в Байкале с шестидесятых годов [268, 269], представлены у байкальских амфипод исключительно большим количеством видов (рис.1), которое, потенциально, может заполнить дефицит разнообразия паразитов. Однако остается неясным вопрос о видовой специфичности микроспоридий, и связанный с ним вопрос о возможном участии этих паразитов в эволюционных процессах у хозяев.

В качестве объектов исследования выбрали представителя фауны амфипод Байкала – вид *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) [9, 10, 57, 65] и внутриклеточных паразитов, принадлежащих к микроспоридиям (*Microsporidia* (Balbiani, 1882)). Последние сдвигают равновесие полов с помощью феминизации, самцовой смерти или стимулируют партеногенез. Изменяют они также и экологические параметры хозяев [173]. Характер качественного и количественного распределения их между геномами хозяина может отражать эволюционные события и/или механизмы, которые привели к существующей популяционной структуре вида-хозяина. Для байкальских амфипод они могут служить «катализаторами видообразования».

Микроспоридиоз [410] относится к таким заболеваниям человека как оппортунистические инфекции при СПИДе (синдром приобретенного иммунодефицита). Механизм заражения микроспоридиозом мало изучен. Лечение микроспоридиоза не разработано. Чаще всего микроспоридиоз встречается у ВИЧ-инфицированных (вирус иммунодефицита человека),



**Рис. 1.** Филогенетическое древо основных видов микроспоридий.

Цветом показана территориальная принадлежность образцов: синий – Байкал, Россия; розовый – Европа; красный – Северная Америка; зеленый – Австралия [259, 261].

реже при иммунодефицитах иной этиологии и совсем редко – на фоне нормального иммунитета. На настоящий момент обнаружено более 14 видов

[164], инфицирующих человека и приводящих к длинному списку заболеваний, включая хроническую диарею и потенциально летальную диарею, кератоконъюнктивит, пневмонию, бронхит, нефрит, уретрит, простатит, гепатит, энцефалит, мастит и перитонит. Чтобы понять, насколько он опасен, в том числе и для человека, необходимо хорошо знать распределение возбудителя.

Методы молекулярной систематики, основанные на сравнительном анализе гомологичных последовательностей ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), успешно применяются для диагностических целей, видовой идентификации и бесценны для таксономической классификации и филогенетического анализа микроспоридий [409]. Эти же современные методы применяются и для исследования их внутривидового полиморфизма.

Настоящая работа посвящена изучению внутривидовой генетической структуры амфиподы *Gmelinoides fasciatus* и возможному влиянию микроспоридий на эволюцию этого вида.

### **Цели и задачи исследования**

Цель настоящего исследования – выявление взаимосвязи между разнообразием видов микроспоридий и внутривидовым разнообразием хозяина, *G. fasciatus*, в Байкале. Согласно поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Определить пространственно-генетическую неоднородность внутри вида *Gmelinoides fasciatus* в Байкале по фрагментам митохондриальной ДНК (мт ДНК).
2. Установить видовое разнообразие микроспоридий, паразитирующих на различных популяциях *G. fasciatus*, по фрагменту гена малой субъединицы рибосомальной ДНК (рДНК).
3. Определить степень зараженности различных популяций.
4. Оценить возможную роль микроспоридий во внутривидовой изоляции *G. fasciatus*.

### Научная новизна

Впервые подробно исследована пространственно-генетическая неоднородность байкальского вида *G. fasciatus* с помощью методов молекулярного анализа. Установлено подразделение вида как минимум на четыре популяции: юго-западную, северную, центральную, юго-восточную.

Выявлено низкое генетическое разнообразие юго-западной популяции *G. fasciatus* по исследованному митохондриальному локусу CO1 (первая субъединица цитохромоксидазы с). Предложена гипотеза «бутылочного горлышка» для юго-западной популяции. Установлено, что исток Ангары является частично изолирующим барьером для субпопуляций юго-западной популяции *G. fasciatus*.

Установлена скорость накопления замен для фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохром-с-оксидазы *G. fasciatus*.

Впервые реконструирована демографическая история исследованных популяций.

Выявлено большое разнообразие видов микроспоридий в пределах одного исследуемого байкальского вида амфипод, *G. fasciatus*. Установлен видовой состав, частота встречаемости микроспоридий во всех четырех популяциях хозяина, а так же присутствие коинфицирования в юго-западной популяции *G. fasciatus*.

Среди паразитов *Microsporidia* встречаются не только виды-палеаркты, но и космополитные виды, поскольку паразиты распространяются очень легко. В данном исследовании у *G. fasciatus* обнаружены популяционно специфические паразиты наряду с *Dictyocoela duebenum*, который является широко распространенным.

Подробное исследование амфиподы *G. fasciatus* показало относительно высокое видовое разнообразие паразитирующих на ней микроспоридий. Число видов паразита превышает таковое хозяина.

### **Практическое значение работы**

Результаты исследования могут быть использованы для моделирования макро- и микроэволюционных процессов формирования репродуктивной изоляции и видового разнообразия. Полученные данные могут помочь в развитии общей теории видообразования амфипод озера Байкал.

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена CO1 мтДНК депонированы в GeneBank с номерами доступа: FJ715824 – FJ715919. Нуклеотидные последовательности фрагмента гена малой субъединицы рДНК микроспориций депонированы в GenBank с номерами доступа: FJ820187 – FJ820237.

Материалы диссертационной работы могут быть привлечены для установления естественных резервуаров микроспориций и циркуляции их в Байкале.

Результаты проведенных исследований используются в курсе лекций по генетике на биолого-почвенном факультете Иркутского государственного университета.

### **Защищаемые положения**

1. Байкальский вид *Gmelinoides fasciatus* образует четыре непрерывные популяции по берегам Байкала. Границы между популяциями не всегда соответствуют географической подразделенности озера.
2. Юго-восточная популяция *G. fasciatus* является предковой для трех других популяций этого вида амфипод.
3. Демографическая история юго-западной популяции резко отличается от истории остальных байкальских популяций. Предложена гипотеза «бутылочного горлышка».
4. *G. fasciatus* заражен шестью видами микроспориций. Один из них, *Dictyocoela duebenum*, обнаружен во всех популяциях.
5. Юго-западная популяция отличается присутствием всех видов паразита, характерных для *G. fasciatus*, а также наличием двойного

заражения, несмотря на относительно небольшую частоту встречаемости микроспоридий в этой популяции (32,18%).

б. Качественное и количественное распределение паразитов в популяциях *G. fasciatus* указывает на весьма вероятную причастность микроспоридий к формированию и/или поддержанию межпопуляционных барьеров у *G. fasciatus*.

### Апробация работы

Материалы диссертации докладывались на Всероссийской научно-практической конференции «Развитие физико-химической биологии и биотехнологии на современном этапе», Иркутск, 2003. На 12-ой Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI век», Пушкино, 2008. На II Всероссийской научно-практической конференции «Развитие физико-химической биологии и биотехнологии на современном этапе», Иркутск, 2008. На 5-ой Международной конференции «Speciation In Ancient Lakes», Македония, Охрид, 2009 и 6-й Международной конференции «Speciation In Ancient Lakes», Богор, Индонезия, 2012. На пятой и шестой Верещагинской байкальской конференции (Иркутск, 2010, 2015). На III Международном симпозиуме «Invasion of alien species in Holarctic» (Борок, 2010). На III Международной конференции «MolPhy-3» (Москва, 2012). На 8-м международном симпозиуме «МАРЕЕГ», Владивосток, 2015.

### Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 2 в отечественном и 1 в международном рецензируемом журнале.

1. Гоманенко Г.В. Филогения основных семейств амфипод / Г.В. Гоманенко, Р.М. Камалтынов, Т.И. Трибой, **Ж.В. Кузьменкова** // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2003. – № 7. – С. 128–129.
2. Гоманенко Г.В. Популяционная структура байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) / Г.В. Гоманенко, Р.М. Камалтынов, **Ж.В.**

**Кузьменкова**, Camillo Berenos, Д.Ю. Щербаков // Генетика. – 2005. – Т. 41. – № 7. – С. 1–6.

Gomanenko G.V. Population structure of the Baicalian amphipod *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) / G.V. Gomanenko, **Zh.V. Kuzmenkova** [et al.] // Rus. J. Genetics. – 2005. – V. 41. – № 8. – P. 907–912.

**3. Кузьменкова Ж.В.** Разнообразие микроспоридий, паразитирующих на байкальских амфиподах *Gmelinoides fasciatus* из разных популяций / **Ж.В. Кузьменкова**, Д.Ю. Щербаков, Д.Э. Смит // Известия Иркутского государственного университета. – 2008. – Т. 1. – № 2. – С. 56–61.

**4. Кузьменкова Ж.В.** Роль микроспоридий в эволюции байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) / **Ж.В. Кузьменкова**, Д.Э. Смит, Д.Ю. Щербаков // 12-я международная пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI век»: Сборник тезисов (Пушино, 10-14 ноября 2008 г.). – Пушино, 2008. – С. 302–303.

**5. Fazalova V.** Signals of differential impact of environmental changes on demographic histories of invertebrates from Lake Baikal / V. Fazalova, B. Nevado, T. Peretolchina, **Z. Kuzmenkova**, D. Sherbakov // SIAL 5: Book of abstracts (Ohrid, 7-11. 09. 2009). – Ohrid, 2009. – P. 24–25.

**6. Kuzmenkova J.V.** Microsporidian parasites of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) in Lake Baikal, Siberia: possible mechanism of parasite driven host speciation / **J.V. Kuzmenkova**, Y. Qiu, D.Y. Sherbakov, J.E. Smith // SIAL 5: Book of abstracts (Ohrid, 7-11. 09. 2009). – Ohrid, 2009. – P. 57–59.

**7. Malavin S.A.** Phylogenetic interrelationship of three introduced populations of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) (Crustacea: Amphipoda) inferred from molecular data / S.A. Malavin, **Zh.V. Petunina**, D.Yu. Sherbakov // III International Symposium «Invasion of alien species in Holarctic». – Borok, 2010. – P. 68–69.

**8. Fazalova V.** When environmental changes do not cause geographic separation of fauna: differential responses of Baikalian invertebrates / V. Fazalova, B. Nevado, T. Peretolchina, **J. Petunina**, D. Sherbakov // BMC Evolutionary

Biology. – 2010. – № 10. – P. 320.

9. Насколько стабильны сообщества бентосных беспозвоночных Байкала? / Д.Ю. Щербаков, **Ж.В. Петунина** [и др.] // Пятая Верещагинская байкальская конференция. – Иркутск, 2010. – С. 85–87.

10. **Petunina J.V.** Population structure and demographic history of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) from Lake Baikal and Angara River / **J.V. Petunina**, D.Y. Sherbakov // SIAL 6: Book of abstracts. – Bogor, 2012. – P. 57–59.

11. **Petunina J.V.** Population structure of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) from Lake Baikal and Angara River / **J.V. Petunina**, D.Y. Sherbakov, R.M. Kamaltynov // MolPhy-3: Contributions to the 3<sup>rd</sup> Moscow International Conference “Molecular Phylogenetics” – Moscow, 2012. – P. 64–65.

12. **Petunina J.V.** The evolution features of mitochondrial molecular marker COI from endemic Baikal amphipods of the familia Micruropodidae / **J.V. Petunina**, Yu.S. Bukin, R.M. Kamaltynov // The sixth Vereshchagin Baikal conference: abstracts. – Irkutsk, 2015. – P. 170–171.

13. Kovalenkova M.V. Nuclear and mitochondrial polymorphism in baikalian *Gmelinoides fasciatus* / M.V. Kovalenkova, **J.V. Petunina**, D.Y. Sherbakov // VIIIth international symposium «МАРЕЕГ»: book of abstracts. – Vladivostok, 2015. – P. 43.

### Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю – д.б.н. Щербакову Д.Ю. за руководство в работе, а также коллегам из лаборатории геносистематики ЛИН СО РАН, особенно Букину Ю.С. за ценные консультации и поддержку на всех этапах подготовки диссертационной работы. Автор признателен Гоманенко Г.В. за помощь при исследовании, Тахтееву В.В. и Кондратову И.Г. за ценные замечания по материалам диссертации. Огромную благодарность автор выражает Камалтынову Р.М. за помощь и консультации при определении видов амфипод, за ценные замечания по материалам диссертации. Большое спасибо

моей семье за понимание и поддержку.

Исследование выполнялось при частичной поддержке грантов РФФИ (№ 03-04-63157к, 04-04-48970, 04-04-48945а, 04-04-48549; 07-04-01410-а, 09-04-09436-моб\_з), гранта Marie Curie Fellowship 2008 г., гранта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры ...» (2009 – 2013) «Исследование динамики популяций байкальских организмов» (соглашение от 23.07.2012 г. № 8099).

### **Структура и объем диссертации**

Работа включает следующие разделы: введение, литературный обзор, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы и список используемой литературы (416 ссылок). Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 19 рисунков и 11 таблиц.

## Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Амфиподы озера Байкал

Бокоплавцы, или амфиподы, являются одним из наиболее таксономически богатых отрядов Amphipoda (Latreille, 1817) высших ракообразных Malacostraca (Latreille, 1802), Crustacea (Brünnich, 1772), широко освоивших самые различные условия обитания в морских и пресноводных экосистемах.

К началу 90-х годов XX века в составе отряда насчитывалось около 6300 видов; наибольшая их часть - 5750 видов - относится к подотряду гаммаридея (Gammaridea (Latreille, 1802)). Количество видов и подвидов пресноводных Gammaridea в настоящее время составляет около 1870, в том числе приблизительно 45% видов принадлежат к числу обитателей подземных вод и пещерных водоемов [217, 392]. Распределение пресноводных видов бокоплавов на нашей планете очень неравномерно. С одной стороны, имеются территории, очень бедные видами амфипод (например, озера большей части Сибири населяет лишь один вид *Gammanis lacustris* Sars); с другой, в ряде регионов находятся центры таксономического разнообразия и неэндемичного видообразования этой группы животных. К их числу относятся, в частности, Балканский полуостров и горные системы Центральной Азии. Однако наиболее разнообразная фауна амфипод населяет озеро Байкал - глубочайший и древнейший пресноводный водоем мира [93].

Байкальские амфиподы не только приспособились к обитанию в весьма необычной экосистеме Байкала, но и дали обширнейшую видовую радиацию. Эта группа животных имеет высокое разнообразие экологических адаптаций и населяет все биотопы озера. Соответственно, высоко разнообразие жизненных форм байкальских эндемичных амфипод.

Классификация жизненных форм (экоформ) учитывает и образ жизни животных, и обусловленные им морфологические особенности. К настоящему моменту системы жизненных форм разработаны для морских амфипод нескольких подотрядов [93]. Для амфипод Байкала такая

классификация, необходимая в качестве практического инструмента при решении многих научных проблем, была предложена Тахтеевым В.В. [93]. Она схематически приведена на рис. 2.



**Рис. 2.** Система жизненных форм байкальских бокоплавов [93].

### 1.1.1. Роль амфипод в экосистеме озера Байкал

Уникальность и многообразие органического мира Байкала свидетельствуют об обилии в нем различных экологических ниш и сложности биоценологических отношений. По источникам первичной продукции, составу биотопов и различиям параметров абиотической среды Байкал подразделяется на 2 зоны: прибрежную и глубоководную. Прибрежная зона включает мелководную отмель, верхнюю часть глубоководного склона до 250-300 м и занимает 1/5 часть площади озера. Глубоководная зона составляет 4/5 площади озера и подразделяется на эпипелагиаль, соответствующую слою активного перемешивания вод, и батипелагиаль, лежащую ниже этого слоя.

Трофическую (пищевую) цепь (сеть) открытой пелагиали (до 300 м) образуют несколько видов фитопланктона, растительноядный рачок эпишура,

всеядная батипелагическая амфипода макрогектопус, два вида голомянок, два вида пелагических бычков, омуль и пресноводный тюлень нерпа. Основа первичного звена – продуценты Байкала – представлена 12 массовыми видами водорослей. Диатомовые водоросли – самые массовые представители фитопланктона Байкала, служат пищей мезозoopланктону. Комплекс беспозвоночных средних размеров (мезозoopланктон) представлен сообществом ракообразных и коловраток. Главным потребителем первичной продукции является эпишура. Она составляет, как правило, 90% биомассы мезозoopланктона и служит пищей для следующих трофических уровней. Она служит также основной пищей омуля от личинок до сеголетка и входит как постоянный компонент в пищевой рацион взрослого омуля. Следующий компонент трофосистемы пелагиали Байкала – макрогектопус, заселяющий всю толщу эпи- и батипелагиали. Питается в основном эпишурой, водорослями. Макрогектопус в свою очередь служит основой питания голомянок, омуля и других рыб. Основной промысловый объект в пелагиали озера – омуль, занимающий один из высших уровней продукционной цепи экосистемы. Важным потребителем рыб выступает нерпа [19].

Донные животные Байкала по количеству видов во много раз превосходят пелагических (более 98% видов). Беспозвоночные дна представлены комплексами эндемичных и палеарктических видов, адаптировавшихся ко всей многообразной гамме жизненных условий. Особенно богата жизнью литораль. По мере нарастания глубин снижается биомасса бентоса и его продукция. Это находится в полном соответствии с характером распределения легко гидролизуемого органического вещества. Основу биомассы бентоса составляют губки, олигохеты, амфиподы и моллюски.

Амфиподы представляют существенную часть (20% биомассы и более) донных сообществ и один из главных компонентов пелагической экосистемы оз. Байкал, встречаясь от интерстициальных вод пляжей выше уреза воды до максимальных глубин [38]. Амфиподы находятся на 2-4-ом трофических

уровнях; среди них имеются фитофаги, разнородные со смешанным питанием, хищники первого и второго порядка. Большинство видов амфипод имеют смешанное питание, потребляя пищу, относящуюся к разным трофическим уровням. Представители зообентоса Байкала распределены по трофическим группам, при этом амфиподы отнесены: к фитофагам, детритофагам, хищникам и трупоедам. Байкальские амфиподы питаются из разных пищевых зон (ярусов): 1) водная толща, 2) придонные слои воды, 3) поверхность грунта, 4) толща грунта.

Сообщества зообентоса (биоценозы) оз. Байкал, в том числе и амфипод, формируются в двух литодинамических обстановках: обилия и дефицита рыхлых наносов. При этом донный субстрат представлен соответственно мелкозернистыми (ил-песок) и грубыми (гравий-скала) отложениями [36].

Таксоценозы амфипод и сообщества бентоса (биоценозы) формируются под действием таких факторов среды, как гидродинамическое воздействие, характер донных отложений, литодинамические процессы, контролируемые в первую очередь геоморфологическим строением дна, в совокупности составляя биогеоценозы оз. Байкал.

В экосистеме Байкала амфиподы играют ключевую роль в трансформации вещества и энергии. Некоторые виды составляют основу кормовой базы рыб, другие, как, например, некрофаги и детритофаги, в свою очередь, участвуют в утилизации органических остатков. Особое внимание привлекает роль амфипод в паразитарных системах. Являясь промежуточными хозяевами ряда таксономических групп паразитов, они открывают путь для проникновения паразитических видов-палеарктов в экосистему озера. С этим же связаны уникальные случаи усложнения жизненных циклов паразитов, не присущие им в других водоемах.

### **1.1.2. Эволюция амфипод в озере Байкал**

Щербаков Д.Ю. с соавторами [70, 71, 104, 356, 358] с помощью молекулярно-филогенетических методов исследовали основные тенденции

эволюционной истории эндемичных байкальских амфипод. Для этого они использовали два набора данных ДНК последовательностей, ядерного рибосомального гена 18S и митохондриального гена COI.

В анализ были включены два не байкальских вида рода *Gammarus*, которые оказались связанными с различными байкальскими ветвями. Интересно, что палеарктический пресноводный *Gammarus pulex* (L., 1758), сгруппировался вместе с *Macrohectopus branickii* (Dybowsky, 1874), единственной байкальской амфиподой, которая адаптировалась к пелагическому образу жизни, т.е. байкальский пелагический вид *Macrohectopus branickii* ближе к европейскому *Gammarus pulex*, чем к любым другим изученным амфиподам. Это указывает на полифилетическое происхождение фауны байкальских амфипод. Такие отношения могут подразумевать исключительно быстрое развитие специфической морфологии и экологии *Macrohectopus*; отличительные особенности этого таксона отражаются в его положении в отдельном семействе [37].

Два вида *Micruropus*, включенные в данные, явно отделились от остальной части байкальских амфипод и могли бы быть ближе к некоторым дополнительным байкальским таксонам. По этим данным нельзя утверждать о монофилии или полифилии байкальских таксонов относительно *Gammarus*. Митохондриальные ДНК данные позволили выявить основное подразделение между гладким роющим родом *Micruropus* и остальными таксонами байкальских амфипод, включенными в исследование.

Отсутствие палеонтологических данных не позволяет сделать прямую калибровку молекулярных часов для байкальских амфипод; могут быть сделаны только грубые оценки, при использовании скорости замен, полученных для других таксонов. Доступны некоторые внешние оценки по митохондриальным трансверсиям в третьих позициях, например, данные для цитохрома b гастропод, откалиброванные с использованием палеонтологических данных [157]. Предложено 0.42% трансверсий на миллион лет (Myr), что близко к оценке Ирвина и др. [238] для

млекопитающих, 0.5% на миллион лет. Самые высокие оценки уровня были получены при повторном вычислении из COI данных для Карибских крабов [351], калиброванный появлением Панамского перешейка 3.1 миллионов лет назад. Это вычисление дало 0.92% трансверсий на миллион лет на линию.

Используя эти оценки, и отмечая, что многочисленная байкальская группа, показанная как сестренская клада *Gammarus duebenii* (Lilljeborg, 1852) имеет среднюю длину ветви (расстояние до этого узла) приблизительно в 20% трансверсий, авторы пришли к заключению, что минимальный возраст этой клады составляет 20 миллионов лет. Минимальная оценка времени отделения *Micruropus* от остальной части байкальских амфипод превысила 30 миллионов лет. Поскольку возраст постоянного, большого палеоозера в пределах современного Озера Байкал по оценкам составляет 28 миллионов лет [287], это указывает на то, что амфиподы, встречающиеся в настоящее время в Озере Байкал, могут представлять несколько линий, которые, возможно, колонизировали пре-Байкал независимо. Эволюционная история амфипод озера и их отношений к (парафилетичному?) роду *Gammarus*, вероятно сложны [37].

Многие рода, представленные больше чем одним видом в данных COI монофилетические, но есть также важные исключения. Два главных богатых видами рода вооруженных байкальских амфипод, *Pallasea* и *Acanthogammarus*, показаны полифилетичными на дереве. Для 18S рРНК данных каждый род был представлен двумя видами; при анализе с аутгруппой *Gammarus pulex*, они снова оказались полифилетичными. Это указывает на другую важную особенность эволюционной истории байкальских амфипод: морфологические диагностические признаки и адаптивные оценки, такие как вооружение тела, возможно, развилась параллельным способом. Это снова подчеркивает потенциальные проблемы, с которыми можно столкнуться, изучая чрезвычайную морфологическую изменчивость байкальских амфипод, и делают дальнейшие детальные изучения этой группы еще более сложными.

Согласно этому исследованию байкальская амфипода *G. fasciatus* на древе располагается ближе к роду *Gammarus*, чем к остальным байкальским амфиподам и является так называемой наиболее длинной ветвью, что указывает на его древнее происхождение.

### 1.1.3. Байкальская амфипода *Gmelinoides fasciatus*

Среди огромного разнообразия фауны байкальских амфипод (более 350 видов и подвидов) *Gmelinoides fasciatus* занимает особое место [313]. Расчетное время существования *G. fasciatus* в виде отдельной генетической линии (обособления вида) составляет 13 млн. лет [63]. Вид эволюционно стабильный, он показывает длинную ветвь, но принадлежит к одному байкальскому букету видов. *G. fasciatus* возможно сохранился как реликтовый с теплого третичного периода (23,7 – 6,5 млн лет) [94, 313].

*G. fasciatus* относится к прибрежно-соровому комплексу байкальских видов. По классификации жизненных форм байкальских амфипод Тахтеева В.В. (см. рис. 2) *G. fasciatus* принадлежит «амфиподам с переменным образом жизни». В Байкале он населяет мелководную зону до глубины 5 м, в единичных случаях доходит до 192 м, обитает в его сорах и заливах, в устьях всех рек, впадающих в Байкал. *G. fasciatus* – исключительно эврибионтный и эвритопный вид, он обитает в стоячих и текучих водоемах разных климатических зон, различного температурного и кислородного режима и разной трофности (от олиготрофных до евтрофных). Обычно рачок живет в мелководной зоне среди растительности и на грунтах, подвергающихся некоторому заилению, а также на песке, среди камней, на песках и илах с детритом, а в водохранилищах, кроме того, в обрастаниях затопленного леса. Способен переносить недостаток кислорода (0,16 мг/л) и высокое содержание CO<sub>2</sub>. Однако в опытах показано, что рачок погибает при более высоком содержании кислорода – 0,47 мг/л [5, 10]. После проведения экспериментов установлено, что в естественных условиях бокоплавы могут расселяться в солоноватых водах, имеющих соленость до 5 ‰, и формировать устойчивые

популяции при условии распреснения воды до 1–2 ‰ [13]. *G. fasciatus* способен зарываться в грунт и совершать миграции в толщу воды [66]. Соотношение полов у *G. fasciatus* в Байкале примерно составляет 1:1.

*G. fasciatus* обладает ярко выраженной эврифагией [51] и способен использовать в пищу растительный детрит и минеральные частицы, водоросли, макрофиты, детрит животного происхождения, мелких беспозвоночных, при недостатке пищи и большой плотности популяции (обычно в искусственных условиях) поедает собственную молодь и ослабленных особей [66]. Представители данной систематической группы амфипод характеризуется смешанным типом питания, в том числе активно используют высшие водные растения в качестве пищи. Для нормальной жизнедеятельности данного вида необходимо смешанное питание, наличие в рационе кормов как растительного, так и животного происхождения.

Полевые данные свидетельствуют о наличии в спектре питания данного вида разнообразных растительных и животных компонентов, а также детрита. *G. fasciatus* способен использовать в пищу большое число видов животных, а также растительные организмы, принадлежащие к различным систематическим группам. Наиболее охотно из предложенного корма потреблялась нитчатая зеленая водоросль *U. zonata*, формирующая обрастания скал и камней. Наряду с нитчатыми зелеными водорослями, высокий уровень потребления отмечен для водного мха *Fontinalis antipyretica*. Потребление другого растительного корма (ряска трехдольная, кубышка желтая, сфероносток, элодея) было существенно ниже. Многие виды предложенных растений (диатомовые водоросли, все виды рдестов, уруть, осока, ситняг болотный, хвощ приречный, горец земноводный, ежеголовник сродный, шильник водяной, телорез алоэвидный, манник плавающий) *G. fasciatus* вообще не использовал в пищу.

Из животных в кишечниках бокоплавов всех типов литорали чаще всего встречаются личинки хирономид, которые, обитая в различных биотопах, повсюду становятся добычей *G. fasciatus* (эти беспозвоночные играют в

питании *G. fasciatus* в Ладожском озере первостепенное значение). На втором месте по уровню встречаемости в кишечниках стоят олигохеты. Ветвистоусые ракообразные играют в питании *G. fasciatus* также немаловажную роль. Они потребляются довольно интенсивно в большинстве биотопов, но наибольший процент встречаемости отмечается у бокоплавов, обитающих в зарослях макрофитов, где эти рачки достигают наибольшего количественного развития. Критическая концентрация в опытах с водяными осликами ниже по сравнению с личинками хирономид, олигохетами и ветвистоусыми ракообразными. Возможно также, что одной из причин сокращения численности бокоплава *G. lacustris* Sars в Ладожском озере, стало выедание его молодыми популяцией вселенца *G. fasciatus*. Коловратки присутствовали в составе пищевого комка *G. fasciatus* постоянно. Они, как и эпифитные диатомовые водоросли, попадают в кишечники при поедании бокоплавами растений, среди которых обитают. Кроме перечисленных выше растений и животных, несомненно, *G. fasciatus* потребляет в пищу и многих других представителей фауны и флоры. Бактерии, присутствуя в естественных условиях в любом роде пищи, также имеют определенное значение в питании *G. fasciatus*. Эксперименты по хищному питанию *G. fasciatus* подтвердили полевые наблюдения и показали, что данный вид способен использовать в пищу большое число видов организмов донной фауны прибрежья Ладожского озера. Бокоплав, по-видимому, предпочитает потреблять сравнительно мелких, имеющих мягкие наружные покровы, малоподвижных животных. Для *G. fasciatus* Ладожского озера характерно наличие четко выраженного избирательного отношения к различным видам животной и растительной пищи [51].

Характер грунтов и скорость течения оказывают большое влияние на то, в каком направлении идут изменения, отличающие виды амфипод из Байкала от этих же видов из других водоемов. Там, где преобладают плотные галечные грунты и течение сильное, амфиподы более плотные, коренастые, с укороченными конечностями и сильными шипами. В хорошо

прогревающихся водоемах с мягкими грунтами и спокойным течением или в стоячих водах их тело более нежное, конечности длиннее, щетинки на теле и конечностях гуще. Основные биологические различия популяций *G. fasciatus* из водоемов разного типа заключаются в разной продолжительности жизни, количестве генераций, плодовитости самок, количестве пометов в течение жизненного цикла, разных сроках размножения, разных величинах продукции и Р/В (продукция/биомасса) коэффициента [66]. Известно, что виды, обладающие высоким внутривидовым разнообразием, устойчивы во времени [88]. *Gmelinoides fasciatus* морфологически и генетически очень неоднороден [25].

*G. fasciatus* имеет высокую численность в естественной области распространения, обладает высокой экологической пластичностью [1, 28, 83], а именно: способен выживать в большом диапазоне температур (до 29 – 31,2°) [375], является всеядным видом, имеет короткий жизненный цикл и высокую продуктивность, самки доминируют в репродуктивный период, является устойчивым видом к большому числу антропогенных загрязнителей, является пищей для многих видов рыб [89]. Высокая численность и биомасса *Gmelinoides* в литоральной зоне указывает на значительную его роль в трофических взаимодействиях, потоках вещества и энергии в биоценозах. По литературным данным, *G. fasciatus* охотно питаются многие рыбы – елец, окунь, сиг, плотва, лещ и др. [1].

*G. fasciatus* входит в состав сообществ беспозвоночных [48] мелководной террасы, например, абразионно-аккумулятивной террасы восточного берега южной котловины Байкала наряду с другими беспозвоночными, такими как *Orthocladius decoratus* (Holmgr., 1869), *Euglesa granum* (Ldh., 1909), *Choanomphalus amauronius* (Burg., 1860), *Pseudibaikalia pulla* (Dyb., 1875), и водорослями [49, 50]. Он является субдоминантным видом в сообществах *Eulimnogammarus verrucosus* и *Choanomphalus amauronius* восточного берега южной котловины озера (индекс плотности 26% и 20% соответственно).

Амфипода *G. fasciatus* – широко распространенный представитель

пресноводных экосистем бассейна озера Байкал [9]. В Сибири данный вид также встречается в бассейнах рек Ангара, Лена, Енисей, Иртыш, Тунгуска [8, 26, 33]. Благодаря широкой экологической пластичности *G. fasciatus* [95] долгое время рассматривался в качестве одного из наиболее универсальных видов для искусственного вселения в различные водоемы в целях повышения кормовой базы рыб [8, 26, 33].

Среди видов-вселенцев байкальская амфипода *G. fasciatus* вызывает повышенный интерес, так как за последние несколько десятилетий ареал данного вида существенно расширился и продолжает расширяться по сей день. В результате плановых мероприятий, начиная с 60-х гг., был произведен выпуск этого вида во многие озера и водохранилища СССР с целью обогащения кормовой базы рыб естественных и искусственных водоемов [15, 16, 30, 31, 32]. Вследствие этого граница его естественного ареала, ограниченная оз. Байкал, некоторыми притоками озера и реками Ангара и Енисей (до Красноярского водохранилища), существенно изменилась и в настоящее время на западе включает Невскую губу Финского залива Балтийского моря, на востоке - оз. Кенон (бассейн р. Амур, Читинская область), на юге – в зоне охвата реки Гант, источником которой является озеро Яшилкул, южный Памир, Таджикистан [359]. Прежний самый южный предел распространения вида был ранее представлен Бухтарминским водохранилищем, Восточный Казахстан [31]. Первые данные о его экспансии в бассейн р. Амур получены в 2002 г. В бассейне р. Селенга *G. fasciatus* встречен в самой реке, на участке ее дельты, в небольших слабоминерализованных озерах нижнего участка ее долины (Оронгойские озера), а также в оз. Гусиное, Бурятия [5, 6, 58].

Бокоплав успешно адаптировался в водоемах вселения, не известно ни одного случая, когда работы по акклиматизации *G. fasciatus* закончились бы неудачей. Обладая высокой экологической пластичностью и миграционной способностью, вселенец проникал из мест вселения в другие водоемы [310], где также происходила его успешная натурализация [7].

Всего 10-15 лет потребовалось небольшому рачку, чтобы расселиться по Карельскому перешейку, Верхневолжскому и Рыбинскому водохранилищам, Ладожскому, Онежскому [11], Чудскому озерам и достичь Финского залива Балтийского моря. Установлено, что вид находится на стадии экологического прогресса [6].

*G. fasciatus* играет очень важную роль в формировании и функционировании донных биоценозов прибрежной зоны водоемов вне своего естественного ареала, в которые он был интродуцирован (Горьковское, Оземинское, Новосибирское, Красноярское, Ириклинское, Бухтарминское и Усть-Каменогорское водохранилища; озера Пеипси, Гусиное, Большое Еравное и Ильмень; ряд небольших озер Ленинградской области) [7, 359].

Благодаря этому виду возрастает продуктивность бентоса литорали без сокращения его видового разнообразия (для Ладожского озера). Широкий спектр питания бокоплава позволяет литоральным сообществам донных макробеспозвоночных более полноценно использовать имеющиеся пищевые ресурсы прибрежной зоны озера, более эффективно утилизировать энергию, поступающую в литоральную зону, и передавать энергию на более высокие трофические уровни. Установлено, что вселение байкальского бокоплава приводит к усложнению пищевых сетей в водоеме и увеличению кормовой базы рыб [7]. Функционирование популяции *G. fasciatus* в Ладожском озере [7] значительно изменило перераспределение потоков вещества и энергии в литоральных биоценозах, уменьшив значение бактериального звена и других мелких деструкторов из состава микро- и мейофауны, таким образом сделав более доступным недоиспользуемый ранее трофический ресурс, в частности, для рыб. Тем самым, в Ладожском озере после интродукции вида произошло увеличение кормовой базы рыб. Наряду с этим можно говорить и о появлении в озере нового кормового ресурса для водоплавающих птиц.

Однако, распространение значительного количества видов, способных не только к быстрому увеличению численности, но и к изменениям своих эколого-физиологических характеристик в процессе адаптации, является

фактором экологического риска [105]. Вселение байкальской амфиподы *G. fasciatus* в водные экосистемы Европейской части России является одним из наиболее ярких примеров преднамеренной интродукции, повлекшей за собой непредвиденные последствия для биоразнообразия крупных озерных, речных и эстуарных экосистем [73].

## **1.2. Популяционные процессы и факторы, влияющие на генетическое разнообразие популяции**

Популяция согласно определению Н.В. Тимофеева-Ресовского [96] - это совокупность особей определенного вида, в течение достаточно длительного времени (большого числа поколений) населяющих определенное пространство, внутри которого практически осуществляется та или иная степень панмиксии и нет заметных изоляционных барьеров, которая отделена от соседних таких же совокупностей особей данного вида той или иной степенью давления тех или иных форм изоляции.

Реальные популяции могут значительно отличаться от идеальной Харди-Вайнберговской популяции, в которой соблюдаются следующие условия: (1) новые мутации не появляются; (2) популяция полностью изолирована, т.е. нет миграции особей – носителей генов в популяцию и из популяции; (3) популяция бесконечно велика, к ней можно применять законы вероятности, т.е. когда в высшей степени маловероятно, что одно случайное событие может изменить частоты аллелей; (4) скрещивания случайны, т.е. происходит чисто случайное образование родительских пар – панмиксия; (5) все аллели равно влияют на жизнеспособность гамет, другими словами, нет различий в репродуктивном успехе, и потомки от всех возможных скрещиваний имеют равновероятную выживаемость. Поэтому частоты генотипов отклоняются от теоретических величин, вычисляемых по соотношениям Харди-Вайнберга. Главная причина отклонения частот генотипов – несомненно, те процессы, что протекают в популяциях и влияют на их генетическую структуру [92].

Дрейф генов. Под дрейфом генов понимают случайные изменения

генных частот, вызванные конечной численностью популяции. Процесс дрейфа генов имеет место в любой популяции конечной численности. Генный дрейф имеет два важных последствия. Во-первых, каждая популяция теряет генетическую изменчивость со скоростью, обратно пропорциональной ее численности. Со временем какие-то аллели становятся редкими, а затем и вовсе исчезают. В конце концов, в популяции остается один-единственный аллель из имевшихся, какой именно – это случайный процесс. Во-вторых, если популяция разделяется на две или большее число новых независимых популяций, то дрейф генов ведет к нарастанию различий между ними: в одних популяциях остаются одни аллели, а в других – другие. Процессы, которые противодействуют потере изменчивости и генетическому расхождению популяций, - это мутации и миграции.

Мутации. При образовании гамет происходят случайные события – мутации, когда родительский аллель превращается в другой аллель, имевшийся или не имевшийся ранее в популяции. Регулярно возникающие мутации и образовали в длинном ряду поколений всех обитающих на Земле видов то гигантское генетическое разнообразие, которое мы сейчас наблюдаем. Вероятность, с которой происходит мутация, называется частотой, или темпом, мутирования. Темпы мутирования разных генов варьируют от  $10^{-4}$  до  $10^{-7}$  на поколение. На первый взгляд, эти величины кажутся незначительными. Однако следует учесть, что, во-первых, геном содержит много генов, а, во-вторых, что популяция может иметь значительную численность. Поэтому часть гамет всегда несет мутантные аллели, и практически в каждом поколении появляется одна или больше особей с мутациями. Их судьба зависит от того, насколько сильно эти мутации влияют на приспособленность и плодовитость. Мутационный процесс ведет к увеличению генетической изменчивости популяций, противодействуя эффекту дрейфа генов.

Миграции. Популяции одного вида не изолированы друг от друга: всегда есть обмен особями – миграции. Мигрирующие особи, оставляя потомство,

передают следующим поколениям аллели, которых в этой популяции могло не быть или они были редки; так формируется поток генов из одной популяции в другую. Миграции, как и мутации, ведут к увеличению генетического разнообразия. Кроме того, поток генов, связывающий популяции, приводит к их генетическому сходству. Уровень миграции оценивается коэффициентом миграции. Коэффициент миграции показывает долю особей, которая привносится из других популяций.

Ассортативное скрещивание (половой отбор). В популяционной генетике скрещивание называют случайным, если генотипы особей не влияют на образование брачных пар. Например, по группам крови скрещивание может рассматриваться как случайное. Однако окраска, размеры, поведение могут сильно влиять на выбор полового партнера. Если предпочтение оказывается особям сходного фенотипа (т.е. со сходными индивидуальными характеристиками), то такое положительное ассортативное скрещивание ведет к увеличению в популяции доли особей с родительским генотипом. Если при подборе брачной пары предпочтение имеют особи противоположного фенотипа (отрицательное ассортативное скрещивание), то в генотипе потомства будут представлены новые сочетания аллелей; соответственно в популяции появятся особи, либо промежуточного фенотипа, либо фенотипа, резко отличающегося от фенотипа родителей.

Скрещивание между родственными особями называют инбридингом. Инбридинг увеличивает долю гомозиготных особей в популяции, поскольку в этом случае высока вероятность того, что родители имеют сходные аллели. С повышением числа гомозигот возрастает и количество больных рецессивными наследственными болезнями. Но инбридинг способствует также большей концентрации определенных генов, что может обеспечить лучшую адаптацию данной популяции в постоянных условиях.

Отбор. Различия в плодовитости, выживаемости, половой активности и т.п. приводят к тому, что одни особи оставляют больше половозрелых потомков, чем другие – с иным набором генов. Различный вклад особей с

разными генотипами в воспроизводство популяции называют отбором.

Изменения нуклеотидов могут влиять, а могут и не влиять на продукт гена – полипептидную цепь и образуемый ею белок. Различия между вариантами (или формами) белка могут быть незаметны для организма, но могут и существенно влиять на его жизнедеятельность.

Следует иметь в виду, что варианты белков не всегда можно трактовать как лучшие или худшие. Индивидуальные различия в ДНК приводят к различиям в наследственной приспособленности особей к разным условиям среды. Еще большие различия в приспособленности наблюдаются по генам, определяющим размеры, физиологические признаки и поведение особей; таких генов может быть много. Отбор, как правило, затрагивает их все и может вести к формированию ассоциаций аллелей разных генов.

Генетические параметры популяции. При оценке генетического разнообразия популяций используют целый ряд количественных генетических характеристик.

*Полиморфизм.* Популяция называется полиморфной по данному локусу, если в ней встречается два или большее число аллелей. Если локус представлен единственным аллелем, говорят о мономорфизме. Исследуя много локусов, можно определить среди них долю полиморфных, т.е. оценить степень полиморфизма, которая является показателем генетического разнообразия популяции.

*Ожидаемая гетерозиготность.* Важной генетической характеристикой популяции является гетерозиготность – частота гетерозиготных особей в популяции. Она отражает также генетическое разнообразие.

*Коэффициент инбридинга.* С помощью этого коэффициента оценивают распространенность близкородственных скрещиваний в популяции.

*Ассоциация генов.* Частоты аллелей разных генов могут зависеть друг от друга, что характеризуется коэффициентами ассоциации.

*Генетические расстояния.* Разные популяции отличаются друг от друга по частоте аллелей. Для количественной оценки этих различий предложены

показатели, называемые генетическими расстояниями. Генетические расстояния оцениваются с помощью различных моделей: модель Джукса-Кантора, модель Кимуры и модель Таямы-Неи.

Различные популяционно-генетические процессы по-разному влияют на эти параметры: инбридинг приводит к уменьшению доли гетерозиготных особей; мутации и миграции увеличивают, а дрейф уменьшает генетическое разнообразие популяций; отбор изменяет частоты генов и генотипов; генный дрейф увеличивает, а миграции уменьшают генетические расстояния и т.д. Зная эти закономерности, можно количественно исследовать генетическую структуру популяций и прогнозировать ее возможные изменения. Этому способствует солидная теоретическая база популяционной генетики – популяционно-генетические процессы математически формализованы и описаны уравнениями популяционной динамики [41, 81, 87, 161, 293, 300].

Для проверки различных гипотез о генетических процессах в популяциях разработаны статистические модели и критерии.

Генотипическая изменчивость является необходимой предпосылкой эволюционного процесса и материальной основой, позволяющей организмам приспособиться к изменениям факторов среды. Ключевым параметром для контроля и регуляции генотипической изменчивости в популяции является эффективная численность популяции.

Эффективная численность популяции ( $N_e$ ) – минимальная численность, необходимая для выживания вида. Именно при такой численности может поддерживаться столь же высокий уровень изменчивости по большинству количественных признаков, как и в бесконечно большой популяции. С генетической точки зрения под эффективной численностью понимают численность идеальной популяции, в которой имеет место такой же уровень дрейфа генов, что и в реальной популяции. Эффективный размер – среднее число особей в данной популяции, обеспечивающее передачу свойственных ей генов от поколения к поколению, при наличии волн жизни [4]. Средняя численность большинства крупных популяций изменяется из года в год

относительно мало, потому что: (1) каждый год погибает примерно одинаковое количество особей; (2) организмы размножаются более интенсивно при меньшей плотности популяции и менее интенсивно при большей плотности; (3) различные факторы среды противодействуют высокому репродуктивному потенциалу популяций. Основными причинами колебаний численности популяций есть изменение условий существования: изменение действия абиотических факторов среды, изменение межвидовых отношений (враги, паразиты), изменение количества и качества корма. Изменение численности популяции складывается за счет таких явлений: рождаемости, смертности, вселения (иммиграции) и выселения (эмиграции).

Во-первых, если в изолированной малочисленной популяции длительное время отсутствует обмен генетической информации с другими внутривидовыми группировками, то аллельное разнообразие такой популяции уменьшается вследствие инбридинга. Это понижает жизнеспособность группы. Обеднение генофонда – это прямой путь к вымиранию. Во-вторых, проблема эффективной численности связана с законом марковских цепей, согласно которому любая варьирующая совокупность (естественные популяции) в условиях пониженной численности рискует «сварьировать до нуля» и тем самым прекратить свое существование в истории [91].

Изменение частоты гена носит случайный, стохастический характер. Такие ненаправленные флуктуации (случайный дрейф генов) зависят исключительно от величины  $N_e$ . Темпы убыли генетического разнообразия (гетерозиготности) популяции в отсутствие отбора зависят от эффективного размера популяции.

### **1.3. Механизмы видообразования. Аллопатрическое и парапатрическое видообразование. Экология и видообразование**

Существует три главных способа возникновения новых видов. Прежде всего – это постепенное превращение во времени одного вида в другой, или

так называемое филетическое видообразование. Кроме того, возможно превращение одних видов в другие в результате гибридизации и в различной степени слияния видов. Ни одна из этих двух систем не связана ни с развитием изолирующих механизмов, ни с увеличением числа видов.

Третий главный способ видообразования – это процесс, с помощью которого один предковый вид дает начало одному или нескольким видам, необязательно утрачивая при этом свою самостоятельность. Такой процесс называют увеличением числа видов (дивергенцией), или истинным видообразованием. Различают мгновенное и постепенное видообразование, причем последнее можно разделить на три главных типа: 1) аллопатрическое, или географическое видообразование; 2) парапатрическое, или генетическое видообразование; 3) симпатрическое, или экологическое видообразование.

Наибольшее распространение получила географическая теория видообразования. В ней утверждается, что первый шаг в процессе видообразования – репродуктивная изоляция, создаваемая физическим (географическим) разделением. Второй шаг – независимая эволюция этих изолированных в репродуктивном отношении популяций. Если ареалы таких популяций затем вновь сливаются и если репродуктивная изоляция сохраняется благодаря развитию какого-либо другого изолирующего механизма, например генетической несовместимости, то процесс видообразования считается завершенным.

У малоподвижных или неподвижных организмов, таких, как растения, роющие грызуны или нелетающие насекомые, видообразование может происходить путем возникновения уникальных в генетическом отношении организмов, которые способны использовать слегка отличные, но физически смежные местообитания и репродуктивно изолированы от остального вида.

По краям ареала распространения вида, но не в изоляции, появляются особи, обладающие как новыми физиологическими признаками, которые впоследствии дают им возможность занять новую экологическую нишу, так и известной степенью репродуктивной изоляции. В то время как при

аллопатрическом видообразовании дифференциация предшествует развитию изоляции, при парапатрическом видообразовании оба процесса происходят одновременно или почти одновременно.

Когда репродуктивная изоляция предшествует дифференциации и когда она возникает в пределах одной популяции или в пределах области распространения популяции, то имеет место симпатрическое видообразование [92]. Симпатрическое (экологическое) видообразование связано с расхождением групп особей одного вида и обитающих на одном ареале по экологическим признакам. При этом особи с промежуточными характеристиками оказываются менее приспособленными. Расходящиеся группы формируют новые виды. Симпатрическое видообразование может протекать несколькими способами. Один из них — возникновение новых видов при быстром изменении кариотипа путём полиплоидизации. Известны группы близких видов, обычно растений, с кратным числом хромосом. Другой способ симпатрического видообразования — гибридизация с последующим удвоением числа хромосом. Сейчас известно немало видов, гибридогенное происхождение и характер генома которых может считаться экспериментально доказанным. Третий способ симпатрического видообразования — возникновение репродуктивной изоляции особей внутри первоначально единой популяции в результате фрагментации или слияния хромосом и других хромосомных перестроек. Этот способ часто встречается как у растений, так и у животных. Особенностью симпатрического пути видообразования является то, что он приводит к возникновению новых видов, всегда морфологически близких к исходному виду. Лишь в случае гибридогенного возникновения видов появляется новая видовая форма, отличная от каждой из родительских.

Каждый вид – это замкнутая генетическая система. Особи одного вида могут друг с другом скрещиваться и давать плодовитое потомство, а представители разных видов не скрещиваются вовсе, а если и скрещиваются, то потомства не дают, а если и дают, то потомство это бесплодно.

Следовательно, дивергентному видообразованию должно предшествовать возникновение изолированных популяций внутри предкового вида. Изоляция служит пусковым механизмом видообразования.

Изоляция – это нарушение панмиксии и потока генов. Изоляции как фактору, увеличивающему разнообразие организмов, придавали большое значение М. Вагнер, А. Гумбольдт, Ж. Бюффон, П.Л. Мопертюи, Ж. Кювье, А. Р. Уоллес, Ч. Дарвин. "Изоляция также является важным элементом в процессе изменения видов посредством естественного отбора", — писал Дарвин. Он определил изоляцию "как препятствие к скрещиванию". Изоляция есть прекращение потока генов (миграции и скрещивания) географическими преградами, особенностями строения, физиологии, поведения организмов. Поэтому выделяют два типа изоляции — географическую и биологическую [92].

Географическая изоляция — это пространственная, территориальная, климатическая изоляция, возникающая вследствие прекращения миграции (потока генов) и панмиксии географическими преградами. В качестве географических преград могут выступать океанические и морские проливы, реки для сухопутных организмов и суша - для водных.

Биологическая изоляция — это биологические барьеры межпопуляционному скрещиванию. Известны два механизма репродуктивной изоляции: презиготические и постзиготические. Презиготические механизмы препятствуют скрещиванию индивидов различных популяций и тем самым исключают возможность появления гибридного потомства.

### Механизмы видообразования в древних озерах

Известно, что древние озера представляют собой превосходную исследовательскую систему, которая дает возможность детального анализа процессов и механизмов, лежащих в основе колонизации, адаптации и создания многообразия видов. С их помощью мы можем понять

принципиальные эволюционные процессы и общие законы видообразования. Населяющие одну и ту же экосистему, виды сталкиваются с одинаковыми глобальными воздействиями окружающей среды, которые они преодолевают каждый своим путем. Этот факт, а также длительная история и широкий набор адаптивной и неадаптивной радиации делают древние озера идеальным местом для изучения видообразования [201, 202, 284].

Взрывное видообразование в древних озерах вдохновило ученых на проведение целого ряда исследований скорости и способов видообразования. Значительное внимание было направлено на внешние силы видообразования – геологические, географические и экологические особенности древних озер. Тогда как внутренняя природа этих радиаций, биологические характеристики, способствующие видообразованию, привлекли повышенное внимание лишь недавно [47]. В середине 20-го века было принято считать, что виды возникают главным образом благодаря постепенному увеличению репродуктивной изоляции среди географически изолированных популяций, но исследования древних озер не подтверждают превалирующую роль географического фактора в видообразовании. Последние филогенетические исследования показали, что за множественными волнами колонизации следовала параллельная внутриозерная радиация, которая происходила относительно быстро, несмотря на длительно продолжавшийся поток генов через гибридизацию и интрогрессию. Некоторые исследования показывают, что гибридизация, запуская крупномасштабные геномные перестройки, может действовать как ключевой эволюционный механизм, давая возможность колонизировать новые экологические ниши. На основании этих исследований предполагается, что гибридизация – это не только маленькая преграда к многообразию, но и возможно важная сила, облегчающая переход между местообитаниями, что способствует постколониционной адаптации и ускоряет создание многообразия. Чтобы пролить свет на эволюционную дилемму видообразования с точки зрения потока генов, возникли экологические геномные подходы.

Ранние модели видообразования в древних озерах были основаны на точке зрения [288, 289], что видообразование возможно, только если географические барьеры в значительной степени заграждают поток генов. При аллопатрии процесс видообразования движется стохастическими событиями, такими как дрейф генов, или мутационно предопределенными процессами. В разных популяциях фиксируются разные мутации, так как они развиваются отдельно или адаптируются к более или менее сходным местообитаниям [282]. Бэйтсон, Добжанский и Мюллер представили простую ситуацию, при которой эволюция репродуктивной изоляции является прямым результатом ступенчатого накопления генетических несовместимостей [307].

Географическое дробление единых популяций в древних озерах, вероятно, возникло во время периодов интенсивных климатических изменений или геологических событий [338]. Геологические свидетельства показывают, что повышения и падения уровня воды в большинстве древних озер повторялись, создавая изолированные бассейны и сопутствующие озера [303, 412]. Сопутствующие озера и реки предоставили возможность для подразделения популяций и повторяющихся колонизаций, также как временные рефугиумы во время периодов массового вымирания. Более того, эти сопутствующие местообитания могли иметь отличные от основного озера характеристики и могли характеризоваться снижением численности популяций и интенсификацией отбора. Но остается непонятным, до какой степени эти временные ограничения в потоке генов сформировали разделение в предковых линиях древних озер.

Озеро Байкал, самое древнее, самое глубокое и самое стабильное из древних озер, пережило значительные преобразования экосистемы [412]. Данные по ископаемым байкальским моллюскам и диатомовым водорослям показывают, что их эволюция проходила через несколько фаз, каждая из которых характеризуется разнообразной и уникальной эндемичной фауной [357]. Очевидно, что фауна древних озер была подвергнута влиянию изменений уровня и температуры воды, которые ведут к физико-химическим

модификациям и биологическому стрессу, создают предпосылки для подразделения популяций. Такие изменения часто были связаны с большими волнами вымирания, и, вероятно, они играли важную роль в открытии новых экологических лицензий, делая озера восприимчивыми к новым волнам колонизации. Как эти факторы влияли на путь создания многообразия, остается в основном не изученным.

Для понимания эволюционных процессов создания многообразия необходимо ясное знание эволюционной истории видов, которые подверглись разветвлению.

Географическое разделение само по себе не может объяснить огромное богатство видов, которое населяет большую часть древних озер [159].

Так как колонизаторы многих древних озер пережили уменьшение размера популяции, эффект основателя и/или видообразование, вызванное снижением численности популяции, также рассматриваются в качестве возможного механизма для разделения видов в древних озерах, по крайней мере на ранних этапах истории букетов видов. Маленький эффективный размер популяции основателя или жесткое «бутылочное горлышко» в размере популяции может привести к важным генетическим последствиям (например, изменение частот аллелей, нарушение равновесия происхождения, новые комбинации генов), которые, во взаимодействии с новой средой для основателя или популяции, пережившей «бутылочное горлышко», могут ускорить видообразование [208]. На сегодняшний день общий взгляд состоит в том, что видообразование основателя - «крайность непрерывного ряда вероятностей» [121], а экспериментальная и теоретическая поддержка для этих моделей является слабой.

Определение следов «бутылочного горлышка» среди всех таксонов древних озер может помочь пролить свет на важность эффектов основателя в процессе видообразования [211]. Прогресс в оценке долговременных и эффективных размеров предковой популяции по полиморфизму ДНК в современных популяциях, так же как по межвидовому полиморфизму, может

пролить свет на потенциальную роль эффекта основателя или бутылочного горлышка популяции в видообразовании [406].

Симпатрическое видообразование участвует в формировании нескольких букетов видов в древних озерах, несмотря на то, что оно является проблематичным с точки зрения синтетической теории эволюции [119, 344]. Самым сильным доказательством послужили примеры диверсификации в областях, где сложно выявить физические барьеры для потока генов (например, букеты цихлид, обнаруженные в маленьких и однородных по среде кратерных озерах Баромби Мбо и Бермин) [343, 344]. Основываясь на всестороннем филогенетическом анализе, Шливен и Кли (2004) пришли к выводу, что гибридизация между древними линиями цихлид вероятно подействовала как движущая сила видообразования, на которую влияет как скорость, так и направление эволюции [27].

Несмотря на существование примеров гибридного видообразования, предположение, что гибридизация может быть важной эволюционной силой, ставится под сомнение [120, 352]. Исторически возникли две основные проблемы. Первая: если гибриды хорошо приспособлены, они, вероятно, вовлечены в обратное скрещивание и интрогрессию. Как результат, гибридизация рассматривается в качестве силы, препятствующей дивергенции и дизруптивному отбору, и, тем самым, в качестве основной помехи для симпатрической дивергенции видов [289]. Вторая: низкая приспособленность гибридов приводит к их вымиранию. Решение этих проблем лежит в том, что гибридизация и интрогрессия имеют потенциал увеличивать генетические различия, которые, с другой стороны, могут вызывать перемещения в новые ниши и создавать новые экологические возможности, недоступные для родительских видов [113, 303, 331]. Например, гибридизация часто приводит к трансгрессивной изоляции, появлению экстремальных генотипов в гибридах, которые облегчают использование новых ниш [330]. Хотя кажется, что лишь небольшое количество генетических комбинаций, сформированных гибридизацией

видов, могут быть приспособленными, возможно, этого достаточно для их распространения [170]. Повышенное генетическое разнообразие гибридов и их склонность к освоению новых экологических ниш, совместно с высокой скоростью гибридизации среди близкородственных видов, показывают, что гибридизация может приводить к быстрому видообразованию, особенно после экологических нарушений, которые открывают новые ниши путем уничтожения, либо изменения местообитаний.

Было отмечено, что экологические условия, которые являются благоприятными для адаптивной радиации, такие как географически пограничные зоны и присутствие близкородственных видов, конкурирующих за ограниченные ресурсы, также вероятно способствуют гибридизации [352]. В древних озерах гибридизация может произойти не только между сестринскими видами, частично изолированными местообитанием или географически, но также между внутриозерными (местными) линиями и периодическими (нерезидентными) колонистами. Эта стадия двойной гибридизации может увеличивать вероятность сетчатой эволюции (образования новых видов путем гибридизации) через повторяющийся ввод новых генетических вариаций. Действительно исследование, включающее большое количество локусов, выявило значительно конфликтующие сигналы среди локусов, показывающие, что межвидовая гибридизация играет важную роль в эволюции нескольких основных видовых совокупностей, таких как лучеперые рыбы в озерах Малили Сулавези [227], цихлидные рыбы озера Виктория, озера Танганьика и озера Малави [162, 258, 303, 339], цихлиды в кратерных озерах Камеруна и Никарагуа [119, 343, 344], и, возможно, бычковые рыбы озера Байкал [259]. Показано, что интрогрессивная гибридизация сыграла ключевую роль в радиации букетов видов этих древних озер при помощи значительного увеличения генетического разнообразия резидентных популяций [227, 335, 339]. К сожалению, потенциальная роль гибридизации в управлении видовой радиацией беспозвоночных остается в основном неисследованной. Большинство

филогенетических исследований основывается на единственном локусе, главным образом митохондриальном [111, 210, 230, 329]. Хотя эти исследования существенны при выявлении общих моделей диверсификации, они не могут определить след гибридизации: а именно потенциал ядерно-цитоплазматической или ядерной несовместимости, задевающий основные модели ветвления в филогении основных групп беспозвоночных.

Даже при исследованиях с большим количеством локусов, документирование процесса сетчатой эволюции является сложным из-за большого значения генетического разнообразия, который объединяет близкородственные сестринские виды и их высокий уровень наследственного полиморфизма [113, 227, 352]. Всесторонние филогенетические исследования радиаций в древних озерах, основывающиеся на множестве ядерных и митохондриальных маркеров, совместно с популяционными генетическими исследованиями и морфологическими и экологическими данными могут выявить филогенетическую несовместимость, вызванную истинной гибридизацией, продемонстрировать, до какой степени гибридизация и интрогрессия между сестринскими видами действовала как движущая сила быстрого видообразования в древних озерах.

Центральной задачей при исследовании видообразования является идентификация механизмов репродуктивной изоляции и эволюционных сил, ответственных за создание изолирующих барьеров [159, 170].

В то время как филогенетические исследования и эксперименты над парами видов часто включались в исследования видообразования, чтобы выявить скорость и модель дивергенции, популяционно-генетические исследования проводились реже. Однако [402] показали, что, так как видообразование является длительным процессом, который, в общем, занимает тысячи поколений и в конечном итоге приведет к различиям в многочисленных локусах, отражающих изоляцию, исследование появления репродуктивных барьеров нужно начать в пределах вида, на популяционном уровне. Общий интерес к этим подходам заключается в том, что не все

дивергирующие популяции завершат процесс видообразования и станут репродуктивно изолированными видами [159]. Тем не менее, исследования на популяционном уровне могут быть использованы для обозначения генетической архитектуры начавшейся репродуктивной изоляции [146].

Понимание того, как виды возникают, требует детального знания как внешних, так и внутренних факторов, которые ограничивают поток генов между видами. А также требует специфических условий, при которых возникает репродуктивная изоляция и путь процесса изоляции для ее завершения [159, 160].

### **1.3.1. Следы демографических изменений в популяциях**

Характер генетического разнообразия современных популяций формируется как результат процессов, происходивших в прошлом с предками организмов, составляющих эту популяцию в настоящее время [2]. Таким образом, генетическое разнообразие современных популяций хранит следы событий прошлого и позволяет проследить демографические процессы того времени. Из всех событий на характере современного разнообразия более всего могли сказаться демографические изменения и изменения миграционных потоков (включая временную частичную изоляцию частей ныне единой популяции), а также - отбор.

Естественно, вычисление наиболее вероятных сценариев, которые могли привести к формированию современной картины генетического разнообразия популяции, требуется количественная теория генетических процессов (изменений частот аллелей) в различных обстоятельствах.

Именно для этой цели и были разработаны демографические модели [302, 302]. Демографические изменения происходят в двух направлениях: расширение популяции (увеличение численности) и уменьшение численности популяции. Расширение популяции может быть ступенчатым, экспоненциальным и линейным во времени. Соответственно, на протяжении одинакового промежутка времени и финальной численности популяции

реализация каждой из этих моделей приведет к различным картинам генетического разнообразия. Задача исследователя состоит в том, чтобы подобрать такой сценарий, который бы делал экспериментально наблюдаемую картину наиболее вероятной. Для этой цели для современных панмиктических популяций по характеру современного полиморфизма рассчитывают распределение плотности попарных мутационных расстояний (mismatch distribution), вычисляют также и другие численные характеристики популяции.

Для вычисления этих характеристик и сравнения возможных механизмов их появления используется ряд программ, основанных на коалесцентном (см. ниже) подходе (migration, IM, arlequin) [125, 228, 195].

Коалесцентными называются модели случайных процессов, направленных в прошлое [256]. Их основой является формальное описание “слипания” генетических линий, ведущих к современным особям. Это моделирование основано на предположении, что мутации, которые обеспечили различия между современными особями, происходили в прошлом случайным образом, но – с постоянной вероятностью, и не изменяли степени жизнеспособности (приспособленности своих носителей). В коалесцентных исследованиях широко используется величина  $\mu$  – вероятность возникновения замены одного нуклеотида на любой другой на нуклеотид на поколение. Для нейтрально эволюционирующей последовательности ДНК она приблизительно равна  $10^{-9} - 10^{-8}$  на нуклеотид в год. То есть, по закону больших чисел, число накопившихся замен может быть только приблизительной оценкой времени существования последовательности, предковой по отношению к обеим современным. Это время вычисляется из наблюдаемых различий между современными аллелями с учетом ненулевой вероятности повторных замен и реверсий, которые, в свою очередь, описываются принятой для каждого конкретного случая моделью молекулярной эволюции.

Распределение попарных мутационных расстояний широко используется

для исследования демографической истории. Этот метод оценивает величину и выбор времени (датировку) расширения популяции через частоту распространения попарных различий мутаций среди индивидуумов.

Наследственные отношения между аллелями, как правило, представляют в виде генной генеалогии, сходной по форме с филогенетическим деревом, однако описывающей не взаимоотношения типа предок-потомок между таксонами, а предполагаемые родственные отношения между индивидуумами. То есть, предметом коалесцентной теории является исследование статистических свойств количественных характеристик популяции в тех или иных экологических обстоятельствах. Простейший пример — отсутствие генетического полиморфизма у довольно многочисленной современной популяции свидетельствует о том, что относительно в недавнем прошлом она прошла через «бутылочное горлышко» - то есть этап, когда она состояла только из нескольких особей. После этого она восстановила или даже увеличила свою численность, однако ее  $\mu$  оказалось слишком мало для восстановления нормального генетического полиморфизма.

Коалесценция оперирует моделями генетического дрейфа, пытаясь оценить его параметры в прошлом (ретроспективно), чтобы исследовать общие черты всех или большинства возможных генеалогий предков. В самом простом случае теория коалесценции не предполагает никаких рекомбинаций, никакого естественного отбора и никакого потока генов или популяционную структуру. Прогресс в коалесцентной теории, однако, допускает расширения, позволяющие учитывать рекомбинацию, отбор и любую сложную последовательность демографических событий. Такие модели и используются для вычисления вероятных результатов реализации демографических сценариев в популяционно-генетическом анализе. Эта математическая теория коалесценции была первоначально разработана в начале 1980-х гг. Джоном Кингманом [255].

Рассмотрим популяцию, насчитывающую всего два гаплоидных

организма, которые отличаются единственной нуклеотидной заменой. В предельном случае эта замена могла произойти у одного из их родителей. С точки зрения рассматриваемой теории это будет коалесцентным событием и время до существования ближайшего возможного общего предка будет равно длине поколения (промежутка времени от зиготы до ее первой гаметы) у этих организмов. Вероятность этого сценария (мутации у родителя) будет  $p_0 = \mu N(1-N)$ , где  $N$  - число нуклеотидов в геноме. Но эта мутация могла произойти и раньше, например, два или три поколения назад. Точно мы этого не знаем и никогда не узнаем. Поэтому в коалесцентной теории и оперируют вероятностями. Но учет большого количества событий и судеб нуклеотидных пар позволяет всё с большей точностью оценивать детали истории популяций. Для этого просто надо увеличивать число и длину сравниваемых нуклеотидных последовательностей, выбирать последовательности, эволюционирующих с максимальной скоростью и максимально подробно учитывать биологические свойства вида, определяющие взаимосвязь  $N_e(N)$ .

Исследование, основанное на коалесцентной теории, стремится предсказать длину промежутка времени, прошедшего между мутацией (появлением аллеля) и его распространением в популяции до современного состояния. Этот период времени равен минимальному времени существования общего предка всех исследованных организмов.

Рассмотрим теперь популяцию диплоидных организмов постоянной численности  $N_e$ , размножающихся единственный раз в жизни и имеющих одинаковую жизнеспособность независимо от генотипа.

Очевидно, не исключена возможность того, что две предковых линии для двух случайно отобранных представителей популяции соединяются в непосредственно предшествующем поколении. Вероятность этого события - это вероятность, что они имеют общего родителя (либо — что у одного из этих двух организмов произошла мутация). В диплоидной популяции с постоянным эффективным размером популяции  $N_e$  с  $2N_e$  копиями каждого локуса, существуют  $2N_e$  «потенциальных родительских гамет»,

принадлежащих предыдущему поколению. Таким образом, вероятность того, что оба аллеля происходят от одного и того же родителя (самооплодотворение в этой модели разрешено) составит  $1/(2N_e)$  и, соответственно, вероятность, что родители разные равна  $1-1/(2N_e)$ . И это верно для каждого представителя современного поколения. Коалесцентное событие, или слияние предковых линий наступит, когда генеалогии, заканчивающиеся двумя современными представителями популяции, приведут к единственной особи — общему предку. То есть следует посчитать среднюю степень родства для всех особей популяции. Она и будет вероятностью коалесцентного события.

Можно показать, что степень родства между организмами распределена согласно экспоненциальному закону:

$$f_X(x) = \begin{cases} \lambda e^{-\lambda x}, & x \geq 0, \\ 0, & x < 0. \end{cases}$$

, где  $\lambda$  — число потомков в одном помете.

В каждом предыдущем поколении вероятность коалесценции геометрически распределена — то есть, это вероятность того, что общих предков не было в  $t-1$  предшествующих поколениях, умноженная на вероятность коалесценции в поколении номер  $t$ , интересующем нас:

$$P_c(t) = (1-1/2N_e)^{t-1}(1/2N_e).$$

Для достаточно большого значения  $N_e$ , это распределение стремится к экспоненциальному:

$$P_c(t) = (1/2N_e) e^{-(t-1)/2N_e}.$$

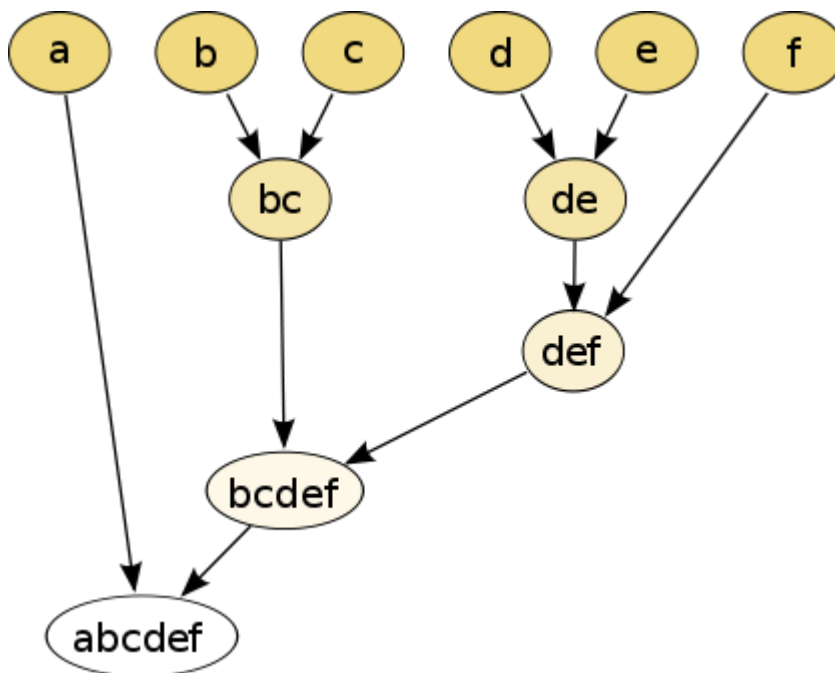
Экспоненциальное распределение имеет как ожидаемую оценку (среднее арифметическое, в теории вероятностей — первый момент) и стандартное отклонение равное  $2N_e$ ; следовательно, хотя среднее ожидаемое время до коалесцентного события равно  $2N_e$ , фактическое время коалесценции имеет широкий диапазон вариации. Следует отметить, что в модели время измеряется в числе поколений, то есть противоречия в размерности величин

нет.

Коалесцентную теорию можно использовать для предсказания величины генетической изменчивости в популяции постоянного размера  $N_e$ . В этом случае генетическое разнообразие будет определяться только дрейфом. В качестве меры его используется средняя гетерозиготность, обозначаемая  $H$ . Средняя гетерозиготность вычисляется как вероятность мутации, происходящей в данном поколении, разделенная на вероятность любого «события» в этом поколении (либо мутация, либо коалесценция). Вероятность, что событие – это мутация – вероятность мутации в любой из двух линий:  $2\mu$ . Таким образом, средняя гетерозиготность равна

$$H = 2\mu / (2\mu + (1/2N_e)); H = 4N_e\mu / (1 + 4N_e\mu); H = \theta / (\theta + 1).$$

Это важное свойство, поскольку среднюю гетерозиготность в популяции можно измерить экспериментально. Важно лишь помнить, что приведенные выше зависимости относятся только к селективно нейтральным аллелям.



**Рис. 3.** Коалесцентные события, показанные на генеалогии.

Верхний ряд узлов представляет собой современных особей, остальные узлы – общие предки соответствующих особей, стрелки – расстояние (различия) между узлами. Высота расположения каждого узла пропорциональна величине различий между узлами.

Коалесцентные события можно представить с помощью описывающей

генеалогию дендрограммы вроде представленной на рис. 3. Эта генеалогия показывает родственные отношения генетических линий в популяции. Точка, где две ветви встречаются, указывает на событие коалесценции.

Существует довольно много программ, позволяющих анализировать экспериментальные данные о генетическом полиморфизме природных популяций в рамках коалесцентной теории. Они позволяют, базируясь на экологических характеристиках вида (число потомков, соотношение полов и т. п.) вычислять эффективный размер популяций, уровни миграции между ними (в терминах популяционной генетики — потоков генов) и наиболее вероятные сценарии изменения этих величин во времени.

#### Установление «бутылочного горлышка», произошедшего в прошлом

Важным частным случаем использования коалесценции является исследование предположения о том, что некая популяция прошла в относительно недавнем прошлом через «бутылочное горлышко» - ситуацию, когда численность составляющих ее особей падала до нескольких организмов. С точки зрения генетики, результатом такой катастрофы будет резкое обеднение генетического разнообразия, которое и стремятся доказать или опровергнуть.

Полная характеристика любой популяционной траектории требует оценить параметр (популяционный размер) для каждой точки во времени. Статистический анализ использует упрощенное представление популяционной истории, которое называется «модель мгновенного расширения». Модель может показывать нулевой рост и отрицательный рост также как положительный рост. Модель принимает, что популяционный рост (если это имеет место) ограничился коротким эпизодом  $t$  поколений назад. До этого эпизода популяция находилась в равновесии между скоростью возникновения новых мутаций и их исчезновением под действием генетического дрейфа.

После одномоментного расширения популяция, согласно

предположению, сохраняла постоянный размер. Хотя эта модель и простая, она достаточно здравая, чтобы быть пригодной даже для популяций со сложными демографическими историями.

Модель включает три параметра:

$\theta_0 = 2N_0\mu$  (условный размер предковой гаплоидной популяции),

$\theta_1 = 2N_1\mu$  (условный размер современной гаплоидной популяции),

$\tau = 2\mu t$  (возраст современной популяции, выраженный в единицах мутационного времени),

где  $\mu$  – общая мутационная скорость по всем сайтам,  $N_0$  – популяционный размер до расширения,  $N_1$  – популяционный размер после расширения,  $t$  – время в поколениях с момента расширения [333].

Качественно использование генетического разнообразия для этой цели можно пояснить так. Популяция, в настоящее время очень многочисленная, но относительно недавно проходившая «бутылочное горлышко», должна содержать довольно много редких мутантных аллелей, вероятность появления которых примерно пропорциональна эффективной численности популяций. Выглядеть это будет как относительно много не информативных полиморфных позиций (аутоапоморфных молекулярных признаков). В то же время число синапоморфий будет сильно занижено за счет обеднения полиморфизма в период низкой численности за счет дрейфа генов. Для проверки предположения о недавнем вымирании оценивают долю синапоморфных среди полиморфных позиций последовательности. Называется эта величина критерием  $D$  Таджимы (Tajima's  $D$ ) [372]. Вычисление этого показателя исходя из экспериментальных данных, также как и оценка ошибки, основаны на коалесцентной теории.

#### **1.4. Паразиты как один из возможных факторов симпатрического или парapatрического видообразования**

Согласно наиболее широко используемой концепции вида, репродуктивная изоляция между популяциями – важная характеристика

определения границ вида [288, 289] и таким образом играет неотъемлемую часть в объяснении изумляющего разнообразия жизни, обнаруживаемого в природе. Репродуктивная изоляция может развиваться как результат и адаптивных, и неадаптивных механизмов [158, 399]. Неадаптивные механизмы репродуктивной изоляции включают случайную фиксацию различных аллелей в популяциях из-за генетического дрейфа [209, 378] и видообразование через полиплоидию [308]. Адаптивные механизмы разворачиваются, когда популяции, которые подвергаются дивергентному отбору, дифференцируются, приводя к репродуктивной изоляции вследствие локальной адаптации [336, 345]. Давление экологического отбора может привести к презиготической и/или постзиготической изоляции. Презиготическая изоляция может возникнуть непосредственно, когда отбор по предпочтению местообитаний приводит к плейотропному барьеру потока генов [326] или опосредовано, когда гены, которые лежат в основе выбора пары, сцеплены с генами, которые находятся под отбором (естественным или половым) [166]. Постзиготическая репродуктивная изоляция может возникнуть из-за генетической несовместимости между геномами. Разрушение комплекса сцепленных генов у гибридов будет проявляться как низкая жизнеспособность или низкая приспособленность гибридов и, тем самым, репродуктивная изоляция [297, 347, 388].

Классическая идея Дарвина о том, что отбор играет важную роль в создании несовместимости между группами одного вида, стала подкрепляться и получила большую популярность в последние годы [336, 347]. Не удивительно, что данные, которые доказывают действие давления экологического отбора на дифференциацию популяций, быстро накопились за последние два десятилетия [225, 345, 346, 401]. Эти исследования оценивают, как давление экологического отбора действует на фенотипические эволюционные изменения в природных популяциях, в конечном счете, приводя к возможному видообразованию [316, 400]. Кроме того, эмпирическая поддержка важности биотических взаимоотношений –

таких как межгеномный половой конфликт [327], предпочтение опылителя [342] и коэволюция растение/травоядное животное [362] – для эволюции репродуктивной изоляции существенно выросла за последние десятилетия.

Возможно, одно из наиболее важных биотических взаимоотношений – антагонистическое взаимоотношение между хозяевами и паразитами. Виды паразитов могут представлять, по крайней мере, половину известного биоразнообразия [348, 386], и эта вездесущность делает паразитов основной силой в формировании популяционной динамики хозяев [233, 270], генетического разнообразия [220], биоразнообразия, функционировании экосистемы и структуры сообщества [234]. Более того, согласно географической мозаичной теории коэволюции, различия в давлении локального отбора как результат несинхронных временных и пространственных изменений во взаимодействиях хозяин-паразит могут потенциально вести к быстрой дивергенции популяций хозяина, несмотря на сохранение аллельного разнообразия на уровне метапопуляций как целого [139, 295, 385]. Паразиты могут, таким образом, значительно способствовать диверсификации популяций хозяина [139, 142, 353] и, в конечном счете, видообразованию. Например, плейотропное действие генов иммунитета позвоночных, как предполагается, ускоряет видообразование [188], и открытие общего молекулярного механизма между репродуктивными характеристиками и устойчивостью к грибам у *Arabidopsis* [252] указывает на то, что репродуктивная изоляция может быть прямым плейотропным последствием отбора паразитами. При таком сценарии отбор паразитами может, таким образом, приводить к более низкой жизнеспособности гибридов и, в конечном счете, к репродуктивной изоляции.

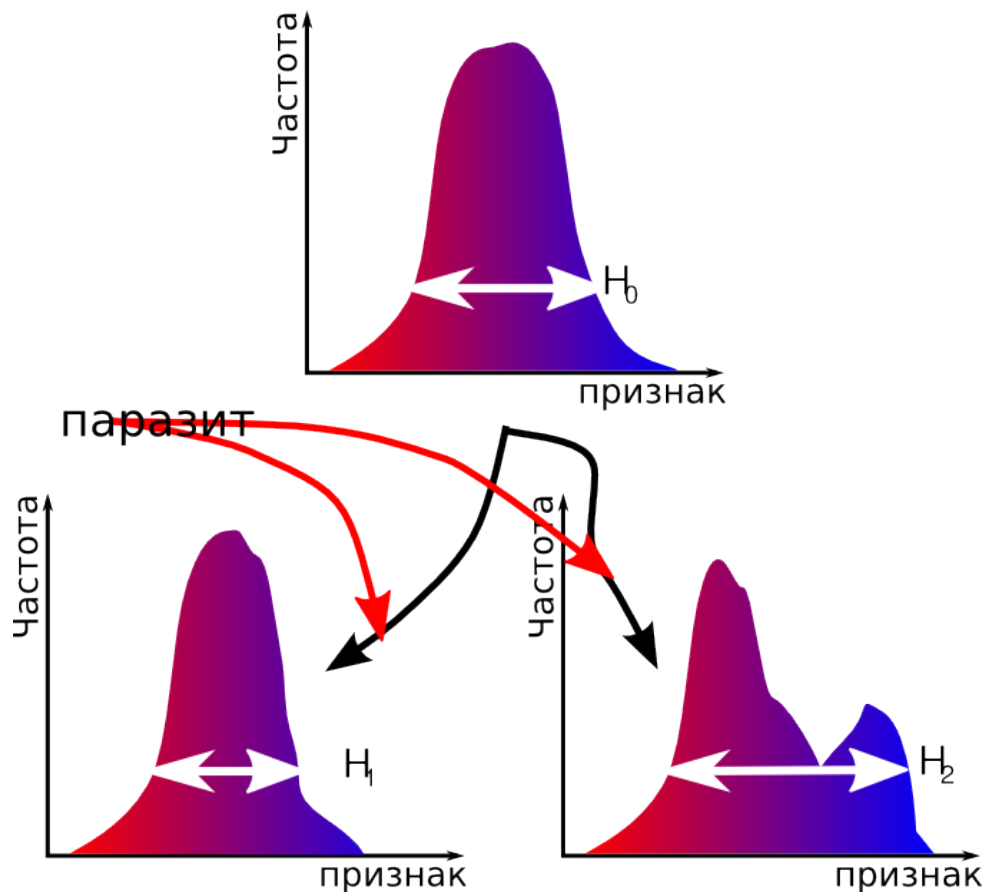
Так как эволюцию репродуктивной изоляции в природе сложно приписать какому-то одному экологическому фактору, экспериментальная эволюция оказалась полезным дополнительным подходом для исследования естественных популяций [257, 328]. Лабораторные эксперименты, например,

показали, что адаптация к различным абиотическим условиям приводит к репродуктивной изоляции у *Drosophila* [167, 253]. Намного меньше известно, однако, о соответствующем влиянии биотических взаимодействий в таких экспериментах. Чтобы проверить ведет ли коэволюция паразита и хозяина к репродуктивной изоляции локальной адаптацией, Berenos с соавторами [126] провели экспериментальную коэволюцию между красным мучным жучком *Tribolium castaneum* и его естественным облигатным микроспоридным паразитом *Nosema whitei* [137, 292]. Для этой пары хозяин-паразит они уже продемонстрировали, что во время эксперимента по отбору популяции хозяина развили более высокие уровни устойчивости, когда коэволюционировали с паразитами в эксперименте [127]. Это показывает быстрый адаптивный ответ на отбор. Противоположно другим исследованиям [353], генетическая дифференциация в нейтральных локусах была немного ниже среди повторов экспериментальных коэволюционирующих популяций, чем среди повторов контрольных популяций [126]. Это имеет значение для эволюции репродуктивной изоляции. Если неадаптивные процессы, такие как дрейф генов, являются механизмом, ведущим к репродуктивной изоляции или являющимся ассоциированным с репродуктивной изоляцией, то коэволюция с паразитами будет предотвращать эволюцию репродуктивной изоляции, как результат более высокого аллельного разнообразия и более низкой популяционной дифференциации в нейтральных локусах [126]. Альтернативно, если эволюция устойчивости стимулирует популяционную дифференциацию из-за адаптивных изменений в частотах аллелей в локусах устойчивости в сцеплении с локусами, вовлеченными в совместимость без корреляции с генетическим изменением в нейтральных локусах, то репродуктивная изоляция будет выше среди коэволюционирующих линий хозяина [252]. В этом случае репродуктивная изоляция должна также коррелировать с дивергенцией в резистентности. Чтобы связать последствия коэволюции паразит-хозяин с репродуктивной изоляцией, Berenos с соавторами

протестировали следующие гипотезы более детально, используя систему *Tribolium – Nosema*. (1) антагонистическая коэволюция ведет к более быстрой эволюции репродуктивной изоляции (измерено как общее число потомства) между популяциями хозяина. Это может быть доказательством заметной роли отбора в эволюции репродуктивной изоляции по сравнению с генетической дифференциацией в нейтральных маркерах [126]. (2) Если репродуктивная изоляция возникает как генетически закодированный побочный продукт адаптации к паразитам, дифференциация в устойчивости должна коррелировать с репродуктивной изоляцией.

Из вышесказанного можно заключить следующее. Эволюция репродуктивной изоляции популяций часто является результатом селективных сил. Среди них паразиты осуществляют отбор популяций хозяина и потенциально могут стимулировать репродуктивную изоляцию. Например, пять линий *Tribolium castaneum* коэволюционируют с их естественным паразитом, *Nosema whitei*. Репродуктивная изоляция была выше в линиях хозяина, коэволюционирующих в селективном режиме и коррелирующих с фенотипической дифференциацией устойчивости к паразиту (рис. 4). В результате работы Berenos с соавт. [128] показано, что паразиты могут быть стимулирующей силой в эволюции репродуктивной изоляции и таким образом потенциально видообразования.

Raeymaekers с соавторами [324] исследовали различия в сообществах паразитов среди аллопатрических цветковых морф цихлиды *Tropheus* озера Танганьика. Как известно, адаптация к различным экологическим условиям приводит к экологическому/симпатрическому видообразованию. Это явление наиболее характерно для радиации цихлидных рыб Великих африканских озер. Многочисленные характерные черты цихлид, на которые нацелен естественный отбор или половой отбор, рассматривают среди ведущих факторов этой радиации. Предполагается, что паразиты и болезнетворные



**Рис. 4.** Видообразование под влиянием паразитов.

микроорганизмы инициируют или ускоряют видообразование, вызывая и естественный и половой отбор. Из теории экологического видообразования могут быть выведены три предпосылки видообразования, управляемого паразитами. Первая предпосылка - то, что различные популяции испытывают дивергентные уровни инфекции. Вторая предпосылка - то, что эти уровни инфекции вызывают дивергентный отбор и облегчают адаптивную дивергенцию. Третья предпосылка – это управляемая паразитом адаптивная дивергенция облегчает развитие репродуктивной изоляции.

В целом, состав сообщества паразита отличался значительно между популяциями различных цветковых морф. Различия в составе сообщества паразита были стабильны во времени. Генетическая структура популяции *Tropheus* была сильна и показала значительную модель изоляции расстоянием, подтверждая, что пространственная изоляция ограничивает распространение хозяина. Корреляции между составами сообществ паразита

и генетической дифференцированностью *Tropheus* не была значительной, указывая на то, что распространение хозяина не влияет на диверсификацию сообщества паразита.

Первая предпосылка. Дивергентные сообщества паразитов были описаны у близкородственных симпатрических цихлидных рыб Озера Малави [136] и Озера Виктория [278]. Приходим к заключению, что аллопатрические популяции *Tropheus* показали истинные паразитологические различия, поддерживая первую предпосылку для управляемого паразитом видообразования.

Дивергентные уровни инфекции открывают возможности для управляемого паразитом дивергентного отбора и последующей адаптивной дивергенции, т.е. второй предпосылки для управляемого паразитом видообразования. Важно, что только последовательный опосредованный паразитом отбор может приводить к адаптивной дивергенции [244]. Это требует разумной степени стабильности метасообществ паразита во времени.

Анализ Raeymaekers с соавторами [324] по одному отрезку времени года не показал главных изменений в распределениях паразита, и, следовательно, был показателем для стабильности во времени. Стабильность сообществ паразитов рыб под воздействием окружающей среды, которая для системы озерных цихлид, может включать такие факторы, как доступность вида-хозяина, тип субстрата, мутность и температура. Кроме того, они наблюдали незначительную корреляцию между диверсификацией сообществ паразитов и генетической структурой популяций хозяина, предполагая, что отношения между распределением паразита и распространением хозяина слабы. Вероятно, что, по крайней мере, часть сообществ паразита ограничена локальными популяциями *Tropheus*, налагая дивергентный отбор.

Они также рассмотрели возможность, что контрастирующие сообщества паразита уменьшают распространение хозяина. Однако, поскольку пространственная изоляция представляет намного более сильный фактор,

уменьшающий распространение хозяина, эти отношения не могут быть проанализированы однозначно. Также остается неясным, могут ли дивергентные уровни инфекции облегчать цветковое дифференцирование, что имеет место в паре видов цихлид из Озера Виктория [278]. Интересно, что соседние популяции, принадлежащие различным цветовым морфам, имели высоко дивергентные сообщества паразита, но соседние популяции, принадлежащие той же самой цветовой морфе, были также довольно дивергентными в паразитизме. Поэтому может быть так, что паразиты представляют более мощную диверсифицирующую силу, чем факторы, лежащие в основе цветковой дифференциации. Альтернативно, сами паразиты могут быть больше подвержены влиянию пространственной изоляции или гетерогенности среды, чем факторы, лежащие в основе цветкового дифференцирования.

Потенциал приспособляться к опосредованному паразитом отбору может включать адаптацию на поведенческом, а также на иммунологическом уровне [136, 189, 244].

Третья предпосылка. В целом репродуктивная изоляция может состоять из одного или множества репродуктивных барьеров, включая географическую изоляцию, выбор среды обитания, ассортативный выбор пары и естественный отбор против мигрантов или гибридов [159, 226, 323, 336]. Механизмы того, как паразиты могут облегчать видообразование хозяина, включают сниженную жизнеспособность или плодовитость иммигрантов и гибридов, ассортативное спаривание в качестве плейотропного побочного продукта иммуногенетической адаптации и экологически основанного полового отбора [244].

В данный момент нет никаких доказательств развития установленной паразитом репродуктивной изоляции у *Tropheus*. Комбинация аллопатрического, филопатрического и стенопатрического поведения и ассортативное скрещивание, как полагают, поддерживает

дифференцирование между цветовыми морфами [187, 340].

Частичный цвето-ассортативный выбор пары самкой наблюдался для популяций в области исследования. Как такового нет прямого доказательства, что окрашивание влияет на решения о спаривании *Tropheus*. В настоящее время нет также никакого признака, что интенсивность цвета затрагивает внутрипопуляционные решения о спаривании у *Tropheus* [367]. Поэтому дополнительные механизмы воздействия на решения о спаривании можно было бы рассмотреть, включая те, которые вовлекают роль паразитизма. Ассортативный выбор пары, основанный на запахе, связан с иммуннокомпетентностью потенциальных пар [190] и представляет один из путей того, как репродуктивная изоляция может развиваться среди популяций с дивергентными сообществами паразита. При исследовании пары цихлид Озера Виктория было показано, что опосредованный паразитом половой отбор может способствовать дивергенции предпочтения самками спаривания по окраски самца, усиливая репродуктивную изоляцию [278]. Согласно гипотезе о опосредованном паразитом половым отборе, самцы имели более высокую нагрузку паразита, чем самки [277].

Развитие опосредованной паразитом репродуктивной изоляции также зависит от приспособленности родительских типов и гибридов [244]. Есть эмпирическое доказательство, что гибриды отличаются от родительских типов по зараженности паразитом, они более восприимчивы [415, 337, 312, 264], или более стойкие [296, 115] к особому виду паразитов. Кроме того, гибридные генотипы в пределах популяции могут отличаться друг от друга по восприимчивости к паразиту [415]. У *Tropheus*, различные сценарии с контрастирующим результатом могут наблюдаться, в пределах от полной репродуктивной изоляции между цветовыми морфами, когда родительские типы лучше справляются с паразитами, чем гибриды, до значительных уровней интрогрессии и даже гибридного видообразования, когда гибриды в состоянии лучше справляться с паразитами, чем родительские типы [186].

Считается, что паразиты и хищники играют значительную роль в создании разнообразия, и, в конечном счете, в видообразовании своих хозяев и жертв. Они могут управлять симпатрическим (внутри популяции) созданием разнообразия, если существуют стратегии устойчивости к паразиту/хищнику или генетический груз приспособленности, связанные с устойчивостью к паразиту/хищнику. Паразит/хищник может также управлять аллопатрическим (между популяциями) формированием разнообразия созданием различного давления отбора и увеличением степени случайной дивергенции.

Например, Buckling и Rainey [142] показано, что в отсутствие фагов бактерии *Pseudomonas fluorescens* быстро диверсифицируют в пространственную нишу специалистов со сходными моделями разнообразия с помощью разделения популяции. В присутствии фагов симпатрическое разнообразие значительно снижалось в результате снижения плотности хозяина, вызванного фагом, уменьшая конкуренцию за ресурс. Наоборот аллопатрическое разнообразие значительно увеличилось в результате отбора по устойчивости к фагу, который служил причиной того, что популяции следовали дивергентным эволюционным траекториям. Эти результаты показывают, что паразит/хищник может управлять диверсификацией между популяциями, но могут ингибировать диверсификацию внутри популяций, запрещая диверсифицирующий отбор, что возникает из возможности конкуренции.

#### **1.4.1. Соотношение разнообразия паразитов и хозяев в экосистемах**

По мнению исследователей, более 50% всех организмов на Земле являются паразитическими [64, 318, 325, 348, 386]. Даже самая малая из известных цифр численности паразитов убеждает в том, что они занимают существенное место в структуре наземных и водных сообществ.

Одним из показателей значимости и роли паразитов, например, в морских экосистемах может служить сравнительный анализ видового

разнообразия двух прибрежных биоценозов – скального и песчаного в районе Севастополя. В первом из них пропорция свободноживущих и паразитических организмов выглядела как 1:2,1. В биоценозе песчаного грунта соотношение этих групп 1:2,4 [64].

Видовое богатство паразитов превышает видовое богатство хозяев в 2,5 раза у грызунов и в 3 раза – у насекомоядных [29]. Сходные соотношения получены и другими авторами для экосистем Сибири, Самарской области, Карелии, Беларуси [3, 12, 42, 101].

Получены новые данные о современном видовом составе паразитов рыб озера Сямозеро. Паразитофауна 16 видов рыб Сямозера включает 165 видов (Mastigophora - 3, Microsporidia - 4, Мухосporidia - 35, Ciliophora - 24, Monogenea - 28, Cestoda - 14, Trematoda - 30, Nematoda - 13, Acanthocephala - 3, Hirudinea - 3, Mollusca — 1, Crustacea - 7) [67].

В ходе паразитологических исследований, проведенных в зимне-весенний период 2001 г. на отрезке р. Туры от Метелево до Мальково у 7 видов рыб (плотва, елец, язь, лещ, карась, окунь, ерш) обнаружено 18 видов паразитов, из них 15 видов – трематод, 1 – цестод, 1 – нематод и 1 – ракообразных [43].

У обследованных рыб (3 вида) р. Туры в черте г. Тюмени и окрестностях обнаружено 22 вида паразитов. Основу паразитофауны составляют метацеркарии трематод, для которых рыбы служат промежуточными хозяевами [43].

По последним данным у рыб Байкала на один вид хозяина приходится 4-5 видов паразитов [85].

#### **1.4.2. Коэволюция паразита и хозяина**

Одним из видов микроэволюционных (видообразовательных) процессов является взаимодействие нескольких видов. Данная группа видообразовательных процессов называется коэволюцией.

Коэволюция – совместная эволюция биологических видов,

взаимодействующих в экосистеме. Изменения, затрагивающие какие-либо признаки особей одного вида, приводят к изменениям у другого или других видов. Коэволюция происходит при различных типах биоценотических взаимосвязей между видами, которые реализуются при взаимодействии конкретных видов в отдельных биоценозах [102]. Коэволюция сопровождается формированием комплекса взаимных адаптаций (коадаптаций), оптимизирующих устойчивые взаимодействия популяций разных видов [102]. Первым концепцию коадаптации ввёл Н.В. Тимофеев-Ресовский в 1968 году. Так как экосистемы формируют сеть межвидового взаимодействия, то все виды, входящие в экосистему, коэволюционируют.

Процесс взаимодействия видов и его влияние на эволюцию активно изучается. Процессы взаимодействия между видами подразделяются на несколько форм: симбиоз [393, 395], взаимодействие по типу «хищник – жертва» [106] и близкий к нему способ взаимодействия по типу «паразит – хозяин» [142, 272].

Отношения «паразит-хозяин» чрезвычайно сложны. Часто наблюдаемое близкое соответствие между таксономией паразитов и их хозяев привело к созданию правила Фаренгольца, в котором постулируется, что видообразование паразитов и их хозяев происходит синхронно. Следовательно филогенетические деревья паразитов и их хозяев должны быть топологически идентичны. Это продемонстрировали Хафнер и Надлер, при построении филогенетических деревьев для грызунов и их эктопаразитов [219]. Они показали высокую степень согласованности деревьев, что в свою очередь демонстрирует существование параллельного видообразования у этого комплекса хозяин-паразит. Помимо идентичности модели ветвления филогений хозяина и паразита, были также очень похожи длины ветвей. Учитывая предположения теории молекулярных часов, это наводит на мысль, что видообразование хозяев и паразитов было примерно в одно время и имеет причинно-следственную связь.

Взаимодействия «хозяин-паразит» - лучшие условия, в которых можно

изучать адаптацию в гетерогенных средах в пространстве и во времени. Воздействие паразитизма сильно варьирует во времени и среди различных популяций хозяев [384, 385]. В пространственно неоднородных средах эволюция может привести к адаптации популяций к локальным условиям [205]. В коэволюционной системе «хозяин-паразит» каждый вид представляет собой постоянно меняющуюся среду, к которой должен адаптироваться его оппонент. Адаптация к изменяющейся среде зависит как от силы отбора, так и от эволюционного потенциала, который является способностью включать генотипы, способные преодолеть вооружение выдвинутое противником. Эволюционный потенциал зависит от трех процессов: (1) мутации, (2) миграции и (3) рекомбинации. При этом имеет значение не только соотношение, но и число новых генотипов, входящих в популяцию; эволюционный потенциал также зависит от размера популяции.

Считается, что паразиты имеют больший эволюционный потенциал, чем их хозяева, потому что они имеют бóльшие размеры популяций, более короткое время поколения и более высокие темпы мутации и миграции, чем их хозяева. Поэтому паразиты будут адаптированы к локальным условиям.

Согласно гипотезе «красной королевы», в которой говорится, что взаимодействия видов (таких как хозяин и паразит) приводят к постоянному естественному отбору адаптаций и контерадаптаций, непропорциональный эволюционный успех паразитов на общих генотипах хозяина приводит к коррелированному отбору половой репродукции и местной адаптации популяциями паразитов. В эксперименте по прививке паразитов, занимающих один географический район (симпатрические), локальные общие генотипы хозяина заражались значительно чаще, чем редкие генотипы хозяина, тогда как паразиты, занимающие отдельные (аллопатрические) географические районы, не показали такой значительной разницы. Смешанный источник паразитов (содержащий гибриды F1), также не показал различия в инфекции между редкими и общими генотипами хозяина. Эти результаты показывают, что локальная адаптация возникает из

прослеживания паразитом в местном масштабе общих генотипов хозяина, и соблюдается необходимое условие гипотезы «красной королевы» [183, 184, 272]. Эту точку зрения, что паразиты лучше представлены на симпатрических хозяевах, чем на аллопатрических, подтверждают большинство экспериментов [184, 241, 260, 271, 272, 283, 294, 311]. Однако некоторые другие эксперименты не нашли никаких доказательств адаптации паразита к локальным условиям [172, 294, 298]. Например, модель в работе Моранда с соавторами [294] предсказывает динамические полиморфизмы, где частоты аллелей паразита отслеживают частоты аллелей хозяина, но с задержкой. Из-за этой задержки аллопатрические комбинации могут быть более совместимыми, чем симпатрические комбинации. В некоторых случаях эксперименты показали локальную дезадаптацию паразита [236, 242, 306]. Эти результаты позволяют предположить, что паразит не всегда может быть впереди в гонке коэволюционного вооружения.

Гэндон с соавторами [204, 205] показали, что соотношение степени миграции хозяина и паразита сильно влияет на адаптацию к локальным (местным) условиям: если паразиты (хозяева) мигрируют намного больше, чем хозяева (паразиты), паразиты (хозяева) локально адаптированы, а если оба вида имеют сходные или высокие темпы миграции нет никакого отличающегося ответа (т.е. равное действие в симпатрии или аллопатрии). Гэндон и Михалакис [206] также обнаружили взаимосвязь между генетической изменчивостью (которая зависит от количества мутантов и количества мигрантов) и временем поколения. Факторы эволюционного потенциала, такие как мутации и миграции при взаимодействии с размером популяции и временем поколения определяют местную адаптацию при взаимодействии «паразит-хозяин». В целом, эти факторы взаимодействуют синергетически.

Актуальным остается изучение взаимосвязи таксономического биоразнообразия паразитов и хозяев, которая довольно ярко выражает следствие способности паразитов регулировать численность и состав хозяев

[174, 398].

## **1.5. Микроспоридии**

Все вышерассмотренные механизмы симпатрического видообразования так или иначе зависят от давления отбора, расщепляющего генетическое единство вида. Одним из интересных и относительно малоизученных разновидностей такого отбора является взаимодействие вида с паразитами, которые потенциально могут катализировать видообразование. Одним из наиболее вероятных кандидатов на такую роль можно считать микроспоридий.

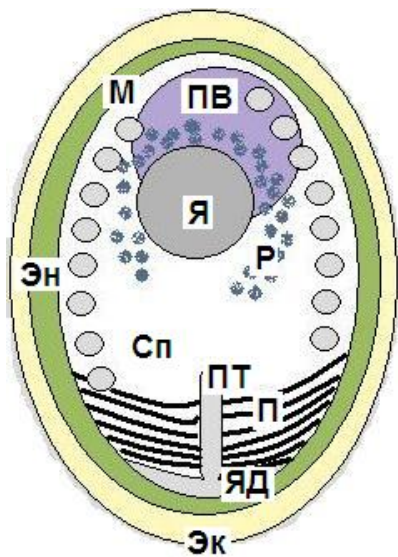
Микроспоридии - это крупный тип одноклеточных эукариотических организмов, объединяющий более 160 родов облигатных внутриклеточных паразитов. Круг хозяев этих организмов включает представителей почти всех таксонов животного мира: от простейших до млекопитающих. Среди микроспоридий описаны виды, вызывающие серьезные заболевания хозяйственно-важных беспозвоночных, рыб и теплокровных животных [34, 35, 147]. Некоторые виды этих паразитов вызывают инфекции у человека [163, 199, 409].

О заболеваемости микроспоридиозом, о резервуарах и источниках инфекции известно мало. Установлено, что патогенные для человека микроспоридии паразитируют и у животных, в том числе домашних, однако не ясно, может ли человек заразиться от животного. У больных со сниженным иммунитетом возможно носительство.

### **1.5.1. Общая характеристика микроспоридий**

Микроспоридии (*Microsporidia*, Balbiani, 1882) (или Микроспора) - необычная группа эукариотических, облигатных внутриклеточных паразитов с уникальной ультраструктурой и жизненным циклом (рис. 5) [132, 134, 148, 200, 251, 390]. Как и многие другие внутриклеточные паразиты, микроспоридии высоко специализированы и имеют крайне сложный и

уникальный механизм инфицирования [397] наряду с другими адаптациями к жизни внутри клетки [396]. Эти адаптации представлены редукцией [185, 246, 266, 394]. По сравнению с другими эукариотами микроспоридии высоко редуцированы на всех уровнях: от морфологии и ультраструктуры до биохимии и метаболизма и даже на уровне их молекулярной биологии, генов и генома [245]. Впервые микроспоридии были описаны в середине 19-го века в качестве возбудителя болезни шелковичных червей, которая почти разрушила шелкопрядную промышленность Европы [299]. С тех пор микроспоридии нанесли значительный ущерб пчеловодству и рыбоводству. В 1857 году было обнаружено, что инфекционным агентом является микроспоридия *Nosema bombycis* (Nageli). Негели считал, что *Nosema* является представителем шизомицетных грибов, хотя классификация в то



**Рис. 5.** Схема строения споры микроспоридий.

Эк – экоспора, Эн – эндоспора, М – плазматическая мембрана, Я – ядро, Сп – спороплазма, Р – рибосомы, П – полярный пласт, ПТ – полярная трубка, ЯД – якорный диск, ПВ – постериорная вакуоль.

время не отражала истинного разнообразия, и шизомицеты были группой, объединяющей дрожжей и бактерий. В результате дальнейших исследований в 1882 г. Балбиани [116] создал новую группу для *Nosema*, назвав ее *Microsporidia*. Это название используется до сих пор. Сегодня микроспоридии известны как крайне разнообразная группа паразитов [414].

На настоящий момент описано приблизительно 1200 видов микроспоридий из 150 родов [250]. Большая часть микроспоридий инфицирует животных всех классов позвоночных и большинства типов беспозвоночных [248]. Некоторые виды инфицируют множество отдаленно родственных хозяев, но специфичность к одному хозяину или родственной группе хозяев оказалась нормой для микроспоридий [364]. В тоже время некоторые виды инфицируют простейших, таких как цилиаты и грегарины. Интересно, что грегарины и некоторые цилиаты сами являются паразитами животных, что указывает на то, что микроспоридии, вероятно, однажды инфицировали того же животного хозяина, как и эти простейшие, а позже приспособились паразитировать на своих соседях. Несмотря на все разнообразие и обилие микроспоридий, известных у животных на сегодняшний день, вероятно, что фактическое число микроспоридий намного превышает то, которое описано, и что число видов микроспоридий может достигать числа видов животных [248].

### **1.5.2. Филогения микроспоридий**

Микроспоридии считались древними организмами, рассматриваемыми внутри ранней ветви, ведущей от про- к эукариотам [151]. Однако результаты последних исследований говорят за более позднее происхождение микроспоридий, указывая на то, что они являются эукариотами, некоторые гены которых утрачены, а некоторые подверглись значительной компактизации, вероятно, в ответ на адаптацию к внутриклеточному паразитизму. Микроспоридии утратили некоторые типичные эукариотические характеристики [152, 153]. Их рРНК имеет прокариотический размер без отдельной 5.8 рРНК, их рибосомы имеют сходство с рибосомами прокариотических организмов. Митохондрии, пероксисомы, флагеллин и другие 9+2 микротубулиновые структуры, классический аппарат Гольджи у микроспоридий отсутствуют. В тоже время они сохранили ядро и внутрицитоплазматическую мембранную систему. Микроспоридии также образуют веретено деления во время митоза. Эти

паразиты имеют нетипичный аппарат Гольджи, который был обнаружен гистохимически с использованием тиаминпирофосфатазы [376]. С древними эукариотами их объединяет лишь отсутствие митохондрий. Так как геном микроспоридий содержит белки митохондриального происхождения, предполагают, что микроспоридии сохранили органеллы, родственные митохондриям [245].

Как было сказано выше, у микроспоридий отсутствуют некоторые структуры, которые считаются признаками эукариот, например, митохондрии, пероксисомы и центриоли. Они также обладают "прокариотическими" характеристиками, такими как 70S рибосомы, крошечный геном и связанные 5.8S и 28S рРНК. По этой причине микроспоридии долгое время считались примитивной или предковой эукариотической линией, которая отделилась от общего эукариотического предка еще до приобретения альфа-протеобактериального симбионта, который в итоге дал начало митохондриям. Согласно этой гипотезе, микроспоридий отнесли к царству Archezoa, группе организмов, не имеющих митохондрий [151].

Ранее молекулярные данные подтверждали включение микроспоридий в Archezoa. Анализ рибосомальной РНК (последовательности фактора элонгации 1- $\alpha$  и фактора элонгации 2) поместил микроспоридий в основание эукариотического древа [243, 265, 363]. Позже филогении, основанные на данных по фрагментам генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулина, показали близкое родство с одноклеточными грибами, что противоречит данным, относящим микроспоридий к Archezoa [185, 247, 314, 315, 332, 394, 403].

Дополнительные исследования (проведенные на БТШ70 митохондрий [212, 231], протеине, закрепляющем ТАТА-боксы, большой субъединице РНК-полимеразы II и субъединицах E1 $\alpha$  и  $\beta$  пируватдегидрогеназы) подтвердили родство между микроспоридиями и грибами [196]. Наряду с открытием генов митохондриального происхождения в геноме микроспоридий [212, 231, 314] и установлением предка для микроспоридий, относящегося к грибам, Виллиамс с соавторами идентифицировал митохондрию у микроспоридии

*Trachipleistophora hominis* иммунолокализацией БТШ70.

К тому же повторный анализ некоторых молекул, таких как EF-2 (фактор элонгации) и большая субъединица рРНК, не поддержал базальное положение микроспоридий, при использовании большого набора данных. Так как методология филогенетического анализа совершенствовалась, были также обнаружены недостатки в других более ранних исследованиях, которые изначально поддержали базальное положение для микроспоридий. Например, EF1- $\alpha$  не является подходящей молекулой для большинства филогенетических исследований из-за её мутационной насыщенности, особенно у микроспоридий.

Микроспоридии имеют общие с грибами физиологические и биохимические характеристики [192, 133, 135, 389]. И те и другие имеют схожий механизм мейоза и общий механизм кэпирования матричной РНК. Однако эти характеристики не являются исключительными для грибов и микроспоридий. Взятые вместе, филогенетические, цитологические и биохимические данные [212, 246] указывают на родство микроспоридий с грибами, но точная природа этого родства остается неуловимой.

В двух недавних исследованиях была сделана попытка исправить эту ситуацию, и были получены различающиеся выводы. Тэнэйб с соавторами провел анализ RPB1 и EF- $\alpha$  [377], который включал большое количество последовательностей представителей грибов из четырех классов (аскомицеты, базидиомицеты, зигомицеты и хитриды), и результаты не показали близкого родства между микроспоридиями и грибами [232]. Вместо этого микроспоридии попали в основание объединенной клады для грибов и животных. В отличие от исследования Тэнэйб, филогенетический анализ Килинга не только полностью поддержал родство между микроспоридиями и грибами, но и показал, что микроспоридии возникли от предка, принадлежащего зигомицетам. В связи с вышесказанным возникает вопрос: если микроспоридии родственны грибам, о чем свидетельствует большинство данных, являются ли микроспоридии потомками грибов или они имеют

общего предка с ныне существующими грибами?

Эволюционная история группы является сложной для установления при использовании одного гена. Оценки, подтверждающие модель ветвления древа, полученного на основе любого набора данных ограниченной длины, низкие. При увеличении длины набора данных и количества видов грибов, можно получить более реальное древо. В одной из последних работ [213] сделана попытка разъяснить природу родства микроспоридий и грибов с использованием восьми генов (альфа-тубулин, бета-тубулин, большая субъединица РНК-полимеразы II, ДНК-восстанавливающая хеликаза RAD25, ТАТА-бокс закрепляющий протеин, субъединица E2 убиквитин связывающего фермента и E1 $\alpha$  и  $\beta$  субъединицы пируватдегидрогеназы), содержащих 1666 аминокислотных характеристик. Древа, созданные на основе этого мультигенного анализа, показали другую вероятность: микроспоридии как сестринская группа аскомицетам и базидиомицетам. Такая топология хорошо подтверждается статистически, однако, другие топологии - включающие ветвление микроспоридий как сестринской группы грибам – также не были отклонены.

Работа Джеймс с соавторами [239], основывающаяся на шести генетических регионах (18S рРНК, 28S рРНК, 5.8S рРНК, фактор элонгации 1- $\alpha$  и две субъединицы РНК-полимеразы II) указывает на возможное происхождение микроспоридий от эндопаразитического хитридного предка, подобного *Rozella allomyces*, наиболее рано дивергировавшей ветви филогенетического древа грибов. Однако не может быть отклонена и другая альтернативная гипотеза, согласно которой микроспоридии дивергировали среди ранних грибов.

Анализ белков цитоскелета (септинов), обнаруженных у микроспоридий Пэн с соавторами [309], подтверждает их происхождение от грибов.

Хотя все эти исследования значительно увеличили количество данных о родстве между грибами и микроспоридиями, единого мнения об их положении, подтвержденного большим количеством данных, не существует,

и точная природа родства между микроспоридиями и грибами остается неясной.

В марте 2007 г. Хиббеттом с соавторами [229] опубликована онлайн всесторонняя филогенетическая классификация царства Грибов, с ссылкой на недавние молекулярно-филогенетические исследования. Согласно классификации микроспоридии включены в это царство. Номенклатурный статус микроспоридий неоднозначный. Они рассмотрены как тип в соответствии с зоологическим кодом, но существует разногласие в точном цитировании авторов, и вызывает сомнение, является ли это название действительным в соответствии с ботаническим кодом. Для того чтобы статус микроспоридий мог быть разрешен, необходимо решить, каким из двух кодов должна управляться номенклатура группы как целого, невзирая на то, что ботанический код теперь позволяет принимать названия грибов, описанных в соответствии с зоологическим кодом. Окончательное же решение потребует вклад от сообщества ученых, изучающих микроспоридий.

### **1.5.3. Инфицирование**

Микроспоридии имеют сложный жизненный цикл, который может включать как вертикальный (от матери потомству) так и горизонтальный способ передачи [180]. Вертикальный способ передачи встречается во всех основных линиях, указывая на то, что он мог возникнуть не однократно и что он может быть предковой стратегией [383]. Для некоторых микроспоридий вертикальный способ передачи является дополнительным к основному горизонтальному способу, тогда как для других это основной способ передачи [180]. Вертикальная передача необычна для эукариотических паразитов и отбор, вероятно, идет в направлении сложных стратегий, чтобы паразит достиг ткани-мишени хозяина. Однако об эволюции вертикального способа передачи у микроспоридий известно мало, также не был полностью описан и его механизм. У микроспоридий беспозвоночных чаще всего встречается трансвариальная передача, когда паразиты передаются от

матери потомству через яйцо. Из-за маленького размера сперматозоидов самцы редко передают инфекцию, таким образом, передача происходит в основном по материнской линии [179]. Многие виды микроспоридий повышают вероятность передачи и распространения воздействием на репродукцию хозяина с тем, чтобы увеличить количество самок в потомстве. Паразиты добиваются этого смещением соотношения полов [182] через смерть самцов [276] и феминизацию [383]. Тогда как горизонтально передаваемые паразиты часто несут высокую нагрузку и высоко патогенны [263], вертикально передающиеся паразиты зависят от репродукции хозяина и менее вирулентны [107, 178, 380, 383]. Так как передача связана с репродукцией, высокая нагрузка паразита будет поддерживаться естественным отбором в том, случае, если она увеличит возможность успешной передачи паразита в гамету и таким образом следующему поколению хозяина. Однако высокий груз паразитов, вероятно, приводит к увеличению патогенности, которая может снизить выживаемость хозяина или репродукцию и тем самым передачу паразита следующему поколению хозяина. Это приводит к эволюции нацеливания паразитов на клеточные линии (ткани) хозяина во время его развития.

Модель распространения паразита в эмбрионах хозяина мало понятна. Вертикальная передача следующему поколению зависит от успешной передачи в гонады развивающегося хозяина. Предложены две альтернативные стратегии для попадания в гонады вертикально передающихся микроспоридий: интенсивное размножение и нагрузка во всех линиях против попадания в отдельные линии. Попадание в клеточные линии (ткани) хозяина начинается на самых ранних стадиях эмбриогенеза [181]. Со стадии двух клеток наблюдается смещенная сегрегация паразитов. Таким образом, смещенная сегрегация и нацеливание на линии хозяина выявлены в разных ветвях микроспоридий.

Среди бактериальных эндосимбионтов вертикальная передача связана с манипулированием репродукцией хозяина [118]. Эти организмы вызывают

партеногенез [368], цитоплазматическую несовместимость [387], самцовую смертность [235] и феминизацию [138]. Один из видов микроспоридий *Nosema granulosis* передается только вертикально и вызывает феминизацию у ракообразных [237, 381]. Этот паразит имеет эффективную стратегию трансвариальной передачи и не вызывает явной патологии [380, 382]. Связь между вертикальной передачей и сниженной патогенностью означает, что вертикально передающиеся паразиты являются криптическими (скрытыми) и не могут быть обнаружены обычными методами скрининга, связанными с заболеванием [180]. В связи с этим возникает вопрос, насколько распространена вертикальная передача в пределах типа *Microspora* и как часто она приводит к манипулированию репродукцией хозяина. Вертикально передающиеся микроспоридии, как было показано, вызывают смещение полов посредством убийства самцов у двукрылых [109] и вызывают феминизацию у амфиподы *Gammarus duebeni* [381].

#### Трансвариальная передача микроспоридий

Трансвариальная передача характерна для большинства паразитов, относящихся к микроспоридиям [110, 122, 149, 249, 322]. Среди микроспоридий, инфицирующих насекомых, вертикальная передача является лишь дополнением к основному горизонтальному способу [112, 369] и может включать жизненный цикл с различными типами спор [165, 123, 274, 370]. Однако на *Gammarus duebeni* паразитируют микроспоридии, которые не передаются горизонтально [144, 145, 175], а могут передаваться только трансвариально [224]. Эти паразиты имеют общие характеристики: они расположены главным образом в тканях гонад и не оказывают патогенных эффектов на хозяина за исключением способности феминизировать зараженное потомство.

Механизмы трансвариальной передачи и феминизации хозяев пока недостаточно ясны [361, 176].

Локализация таких паразитов очень ограничена у взрослого хозяина.

Споры обнаруживаются в фолликулярных клетках, в то время как вегетативные стадии находятся и в фолликулярных клетках и в ооцитах. Есть предположения, что инвазия ооцитов связана с герминацией спор. Однако не ясно, происходит ли экструзия полярной трубки через клеточные мембраны, или паразит устраняет межклеточные связи между фолликулярными клетками и ооцитами. Однако отсутствие стадии спор в гаметах подразумевает, что герминация спор может быть естественной для инвазии ооцитов.

Развитие паразитов координировано с репродуктивным циклом хозяина. Споры обнаруживаются только в фолликулярных клетках, которые находятся рядом с развивающимися ооцитами. Ооциты и фолликулярные клетки тесно связаны во время развития с поддержанием фолликулярными клетками развивающихся ооцитов [416, 155]. Споруляция происходит в зрелых фолликулярных клетках параллельно с вителлогенезом и транспортом спор. Подобное взаимодействие между репродуктивным циклом хозяина и споруляцией имеется у микроспоридий комаров.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Сбор материала

Образцы амфипод были собраны с 38 станций, расположенных в литоральной зоне по всему периметру Байкала во время экспедиций 2001 – 2009 гг. (рис. 6, таблица 1). Точки сбора выбраны таким образом, чтобы они



**Рис. 6.** Карта-схема районов сбора *G. fasciatus* на Байкале.

максимально равномерно располагались по периметру озера. Образцы внебайкальских представителей амфипод *G. fasciatus*, собранные также с 5 станций, расположенных в литоральной зоне озера Арахлей, на реке Ангаре в районе Иркутской и Усть-Илимской ГЭС, с Финского залива в районе пос. Усть-Луга и Ольгино во время экспедиций 2008 – 2009 гг., предоставленные

Малявиным С.А. (Зоологический институт, г. Санкт-Петербург), показаны на рис. 6 и рис. 7.

Отлов бокоплава производили сачком с берега и с помощью драги на глубине 0 - 16,0 метров. Образцы фиксировали в 96-% этаноле. После хранения при 4°C в течение двух-трех дней 96%-этанол заменяли на 70%-этанол и хранили при 4°C. Принадлежность образцов к виду *G. fasciatus* определяли морфологическими методами на основе классификации А.Я. Базикаловой [5].



**Рис. 7.** Карта-схема районов сбора внебайкальских представителей вида *G. fasciatus*.

1 – пос. Усть-Луга, 2 – пос. Ольгино, 3 – г. Усть-Илимск, 4 – озеро Арахлей.

**Таблица 1.** Станции сбора проб *G. fasciatus*.

№ п/п	Место сбора	Координаты мест сбора
<b>За пределами Байкала</b>		
1	Пос. Усть-Луга, Ленинградская область	59°39' N 28°16' E
2	Пос. Ольгино, Ленинградская область	60°21' N 29°58' E
3	Озеро Арахлей, Читинская область	52°12' N 112°55' E
4	Р. Ангара, Усть-Илимская ГЭС	57°58' N 102°41' E
5	Р. Ангара, 60 км от истока	52°16' N 104°15' E
<b>Южный Байкал</b>		
6	Пос. Култук	51°43' N

		103°41' E
7	Мыс Половинный	51°47' N 104°22' E
8	Пос. Листвянка	51°51' N 104°51' E
9	Бухта Сенная	51°54' N 105°11' E
10	Бухта Песчаная	52°14' N 105°43' E
11	Пос. Бугульдейка	52°32' N 106°05' E
12	Мыс Шаманский, 200 м на восток	51°40' N 103°42' E
13	Бухта Абетулиха	-
14	Устье р. Утулик	51°33' N 104°04' E
15	Муринская банка	51°29' N 104°24' E
16	Пос. Танхой	51°33' N 105°05' E
17	Р. Переемная, пос. Мишиха	51°38' N 105°34' E
18	М. Коврижка, пос. Мишиха	51°39' N 105°35' E
19	Пос. Мантуриха	51°46' N 105°58' E
20	О-ва Боярские	52°02' N 106°12' E
21	Посольский сор	52°06' N 106°12' E
22	Устье р. Селенга, м. Средний	52°19' N 106°19' E
23	Залив Провал	52°27' N 106°51' E
24	Оз. Слюденское	52°42' N 107°39' E
25	Губа Таланка	52°42' N 107°39' E
<b>Средний Байкал</b>		
26	Пролив Ольхонские ворота, бухта Саган-Хэр	53°02' N 106°53' E
27	Пролив Ольхонские ворота, бухта Загли	53°03' N 106°54' E
28	Залив Малое море, м. Бурхан	53°12' N 107°20' E
29	Залив Малое море, м. Зундук	53°27' N 107°32' E

30	Бухта Гремячинск	52°49'N 107°58'E
31	Бухта Безымянная	53°02'N 108°19'E
32	Пос. Максимиха	53°16'N 108°43'E
33	Устье р. Чивыркуй	53°37'N 109°03'E
34	Полуостров Святой Нос, мыс Верхнее Изголовье	53°52'N 109°01'E
<b>Северный Байкал</b>		
35	Бухта Заворотная	54°16'N 108°28'E
36	Губа Большая Коса	54°56'N 108°58'E
37	Губа Богучанская	55°25'N 109°12'E
38	Устье р. Кичера	55°47'N 109°49'E
39	Р. Малая Черемшаная, 1 км южнее	53°53'N 109°15'E
40	Губа Якшакан	54°41'N 109°35'E
41	Губа Иринда	54°49'N 109°39'E
42	Губа Дагарская	55°38'N 109°54'E
43	О. Ярки	55°44'N 109°43'E

## 2.2. Экстракция ДНК

ДНК амфипод и исследуемых паразитов экстрагировали по модифицированному методу Дойла и Диксона [171].

1. Фиксированный спиртом образец отмывали дистиллированной водой три раза по 20 минут.
2. Образец заливали 100-500 мкл (в зависимости от размера образца) лизирующего раствора (100mM Трис HCl – 1 мл, 1,4М NaCl – 8,19 (на 100 мл), 0,5 ЭДТА – 8 мл, ЦТАБ – 2 г) и гомогенизировали.
3. Прогревали в водяном термостате при температуре 60°C два часа, периодически встряхивая.
4. Затем добавляли 100-500 мкл хлороформа и 40 минут встряхивали на

шейкере.

5. Центрифугировали 10 минут. Отбирали аккуратно верхнюю фазу, добавляли к ней равный объем изопропанола или этилового спирта и оставляли при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  на час.
6. Центрифугировали 5-10 минут и отбирали надосадочную жидкость. ДНК выпадает в осадок.
7. Промывали ДНК четыре раза 70% этанолом и подсушивали 20-30 минут при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
8. После того, как ДНК высохнет, добавляли 50-100 мкл дистиллированной воды (в зависимости от количества ДНК) и растворяли в термостате при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **2.3. Молекулярные методы диагностики микроспоридий**

Наряду с использованием традиционных методов диагностики [207] существует необходимость в более быстрых, более специфичных и более доступных подходах к диагностике, как клинических образцов, так и проб окружающей среды. По сравнению с традиционными культуральными и микроскопическими методами, молекулярные методы имеют следующие преимущества: повышенную чувствительность (за счет силы увеличения/амплификации сигнала); большую специфичность (когда используются подходящие для выявления пробы); меньшую зависимость от субъективности наблюдателя и более короткий промежуток времени до получения результата и более легкое объяснение для не специалистов. Кроме того, усовершенствованные методы, основанные на нуклеотидах, такие как реал-тайм ПЦР (полимеразная цепная реакция в реальном времени) и олигонуклеотидные микрозонды, являются количественными и более высокопроизводительными, делая возможным одновременный анализ образцов для разнообразных патогенов, а также экспериментальную оценку интенсивности инфекции [214]. ПЦР – наиболее часто используемый молекулярный метод. Техника подготовки образцов для молекулярной

диагностики микроспоридий детально рассмотрена Вайсом и Восбринком [411]. На современном этапе обнаружение микроспоридий производится по гену малой субъединицы рибосомальной рРНК (SSU-rRNA) [405]. Стоит отметить, что филогенетический анализ последовательностей генов SSU-rRNA микроспоридий часто несовместим с традиционной классификацией, исторически основанной на морфологических характеристиках, установленных с помощью ТЭМ.

Метод ПЦР также пригоден для идентификации ранее неизвестных видов микроспоридий. Используя филогенетически консервативные праймеры, амплифицирующие малую субъединицу, большую субъединицу и межгенные регионы, возможно секвенировать части рРНК гена еще не охарактеризованных микроспоридий. Эти данные по последовательностям рРНК можно затем использовать для филогенетического анализа, используя BLAST, сравнивая неизвестные последовательности с рРНК последовательностями различных микроспоридий, доступными в GenBank.

#### 2.4. Амплификация ДНК

Нуклеотидные последовательности фрагмента гена CO1 для амфиподы *Gmelinoides fasciatus* амплифицировали ПЦР-методом с использованием пары универсальных для беспозвоночных праймеров, фланкирующих фрагмент ДНК размером 710 п.н. [198] и имеющих следующую структуру:

L1490: 5' – GGTCAACAATCATAAAGATATTGG – 3'

H2198: 5' – ТАААСТТCAGGGTGACCAAAAAATGA – 3'

Параметры при 35 циклах амплификации были следующими: денатурация ДНК при 94°C – 1 минута (2 минуты на первом цикле), отжиг праймеров при 46°C – 2 минуты, элонгация нуклеотидной цепи при 72°C – 1 минута 30 с (3 минуты на последнем цикле).

Амплификацию малой субъединицы рДНК микроспоридий проводили методом «nested» (двустадийной) ПЦР при помощи праймеров V1f [404] и 1342r [293] и внутренними праймерами 18sf [114] и 981r [279], имеющих

следующую структуру:

V1f: 5' – CACCAGGTTGATTCTGCCTGAC – 3'

1342r: 5' – ACGGGCGGTGTGTACAAAGAACAG – 3'

18sf: 5' – GTTGATTCTGCCTGACGT – 3'

981r: 5' – TGGTAAGCTGTCCCGCGTTGAGTC – 3'

Двустадийная (nested) ПЦР – применяется для уменьшения числа побочных продуктов реакции. Используют две пары праймеров и проводят две последовательные реакции. Вторая пара праймеров амплифицирует участок ДНК внутри продукта первой реакции.

ПЦР-реакция для V1f - 1342r пары праймеров проводилась со следующим температурным профилем: 5 мин при 94°C с последующими 40 циклами, состоящими из 50 с при 94°C, 1 мин при 50°C, 1 мин 30 с при 72°C, постэлонгация проводилась при 72°C в течение 7 мин. Полученный ПЦР-продукт использовался в амплификации с 18sf - 981r парой праймеров при следующих условиях: 5 мин при 94°C с последующими 40 циклами, состоящими из 50 с при 94°C, 1 мин при 48°C, 1 мин при 72°C, постэлонгация проводилась при 72°C в течение 7 мин. (амплификатор «БИС», Россия).

## **2.5. Методы очистки амплифицированных фрагментов**

Продукты реакции разделяли электрофоретически [72] в 1%-ном агарозном геле. Полосу ожидаемого размера вырезали и очищали согласно Т. Маниатису и соавторам [281].

### Очистка амплифицированных фрагментов сорбцией на силикагеле

К ПЦР-продукту добавляли 5 мкл раствора силики с диаметром частиц 0,5-10 мкл (Helicon, США) и медленно перемешивали, затем добавляли 4 объема гуанидина тиоцианата (ГТЦ) и центрифугировали 20 сек на малых оборотах. Аккуратно отбирали супернатант и к осадку добавляли 200 мкл 80% этанола, операцию повторяли 3 раза. Осадки подсушивали в течение 20 – 30 мин, растворяли в 20 мкл дистиллированной воды, перемешивали и

центрифугировали при 14000 об/мин 30 сек, отбирали водную фазу и проверяли качество очистки в 1%-ном агарозном геле.

#### Очистка амплифицированных фрагментов с использованием набора

ПЦР-продукт очищали набором «QIAquick PCR Purification Kit» фирмы QIAGEN (Valencia, CA) по протоколу фирмы-производителя. Отцентрифугированный очищенный раствор ДНК проверяли в 1%-ном агарозном геле на качество очистки и концентрацию ДНК.

### **2.6. Определение нуклеотидной последовательности**

Прямое определение двухцепочечных продуктов амплификации проводилось на автоматическом секвенаторе модели 373A фирмы «Applied Biosystem Inc.» с набором реактивов «Thermo Sequenase II dye terminator cycle sequencing kit» фирмы «Amersham pharmacia biotech», а так же на автоматическом секвенаторе CEQ 8800 (Beckman Coulter Inc.) с набором реактивов «Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» фирмы «Beckman Coulter», при помощи тех же праймеров (L1490, H2198).

Параметры терминирующей реакции секвенирующего ПЦР были следующими: денатурация – 15 секунд при 94°C, эффективная гибридизация и элонгация имели одинаковую температуру - 60° и длились, в целом, 4 минуты. Всего выполнялось 30 циклов амплификации. Необходимо отметить, что температура отжига как при накопительном ПЦР, так и при секвенирующем значительно отличалась от расчетной, составляющей 54-55°C [341]. В первом случае она была ниже и составляла 46°C, а во втором значительно выше и составляла 60°C.

### **2.7. Оценка генетического разнообразия популяций**

Биологическое разнообразие можно разделить на три основных уровня: 1) биоразнообразие в отношении генов (внутрипопуляционное или генетическое разнообразие), 2) разнообразие видов и 3) разнообразие

экосистем. «Генетическое разнообразие» относится к вариации генов внутри видов, что является смешением генов, содержащихся в особях. Это охватывает различные популяции одного и того же вида или генетическую вариацию внутри популяции. Генетические различия можно обнаружить между особями внутри популяции, и также различия можно выявить в аллельных частотах между популяциями. Во всех относительно число вариации зависит от вида, его истории и окружающей среды. Наличие вариантов (полиморфизма) в образце может быть оценено по его генотипам, аллелям, гаплотипам или нуклеотидам. Образцы могут быть иерархически разделены на уровне вида, популяции или внутри популяции. На молекулярном уровне полиморфизм определяется сосуществованием альтернативных связующих конфигураций или вариантов ДНК при их определении данным методом обнаружения.

Как известно, аллель – это альтернативная форма гена. Если ген соответствует специфичной последовательности нуклеотидов по всей молекуле ДНК, то эти аллели представляют собой разные последовательности нуклеотидов, которые возможны для этого отдельного локуса. Различия в аллелях в единичном локусе в популяции указывают на генетическую изменчивость. Генетическую изменчивость определяют количественно для разных генов и для разных особей или популяций.

Генетическое разнообразие формируют следующие факторы – мутация, миграция, рекомбинация, отбор, дрейф. Отбор влияет на фонд настоящей генетической изменчивости и, соответственно, способствует эволюционному процессу. Генетическое разнообразие позволяет популяциям адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды.

В популяционной генетике особое внимание уделяется местной единице интербридинга/аутбридинга более большой популяции потому, что изменения в частотах аллелей возникают внутри таких ограниченных единиц и могут привести к эволюции адаптивных признаков. Эти местные единицы интербридинга обычно называются «местные популяции», «субпопуляции»

или просто «популяции». Размер популяции не является безгранично большим и не остается постоянным. Генетические связи между популяциями могут различаться в зависимости от степени имеющего место потока генов.

Система естественного скрещивания особей может быть изучена путем исследования частот, с которыми альтернативные генотипы возникают в популяции. Когда особи в популяции подвергаются скрещиванию, которое произвольно относится к исследуемым аллелям, могут ожидать определенные характеры частот генотипа. Система спаривания или скрещивания имеет значительное влияние на частоту возникновения альтернативных генотипов в данной популяции.

Эффективный размер популяции ( $N_e$ ) – число родителей, ответственных за генетический состав следующего поколения. Таким образом,  $N_e$  меньше, чем фактическое число особей в популяции. Для оценки эффективной численности по данным о генетическом полиморфизме популяции может быть использован эффективный размер популяции ( $N_e$ ), который отражает только численность размножающихся особей и может быть выведен из генетических данных через параметр тета ( $\theta = 4N_e\mu$ ; где  $\mu$  - скорость мутирования, выраженная в нуклеотидах на поколение).  $\theta = 2N_e\lambda$  (для гаплоидных генов – CO1),  $\theta = 4N_e\lambda$  (для диплоидных генов – микроспоридии).

Основной анализ генетического разнообразия складывается из: 1) описания изменчивости внутри и между популяциями и пр., 2) оценки взаимосвязей между особями, популяциями и пр., которая включает в себя вычисление расстояний (геометрическое и генетическое) между парой исследуемых объектов и 3) экспрессии взаимосвязей между результатами, полученными от разных наборов признаков.

Качественное измерение генетического разнообразия: измерение генетического разнообразия внутри популяции. На основе ряда вариантов:

- Полиморфизм или уровень полиморфизма ( $P_j$ )
- Долю полиморфных локусов

- Богатство аллельных вариантов ( $A$ )
- Среднее количество аллелей на локус.

На основе частоты вариантов:

- Эффективное число аллелей ( $A_e$ )
- Средняя предполагаемая гетерозиготность ( $H_e$ ; генетическое разнообразие Нея (Nei)).

Количественное измерение генетического разнообразия: измерение генетического разнообразия между популяциями:

- Межпопуляционная дифференциация (различия между популяциями на разных уровнях структуры) для одного локуса ( $g_{st}$ )
- Межпопуляционная дифференциация для нескольких локусов ( $G_{st}$ )
- Вклад популяции в общее генетическое разнообразие
- F-статистика (Wright)
- Анализ молекулярной вариации (AMB) (Analysis of molecular variance (AMOVA)) внутри вида.

Количественное измерение генетических взаимосвязей: разнообразие и дифференциация на нуклеотидном уровне:

- Используя данные последовательности: 1) внутрипопуляционное и 2) межпопуляционное разнообразие нуклеотида.
- Используя данные рестрикции.

В данном случае каждый нуклеотид – локус.

## 2.8. Филогенетический анализ

Первичную обработку расшифрованных последовательностей производили с помощью программы Bio Edit [221, 222]. Для анализа филогеографической (или геногеографической по Серебровскому (1928)) структуры видов использовалась программа TCS, версия 1.2.1 [156]. «Критерий экономности», или максимальной экономии (Maximum Parsimony, MP) [379] использовался для оценки минимального числа мутаций, которые разделяют гаплотипы внутри одной и той же сети. Анализ популяционной

структуры, генетической изменчивости образцов, расчет индексов  $F_{ST}$ , AMOVA и популяционных параметров производили с помощью программы ARLEQUIN v3.5.1.3. [194, 350]. Также использовали программу DnaSP v5 [267], чтобы вычислить частоты попарных различий между гаплотипами (mismatch distribution) и получить распределения попарных генетических расстояний для оценки гипотезы недавнего роста популяции.

Для реконструкции демографической истории популяций методами Байесовского скайплота использовался пакет программ BEAST 1.7.4. [168]. Модель нуклеотидных замен для каждого набора данных была выбрана с использованием программы jMODELTEST версии 1.0 [218, 317], на основании информационного критерия Акаике [108].

Независимая калибровка «молекулярных часов» для *Gmelinoides fasciatus* по фрагменту гена CO1 митохондриальной ДНК проведена в программе IMa version 2.0 [228, 254]. Для перевода масштаба времени демографических историй для *G. fasciatus* из замен на сайт в годы вследствие отсутствия калибровки молекулярных часов для амфипод на момент проведения анализа было использовано среднее значение скоростей дивергенции (1,6% на млн. лет), предложенных для членистоногих [322]. 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 [24, 216, 320, 391].

Программа MrBayes v. 3.2.1 [334] использована для построения древа микроспоридий.

MIGRATE-N оценивает эффективный размер популяции и скорость миграции между популяциями с использованием модели матрицы миграций, которая включает скорости ассиметричной миграции и размеры различных субпопуляций [124]. Параметры оцениваются с использованием методов максимального правдоподобия или байесовского метода. Можно проанализировать следующие виды входных данных: нуклеотидные

последовательности, данные по единичному нуклеотидному полиморфизму, микросателлитные и электрофоретические данные. Помимо вычисления размера популяции и степени миграции, выходные файлы включают значения функций правдоподобия, процентиля, тесты на соотношения правдоподобия.

Различия в составе сообществ микроспориций между популяциями хозяина *G. fasciatus* оценивали вычислением дистанций Хеллингера (Hellinger distances) с использованием библиотеки `vegan` на языке R [305].

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Популяционная структура *G. fasciatus* озера Байкал

##### Определение нуклеотидных последовательностей

Исследование генетической изоляции амфипод *G. fasciatus*, населяющих различные участки побережья Байкала, проведено с использованием генетического маркера – фрагмента гена CO1 (первой субъединицы цитохром-с-оксидазы) митохондриальной ДНК. В этом фрагменте, несмотря на его консервативность, количество синонимичных замен обычно достаточно для проведения исследований на межвидовом и даже на популяционном уровне [198]. В нашем случае, нуклеотидное разнообразие  $P_i$  для юго-западной популяции существенно меньше нуклеотидного разнообразия остальных популяций (табл. 3), что может свидетельствовать об отборе, «бутылочном горлышке» или каком-то другом серьезном «стрессе», действующем на эту популяцию.

Скорость накопления нуклеотидных замен в этом гене для гастропод составляет 1.83% на млн. лет [413], среднее значение скоростей дивергенции для членистоногих – 1.6% на млн. лет [322]. Последнее значение и использовано в качестве начального в настоящем исследовании.

Примененные нами маркеры хорошо зарекомендовали себя как информативные и успешно использовались в серии предыдущих эволюционных исследований, среди которых были работы по молекулярно-филогенетическим исследованиям амфипод [290].

В ходе исследования нуклеотидные последовательности фрагмента митохондриального гена CO1 длиной 565 пар нуклеотидов (п.н.) определены для 108 представителей *G. fasciatus*, собранных в 38 точках озера Байкал, а также в районе Иркутской и Усть-Илимской ГЭС на р. Ангара, в Финском заливе в районе пос. Ольгино, Усть-Луга (Ленинградская область) и в оз. Арахлей (Читинская область) (табл. 2). Последовательности депонированы в GenBank с номерами доступа FJ715823 – FJ715919.

**Таблица 2.** Сводная таблица, дающая информацию о количестве расшифрованных последовательностей из каждой конкретной точки сбора

№ п/п	Место сбора	Количество последовательностей		
		CO1	рДНК	Исследовано рДНК всего
1	Пос. Усть-Луга, Ленинградская область	1	-	-
2	Пос. Ольгино, Ленинградская область	1	-	-
3	Озеро Арахлей, Читинская область	3	-	-
4	Р. Ангара, Усть-Илимская ГЭС	7	-	9
5	Р. Ангара, 60 км от истока	7	3	5
6	Пос. Култук	7	-	35
7	М. Половинный	18	6	31
8	Пос. Листвянка	7	-	5
9	Бухта Сенная	-	8	19
10	Бухта Песчаная	4	3	4
11	Пос. Бугульдейка	3	-	2
12	Мыс Шаманский, 200 м на восток	3	-	3
13	Бухта Абетулиха	-	-	2
14	Устье р. Утулик	3	-	46
15	Муринская банка	3	-	2
16	Пос. Танхой	2	-	-
17	Р. Переемная, пос. Мишиха	-	1	7
18	М. Коврижка, пос. Мишиха	-	2	5
19	Пос. Мантуриха	-	-	23
20	О-ва Боярские	-	-	4
21	Посольский сор	1	-	27
22	Устье р. Селенга, м. Средний	-	-	8
23	Залив Провал	3	1	2
24	Оз. Слюдянское	-	-	2
25	Губа Таланка	3	-	-
26	Пролив Ольхонские ворота, бухта Саган-Хэр	2	2	6
27	Пролив Ольхонские ворота, бухта Загли	-	7	12
28	Залив Малое море, м. Бурхан	-	3	5
29	Залив Малое море, м. Зундук	3	-	2
30	Бухта Гремячинск	2	1	3
31	Бухта Безымянная	1	-	-
32	Пос. Максимиха	2	-	-
33	Устье р. Чивыркуй	3	1	2
34	Полуостров Святой Нос, мыс Верхнее Изголовье	3	-	-
35	Бухта Заворотная	2	1	4

36	Губа Большая Коса	2	-	-
37	Губа Богучанская	2	-	1
38	Устье р. Кичера	2	3	5
39	Р. Малая Черемшаная, 1 км южнее	-	-	2
40	Губа Якшакан	3	-	1
41	Губа Иринда	-	4	7
42	Губа Дагарская	2	4	6
43	О. Ярки	3	2	4

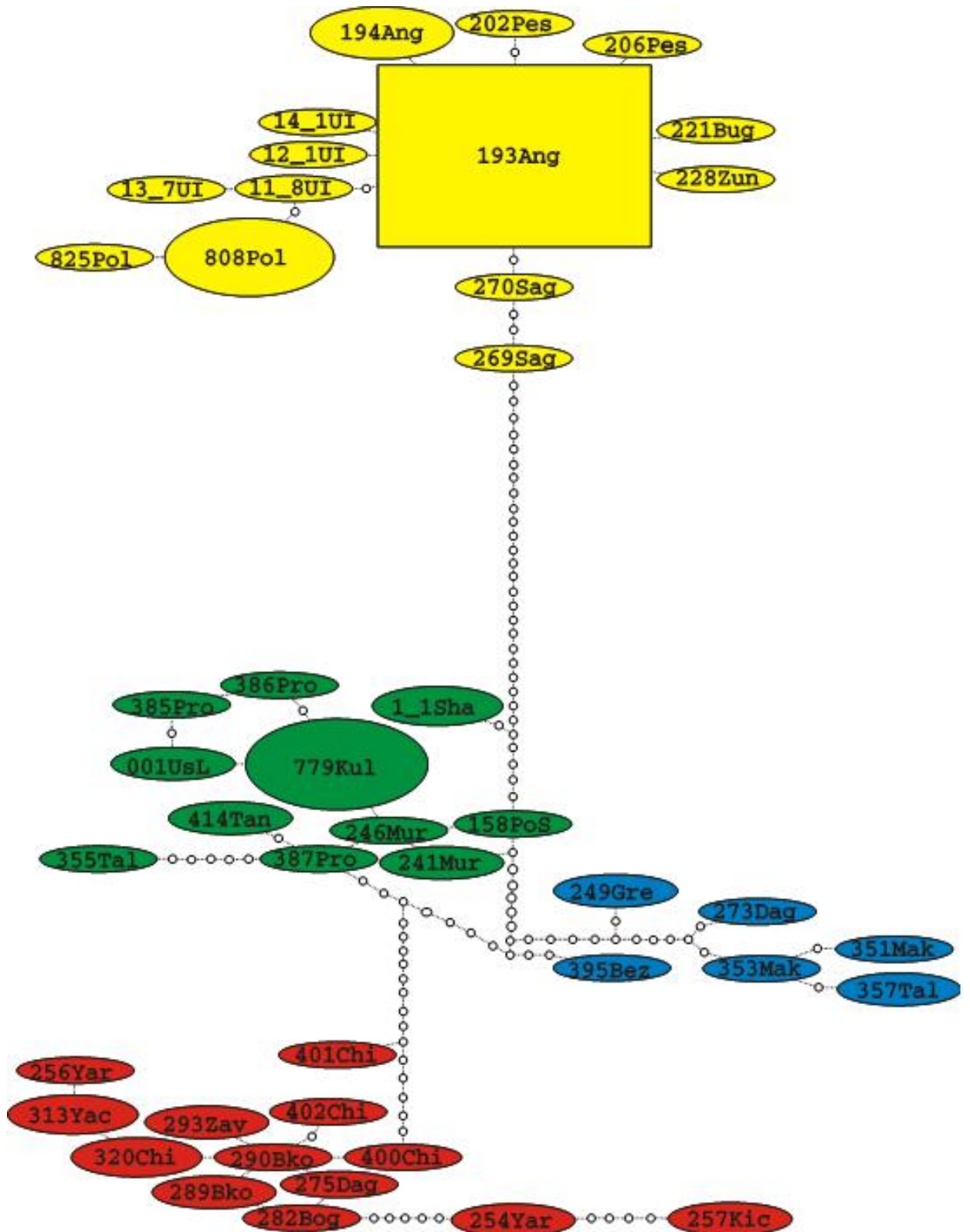
**Таблица 3.** Число полиморфных сайтов и нуклеотидное разнообразие популяций *G. fasciatus* (DNAsp)

Популяции	S	P <sub>i</sub>
центральная	22	0,014
северная	21	0,009
юго-восточная	22	0,008
юго-западная (104 последовательности)	15	0,004
общие значения	80	0,041

Исследование популяционной структуры *G. fasciatus* озера Байкал, р. Ангара и некоторых внебайкальских представителей

Впервые дана молекулярно-филогенетическая характеристика (рис. 8, 9), выявлен внутривидовой полиморфизм байкальской амфиподы *G. fasciatus* по результатам анализа последовательностей фрагментов гена первой субъединицы цитохром оксидазы C 108 индивидуумов, отловленных в 38 точках озера Байкал и 5 точках за его пределами (табл. 1). Исследование пространственной генетической структуры проводили с помощью простирающегося древа, построенного по фрагменту гена CO1 мтДНК методом максимальной экономии (Maximum Parsimony, MP).

Для оценки филогении методом максимальной экономии используются последовательности нуклеиновых кислот. Данный метод позволяет использовать полные IUB неоднозначные коды и оценивать предковые нуклеотидные состояния. В данном методе можно также учитывать только трансверсии, множественное ветвление (политомию), восстановить предковые состояния, использовать 0/1 веса признаков и вычислить длины ветвей. Данный метод адекватен для наших данных, т.е. не обнаружено статистически достоверных отклонений от предположений, что 1) нет отбора,



**Рис. 8.** Древо, построенное методом максимальной экономии с помощью программы TCS 1.2.1 на основе 108 последовательностей фрагмента митохондриального гена CO1.

Цветом выделены разные клады, соответствующие юго-западной (выделено желтым цветом), северной (красным), центральной (синим) и юго-восточной популяции (выделено зеленым цветом). Площадь пропорциональна числу наблюдающихся гаплотипов.

Сокращения: Ang – р. Ангара, Pes – б. Песчаная, Bug – пос. Бугульдейка, UI – г. Усть-

Илимск, Zup – м. Зундук, Pol – м. Половинный, Sag – б. Саган-Хэр; Pro – з. Провал, UsL – пос. Усть-Луга, Sha – м. Шаманский, Kul – пос. Култук, Tan – пос. Танхой, Tal – г. Таланка, Mur – Мури́нская банка, PoS – Посольский сор, гаплотип 779 Kul включает также гаплотипы из пос. Ольгино и оз. Арахлей; Gre – б. Гремячинск, Dag – г. Дагарская, Mak – пос. Максимиха, Bez – б. Безымянная; Chi – р. Чивыркуй, Yar – о. Ярки, Yas – б. Якшакан, Zav – б. Заворотная, Vko – г. Большая Коса, Vog – г. Богучанская, Kis – р. Кичера.



**Рис. 9.** Карта-схема популяций *G. fasciatus* на Байкале.

Цветом выделены популяции: юго-западная (выделено желтым цветом), северная (красным), центральная (синим) и юго-восточная (выделено зеленым цветом).

то есть все замены являются нейтральными и 2) все полиморфные положения последовательности эволюционируют независимо (являются независимыми признаками).

Простирающееся древо характеризует степень сходства, однако в отличие от филогенетического не несет информации о последовательности

событий во времени. Современные особи могут находиться как в узлах, так и на концах ветвей, то есть предок и потомок могут сосуществовать в отличие от древа при филогенетическом (или кладистическом) анализе.

Построенное в ходе нашего исследования древо (рис. 8) дало нам представление о степени репродуктивной изоляции между особями, обитающими в обозначенных районах. Таким образом, можно выделить четыре группы *G. fasciatus*, которые образуют четыре отдельные ветви на простирающемся древе, и считать их отдельными популяциями. Группы на древе соответствуют четырем непрерывным большим географическим ареалам, обозначенным на рисунках 8 и 9. По западному берегу озера от бухты Половинка до пролива Малое Море обитает юго-западная популяция *G. fasciatus*, ареал юго-восточной популяции простирается от пос. Култук до губ. Таланка, на среднем Байкале по восточному берегу от губы Таланка до Чивыркуйского залива встречается центральная популяция бокоплава. Популяционная принадлежность образцов сбора в губе Таланка остается под вопросом. На всем протяжении северного Байкала, как по западному, так и по восточному берегу обитает северная популяция *G. fasciatus*. Все популяции непрерывны с географической точки зрения. Границы между этими ареалами определены с точностью расстояния между станциями сбора. Сложно картировать их более точно, так как не ясно, чем определяется ширина границ: 1) прерывистое распределение вдоль берега; 2) жизнеспособность гибридов первого поколения.

Для того чтобы оценить, отражает ли построенное нами древо популяционную структуру *G. fasciatus*, мы провели тест на дифференцированность установленных групп (уровень достоверности = 0.05) Arlequin. Тест показал достоверные различия между всеми парами групп. Для более подробного исследования генетической подразделенности вида, мы вычислили индексы фиксации  $F_{ST}$  (статистика для аллелей) и  $\Phi_{ST}$  (форма нуклеотидного разнообразия) [407, 408], чтобы установить, существует ли обмен генетической информацией между особями из разных групп, и если да,

то какова его интенсивность. Другими словами, скрещиваются ли особи из разных групп с появлением жизнеспособного потомства. Эти индексы фиксации отражают соотношение внутри- и межгруппового полиморфизма. Стоит отметить, что при вычислении индекса  $F_{ST}$  одинаковыми считаются гаплотипы, абсолютно идентичные по последовательностям нуклеотидов. Из этого следует, что он дает несколько завышенные значения.

**Таблица 4.** Популяционные попарные генетические дистанции ( $F_{ST}$ )

Популяции	центральная	северная	юго-восточная	юго-западная
центральная	0.00			
северная	0.73	0.00		
юго-восточная	0.74	0.79	0.00	
юго-западная	0.91	0.92	0.92	0.00

**Таблица 5.** Степень нуклеотидного разнообразия среди популяций ( $\Phi_{ST}$ ) [193, 301]

Популяции	центральная	северная	юго-восточная	юго-западная
центральная	0,00			
северная	0,67	0,00		
юго-восточная	0,69	0,75	0,00	
юго-западная	0,75	0,81	0,83	0,00

Индексы как  $F_{ST}$ , так и  $\Phi_{ST}$  для нашего набора последовательностей оказались очень высокими (табл. 3), что свидетельствует о низком уровне обмена генами между установленными группами. То есть, несмотря на то, что ареалы обитания не изолированы, и особи *G. fasciatus* из разных клад (учитывая их высокую миграционную активность [38]) могут скрещиваться между собой, потомство от таких скрещиваний скорее всего слабо- либо нежизнеспособно. В противном случае показатели внутри- и межпопуляционной изменчивости были бы в меньшей степени различными.

Проведенный анализ подтвердил существование нескольких отдельных популяций *G. fasciatus* в Байкале.

### Определение уровня достаточности выборки

В дополнение провели тест на репрезентативность выборки для каждой отдельной популяции исследуемого вида, основанный на бутстреп-анализе (неопубликованные данные: Букин Ю.С. с соавторами). При этом производится выбор случайных последовательностей из набора данных и расчет параметра  $\theta$  в 1000 повторностях. На основе полученных данных вычисляется среднее значение  $\theta$  и среднеквадратичное отклонение. Ошибка среднего значения должна лежать в пределах 5% (т.е. 95% доверительный интервал). В таком случае выборка для той или иной популяции считается репрезентативной.

В нашем случае только центральная популяция выпадает из этого интервала, что требует увеличения размера выборки. При дальнейшем исследовании центральной популяции, результаты для нее могут быть не достоверными, интерпретировать их следует с осторожностью.

### **3.2. Основные характеристики популяций *G. fasciatus***

Для всех популяций вычислили индекс генетического разнообразия [373], определяемый как вероятность того, что два случайно выбранных гомологичных нуклеотида из двух популяций являются различными (табл. 4).

Тот факт, что наши значения Tajima's D лежат в диапазоне от -2,5 до 2,5, говорит о нейтральности замен, составляющих полиморфизм гаплотипов CO1.

Кроме этого, для всех популяций вычислили полиморфизм последовательностей/генетическое разнообразие и параметр  $\theta_{\text{Hom}}$  [154] (табл. 6).  $\theta = 4N_e\mu$ , где  $N_e$  – эффективный размер популяции,  $\mu$  – скорость мутирования на нуклеотид в год.  $\theta_{\text{Hom}}$  – ожидаемая однородность в популяции при равновесии между дрейфом генов и мутационной скоростью.

#### Юго-западная популяция

Самый низкий показатель генетического разнообразия оказался у юго-

западной популяции. Значение параметра  $\theta_{\text{Hom}}$  для юго-западной популяции также оказалось самым низким и составило 1,95 (табл. 6). Низкий уровень генетического разнообразия группы особей может указывать на два фактора: во-первых, на относительно маленький возраст группы и, во-вторых, на прохождение через стадию резкого сокращения численности группы («бутылочное горлышко»). Бутылочное горлышко – это генетическое явление, которое можно объяснить либо массовым вымиранием особей, либо эффектом основателя. В данном случае, низкие индексы генетического разнообразия отмечены были только у юго-западной популяции. Предположительно, бутылочное горлышко у юго-западной популяции соответствует массовому вымиранию особей.

**Таблица 6.** Полиморфизм последовательностей mtCO1 и статистические тесты нейтральности для четырех популяций *Gmelinoides fasciatus*

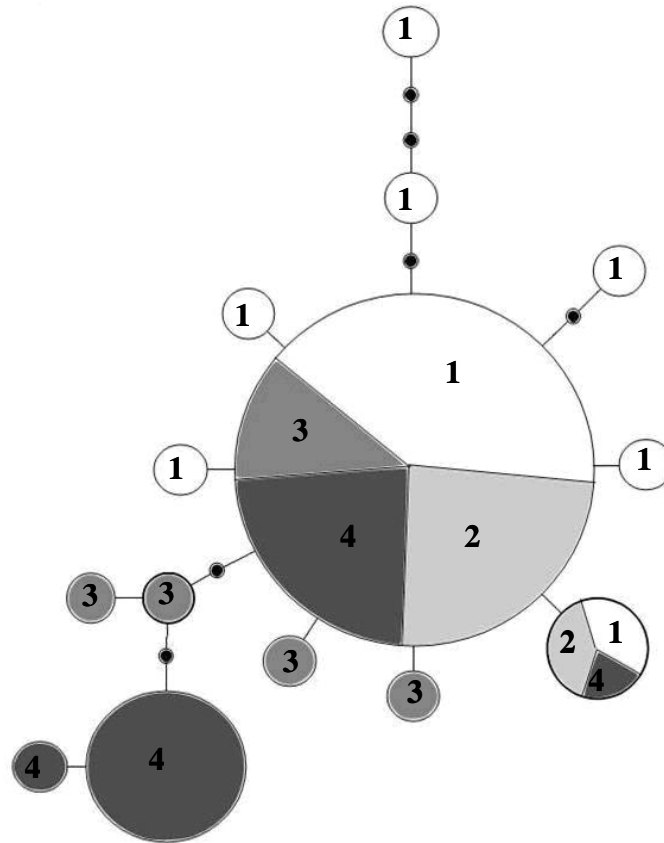
№	Популяции	<b>N</b>	<b>S</b>	<b>h</b>	<b>Pi</b>	<b>k</b>	<b>D</b>	<b>Fs</b>	<b><math>\theta_{\text{Hom}}</math></b>
1	центральная	8	22	6	0,014	8,02	-0,37	0,45	11,53
2	северная	21	21	13	0,009	5,24	-0,43	-3,28	18,37
3	юго-восточная	28	22	13	0,007	4,09	-1,01	-2,95	4,22
4	юго-западная	50	20	14	0,004	2,24	-1,60	-5,10	1,95

**N** – число последовательностей; **S** – число полиморфных (сегрегирующих) сайтов; **h** – число гаплотипов; **Pi** – нуклеотидное разнообразие; **k** – среднее число нуклеотидных различий; **D** – Tajima's D; **Fs** – индекс Fu's Fs.

Анализ юго-западной популяции показал, что, в отличие от других популяций, сеть гаплотипов содержит широко распространенный центральный гаплотип, окруженный большим числом единичных/синглетных гаплотипов, что также говорит о росте популяции (рис. 10).

#### Юго-восточная популяция

Юго-восточная популяция, по-видимому, является предковой для всех других популяций вида *G. fasciatus*. Об этом свидетельствует то, что на древе все популяции формируют самостоятельные четко различимые группы,



**Рис. 10.** Структура юго-западной популяции *Gmelinoides fasciatus*

1 (белый цвет) – образцы из оз. Байкал севернее устья Ангары, 2 (светло-серый) – из Ангары в районе г. Иркутск, 3 (серый) – из Ангары в районе г. Усть-Илимск, 4 (темно-серый цвет) – выделены образцы из б. Половинной оз. Байкал.

связанные только с юго-восточной популяцией (рис. 8). Более того, юго-восточная популяция наиболее разнообразна генетически. Вероятнее всего, заселение озера Байкал представителями вида *G. fasciatus* началось с восточного берега озера.

Внебайкальские представители вида *G. fasciatus* из озера Арахлей и Финского залива показали принадлежность к юго-восточной популяции вида (рис. 8). Наши результаты согласуются с литературными данными [14] об интродукции бокоплава в 60-х годах XX в. [56] из Посольского Сора озера Байкал в другие водоемы. Следовательно, юго-восточная популяция бокоплава стала источником для *G. fasciatus*, колонизировавшего по данным 2006 года 44 водоема европейской части России, Урала, Сибири, Казахстана и Средней Азии [14].

Широко расселившиеся представители *G. fasciatus* юго-восточной

популяции наименее всего заражены микроспоридиями (рис. 17, 18). В водоемах вселения они вытеснили сестринские виды (например, *Gammarus lacustris* Sars) [129] согласно принципу конкурентного исключения (правило Гаузе). В этом правиле постулируется, что два вида живых существ не могут обитать в одном и том же месте, если их экологические потребности идентичны, то есть если они занимают одну и ту же экологическую нишу [21]. При попадании в новые водоемы экзотические виды незараженные или менее зараженные вытесняют всех зараженных, так как имеют преимущество в конкуренции за нишу. Аналогичный пример показан в исследовании влияния видов-вселенцев *Gammarus pulex* и *Gammarus tigrinus* на аборигенную амфиподу *Gammarus duebeni celticus* в различных водоемах северной Ирландии [177]. Оказалось, что у коренного вида *Gammarus duebeni celticus*, вытесняемого экзотическими видами, зараженность была гораздо выше.

Все *G. fasciatus*, обнаруженные за пределами Байкала, в т.ч. в р. Ангара, относятся к уже ранее установленным популяциям в озере Байкал. Это связано в первую очередь с еще очень небольшим с эволюционной точки зрения временем, прошедшим с момента интродукций и распространения. Эти события еще не успели отразиться на уровне полиморфизма.

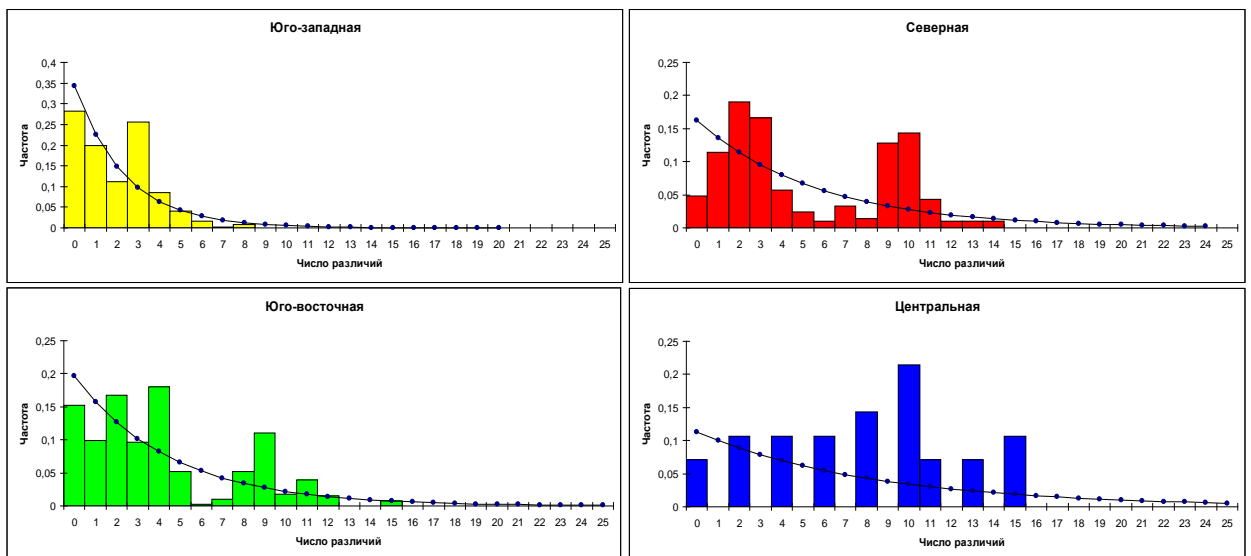
### 3.3. Демографическая история популяций *G. fasciatus*

Для реконструкции демографической истории популяций методами Байсовского скайплота использовался пакет программ BEAST 1.7.4. [168]. Модель нуклеотидных замен для каждого набора данных была выбрана с использованием программы JMODELTEST версии 1.0 [218, 317], на основании информационного критерия Акаике [108]. Для юго-западной и центральной популяций была выбрана модель нуклеотидных замен Hasegawa-Kashino-Yano (HKY) [223]. Для северной популяции наиболее подходящей моделью оказалась HKY с пропорцией инвариабельных сайтов (+I) и неоднородной скоростью нуклеотидных замен между оставшимися

сайтами, описываемой гамма-распределением (+G). Для юго-восточной популяции была выбрана general time reversible модель нуклеотидных замен (GTR) с пропорцией инвариабельных сайтов (+I). Были использованы цепочки длиной 80 млн. шагов для центральной и северной популяций, 100 млн. шагов для юго-западной популяции и 500 млн. шагов для юго-восточной популяции, чтобы обеспечить достоверное значение эффективного размера выборки ( $ESS > 200$ ).

Реконструкция демографической истории для установленных в ходе исследования популяций вида *G. fasciatus* (рис. 11, 12) проведена впервые. Она может помочь понять, как исследуемый вид реагировал на изменения климата в регионе озера Байкал и геологические изменения региона в течение истории своего существования.

Результаты сравнительного анализа распределений попарных расстояний показаны на рисунке 11. В случае недавнего роста популяции формируется унимодальное распределение попарных различий [360, 349]. Такой график характерен для юго-западной популяции (рис. 11), где большинство



**Рис. 11.** Сложная демографическая история популяций байкальской амфиподы *G. fasciatus* (mismatch distribution).

Столбцы показывают наблюдаемые значения, кривая линия показывает ожидаемое попарное распределение расстояний для случая популяций с постоянной численностью (DnaSP v5).

попарных сравнений находится в области малых генетических расстояний, и они показывают относительно хорошее совпадение с ожидаемыми распределениями. И наоборот, формы распределений попарных расстояний для трех остальных популяций неровные и скорее мультимодальные, большая часть попарных сравнений приходится на область больших генетических расстояний.

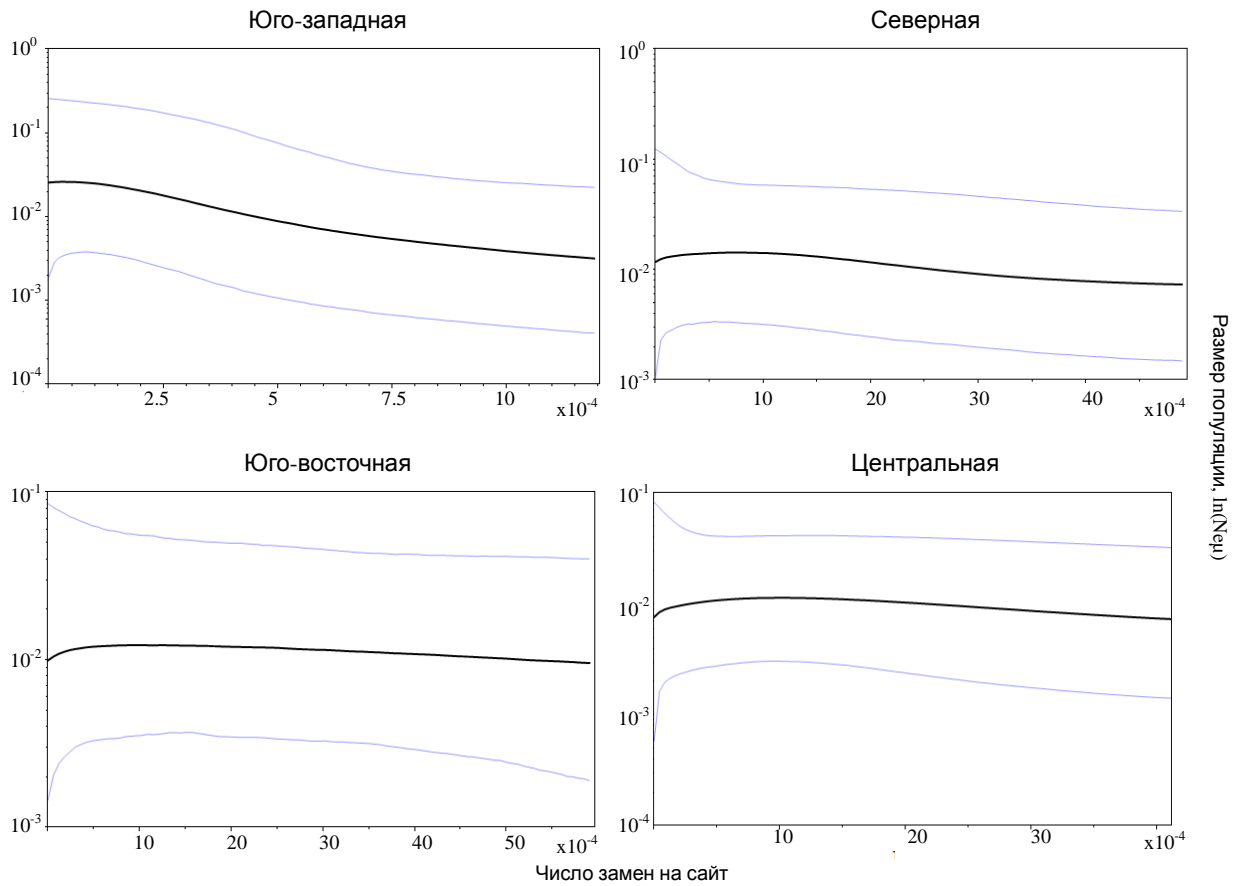
Для северной, юго-восточной и центральной популяций *G. fasciatus* нет соответствия наблюдаемых распределений с кривой ожидаемых значений попарных дистанций, нет одномоментного расширения. По-видимому, у этих популяций более сложная динамика (история), не разрешимая современными методами коалесцентного анализа [354]. Реконструкция демографических историй была проведена с помощью пакета программ BEAST, версия 1.7.4, методами Bayesian skyplot [168, 169].

Исследование демографической истории популяций *G. fasciatus* Байкала показало умеренный рост численности особей для юго-западной популяции *G. fasciatus*. Тогда как результаты реконструкций для северной, юго-восточной и центральной популяций указывают на относительно постоянную численность (рис. 12).

В данном случае идет речь о эффективной численности популяций митохондрий, единицей сегрегации для них является весь геном. Анализ полных митогеномов не позволяет прийти к выводу о наличии адаптивных мутаций у предков юго-западной популяции. «Бутылочное горлышко» в данном случае может показывать как снижение эффективной численности, так и падение полиморфизма митохондрий. Падение полиморфизма митохондрий может произойти при падении численности и при отборе.

Возможно, увеличение численности популяции связано с восстановлением после «бутылочного горлышка». Для того чтобы проверить гипотезу «бутылочного горлышка», определили популяционные параметры  $\theta_0$ ,  $\theta_1$  и  $\tau$ , где  $\theta_0$  – размер, пропорциональный размеру условной предковой гаплоидной популяции,  $\theta_1$  – условный размер современной гаплоидной

популяции и  $\tau$  – возраст современной популяции, выраженный в единицах мутационного времени (см. литературный обзор) (рис. 13, табл. 5) [333].



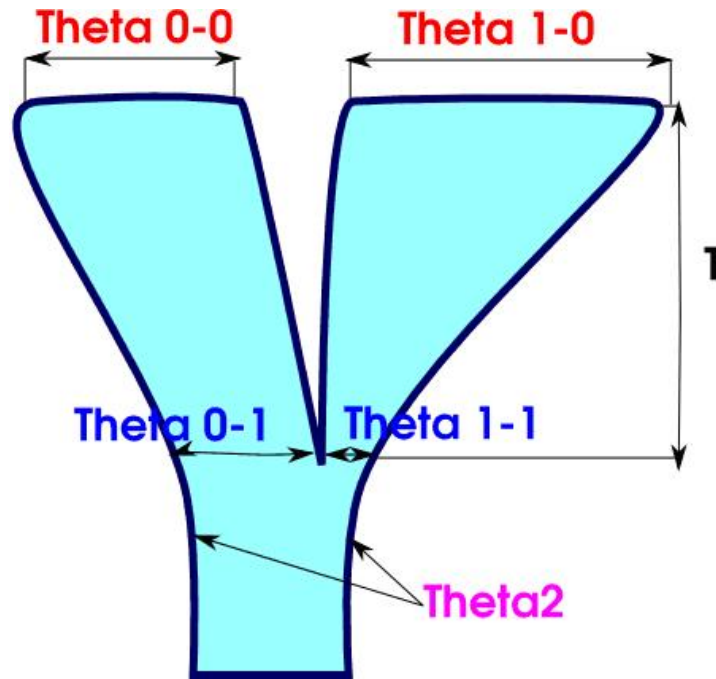
**Рис. 12.** Наиболее вероятная демографическая история *G. fasciatus* (coalescence method).

Время на графиках показано от настоящего к прошлому.

**Таблица 7.** Популяционные параметры  $\theta$  для модели мгновенного расселения

	Юго-Западная	Юго-Восточная	Северная	Центральная
$\theta_0$	0.000	6.965	0.000	2.471
$\theta_1$	823.750	29.375	9.947	31.094
$\tau$	0.782	4.018	12.431	8.964

В случае юго-западной популяции размер предковой популяции определяется как нулевой, размер современной популяции сравнительно велик, а  $\tau$  имеет низкое значение по сравнению с другими популяциями. Это подтверждает нашу гипотезу о резком снижении численности, через которое проходила юго-западная популяция, а также более молодой возраст юго-западной популяции по сравнению с другими группами исследуемого вида.



**Рис. 13.** Изменение условного размера популяций в процессе видообразования. Theta2 – размер предковой популяции, theta 0-1 и theta 1-1 – размер новых популяций в момент их разделения, theta 0-0 и theta 1-0 – размер современных популяций; T – время дивергенции популяций.

#### Определение скорости накопления замен для амфиподы *G. fasciatus*

В р. Ангара обитает *G. fasciatus*, принадлежащий юго-западной популяции вида (рис. 8). Однако на рисунке 8 видно, что р. Ангара делит популяцию на две группы, не полностью изолированные друг от друга репродуктивно (программ *ima2* и *migration-n*): первая обитает в районе бухты Половинной южнее стока реки, вторая – выше стока. Причем наблюдается неполное разделение предковых линий для этих групп. Время образования истока реки Ангары хорошо известно [55, 62, 286]. По современным литературным данным общепринято, что сток вод озера Байкал через реку Ангару образовался 60 000 лет назад. По нашим данным (распадение на две отдельные ветви на древе, рис. 8) с образованием стока началось разделение между группами юго-западной популяции (мыс Половинный и территория выше Ангары). Эти данные (табл. 6) позволили нам точно определить скорость накопления замен для CO1 гена у *G. fasciatus*, которая составляет 6.3-7.5% на миллион лет.

**Таблица 8.** Параметры субпопуляций юго-западной популяции

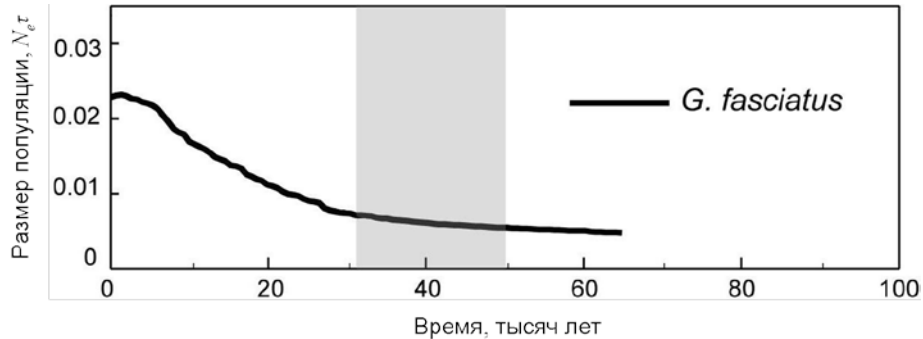
Группа/параметры	$\theta$	$t$
Половинная	9.74 (2.18-28.43)	0.53
Листвянка-Зундук	77.80 (17.02-145.9)	
Общая предковая	9.96 (0.83-30.07)	

Существование связи геологической и климатической истории с развитием биоты Байкала не вызывает сомнения [62]. Для того чтобы оценить влияние этих факторов на эволюцию амфиподы *G. fasciatus*, мы провели сопоставление демографической истории популяций вида с известными в литературе данными о климатических изменениях и основных геологических событиях озера [17, 39, 40, 54, 59, 60, 74, 75, 131, 215].

Демографическая история юго-западной популяции *G. fasciatus* резко отличается от таковой остальных популяций. Она является достаточно короткой по сравнению с другими популяциями вида, а также по сравнению с другими видами беспозвоночных [197]. Демографическая история этой популяции *G. fasciatus* демонстрирует увеличение численности популяции [24]. Поэтому можно было бы предположить, что *G. fasciatus* относительно недавно колонизировал Юго-Западное побережье озера Байкал. Однако более вероятно, что эта популяция *G. fasciatus* недавно прошла через «бутылочное горлышко», а обнаруженный рост отражает недавнее восстановление численности (см. выше) [25]. Остается непонятным, что вызвало резкое снижение численности юго-западной популяции?

После того, как была выполнена калибровка демографической истории юго-западной популяции *G. fasciatus* [197] с применением доступных скоростей молекулярной эволюции, обнаружилось, что ближайший общий предок для юго-западной популяции *G. fasciatus* относительно недавний. Реконструированная демографическая история юго-западной популяции показывает ее расширение, начавшееся примерно 25-50 тысяч лет назад (рис. 14), в период, отмеченный некоторым потеплением климата, относительно высоким уровнем воды и увеличением количества диатомовых водорослей, что выявлено по кернам осадков со дна озера [24, 197]. То есть популяция *G.*

*fasciatus* на юго-западном берегу озера Байкал начала расширение во время теплого периода с относительно высоким уровнем воды, что совпало с периодом высокого обилия диатомовых водорослей.



**Рис. 14.** Изменения популяционного размера у юго-западной популяции *G. fasciatus* (Fazalova et al. 2010).

Известно, что западный берег имеет небольшую по ширине мелководную платформу, которая местами не превышает нескольких десятков метров, тогда как на противоположном берегу, средняя ширина ее достигает 1 км [55]. На всем протяжении западного берега прибрежная отмель развита очень слабо и довольно быстро переходит во вторую ступень – глубоководный склон. [69] В.А. Обручев (1889) сделал вывод, что склон западного берега озерной впадины Байкала образован в результате сброса (четвертичный период). [18] С.С. Воскресенский (1962) считает, что западный склон Байкальской впадины представляет крыло крупной складки, осложненной сравнительно небольшими сбросами как по протяженности, так и по амплитуде. Берег на всем протяжении представлен плотными кристаллическими породами докембрийского возраста, которые трудно поддаются разрушению. Кроме того, западный берег значительно слабее подвержен волновой обработке, чем противоположный. Штормовые ветры, вызывающие сильное волнение, в основном направлены к восточному берегу. На юго-западном берегу озера Байкал никогда не было соров.

Итак, западный берег Байкала очень глубокий, обрывистый и там периодически происходят тектонические колебания [61]; одним из примеров является образование истока реки Ангары [55]. Сточная прорезь в истоке

Ангары, согласно Б.Ф. Луту, образование молодое (четвертичный период, порядка 60 тысяч лет), возникшее в результате прорыва Приморского хребта водами озера (единовременная катастрофа) [62, 286]. Вероятно, что прорыв хребта произошел под воздействием гидрократических причин, в период послеледникового повышения уровня озера. Согласно Сизых В.И. с соавторами, исток Ангары – следствие опускания блока Лиственничного залива [90].

Можно предположить, что в результате катаклизма в виде сброса и образования современного характера западного берега озера, произошло разрушение местообитаний вида *G. fasciatus* и его массовое вымирание. Хотя нельзя пренебрегать и биологическими причинами, например эпизоотиями.

Амфипода-генералист *G. fasciatus* живет и на песчаных и на каменистых субстратах [5, 38] в большинстве участков литоральной зоны озера на глубинах между 0 и 5 метров и, более того, известно, что она легко заселяет новые местообитания и занимает места в экосистемах [310, 130]. Этот факт позволил виду быстро заселить вновь образовавшиеся места обитания и увеличить свою численность.

Во всяком случае, увеличение численности, обнаруженное у *G. fasciatus* юго-западной популяции и стабильная численность остальных популяций, указывает на то, что факторы окружающей среды способствуют росту популяций этого вида в озере Байкал.

Юго-Западный берег озера Байкал – территория, где колебания условий окружающей среды не привели к географической изоляции местообитаний. Нет доказательств того, что понижение уровня воды из-за похолодания климата могло разделить бассейны озера или привести к какого-либо рода географическому разделению фауны, населяющей южный бассейн, в частности, разделению Юго-Восточной и Юго-Западной популяции *G. fasciatus*.

Остается открытым вопрос, что послужило причиной разделения экологически очень пластичного, высокоподвижного (минимальная

миграционная активность составляет 2,5–5 км/мес.) [38] вида на популяции со слабым потоком генов при непрерывности ареала обитания и отсутствии явных географических барьеров.

### 3.4. Микроспоридии и их разнообразие у *G. fasciatus*

Ареал *G. fasciatus*, как показано выше, в озере Байкал распадается на четыре популяции [25], между которыми, несмотря на отсутствие географических барьеров, наблюдается лишь незначительный поток генов. Несмотря на то, что ареалы обитания географически не разделены, и особи *G. fasciatus* (учитывая их высокую миграционную активность [38]) из разных клад могут скрещиваться между собой, потомство от таких скрещиваний скорее всего слабо- либо нежизнеспособно [25].

Одним из наиболее вероятных механизмов, объясняющих подразделенность на популяции, наблюдаемую у амфиподы *G. fasciatus*, а также, возможно, для некоторых других видов байкальских амфипод, может служить их дифференциальная зараженность микроспоридиями. То есть экологическая репродуктивная изоляция на основе различий в видовом составе и частоте встречаемости паразитирующих на *G. fasciatus* микроспоридий.

Как уже сказано, микроспоридии – внутриклеточные облигатные эукариотические паразиты, близкородственные грибам [117], с широким спектром поражаемых хозяев [414]. История их изучения насчитывает более 150 лет [366, 150, 414]. Несмотря на это, представители микроспоридий, живущие в Байкале, по сей день остаются слабо изученными.

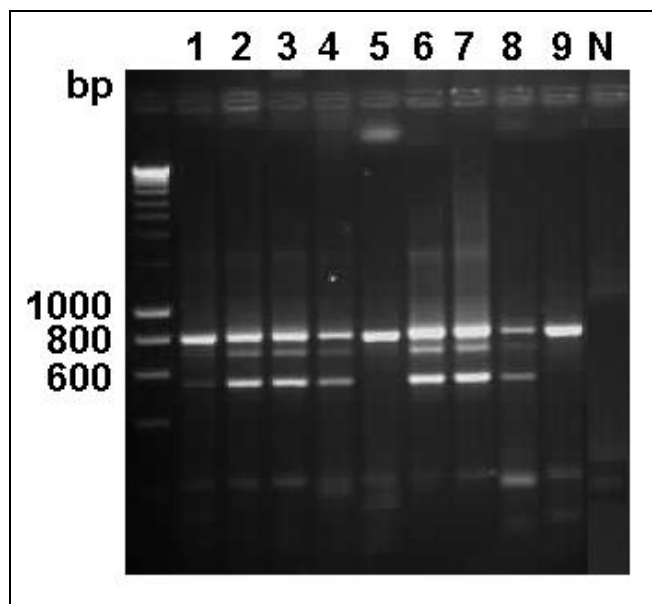
#### Дифференцированный микроспоридиоз популяций *G. fasciatus*

Установление видового разнообразия микроспоридий было выполнено с помощью выбранного фрагмента гена малой субъединицы рДНК [405], на котором сосредоточен основной объем исследований генома микроспоридий [154].

Ревизия амфипод Байкала на зараженность микроспоридиями показала (рис. 1) наличие большого числа видов этих паразитов [259, 261]. Из обнаруженных видов микроспоридий далеко не все найдены у *G. fasciatus* (см. далее).

#### Популяционный анализ микроспоридий *G. fasciatus*

Для 51 образца микроспоридий из 48 экземпляров *G. fasciatus*, собранных с 17 станций, расположенных по всему периметру озера Байкал (табл. 9), амплифицирован фрагмент гена малой субъединицы рДНК длиной 800 п.н. (рис. 15), и определена его нуклеотидная последовательность. Для полученных последовательностей (номера доступа в GenBank FJ820187 – FJ820237) и последовательностей, взятых из Генбанка, было построено филогенетическое дерево (рис. 16).



**Рис. 15.** Электрофореграмма продукта nested ПЦР с праймерами 18f – 981r для фрагмента гена малой субъединицы рДНК микроспоридий.

bp – длина продукта в парах нуклеотидов (п.н.). ПЦР-продукт фрагмента гена SSU рДНК находится на уровне 800 п.н. На рисунке видно, что объекты имеют двойное заражение (двуполосица).

Анализ топологии древа показал, что популяции хозяина заражены шестью видами микроспоридий, достаточно далеко отстоящими друг от друга на филогенетическом древе. Большая их часть, по-видимому,

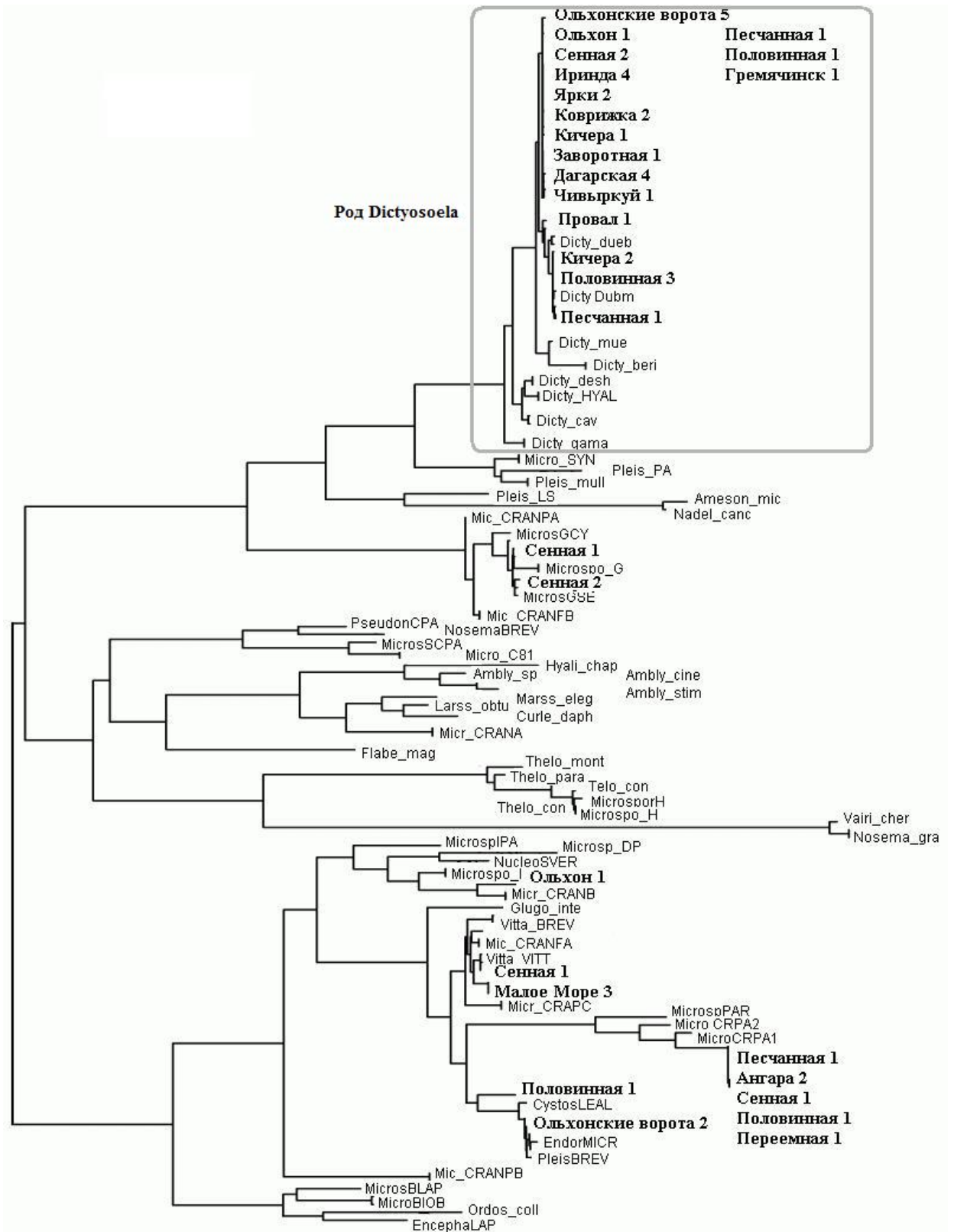
эндемична для Байкала. До вида пока определен только один. В отличие от древа основных видов микроспоридий (рис. 1) на нашем древе (рис. 16) нет представителей в пределах одной крупной клады.

**Таблица 9.** Места сбора проб *G. fasciatus* для анализа на зараженность микроспоридиями, количество прочитанных последовательностей фрагмента гена малой субъединицы рДНК

<b>Юго-западная популяция</b>	
Бухта Сенная	8
Бухта Песчаная	3
Пролив Ольхонские ворота	8
О-в Ольхон	3
Малое Море	3
Река Ангара	2
Бухта Половинная	3
<b>Северная популяция</b>	
Бухта Заворотная	1
О-в Ярки	2
Устье реки Кичера	3
Губа Дагарская	4
Губа Иринда	4
Мыс Коврижка	3
Устье реки Чивыркуй	1
<b>Центральная популяция</b>	
Пос. Гремячинск	1
<b>Юго-восточная популяция</b>	
Залив Провал	1
Бухта Переемная	1
<b>Всего</b>	<b>51</b>

Интересно, что для паразитов вообще характерна формула: количество видов паразитов равно или превышает количество видов их хозяев [262, 348, 386]. Для Байкала же до сих пор считалось характерным обратное соотношение [86]. В нашем исследовании подтверждается общераспространенная в мире ситуация, на один вид хозяина, *G. fasciatus*, приходится 6 видов паразитов. Видовой состав микроспоридий для каждой популяции показан на графике (рис. 17).

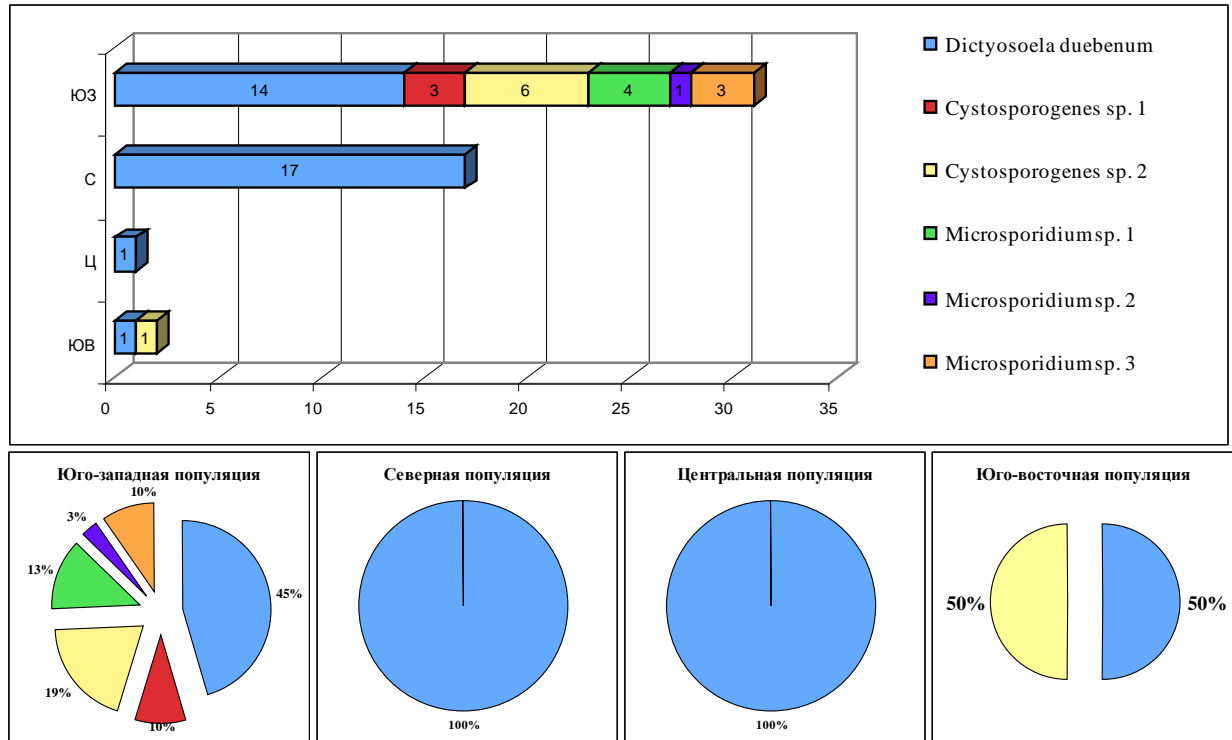
Из этого графика видно, что вид *Dictyocoela duebenum* обнаружен во всех популяциях и является единственным для северной и центральной



**Рис. 16.** Древо, построенное на основе последовательностей, полученных в ходе данного исследования, и последовательностей из Генбанка.

Жирным шрифтом выделены последовательности микроспоридий, полученные в данном исследовании. Каждая последовательность приурочена к месту отлова *G. fasciatus*. Цифры показывают количество последовательностей. Прямоугольником выделены представители микроспоридий, принадлежащие роду *Dictyosoela*.

популяций. Относительно большая распространенность этого вида у *G.fasciatus* можно объяснить его космополитичностью и тем, что он паразитирует на *G.fasciatus* дольше, чем другие обнаруженные в настоящем исследовании виды микроспоридий.



**Рис. 17.** Видовой состав микроспоридий в популяциях *Gmelinoides fasciatus*.

ЮВ – юго-восточная, Ц – центральная, С – северная, ЮЗ – юго-западная популяции. На оси x показано количество экземпляров микроспоридий каждого из обнаруженных видов. Ниже приведены те же данные для каждой популяции в процентном соотношении.

Проведенное исследование показало, что различия в видовом составе и частоте встречаемости паразитирующих на *G. fasciatus* микроспоридий между соседними популяциями действительно существуют. Причем различия по составу паразитов гораздо больше, чем генетические различия популяций хозяина. Следовательно, микроспоридии могут играть определенную роль в формировании изоляции между популяциями *G. fasciatus* и тем самым в процессе видообразования. Тем более в связи с тем, что границу между юго-восточной и юго-западной популяциями трудно объяснить с географической и палеогеографической точек зрения.

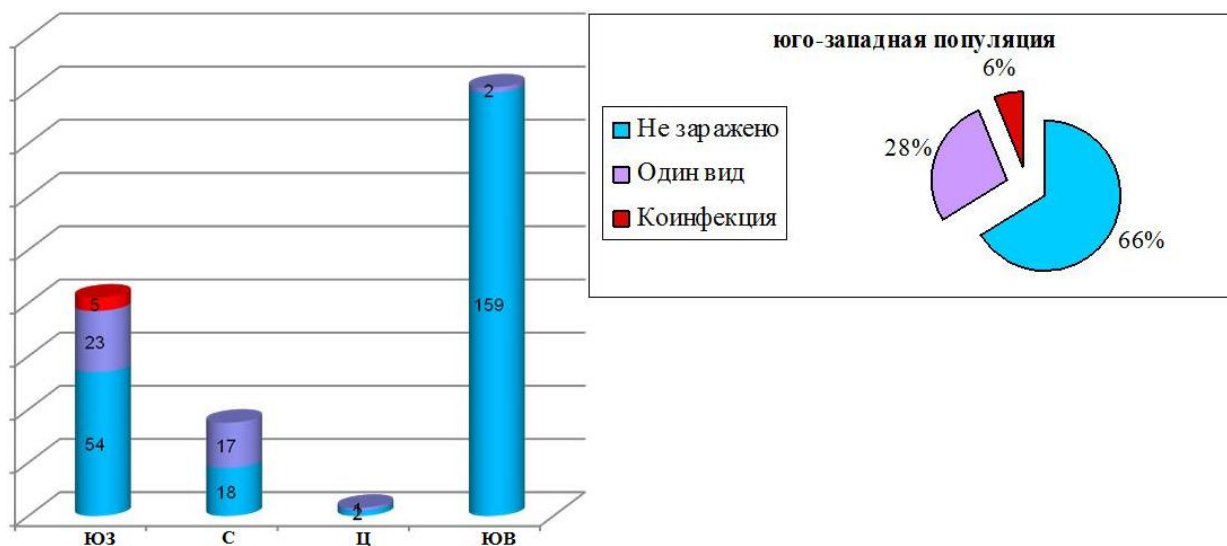
### 3.5. Микроспоридии юго-западной популяции *G. fasciatus*

У юго-западной популяции представлены все обнаруженные виды (характерно для обеих субпопуляций). Тот факт, что из 4 популяций *G. fasciatus* только юго-западная показывает все обилие видов паразитирующих на них микроспоридий, можно объяснить тем, что во время массового вымирания популяции, или «бутылочного горлышка» [25], амфиподы были наиболее подвержены инфицированию; некоторые из зараженных особей могли дать начало массовому инфицированию; а также стать толчком для образования новых видов этого паразита.

Интересным результатом оказалось обнаружение случаев двойного заражения только у представителей юго-западной популяции (рис. 17). Присутствие большого количества видов паразитов приводит к их конкуренции и вытеснению в различные ниши. Присутствие нескольких видов паразитов в одном хозяине может говорить о наличии вертикального способа передачи микроспоридий в Байкале. Процент таких особей невелик (6,1%).

Митохондриальное «бутылочное горлышко», характерное для юго-западной популяции *G. fasciatus*, могло быть не только результатом геологических изменений западного берега Байкала, но и стать следствием влияния инфицирования этой популяции большим числом паразитов. Частота встречаемости микроспоридий неоднородна в пределах вида и варьирует в зависимости от популяции от 1 (для юго-восточной) до 49% (для северной популяции) (рис. 18).

Интересно, что юго-восточная популяция менее всего заражена исследуемыми внутриклеточными паразитами, она же, по-видимому, является исходной для всех остальных популяций. Представители *G. fasciatus*, собранные в верхнем течении Ангары, заражены микроспоридиями, тогда как у *G. fasciatus*, обитающих в районе Усть-Илимской ГЭС, микроспоридии обнаружены не были [280].



**Рис. 18.** Коинфекция представителей юго-западной популяции хозяина. На графике показано количество зараженных особей *G. fasciatus*. Слева направо показаны графики для юго-западной, северной, центральной и юго-восточной популяций *G. fasciatus*. Отдельно для юго-западной популяции данные показаны в процентном соотношении.

### 3.6. Возможная роль микроспоридий в формировании межпопуляционных барьеров у *G. fasciatus*

Для того чтобы подтвердить или опровергнуть возможную роль микроспоридий в формировании межпопуляционных барьеров у хозяина, амфиподы *G. fasciatus*, в озере Байкал, мы, в первую очередь, определили, имеет ли место зависимость 1) генетической структуры популяций хозяина (индекс фиксации  $\Phi_{st}$ ) (см. табл. 4) от 2) состава сообществ микроспоридий, обнаруженных в ходе нашего исследования. Различия в зараженности микроспоридиями рассчитали по дистанциям Хеллингера (Hellinger distances) с использованием R библиотеки *vegan* (табл. 8, 9) [305]. Дистанции Хеллингера основаны на квадратном корне из пропорционального избытка и отражают относительные различия в составе сообществ паразита.

Анализ относительных различий по составу сообществ паразитов позволил выявить значительные отличия между популяциями хозяина (табл. 9). По характеру зараженности микроспоридиями юго-западная популяция *G. fasciatus* более всего отличается от северной популяции и менее от юго-восточной. Между северной и юго-восточной популяцией также

наблюдаются значительные различия.

**Таблица 10.** Анализ различий между составами сообществ паразитов в популяциях *G. fasciatus* (Hellinger distances).

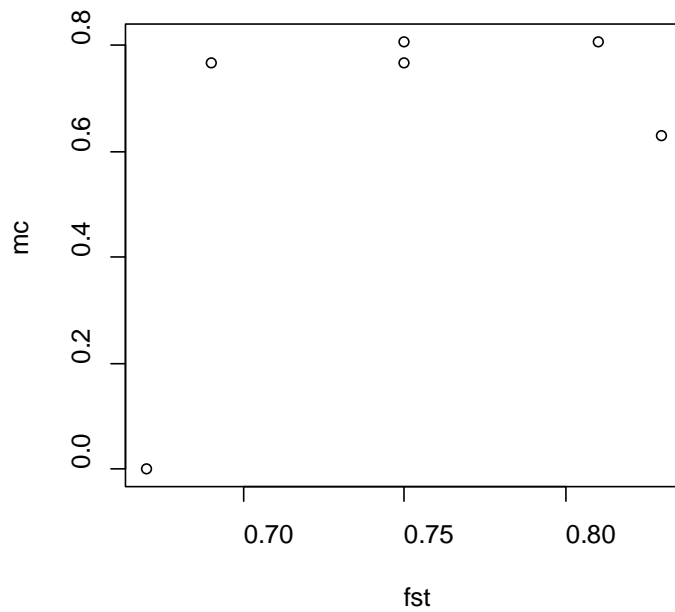
Вид/популяция	Юго-западная	Северная	Центральная	Юго-восточная
<i>Dictyosoela duebenum</i>	0.67	1.00	1.00	0.71
<i>Cystosporogenes sp. 1</i>	0.30	0.00	0.00	0.00
<i>Cystosporogenes sp. 2</i>	0.46	0.00	0.00	0.71
<i>Microsporidium sp. 1</i>	0.35	0.00	0.00	0.00
<i>Microsporidium sp. 2</i>	0.17	0.00	0.00	0.00
<i>Microsporidium sp. 3</i>	0.30	0.00	0.00	0.00

**Таблица 11.** Отличия между популяциями хозяина по зараженности микроспоридиями.

	Юго-западная	Северная	Центральная	Юго-восточная
Юго-западная	0.00			
Северная	0.81	0.00		
Центральная	0.81	0.00	0.00	
Юго-восточная	0.63	0.77	0.77	0.00

Зависимость между составом и обилием паразитов и генетической структурой популяций хозяина оказалась положительной, значения достоверными (рис. 19). Другими словами, чем выше отличия по зараженности популяций, тем более популяции разделены друг от друга. Поэтому различия в распределении микроспоридий могут решающим образом воздействовать на эволюцию репродуктивных барьеров, управляемых этим паразитом (они вызывают или ускоряют микроэволюционные процессы для *G. fasciatus* и могут играть роль в создании межпопуляционных репродуктивных барьеров).

Этот результат не исключает, что дифференциальное заражение микроспоридиями может быть и вторичным эффектом подразделенности вида. Однако, корреляции между составами сообществ паразита и генетической дифференцированностью *G. fasciatus* незначительная,



**Рис. 19.** Зависимость между видовым составом и обилием паразитов и генетической структурой популяций хозяина.

mc - отличия между популяциями хозяина по зараженности микроспоридиями, fst – индекс фиксации  $\Phi_{ST}$ .

указывая на то, что дисперсия хозяина не влияет на диверсификацию сообщества паразита. В случае если удастся продемонстрировать экспериментально репродуктивную изоляцию между представителями различных популяций, а также обнаружить диагностические морфологические различия, эти популяции можно описывать как самостоятельные виды.

### Заключение

В результате проведенной работы впервые с помощью методов молекулярного анализа подробно исследована генетическая прерывистость обитающего по всему периметру Байкала *G. fasciatus*. Установлено внутривидовое подразделение вида на четыре популяции: юго-западную, северную, центральную, юго-восточную. На древе они образуют отдельные ветви. Для установленных популяций практически нет общих гаплотипов, есть только промежуточные. Это говорит о существовании хорошей изоляции между популяциями. Об этом же говорят высокие значения индексов фиксации  $F_{ST}$  и  $\Phi_{ST}$ . Причем эти популяции разделились давно. Генетические границы между популяциями не совпадают с геоморфологической структурой Байкала, между ними нет видимых географических преград. Механизм генетической изоляции остается неясным.

Юго-восточная популяция, по-видимому, является исходной для всех остальных популяций *G. fasciatus* на Байкале. По характеру полиморфизма резко различается юго-западная популяция. Выявлено низкое генетическое разнообразие этой популяции *G. fasciatus* по исследованному локусу мтCO1. Предложена гипотеза «бутылочного горлышка» для юго-западной популяции.

Для ее объяснения можно предположить катастрофическую причину. Но при исследовании микроспоридий мы выяснили, что все четыре популяции резко отличаются, юго-западная – самая зараженная. Из этого можно сделать предположение, что микроспоридии могут быть изолирующим барьером для популяций своего хозяина. Насколько долгую историю имеют микроспоридии в Байкале не известно. Изучение их началось с *Lata lata* [268].

В результате проведенных исследований выявлена зараженность популяций *G. fasciatus* шестью видами микроспоридий, пять из которых, скорее всего, являются эндемичными для Байкала. Один из обнаруженных видов, *D. duebenum*, является космополитным, он обнаружен во всех популяциях хозяина. Видовой состав этих паразитов, частота встречаемости

и коинфицирование в четырех популяциях резко различаются. Именно эти различия могут служить причиной формирования репродуктивных барьеров между существующими популяциями и тем самым поддерживать слабый межпопуляционный обмен генами [25], а также быть причиной, вызвавшей и/или поддерживающей относительные репродуктивные барьеры между популяциями.

Хотя значение наблюдаемой репродуктивной изоляции умеренное, наше экспериментальное исследование демонстрирует роль коэволюции с паразитами в репродуктивной изоляции хозяина, независимо от определенного механизма, лежащего в основе дивергенции. Наши результаты, таким образом, согласуются с результатами, полученными для системы фаг - *Pseudomonas*, где отбор фагами – важная сила в фенотипической диверсификации между популяциями [139, 142]; с недавним исследованием, которое показало, как паразиты стимулируют генетическую и фенотипическую дифференциацию между популяциями *Coenorhabditis elegans* [353] и с исследованием Berenos с соавторами по ускорению эволюции репродуктивной изоляции у *Tribolium castaneum* [128]. Поскольку репродуктивная изоляция – решающий шаг по направлению к видообразованию, наши результаты еще раз подчеркивают важность экологических факторов в видообразовании [203, 240, 291, 336, 346, 362]. Это указывает на то, что паразиты помимо того, чтобы отвечать за потерю биоразнообразия [319] могут также ускорять дифференциацию и, в конечном счете, прокладывать дорогу к видообразованию.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые был применен анализ генетического полиморфизма для определения популяционной структуры амфиоды *G. fasciatus*, обитающей в Байкале и в бассейне р. Ангары. На основании сравнения 117 нуклеотидных последовательностей фрагментов гена CO1 митохондриальной ДНК показано, что вид образует как минимум четыре непрерывные популяции по берегам Байкала. Границы между популяциями не всегда соответствуют географической подразделенности озера.
2. Показано, что юго-восточная популяция обладает наибольшим генетическим полиморфизмом. Сделано предположение о том, что юго-восточная популяция является предковой для трех других популяций. Подтверждена ее роль в качестве источника *G. fasciatus*, интродуцированного в различные водоемы России.
3. Демографическая история юго-западной популяции резко отличается от истории остальных байкальских популяций. Предложена гипотеза «бутылочного горлышка». Показано, что эта популяция подразделена на две субпопуляции истоком р. Ангары. Геологические данные об образовании истока Ангары позволили независимо калибровать «молекулярные часы» для этого вида по фрагменту гена CO1 митохондриальной ДНК.
4. Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей фрагмента гена малой субъединицы рДНК микроспоридий позволило установить, что *G. fasciatus* заражен шестью видами микроспоридий. Один из них, *Dictyocoela duebenum*, является космополитным, и в Байкале он обнаружен во всех популяциях. Остальные виды микроспоридий, по-видимому, обнаружены только в Байкале.
5. Юго-Западная популяция отличается присутствием всех видов паразита, характерных для *G. fasciatus*, а также наличием двойного

заражения, несмотря на относительно небольшую частоту встречаемости микроспоридий в этой популяции (32,18%).

6. Качественное и количественное распределение паразитов в популяциях *G. fasciatus* указывает на весьма вероятную причастность микроспоридий к формированию и/или поддерживанию межпопуляционных барьеров у *G. fasciatus*.

### Список используемой литературы

1. Алимов А.Ф. Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах / А.Ф. Алимов, Н.Г. Богуцкая (ред.). – М.; СПб.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 436 с.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях / Ю.П. Алтухов. – М.: Наука, 1989. – 328 с.
3. Аниканова В.С. Гельминтофауна бурозубок Кандалакшского заповедника / В.С. Аниканова, Н.С. Бойко, Е.П. Иешко // Паразитология. – 2005. – Т. 39. – Вып. 6. – С. 559–568.
4. Арефьев В.А. Англо-русский словарь генетических терминов / Арефьев В.А. Л.А. Лисовенко. – Москва: Изд-во ВНИРО, 1995. – ... с.
5. Базикалова А.Я. Амфиподы озера Байкал / А.Я. Базикалова // Тр. Байк. лимнол. станции АН СССР. – 1945. – Т. 11. – С. 1–440.
6. Базова Н.В. Байкальский бокоплав *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в озере Гусиное (Бурятия) и его распространение в водоемах Восточной Сибири / Н.В. Базова // Сборник научных трудов. Экологические, физиологические и паразитологические исследования пресноводных амфипод. – Иркутск: Иркут. Ун-т, 2002. – С. 18–26.
7. Барков Д.В. Экология и биология байкальского вселенца *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing 1899) и его роль в экосистеме Ладожского озера: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.16 / Д.В. Барков. – СПб., 2006. – 26 с.
8. Барков Д.В. Значение байкальской амфиподы *G. fasciatus* в структуре микрозообентоса литорали оз. Валаам (Ладожское озеро) / Д.В. Барков, Е.А. Курашов // Исследовано в России. – 2005. – №.... – С. 820–833.
9. Бекман М.Ю. Экология и продукция *Micrurupus possolskii* Sow. и *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) / М.Ю. Бекман // Тр. ЛИН СО АН СССР. – 1962. – Т. 2. – № 22. – Ч. 1. – С. 140–155.
10. Бекман М.Ю. Биология и продукционные возможности некоторых байкальских и сибирских бокоплавов / М.Ю. Бекман, А.Я. Базикалова // Тр. Проблемных и тематических совещаний ЗИН. – 1951. – Вып. 1. – С. 61–67.

11. Березина Н.А. Вселение байкальской амфиподы *G. fasciatus* (Amphipoda, Crustacea) в Онежское озеро / Н.А. Березина, В.Е. Панов // Зоологический журнал. – 2003. – Т. 82. – № 6. – С. 731–734.
12. Бычкова Е. И. Структура сообщества гельминтов и их хозяев (мышевидные грызуны) на охраняемых природных территориях Беларуси / Е. И. Бычкова // Материалы II межрегион. науч. конф. «Паразитологические исследования в Сибири и на Дальнем Востоке». – Новосибирск, 2005. – С. 31–32.
13. Вербицкий В.Б. Возможности распространения байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в связи с особенностями ее температурной и соленостной толерантности / В.Б. Вербицкий, Н.А. Березина // Тез. докл. VIII съезда ГБО РАН. – Калининград, 2001. – Т. II. – С. 72.
14. Верещагин Г.Ю. Происхождение и история Байкала, его фауны и флоры / Г.Ю. Верещагин // Тр. Байк. лимнол. станции АН СССР. – 1940. – Т. 10. – С. 73–240.
15. Визер А.М. Результаты вселения байкальских гаммарид в Новосибирское водохранилище // Рыбное хоз-во. – 1981. – № 4. – С. 47–48.
16. Визер А.М. Акклиматизация байкальских гаммарид и дальневосточных мизид в Новосибирском водохранилище: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.М. Визер. – Томск, 2006. – 21 с.
17. Воробьева Г.А. Палеоклиматы позднего кайнозоя Байкальского региона / Г.А. Воробьева, В.Д. Мац, М.К. Шимараева // Геология и геофизика. – 1995. – Т. 36. – №8. – С. 82–96.
18. Воскресенский С.С. Рельеф / С.С. Воскресенский // Атлас Иркутской области. – Москва-Иркутск, 1962. – С. 37-52.
19. Галазий Г.И. Экосистема. Трофические отношения организмов / Гл. ред. Г.И. Галазий // Байкал: Атлас. – М., 1993. – С. 11–12.
20. Галазий Г.И. О возрасте впадины Байкала (на основе оценки поступающего в нее взвешенного и растворенного вещества) / Г.И. Галазий, М.И. Кузмин, Б.Ф. Лут // География и природные ресурсы. – 1999. – Вып. 1. –

С. 10–15.

21. Гаузе Г.Ф. О процессах уничтожения одного вида другим в популяциях инфузорий // Зоол. журн. – 1934. – Т. 13. – № 1. – С. 18–26.
22. Гернес Р. Фауна Байкала и ее реликтовый характер / Р. Гернес // Вестн. рыбопромышленности. – 1898. – Т. 13. – С. 237–244.
23. Геохимические индикаторы изменений палеоклимата в осадках озера Байкал / Е.Л. Гольдберг [и др.] // Геология и геохимия. – 2001. – Т. 42.–№ 1-2. – С. 76–86.
24. Урановый сигнал влажности палеоклиматов в осадках озера Байкал / Е.Л. Гольдберг [и др.] // Доклады Академии наук. – 2005. – Т. 400. – № 1. – С. 72–77.
25. Популяционная структура байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) / Г.В. Гоманенко [и др.] // Генетика. – 2005. – Т. 41. – № 7. – С. 1–6.
26. Грезе В.Н. Байкальские элементы фауны как акклиматизационный фонд / В.Н. Грезе // Труды Всесоюзного гидробиологического общества. – 1951. – Т. 3. – С. 221–226.
27. Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора или сохранение благоприятных пород в борьбе за жизнь/ Ч. Дарвин. – М.; Л., 1939. – 831 с.
28. Распространение байкальской эндемичной фауны в водохранилищах Ангарского каскада / Э.А. Ербаева [и др.] // Тез. докл. VI съезда ВГБО. – Мурманск, 1991. – Т. 2. – С. 164–165.
29. Жигилева О.Н. Корреляция показателей биоразнообразия мелких млекопитающих и их гельминтов в экосистемах Западной Сибири / О.Н. Жигилева // Сибирский экологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 555–562.
30. Задоев И.Н. Результаты и перспективы акклиматизации байкальских гаммарид в водоемах СССР / И.Н. Задоев, О.А. Лейс, В.Ф. Григорьев // Сб. науч. трудов ГосНИОРХ. – 1985. – Т. 232. – С. 30–34.
31. Иоффе Ц.И. Обогащение кормовой базы для рыб в водохранилищах СССР путем акклиматизации беспозвоночных / Ц.И. Иоффе // Изв.

ГосНИОРХ. – 1974. – Т. 100. – С. 3–206.

32. Иоффе Ц.И. Обзор выполненных работ по акклиматизации кормовых беспозвоночных для рыб в водохранилищах / Ц.И. Иоффе // Известия. – 1968. – Т. 67. – С. 7.

33. Иоффе Ц.И. Биология некоторых ракообразных, перспективных для акклиматизации в водохранилищах / Ц.И. Иоффе, Л.П. Максимова // Изв. ГосНИОРХ. – 1968. – Т. 67. – С. 81–104.

34. Исси И.В. Микроспоридии / И.В. Исси // Протозоология. – 1986. – Вып. .... – С. 1–185.

35. Исси И.В. Тип Microsporidia. Микроспоридии / И.В. Исси, В.Н. Воронин // Основы зоологии. РАН. Протисты. Часть 2. – 2007. – С. 1050–1162.

36. Сообщества зообентоса на каменистом мелководье Южного Байкала / Р.М. Камалтынов [и др.] // Биологическое разнообразие животных Сибири: Материалы науч. конф., 28-30 окт. 1998 г. – Томск, 1998. – С. 140.

37. Камалтынов Р.М. Роль похолоданий в возникновении биоразнообразия озера Байкал / Р.М. Камалтынов // Материалы конф. «Устойчивое развитие: проблемы охранных территорий и традиционное природопользование в Байкальском регионе». – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 1999. – С. 141–142.

38. Камалтынов Р.М. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Озеро Байкал / Р.М. Камалтынов. – Новосибирск: Наука, 2001. – Т. 1, кн. 1. – С. 572 – 831.

39. Карабанов Е.Б. Геологическое строение осадочной толщи озера Байкал и реконструкция изменений климата Центральной Азии в позднем кайнозое: автореф. дис. ... д-ра геол.-минерал. наук. / Е.Б. Карабанов. – М., 1999. – 72 с.

40. Глобальное похолодание Центральной Азии в позднем кайнозое согласно осадочной записи из озера Байкал / Е.Б. Карабанов [и др.] // Докл. РАН. – 2000. – Т. 370. – № 1. – С. 61–66.

41. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности / М.

Кимура. – М.: Мир, 1985. – 399 с.

42. Кириллова Н.Ю. Оценка эпизоотической роли мелких млекопитающих Самарской области / Н.Ю. Кириллова, А.А. Кириллов // Бюл. Самарская Лука. – 2004. – №16. – С. 196–202.

43. Ключева В.П. Тюмень начала XXI века / В.П. Ключева [и др.]. – Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2002. – 335 с.

44. Кожов М.М. Животный мир озера Байкал / М.М. Кожов. – Иркутск: ОГИЗ, 1947. – 304 с.

45. Кожов М.М. Биология озера Байкал / М.М. Кожов. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 315 с.

46. Кожов 1970

47. Кожов М.М. Становление и пути эволюции фауны озера Байкал / М.М. Кожов // Проблемы эволюции. Т. 3. – Новосибирск: Наука, 1973. – С. 5–30.

48. Кравцова Л.С. Зообентос в системе гидробиологического мониторинга озера Байкал / Кравцова Л.С. – Иркутск: ИГУ, 1991.

49. Пространственное распределение бентосных сообществ беспозвоночных животных в южной котловине озера Байкал / Л.С. Кравцова [и др.] // Зоология беспозвоночных. – 2006. – Т. 3. - № 1. – С. 65–76.

50. Роль фитоценозов водорослей в пространственном распределении макрозообентоса на каменистой литорали оз. Байкал / Л.С. Кравцова [и др.] // Общая гидробиология. – 2007. – Т. 43. - № 5. – С. 17–26.

51. Курашов Е.А. Литоральная зона Ладожского озера / Е.А. Курашов. – Санкт-Петербург: Нестор-История, 2011. – 416 с.

52. Левашкевич А.М. Пространственное распределение и паразитофауна амфипод Чивыркуйского залива озера Байкал: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.М. Левашкевич; Иркутск, 2007. – 20 с.

53. Липа Е.Ю. Паразиты кокцинееллид Ленинградской области / Е.Ю. Липа, В. П. Семьянов // Энтومол. обозрение. – 1967. – Т. 46. – № 1. – С. 75–79.

54. Логачев Н.А. Развитие рельефа / Н.А. Логачев // Нагорья Прибайкалья и Забайкалья. – М.: Наука, 1974. – С. 57–162.

55. Лут Б.Ф. Геоморфология Прибайкалья и впадины озера Байкал / Б.Ф. Лут. – Новосибирск: Изд-во Наука, 1978. – 214 с.
56. Матафонов Д.В. Сравнительная экология бокоплавов: *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) и *Gammarus lacustris* (Sars, 1863) в Ивано-Арахлейских озерах: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Матафонов Д.В. – Улан-Удэ, 2003. – 20 с.
57. Матафонов Д.В. Сравнительная экология бокоплавов: *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) и *Gammarus lacustris* (Sars, 1863) в Ивано-Арахлейских озерах: дис. ... канд. биол. наук / Матафонов Д.В. – Улан-Удэ: Читинский ин-т природных ресурсов СО РАН, 2003. – 138 с.
58. Байкальский эндемик *Gmelinoides fasciatus* (Micropodidae, Gammaroidea, Amphipoda) в озере Арахлей / Д.В. Матафонов [и др.] // Зоологический журнал. – 2005. – Т. 84. – № 3. – С. 321–329.
59. Мац В.Д. Региональная схема стратиграфического расчленения протерозоя горно-складчатого обрамления Иркутского амфитеатра и значение континентальных образований в ее строении / В.Д. Мац, Ю.Г. Попов // Геология, тектоника, петрология и рудоносность докембрия Сибирской платформы и ее обрамления. Геохронология. Тезисы докл. к совещанию «Геология и геохронология докембрия Сибирской платформы и ее обрамления». – 1987. – С. 144–145.
60. Мац В.Д. Развитие байкальской рифтовой впадины: хронология трансформации зоогеографических барьеров / В.Д. Мац // Вторая Верещагинская Конф. Тез. Докл. (Иркутск, 5 – 10 октября 1995 г.). – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 1995. – С. 130.
61. Кайнозой Байкальской рифтовой впадины: Строение и геологическая история / В.Д. Мац [и др.]. – Новосибирск: Наука, 2001. – 252 с.
62. К палеогидрологии Байкала в связи с неотектоникой / В.Д. Мац [и др.] // Геология и геофизика. – 2002. – Т. 43. – № 2. – С. 142–154.
63. Мац В.Д. Позднемеловая кайнозойская история Байкальской впадины и формирование уникального биоразнообразия Байкала / В.Д. Мац, Д.Ю.

- Щербаков, И.М. Ефимова // Стратиграфия. Геологическая корреляция. – 2011. – Т. 19. – № 4. – С. 40–61.
64. Мачкеевский В.К. Отклик некоторых паразитарных систем прибрежной зоны Черного моря на загрязнение / В.К. Мачкеевский, А.В. Гаевская // Экология моря. – 1997. – № 46. – С. 51–57.
65. Мельник М.М. Особенности биологии бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) в Псковско-Чудском озере / М.М. Мельник, А.Е. Михайлов // VIII съезд Гидробиологического общества РАН. Т. II: Тез. докл. – Калининград: КГТУ, 2001. – С. 85.
66. Механикова И.В. Морфо-экологические адаптации байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* к условиям существования в водоемах различного типа / И.В. Механикова // Труды Биолого-почвенного факультета ИГУ. – 2000 – Вып. 3. – С. 104–114.
67. Михельсен В. Фауна Oligochaeta Байкала / В. Михельсен // Фауна Байкала. Юбилейный сборник РГО. – 1901. – Вып. 1. – С. 67–76.
68. Новохацкая О.В. К вопросу о встречаемости нематоды *Oswaldocruzia filiformis* (Strongylida: Molineidae) в Карелии / О.В. Новохацкая // Паразитология. – 2008. – Т. 42. – № 3. – С. 204–209.
69. Обручев В.А. Геологические исследования в Иркутской губернии в 1889 г / В.А. Обручев // Изд. ВСОИРГО. – 1889. – Т. 21. – № 5.
70. Анализ филогенетических взаимоотношений байкальских эндемичных амфипод (Crustacea, Amphipoda) на основании сравнения нуклеотидных последовательностей участка митохондриального гена III субъединицы цитохромоксидазы / О.Б. Огарков [и др.] // Молекулярная биология. – 1997. – Т. 31. – № 1. – С. 32–37.
71. Огарков О.Б. Молекулярно-биологическое исследование эволюции байкальских амфипод (Crustacea, Amphipoda): автореф. дис. ... канд. биол. Наук / О.Б. Огарков. – Новосибирск: ИЦиГ, 1999. – 16 с.
72. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными

методами / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1983. – 296 с.

73. Панов В.Е. Последствия намеренных интродукций водных организмов в водоемы европейской части России (на примере байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.) / В.Е. Панов, Н.А. Березина // Тез. докл. VIII съезда ГБО РАН. – Калининград, 2001. – Т. II. – С. 90.

74. Попова С.М. Палеонтологические исследования / С.М. Попова, Г.П. Черняева // Путь познания Байкала. – Новосибирск: 1987. – С. 54–65.

75. Палеолимнологические реконструкции: Байкальская рифтовая зона / С.М. Попова [и др.]. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1989. – 111 с.

76. Пронин Н.М. Полимасстиготы (Mastigophora: Polymastigota) / Н.М. Пронин // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Озеро Байкал. – Новосибирск: Наука, 2001. – Т. 1, кн. 1. – С. 129.

77. Пронин Н.М. Микроспоридии (Microsporidia) / Н.М. Пронин // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Озеро Байкал. – Новосибирск: Наука, 2001. – Т. 1, кн. 1. – С. 151–153.

78. Пронин Н.М. Новая категория и новая таксономическая группа (Amphipoda) хозяев нематоды *Philonema sibiria* и особенности ее гостально-пространственного распределения / Н.М. Пронин // Исследования фауны водоемов Восточной Сибири: Сб. научн. тр. – Иркутск: Изд-во Ирк. Ун-та, 2001. – С. 55–61.

79. Пронин Н.М. Экологические и микроморфологические аспекты взаимоотношений в паразитарных системах микроспоридии-рыбы / Н.М. Пронин, С.В. Пронина // Паразитология. – 1986. – Т. 20. – С. 169.

80. Пронин Н.М. Паразитические ракообразные / Н.М. Пронин, С.В. Пронина, Т.Г. Бурдуковская // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Озеро Байкал. – Новосибирск: Наука, 2004. – Т. 1, кн. 2. – С. 845–853.

81. Ратнер В.А. О некоторых теоретических проблемах молекулярной эволюции / В.А. Ратнер // Журн. общ. биологии. – 1976. – Т. 37. – №. 1. – С.

18–29.

82. Ринчино В.Л. Динамика зараженности животных гельминтами / В.Л. Ринчино. – Улан-Удэ: БНЦ СО АН СССР, 1991. – С. 84–91.
83. Рожкова Н.А. Зообентос Иркутского водохранилища / Н.А. Рожкова, И.В. Механикова // Исследования фауны водоемов Восточной Сибири: Сб. науч. тр. – Иркутск: Иркут. ун-т, 2001. – С. 147–159.
84. Русинек О.Т. Гипотезы происхождения ихтио- и паразитофауны озера Байкал / О.Т. Русинек // Проблемы современной паразитологии: Международная конференция и III съезд Паразитологического общества при РАН. – 2003. С. 90–91.
85. Русинек О.Т. Паразиты рыб озера Байкал (фауна, сообщества, зоогеография): Дис.... д-ра биол. наук: 03.00.19 / О.Т. Русинек; Иркутск, 2005. – 742 с.
86. Русинек О.Т. Паразиты рыб озера Байкал (фауна, сообщества, зоогеография, история формирования) / О.Т. Русинек. – М.: Т-во науч. изд. КМК, 2007. – 571 с.
87. Свирежев Ю.М. Основы математической генетики / Ю.М. Свирежев, В.П. Пасеков. – М.: Наука, 1982. – 512 с.
88. Северцов А.С. Внутривидовое разнообразие как причина эволюционной стабильности / А.С. Северцов // Журн. общ. биол. – 1990. – Т. 51. – № 5. – С. 579–599.
89. Сидорова А.И. Реакция байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus* Stebbing на действие ливневых стоков города Петрозаводска / А.И. Сидорова, Н.М. Калинин, И.В. Дыдик // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. – № 2. – С. 125–130.
90. Сизых В.И. Исток Ангары / В.И. Сизых, В.И. Сизых, Ю.И. Сизых // Природа. – 2003. – №12. – С. 53–58.
91. Снегин Э.А. Новые сведения о наземных моллюсках Среднерусской возвышенности / Э.А. Снегин, А.В. Присный // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. –

2008. – Т. 3. – №. 6. – С. 102–105.

92. Солбриг О. Популяционная биология и эволюция / О. Солбриг, Д. Солбриг. – М.: Мир, 1982. – 488 с.

93. Тахтеев В.В. Очерки о бокоплавах озера Байкал (систематика, сравнительная экология, эволюция) / В.В. Тахтеев. – Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 2000. – 355 с.

94. Тахтеев В.В. Байкальские родники / В.В. Тахтеев, А.В. Галимзянова // Экология и жизнь. – 2009. – Т. 3. – № 88. – С. 40–45.

95. Тимофеев М.А. Сравнительная оценка отношения байкальских гаммарид и голарктического *Gammarus lacustris* Sars к абиотическим факторам: Дис. ... канд. биол. наук. / М.А. Тимофеев; Иркутск, 2000. – ... с.

96. Тимофеев-Ресовский Н.В. Очерк учения о популяции / Н.В. Тимофеев-Ресовский, А.В. Яблоков, Н.В. Готов. – М.: Наука, 1973. – 273 с.

97. Атлас и определитель пелагиобионтов Байкала (с краткими очерками по их экологии) / О.А. Тимошкин [и др.] – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1995. – ... с.

98. Тимошкин О.А. Озеро Байкал: разнообразие фауны, проблема ее несмешиваемости и происхождения, экология и «экзотические» сообщества / О.А. Тимошкин // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна / ред. О.А. Тимошкин. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 2001. – Т. 1, кн. 1. – С. 16–73.

99. Флоренсов Н.А. История озера / Н.А. Флоренсов // Проблемы Байкала. – Новосибирск: Наука, Сиб. Отд-ние, 1978. – С. 9–17.

100. Четвериков С.С. Проблемы общей биологии и генетики / С.С. Четвериков. – Новосибирск: изд-во «Наука» Сибирское отделение, 1983. – 272 с.

101. Чечулин А.И. Полигостальность как одна из форм поддержания численности гельминтов / А.И. Чечулин, С.В. Карпенко // Мат-лы Сиб. зоол. конф. – Новосибирск, 2004. – 414 с.

102. Шилов И.А. Экология / И.А. Шилов. — М.: Высшая школа, 1997. —

512 с.

103. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции (теория стабилизирующего отбора) / И.И. Шмальгаузен. – Москва: изд-во «Наука», 1968. – 445 с.
104. Эволюция байкальских гаммарид по данным последовательностей гена 18S рРНК / Щербаков Д.Ю. [и др.] // Международный симпозиум «Экологические эквивалентные виды гидробионтов в великих озерах мира»: Тез. докл. (Улан-Удэ, 2–4 сентября 1997 г.). – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 1997. – С. 96–97.
105. Яковлев В.Н. Расселение гидробионтов и современный ценогенез в бассейне Волги / В.Н. Яковлев [и др.] // Тез. докл. VIII съезда ГБО РАН. – Калининград, 2001. – Т. II. – С. 96–97.
106. Abrams P.A. Fitness minimization and dynamic instability as a consequence of predator-prey coevolution / P.A. Abrams, H. Matsuda // *Evolutionary Ecology*. – 1996. – V. 10. – №.2. – P. 167–186.
107. Agnew P. Life history interactions with environmental conditions in A host-parasite relationship and the parasite's mode of transmission / P. Agnew, J.C. Koella // *Evolutionary Ecology*. – 1999. – № 13. – P. 67–89.
108. Akaike H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle / H. Akaike // 2nd International Symposium on information Theory. – Budapest: Akademiai Kiado, 1973. – P. 267–281.
109. Andreadis T.G. Development, ultrastructure, and mode of transmission of *Amblyospora* sp. (Microspora) in the mosquito / T.G. Andreadis, D.W. Hall // *J Protozool.* – 1979. – Vol. 26. – № 3. – P. 444–452.
110. Andreadis T.G. An epizootic *Amblyospora* sp. (Microspora: Amblyosporidae) in field populations of the mosquito, *Aedes cantator* / T.G. Andreadis // *J Invertebr Pathol.* – 1983. – Vol. 42. – № 3. – P. 427–430.
111. Audzijonyte A. Comparative phylogeography of Ponto-Caspian mysid crustaceans: isolation and exchange among dynamic inland sea basins / A. Audzijonyte, M.E. Daneliya, R. Väinölä // *Mol Ecol.* – 2006. – Vol. 15. – № 10. – P. 2969–2984.

112. Avery S.W. Horizontal transmission of *Parathelohania anophelis* to the copepod, *Microcyclops varicans*, and the mosquito, *Anopheles quadrimaculatus* / S.W. Avery, A.H. Undeen // J Invertebr Pathol. – 1990. – Vol. 56. – № 1. – P. 98–105.
113. Baack E.J. A genomic view of introgression and hybrid speciation / E.J. Baack, L.H. Rieseberg // Curr Opin Genet Dev. – 2007. – Vol. 17. – № 6. – P. 513–518.
114. Baker M.D. Small subunit ribosomal DNA phylogeny of various microsporidia with emphasis on AIDS related forms / Baker M.D. [et al.] // Journal of Eukaryotic Microbiology. – 1995. – T. 42. – № 5. – C. 564–570.
115. Where are the wormy mice? A reexamination of hybrid parasitism in the European house mouse hybrid zone / S.J.E. Baird [et al.] // Evolution. – 2012. – V. 66. – № 9. – P. 2757–2772.
116. Balbiani G. Sur les microsporidies ou psorospermies des articules / G. Balbiani // CR Acad. Sci. – 1882. – № 95. – P. 1168–1171.
117. Baldauf S.L. The deep roots of eukaryotes / S.L. Baldauf // Science. – 2003. – Vol. 300. – № 5626. – P. 1703–1706.
118. Inherited microorganisms, sex-specific virulence and reproductive parasitism / Bandi C. [et al.] // Trends Parasitol. – 2001. – Vol. 17. – № 2. – P. 88–94.
119. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish / M. Barluenga [et al.] // Nature. – 2006. – Vol. 439. – № 7077. – P. 719–723.
120. Barton N.H. The role of hybridization in evolution / N.H. Barton // Molecular Ecology. – 2001. – T. 10. – № 3. – C. 551–568.
121. Barton N.H. Genetic revolutions, founder effects, and speciation / N.H. Barton, B. Charlesworth // Ann. Rev. Ecol. Syst. – 1984. – №. 15. – C. 133–164.
122. Development of *Edhazardia aedis* (Kudo, 1930) n. g., n. comb. (Microsporida: Amblyosporidae) in the mosquito *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) / J.J. Becnel [et al.] // J Protozool. – 1989. – Vol. 36. – № 2. – P. 119–130.

123. Becnel J.J. Fine structure and development of *Pilosporella chapmani* (Microspora: Thelohaniidae) in the mosquito, *Aedes triseriatus* (Say) / J.J. Becnel, E.I. Hazard, T. Fukuda // J Protozool. – 1986. – Vol. 33. – № 1. – P. 60–66.
124. Beerli P. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters / P. Beerli // Bioinformatics. – 2006. – T. 22. – № 3. – P. 341–345.
125. Beerli P. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations / P. Beerli, M. Palczewski // Genetics. – 2010. – V. 185. – № 1. – P. 313–326.
126. Bérénos C. Antagonistic coevolution with parasites maintains host genetic diversity: an experimental test / Bérénos C. [et al.] // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2011. – V. 278. – № 1703. – P. 218–224.
127. Berenos C. Evolution of host resistance and trade - offs between virulence and transmission potential in an obligately killing parasite / C. Berenos [et al.] // Journal of evolutionary biology. – 2009. – V. 22. – № 10. – P. 2049–2056.
128. Berenos C. Antagonistic coevolution accelerates the evolution of reproductive isolation in *Tribolium castaneum* / C. Berenos [et al.] // The American Naturalist. – 2012. – V. 180. – № 4. – P. 520–528.
129. Berezina N. Interspecific interactions of amphipods *Gammarus lacustris* and *Gmelinoides fasciatus* / N. Berezina // Russian J Ecology. – 2009. – № 40. – P. 81–85.
130. Berezina N. Key role of the amphipod *Gmelinoides fasciatus* in reed beds of Lake Ladoga / N. Berezina [et al.] // Bor Env Res. – 2009. – № 14. – P. 404–414.
131. Bezrukova E.V. A dramatic change of the ecological system of Lake Baikal in the Holocene / E.V. Bezrukova // Doklady AN SSSR. – 1991. – № 321. – P. 1032–1037 (In Russian).
132. Microsporidian spore wall: ultrastructural findings on *Encephalitozoon hellem* exospore / E. Bigliardi [et al.] // J Eukaryot Microbiol. – 1996. – Vol. 43. – № 3. – P. 181–186.
133. Mechanisms of microsporidial cell division: ultrastructural study on

- Encephalitozoon hellem / E. Bigliardi [et al.] // J Eukaryot Microbiol. – 1998. – Vol. 45. – № 3. – P. 347–351.
134. Evidence of actin in the cytoskeleton of microsporidia / E. Bigliardi [et al.] // J Eukaryot Microbiol. – 1999. – Vol. 46. – № 4. – P. 410–415.
135. In vitro efficacy of nikkomycin Z against the human isolate of the microsporidian species *Encephalitozoon hellem* / E. Bigliardi [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2000. – Vol. 44. – № 11. – P. 3012–3016.
136. Blais J. MHC adaptive divergence between closely related and sympatric African cichlids / J. Blais [et al.] // PloS one. – 2007. – V. 2. – № 8. – P. e734.
137. Blaser M. Determinants of virulence for the parasite *Nosema whitei* in its host *Tribolium castaneum* / M. Blaser, P. Schmid-Hempel // Journal of invertebrate pathology. – 2005. – V. 89. – № 3. – P. 251–257.
138. Bouchon D. Evidence for widespread Wolbachia infection in isopod crustaceans: molecular identification and host feminization / D. Bouchon, T. Rigaud, P. Juchault // Proc Biol Sci. – 1998. – Vol. 265. – № 1401. – P. 1081–1090.
139. The effect of spatial heterogeneity and parasites on the evolution of host diversity / M.A. Brockhurst, P.B. Rainey, A. Buckling // Proc Biol Sci. – 2004. – Vol. 271. – № 1534. – P. 107–111.
140. Brooks J.L. Speciation in ancient lakes / J.L. Brooks // Quart. Rev. Biol. – 1950a. – Vol. 25. – № 2 – P. 131–176.
141. Brooks J.L. Speciation in ancient lakes / J.L. Brooks // Quart. Rev. Biol. – 1950b. – Vol. 25. – № 1 – P. 30–60.
142. Buckling A. The role of parasites in sympatric and allopatric host diversification / A. Buckling, P.B. Rainey // Nature. – 2002. – Vol. 420. – P. 496–499.
143. Buckling A. Short-term rates of parasite evolution predict the evolution of host diversity / A. Buckling, D.J. Hodgson // J Evol Biol. – 2007. – Vol. 20. – № 5 – P. 1682–1688.
144. Bulnheim H.P. Infection by the microsporidian *Octosporea effeminans* sp. n., and its sex determining influence in the amphipod *Gammarus duebeni* / H.P.

- Bulnheim, J. Vávra // J Parasitol. – 1968. – Vol. 54. – № 2 – P. 241–248.
145. Bulnheim H.P. Entwicklung, Übertragung und Parasit-Wirt-Beziehungen von *Thelohania hereditaria* sp. n. (Protozoa, Microsporidia) / H.P. Bulnheim // Z. Parasitenk. – 1971. – № 35. – P. 241–262.
146. Butlin R.K. Population genomics and speciation / R.K. Butlin // Genetica. – 2010. – T. 138. – №. 4. – C. 409–418.
147. Canning E.U. Protozoan infections / E.U. Canning // Trans R Soc Trop Med Hyg. – 1990. – Vol. 84. – № 1. – P. 19–24.
148. Canning E.U. Microsporidia / In J. P. Kreier (ed.) // Parasitic Protozoa. – San Diego, Calif.: Academic Press, 1993. – P. 219–370.
149. The ultrastructure of three microsporidia from winter moth, *Operophtera brumata* (L.), and the establishment of a new genus *Cystosporogenes* n.g. for *Pleistophora operophterae* (Canning, 1960) / E.U. Canning [et al.] // Syst. Parasitol. – 1985. – № 7. – P. 213–225.
150. Canning E.U. The Microsporidia of Vertebrates / E.U. Canning, J. Lom, I. Dykova. – New York: Academic Press, 1986.
151. Cavalier-Smith T. Eukaryotes with no mitochondria / T. Cavalier-Smith // Nature. – 1983. – Vol. 301. – № 5896. – P. 112–113.
152. Cavalier-Smith T. Cloning chromosome ends / T. Cavalier-Smith // Nature. – 1987. – Vol. 326. – № 6111. – P. 332–333.
153. Cavalier-Smith T. Kingdom protozoa and its 18 phyla / T. Cavalier-Smith // Microbiol Rev. – 1993. – Vol. 57. – № 4. – P. 953–994.
154. Chakraborty R. Genetic variation of the mitochondrial DNA genome in American Indians is at mutation - drift equilibrium / R. Chakraborty, K.M. Weiss // American Journal of Physical Anthropology. – 1991. – T. 86. – № 4. – P. 497–506.
155. Charniaux-Cotton H. Crustacean reproduction / H. Charniaux-Cotton, G. Payen // Endocrinology of selected invertebrate types. – 1988. – T. 2. – C. 279–303.
156. Clement M. TCS: A computer program to estimate gene genealogies / M.

- Clement, P. Posada, K.A. Crandall // *Molecular Ecology*. – 2000. – Vol. 9. – № 10. – P. 1657–1659.
157. Collins T.M. Evolutionary history of Northern Hemisphere *Nucella* (Gastropoda, Muricidae): molecular, morphological, ecological, and paleontological evidence / T.M. Collins [et al.] // *Evolution*. – 1996. - № 50. – P. 2287–2304.
158. Coyne J. A. Genetics and speciation / J. A. Coyne // *Nature*. – 1992. – V. 355. – № 6360. – P. 511–515.
159. Coyne J.A. Speciation / J.A. Coyne, H.A. Orr. – Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2004. – C. 545.
160. Ancient lakes revisited: from the ecology to the genetics of speciation / M.E. Cristescu [et al.] // *Molecular Ecology*. – 2010. – V. 19. – № 22. – P. 4837–4851.
161. Crow J.F. An Introduction to Population Genetics Theory / J.F. Crow, M. Kimura. – New York: Harper and Row, 1970 – ... p.
162. Danley P.D. Speciation in rapidly diverging systems: lessons from Lake Malawi / P.D. Danley, T.D. Kocher // *Mol Ecol*. – 2001. – Vol. 10. – № 5. – P. 1075–1086.
163. Didier E.S. Biology of microsporidian species infecting mammals / E.S. Didier, K.F. Snowden, J.A. Shadduck // *Adv Parasitol*. – 1998. – № 40. – P. 283–320.
164. Didier E.S. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals / E.S. Didier // *Acta Tropica*. – 2005. – № 94. – P. 61–76.
165. Dickson D.L. Development of *Amblyospora campbelli* (Microsporida: Amblyosporidae) in the mosquito *Culiseta incidens* (Thomson) / D.L. Dickson, A.R. Barr // *J Protozool*. – 1990. – Vol. 37. – № 2. – P. 71–78.
166. Dobzhansky T. Speciation as a stage in evolutionary divergence / T. Dobzhansky // *American Naturalist*. – 1940. – P. 312–321.
167. Dodd D.M.B. Reproductive isolation as a consequence of adaptive divergence in *Drosophila pseudoobscura* / D.M.B. Dodd // *Evolution*. – 1989. – P. 1308–1311.

168. Drummond A.J. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees / A.J. Drummond, A. Rambaut // BMC Evolutionary Biology. – 2007. – T. 7. – №. 1. – P. 214.
169. Drummond A.J. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences / A.J. Drummond [et al.] // Molecular biology and evolution. – 2005. – T. 22. – № 5. – P. 1185–1192.
170. Dobzhansky T.G. Genetics of the evolutionary process / T.G. Dobzhansky. – N. Y.- L., 1970. – 505 p.
171. Doyle J.J. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis / J.J. Doyle, E.E. Dickson // Taxon. – 1987. – P. 715–722.
172. Dufva R. Sympatric and allopatric combinations of hen fleas and great tits: a test of local adaptation hypothesis / R. Dufva // J. Evol. Biol. – 1996. – № 9. – P. 505–510.
173. Duncan A.B., 2006
174. Duncan A.B. Parasite-driven genetic change in a natural population of *Daphnia* / A.B. Duncan, T.J. Little // Evolution. – 2007. – Vol. 61. – № 4. – P. 796–803.
175. Dunn A.M. Transovarial transmission and sex ratio distortion by a microsporidian parasite in a shrimp / A.M. Dunn, J. Adams and J.E. Smith // Journal of invertebrate pathology. – 1993. – № 61. – P. 248–252.
176. Dunn A.M. Rifabutin-associated uveitis in a pediatric patient / A.M. Dunn, K. Tizer, J.S. Cervia // Pediatr Infect Dis J. – 1995. – Vol. 14. – № 3. – P. 246–247.
177. Dunn A.M. Parasitism and epibiosis in native and non-native gammarids in freshwater in Ireland / A.M. Dunn, J.T.A. Dick // Ecography. – 1998. – № 21. – P. 593–598.
178. Dunn A.M. Within-host transmission strategies of transovarial, feminizing parasites of *Gammarus duebeni* / A.M. Dunn, R.S. Terry, D.E. Taneyhill // Parasitology. – 1998. – № 117. – P. 21–30.
179. Dunn A.M. Transovarial transmission in the microsporidia / A.M. Dunn, R.S. Terry, J.E. Smith // Adv Parasitol. – 2001. – № 48. – P. 57–100.

180. Dunn A.M. Microsporidian life cycles and diversity: the relationship between virulence and transmission / A.M. Dunn, J.E. Smith // *Microbes Infect.* – 2001. – Vol. 3. – № 5. – P. 381–388.
181. Transmission and burden and the impact of temperature on two species of vertically transmitted microsporidia / A.M. Dunn [et al.] // *International journal for parasitology.* – 2006. – V. 36. – № 4. – P. 409–414.
182. The diversity of reproductive parasites among arthropods: Wolbachia do not walk alone / Duron O. [et al.] // *BMC Biol.* – 2008. – Vol.6. – № 27. – P.
183. Ebert D. Genetic differences in the interactions of the microsporidian parasite and four clones of its cyclically parthenogenetic host / D. Ebert // *PARASITOLOGY-CAMBRIDGE-*. – 1994. – V. 108. – P. 11–11.
184. Ebert D. Virulence and local adaptation of a horizontally transmitted parasite / D. Ebert // *Science.* – 1994. – № 265. – P. 1084–1086.
185. Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa / Edlind T.D. [et al.] // *Mol Phylogenet Evol.* – 1996. – Vol. 5. – № 2. – P. 359–367.
186. Egger B. Nuclear and mitochondrial data reveal different evolutionary processes in the Lake Tanganyika cichlid genus *Tropheus* / B. Egger [et al.] // *BMC Evolutionary Biology.* – 2007. – V. 7. – № 1. – P. 137.
187. Variable discrimination and asymmetric preferences in laboratory tests of reproductive isolation between cichlid colour morphs / B. Egger [et al.] // *Journal of evolutionary biology.* – 2010. – V. 23. – № 2. – P. 433–439.
188. Eizaguirre C. Speciation accelerated and stabilized by pleiotropic major histocompatibility complex immunogenes / C. Eizaguirre [et al.] // *Ecology letters.* – 2009. – V. 12. – № 1. – P. 5–12.
189. Eizaguirre C. Major histocompatibility complex polymorphism: dynamics and consequences of parasite - mediated local adaptation in fishes / C. Eizaguirre, T.L. Lenz // *Journal of Fish Biology.* – 2010. – V. 77. – № 9. – P. 2023–2047.
190. Eizaguirre C. Parasite diversity, patterns of MHC II variation and olfactory based mate choice in diverging three-spined stickleback ecotypes / C. Eizaguirre

- [et al.] // *Evolutionary Ecology*. – 2011. – V. 25. – № 3. – P. 605–622.
191. Emelianov I. How adaptive is parasite species diversity? / I. Emelianov // *International Journal for parasitology*. – 2007. – № 37. – P. 851–860.
192. Erickson B.W. Jr The occurrence of chitin in the spore wall of *Glugea weissenbergi* / B.W. Jr Erickson, R.S. Blanquet // *J Invertebr Pathol*. – 1969. – Vol. 14. – № 3. – P. 358–364.
193. Excoffier L. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. / L. Excoffier, P.E. Smouse, J.M. Quattro // *Genetics*. – 1992. – №131. – P. 479–491.
194. Excoffier L. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis / L. Excoffier, G. Laval, S. Schneider // *Evolutionary Bioinformatics Online*. – 2005. – №1. – P. 47–50.
195. Excoffier L. Arlequin guide ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier and H.E.L. Lischer // *Molecular Ecology Resources*. – 2010. - № 10. – P. 564–567.
196. Fast N.M. Phylogenetic analysis of the TATA box binding protein (TBP) gene from *Nosema locustae*: evidence for a microsporidia-fungi relationship and spliceosomal intron loss / N.M. Fast [et al.] // *Molecular biology and evolution*. – 1999. – V. 16. – P. 1415–1419.
197. When environmental changes do not cause geographic separation of fauna: differential responses of Baikalian invertebrates / V. Fazalova [et al.] // *BMC Evolutionary Biology*. – 2010. – Vol. 10. – № 1. – P. 320.
198. DNA primer for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer [et. al.] // *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. – 1994. – Vol. 3. – P. 294–299.
199. Franzen C. Microsporidiosis: human diseases and diagnosis / C. Franzen, A. Müller // *Microbes Infect*. – 2001. – Vol. 3. – № 5 – P. 389–400.
200. Germination of *Nosema algerae* (Microspora) spores: conditional inhibition by D<sub>2</sub>O, ethanol and Hg<sup>2+</sup> suggests dependence of water influx upon membrane

hydration and specific transmembrane pathways / E. Frixione [et. al.] // J Eukaryot Microbiol. – 1997. – Vol. 44. – № 2 – P. 109–116.

201. Fryer G. Endemisms, speciation and adaptive radiation in great lakes / G. Fryer // Environmental Biol. of Fishes. – 1996. – Vol. 45. – P. 109-131.

202. Fryer G. Comparative aspects of adaptive radiations and speciations in Lake Baikal and great lakes of Africa / G. Fryer // Hydrobiologia. – 1991. – Vol. 211. – P. 137–146.

203. Funk D.J. Isolating a role for natural selection in speciation: host adaptation and sexual isolation in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles / D.J. Funk // Evolution. – 1998. – P. 1744–1759.

204. Gandon S. Local adaptation and gene-for-gene coevolution in a metapopulation model / S. Gandon [et al.] // Proceedings R. Soc. Lond B 263, 1996. – P. 1003–1009.

205. Gandon S. Differential adaptation in spatially heterogeneous environments and Host-Parasite coevolution / S. Gandon [et al.] // In: Genetic Structure and Local Adaptation in Natural Insect Populations. – London, 1998. – P. 325–340.

206. Gandon S. Local adaptation, evolutionary potential and host–parasite coevolution: interactions between migration, mutation, population size and generation time / S. Gandon, Y. Michalakis // Journal of Evolutionary Biology. – 2002. – T. 15. – №. 3. – C. 451–462.

207. Garcia L.S. Laboratory identification of the microsporidia / L.S. Garcia // Journal of Clinical Microbiology. – 2002. – Vol. 40. – № 6. – P. 1892–1901.

208. Gavrilets S. On the evolution of premating isolation after a founder event / S. Gavrilets, C.R. Boake // Am Nat. – 1998. – Vol. 152. – № 2. – P. 706–716.

209. Gavrilets S. Perspective: models of speciation: what have we learned in 40 years? / S. Gavrilets // Evolution. – 2003. – V. 57. – № 10. – P. 2197–2215.

210. Age of cichlids: new dates for ancient lake fish radiations / M.J. Genner [et al.] // Mol Biol Evol. – 2007. – Vol. 24. – № 5. – P. 1269–1282.

211. Establishment and expansion of Lake Malawi rock fish populations after a dramatic Late Pleistocene lake level rise / M.J. Genner [et al.] // Mol Ecol. – 2010.

– Vol. 194. – № 1. – P. 170–182.

212. Germot A. Evidence for loss of mitochondria in Microsporidia from a mitochondrial-type HSP70 in *Nosema locustae* / A. Germot, H. Philippe, H. Le Guyader // *Mol Biochem Parasitol.* – 1997. – Vol. 87. – № 2. – P. 159–168.

213. Gill E.E. Assessing the microsporidia-fungi relationship: combined phylogenetic analysis of eight genes / E.E. Gill, N.M. Fast // *Gene.* – 2006. – T. 375. – C. 103–109.

214. Ghosh K. Molecular diagnostic tests for microsporidia / K. Ghosh, L.M. Weiss // *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases.* – 2009. – V. 2009.

215. A high-resolution diatom record of the palaeoclimates of East Siberia for the last 2,5 My from Lake Baikal / M.A. Grachev [et al.] // *Quaternary Sci. Rev.* – 1998. – Vol. 17, № 12. – P. 1101–1106.

216. Decade-centenary resolution records of climate changes in East Siberia from elements in the bottom sediments of lake Baikal for the last 150 kyr / E. Goldberg [et al.] // *Nucl Instrum Methods Phys Res A.* – 2007. – № 575. – P. 193–195.

217. Gruner H.E. Lehrbuch der Speziellen Zoologie / H.E. Gruner, M. Moritz, W. Dunger // Bd. 1. Wirbellose Tiere. Teil 4. Arthropoda (ohne Insecta). – Jena: Gustav Fischer Verl., 1993. – 1279 s.

218. Guindon S. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood / S. Guindon, O. Gascuel // *Systematic biology.* – 2003. – T. 52. – № 5. – P. 696–704.

219. Hafner M.S. Phylogenetic trees support the coevolution of parasites and their hosts / M.S. Hafner, S.A. Nadler. – 1988. – P. 258–259.

220. Haldane J.B.S. Disease and evolution / J.B.S. Haldane // *La Ricerca Scientifica.* – 1949. – № 19. – P. 68–76.

221. Hall T.A. Bio Edit Sequence Alignment Editor. Version 5.0.9. / T.A. Hall. – Department of Microbiology. North Carolina State University, 1999.

222. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // *Nucl. Acids. Symp. Ser.* – 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.

223. Hasegawa M. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA / M. Hasegawa, H. Kishino, T. Yano // *Journal of molecular evolution*. – 1985. – T. 22. – № 2. – P. 160–174.
224. Hatcher M.J. Evolutionary consequences of cytoplasmically inherited feminizing factors / M.J. Hatcher, A.M. Dunn // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. – 1995. – V. 348. – № 1326. – P. 445–456.
225. Hawthorne D.J. Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids / D.J. Hawthorne, S. Via // *Nature*. – 2001. – V. 412. – № 6850. – P. 904–907.
226. Hendry A.P. Ecological speciation! Or the lack thereof? / A.P. Hendry // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. – 2009. – V. 66. – № 8. – P. 1383–1398.
227. Adaptive radiation and hybridization in Wallace's Dreamponds: evidence from sailfin silversides in the Malili Lakes of Sulawesi / F. Herder [et al.] // *Proc Biol Sci*. – 2006. – Vol. 273. – № 1598. – P. 2209–2217.
228. Hey J. Integration within the Felsenstein equation for improved Markov chain Monte Carlo methods in population genetics / J. Hey, R. Nielsen // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – T. 104. – № 8. – P. 2785–2790.
229. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi / D.S. Hibbett [et al.] // *Mycol Res*. – 2007. – Vol. 111. – № 5. – P. 509–547.
230. Molecular evidence reveals a polyphyletic origin and chromosomal speciation of Lake Baikal's endemic asellid isopods / B. Hidding [et al.] // *Mol Ecol*. – 2003. – Vol. 12. – № 6. – P. 1509–1514.
231. A mitochondrial Hsp70 orthologue in *Vairimorpha necatrix*: molecular evidence that microsporidia once contained mitochondria / R.P. Hirt [et al.] // *Curr Biol*. – 1997. – Vol. 7. – № 12. – P. 995–998.
232. Hirt R.P. Microsporidia are related to Fungi: evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins / Hirt R.P. [et al.] // *Proceedings*

- of the National Academy of Sciences. – 1999. – V. 96. – № 2. – P. 580–585.
233. Hudson P.J. Prevention of population cycles by parasite removal / P.J. Hudson [et al.] // *Science*. – 1998. – V. 282. – № 5397. – P. 2256–2258.
234. Hudson P.J. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? / P.J. Hudson, A.P. Dobson, K.D. Lafferty // *TRENDS in Ecology and Evolution*. – 2006. – Vol. 21. – № 7. – P. 381–385.
235. Hurst G.D. Male-killing bacteria in insects: mechanisms, incidence, and implications / G.D. Hurst, F.M. Jiggins // *Emerg Infect Dis*. – 2000. – Vol. 6. – № 4. – P. 329–336.
236. Imhoof B. Patterns of local adaptation of a protozoan parasite of its bumblebee host / B. Imhoof and P. Schmid-Hempel // *Oikos*. – 1998. – № 82. – P. 59–66.
237. Association with host mitochondrial haplotypes suggests that feminizing microsporidia lack horizontal transmission / J.E. Ironside [et al.] // *J. EVOL. BIOL.* – 2003. – № 16. – P. 1077–1083.
238. Irwin D.M. Evolution of cytochrome *b* gene in mammals / D.M. Irwin [et al.] // *Journ. molec., Evol.* – 1991. – № 32. – P. 128–144.
239. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny / T.Y. James [et al.] // *Nature*. – 2006. – T. 443. – № 7113. – P. 818–822.
240. Reproductive isolation caused by colour pattern mimicry / C.D. Jiggins [et al.] // *Nature*. – 2001. – V. 411. – № 6835. – P. 302–305.
241. Kaltz O. Local adaptation in host-parasite systems / O. Kaltz and J. Shykoff // *Heredity*. – 1998. – № 81. – P. 361–370.
242. Kaltz O. Local maladaptation in the anther-smut fungus *Microbotryum violaceum* to its host plant *Silene latifolia*: evidence from a cross-inoculation experiment / O. Kaltz [et al.] // *Evolution*. – 1999. – № 53. – P. 395–407.
243. Protein phylogeny of translation elongation factor EF-1 alpha suggests microsporidians are extremely ancient eukaryotes / T. Kamaishi [et al.] // *J Mol Evol*. – 1996. – Vol. 42. – № 2. – P. 257–263.
244. Karvonen A. The role of parasitism in adaptive radiations – when might

parasites promote and when might they constrain ecological speciation? / A. Karvonen, O. Seehausen // *International Journal of Ecology*. – 2012. – № 2012. – Article ID 280169.

245. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi* / M.D. Katinka [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 414. – № 6862. – P. 450–453.

246. Keeling P.J. Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family / P.J. Keeling, W.F. Doolittle // *Mol Biol Evol*. – 1996. – Vol. 13 – № 10. – P. 1297–1305.

247. Keeling P.J. Evidence from beta-tubulin phylogeny that microsporidia evolved from within the fungi / P.J. Keeling, M.A. Luker, J.D. Palmer // *Mol Biol Evol*. – 2000. – Vol. 17. – № 1. – P. 23–31.

248. Keeling P.J. Simplicity and complexity of microsporidian genomes / P.J. Keeling, C.H. Slamovits // *Eukaryot Cell*. – 2004. – Vol. 3– № 6. – P. 1363–1369.

249. Transovarian transmission of some *Thelohania* (Nosematidae: Microsporidia) in mosquitoes of California and Louisiana / W.R. Kellen [et al.] // *J. Invertebr. Pathol.* – 1966. – № 8. – P. 355–359.

250. Keeling P.J. Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites / P.J. Keeling, N.M. Fast // *Annual Reviews in Microbiology*. – 2002. – V. 56. – № 1. – P. 93–116.

251. Keohane E.M. The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube / E.M. Keohane, L.M. Weiss // *The microsporidia and microsporidiosis*. Washington, DC: ASM Press, 1999. – P. 196–224.

252. Kessler S.A. Conserved molecular components for pollen tube reception and fungal invasion / Kessler S.A. [et al.] // *Science*. – 2010. – V. 330. – № 6006. – P. 968–971.

253. Kiliyas G. A multifactorial genetic investigation of speciation theory using *Drosophila melanogaster* / G. Kiliyas [et al.] // *Evolution*. – 1980. – P. 730–737.

254. Kimura M.A. Simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences / M. A. Kimura //

Journal Mol. Evol. – 1980. – Vol. 16. – P. 111–120.

255. Kingman J.F.C. The coalescent / J.F.C. Kingman // Stochastic processes and their applications. – 1982. – T. 13. – № 3. – C. 235–248.

256. Kingman J.F.C. Origins of the coalescent 1974 – 1982 / J.F.C. Kingman // Genetics. – 2000. – Vol. 156. – P. 1461–1463.

257. Kirkpatrick M. Speciation by natural and sexual selection: models and experiments / M. Kirkpatrick, V. Ravigné // The American Naturalist. – 2002. – V. 159. – № S3. – P. S22–S35.

258. Kocher T.D. Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model / T.D. Kocher // Nat Rev Genet. – 2004. – Vol. 5– № 4. – P. 288–298.

259. Kontula T. Endemic diversification of the monophyletic cottoid fish species flock in Lake Baikal explored with mtDNA sequencing / T. Kontula, S.V. Kirilchik, R. Väinölä // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2003. – № 27. – P. 143–155.

260. Local adaptation of a holoparasitic plant, *Cuscuta europea*: variation among populations / T. Koskela [et al.] // J. Evol. Biol. – 2000 – № 13. – P. 749–755.

261. Kossler A. / A. Kossler [eds.] // Abstracts of the international symposium speciation in ancient lakes, SIAL IV. – Berliner Paläobiologische Abhandlungen 9, 2006. – 70pp.

262. Lafferty K.D. Parasites in food webs: the ultimate missing links / K.D. Lafferty [et al.] // Ecology letters. – 2008. – V. 11. – № 6. – P. 533–546.

263. *Johenrea locustae* n. g., n. sp. (Microspora: Glugeidae): a pathogen of migratory locusts (Orthoptera: Acrididae: Oedipodinae) from Madagascar / C.E. Lange [et al.] // J. Invertebr. Pathol. – 1996. – № 68. – P. 28–40.

264. Hybrid zones and host-parasite relationships: effect on the evolution of parasitic specificity / N. Lebrun [et al.] // Evolution. – 1992. – P. 56–61.

265. Small subunit ribosomal RNA<sup>+</sup> of *Hexamita inflata* and the quest for the first branch in the eukaryotic tree / D.D. Leipe [et al.] // Mol Biochem Parasitol. – 1993. – Vol. 59. – № 1. – P. 41–48.

266. Tubulin genes from AIDS-associated microsporidia and implications for

- phylogeny and benzimidazole sensitivity / Li J [et al.] // *Mol Biochem Parasitol.* – 1996. – Vol. 78. – № 1-2. – P. 289–295.
267. Librado P. DnaSP v 5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data / P. Librado, S. Rozas // *Bioinformatics.* – 2009. – № 25. – № 11. – P. 1451–1452.
268. Lipa J.J. *Nosema kozhovi* sp. n., a new microsporidian parasite of *Brandtia lata lata* (Crustacea, Gammaridae) of Baical Lake / J.J. Lipa // *Acta Protozool.* – 1967. – Vol. 5. – P. 93-98.
269. Lipa J.J. Observation on gregarines of Gammaridae (Crustacea) in Baical Lake / J.J. Lipa // *Acta Protozool.* – 1968. – Vol. 5. – P. 257-266.
270. Little T.J. The evolutionary significance of parasitism: do parasite - driven genetic dynamics occur ex silico? / T.J. Little // *Journal of Evolutionary Biology.* – 2002. – V. 15. – № 1. – P. 1–9.
271. Lively C.M. Adaptation by a parasitic trematode to local populations of its snail host / C.M. Lively // *Evolution.* – 1989. – № 43. – P. 1663–1671.
272. Lively C.M. Parasite adaptation to locally common host genotypes / C.M. Lively, M.F. Dybdahl // *Nature.* – 2000. – V. 405. – № 6787. – P. 679–681.
273. Logachev N.A. History and geodynamics of Lake Baikal Rift in the context of the Eastern Siberia Rift system: a review / N.A. Logachev // *Bul. Centr. Rech. Explor.-Prod. Elf Aquitaine.* – 1993. – Vol. 17. – № 2. – P. 353–370.
274. Lord J.C. Life cycle of a new species of *Amblyospora* (Microspora: Amblyosporidae) in the mosquito *Aedes taeniorhynchus* / J.C. Lord, D.W. Hall, E.A. Ellis // *J. Invertebr. Pathol.* – 1981. – № 37. – P. 66–72.
275. Lowry J.K. A Phylogeny and Classification of the Senticaudata subord. nov. (Crustacea: Amphipoda) / J.K. Lowry, A.A. Myers // *Zootaxa.* – 2013. – V. 3610. – № 1. – P. 001–080.
276. Lucarotti C.J. Reproductive strategies and adaptations for survival among obligatory microsporidian and fungal parasites of mosquitoes: a comparative analysis of *Amblyospora* and *Coelomomyces* / C.J. Lucarotti, T.G. Andreadis // *J Am Mosq Control Assoc.* – 1995. – Vol. 11. – № 1. – P. 111–121.

277. Maan M.E. Fitness correlates of male coloration in a Lake Victoria cichlid fish / M.E. Maan [et al.] // Behavioral Ecology. – 2006. – V. 17. – № 5. – P. 691–699.
278. Maan M.E. Parasite - mediated sexual selection and species divergence in Lake Victoria cichlid fish / M.E. Maan [et al.] // Biological Journal of the Linnean Society. – 2008. – V. 94. – № 1. – P. 53–60.
279. Parasite-mediated predation between native and invasive amphipods / C. MacNeil [et al.] // Proc Biol Sci. – 2003. – Vol. 270. – P. 1309–1314.
280. Malavin S.A. Phylogenetic interrelationship of three introduced populations of *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing, 1899) (Crustacea: Amphipoda) inferred from molecular data / S.A. Malavin, Zh.V. Petunina, D.Yu. Sherbakov // III International Symposium «Invasion of alien species in Holartic». – Borok, 2010. – P. 68–69.
281. Maniatis T. Molecular Cloning: a laboratory manual / T. Maniatis, E.F. Fritch, J. Sambrook. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982. – 545 p.
282. Mani G.S. Mutational order: a major stochastic process in evolution / G.S. Mani, B.C. Clarke // Proc R Soc Lond B Biol Sci. – 1990. – Vol. 240. – P. 29–37.
283. Geographic compatibility of the freshwater snail *Bulinus globosus* and schistosomes from the zimbabwean Highveld / S.D. Manning [et al.] // Int. J. Parasit. – 1995. – № 25. – P. 37–42.
284. Speciation in ancient lakes/ K. Martens [et al.] – Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung: Stuttgart, 1994. - Arch. Hydrobiol. Beiheft. Ergebnisse Limnol. 44:508 pp.
285. Martens K. Speciation in ancient lakes / K. Martens // Trends in Ecology and Evolution. – 1997. – Vol. 12, № 5. – P. 177–182.
286. Genetic separation of gammarid (*Eulimnogammarus cyaneus*) population by localized topographic changes in ancient Lake Baikal / K. Mashiko [et al.] // Arch. Hydrobiol. – 1997. – V. 139. – P. 379–387.
287. Mats V.D. The structure and development of the Baikal rift depression / V.D. Mats // Earth-Science Reviews. – 1993. – Vol. 34. – P. 81–118.
288. Mayr E. Systematics and the origin of species / E. Mayr. – New York:

Columbia University Press, 1942. – 337 p.

289. Mayr E. Animal species and evolution / E. Mayr. – Cambridge: Belknap Press, 1963. – 361 p.

290. McDonald K.S. Molecular and morphological evolution of the amphipod radiation of Lake Baikal / K.S. McDonald, L. Yampolsky, J.E. Duffy // Molecular phylogenetics and evolution. – 2005. – № 35. – P. 323–343.

291. Evidence for ecology's role in speciation / J.S. McKinnon [et al.] // Nature. – 2004. – V. 429. – № 6989. – P. 294–298.

292. Milner R.J. *Nosema whitei*, a microsporidan pathogen of some species of *Tribolium*: I. Morphology, life cycle, and generation time / R.J. Milner // Journal of Invertebrate Pathology. – 1972. – V. 19. – № 2. – P. 231–238.

293. Molecular data suggest that microsporidian parasites in freshwater snails are diverse / H.E. McClymont [et al.] // Int. J. Parasitol. – 2005. – № 35. – P. 1071–1078.

294. Morand S. Parasite-host coevolution and geographic patterns of parasite infectivity and host susceptibility / S. Morand [et al.] // Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 1996. – V. 263. – № 1366. – P. 119–128.

295. Morgan A.D. Relative number of generations of hosts and parasites does not influence parasite local adaptation in coevolving populations of bacteria and phages / A.D. Morgan, A. Buckling // Journal of evolutionary biology. – 2006. – V. 19. – № 6. – P. 1956–1963.

296. Hybrid vigour against parasites in interspecific crosses between two mice species / C. Moulia [et al.] // Heredity. – 1995. – V. 74. – P. 48–52.

297. Muller H.J. Recessive genes causing interspecific sterility and other disharmonies between *Drosophila melanogaster* and *simulans* / H.J. Muller and G. Ponte-Corvo // Genetics. – 1942. – № 27. – P. 157.

298. Local adaptation, resistance, and virulence in a hemiparasitic plant-host plant interaction / P. Mutikainen [et al.] // Evolution. – 2000. – № 54. – P. 433–440.

299. Naegeli C. Über die neue Krankheit der Seidenraupe und verwandte

- Organismen / C. Naegeli // Bot. Zeit. – 1857. – № 15. – P. 760–761.
300. Nagylaki T. Rate of evolution of a quantitative character / T. Nagylaki // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1992. – Vol. 89. – № 17. – P. 8121–8124.
301. Nei M. Evolution of human races at gene level / M. Nei // In: Human Genetics, part A: The unfolding genome Bonne-Tamir B (Ed.). – New York: Alan R. Liss Inc, 1982. – P. 167–181.
302. Nei M. Molecular evolutionary genetics / M. Nei. – New York: Columbia University Press, 1987. – 512 p.
303. Complete mitochondrial DNA replacement in a Lake Tanganyika cichlid fish / B. Nevado [et al.] // Mol Ecol. – 2009. – Vol. 18. – № 20. – P. 4240–4255.
304. The Baikalian and Ponto-Caspian focuses of speciation in amphipods: molecular evidence / O.B. Ogarkov [et al.] // Biodiversity and dynamics of ecosystems in North Eurasia. – 2000. – Vol. 5, Part 1-2. – P. 189–191.
305. Oksanen J. The vegan package / J. Oksanen [et al.] // Community ecology package. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em. – 2007. – V. 10. – № 01. – P. 2008.
306. Oppliger A. Parasite local maladaptation in the Canarian lizard *Gallotia galloti* (Reptilia: Lacertidae) parasitized by haemogregarian blood parasite / A. Oppliger // J. Evol. Biol. – 1999. – № 12. – P. 951–955.
307. Orr H.A. Dobzhansky, Bateson, and the genetics of speciation / H.A Orr. // Genetics. – 1996. – V. 144. – № 4. – P. 1331.
308. Otto S. P. Polyploid incidence and evolution / S.P. Otto, J. Whitton // Annual review of genetics. – 2000. – V. 34. – № 1. – P. 401–437.
309. Pan F. Analysis of septins across kingdoms reveals orthology and new motifs / F. Pan, R.L. Malmberg, M. Momany // BMC evolutionary biology. – 2007. – T. 7. – № 1. – C. 103.
310. Panov V.E. Establishment of the Baikalian endemic amphipod *Gmelinoides fasciatus* Stebb. in Lake Ladoga / V.E. Panov // Hydrobiologia. – 1996. – № 322. – P. 187–192.
311. Parker M.A. Local population differentiation for compatibility in an annual

- legume and its host-specific pathogen / M.A. Parker // *Evolution* – 1985. – № 39. – P. 713–723.
312. Parris M.J. Hybrid response to pathogen infection in interspecific crosses between two amphibian species (Anura: Ranidae) / M.J. Parris // *Evol Ecol Res.* – 2004. – V. 6. – № 3. – P. 457–471.
313. Small HSPs molecular weights as new indication to the hypothesis of segregated status of thermophilic relict *Gmelinoides fasciatus* among Baikal and Palearctic amphipods / M.V. Protopopova [et al.] // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* – 2011. – Vol. 7. – № 2. – P. 175–182.
314. Microsporidia, amitochondrial protists, possess a 70-kDa heat shock protein gene of mitochondrial evolutionary origin / Peyretailade [et al.] // *Mol Biol Evol.* – 1998. – Vol. 15. – № 6. – P. 683–689.
315. Philippe H. How reliable is our current view of eukaryotic phylogeny? / H. Philippe, A. Adoutte In G. Brugerolle, J.P. Mignot (ed.) // *Protistological Actualities. Proceedings of the Second European Congress of Protistology and Eighth European Conference on Ciliate Biology.* – Clermont-Ferrand, France, 1995. – P. 17–33.
316. Podos J. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches / J. Podos // *Nature.* – 2001. – V. 409. – № 6817. – P. 185–188.
317. Posada D. jModelTest: phylogenetic model averaging / D. Posada // *Molecular biology and evolution.* – 2008. – T. 25. – № 7. – P. 1253–1256.
318. Poulin R. The diversity of parasites / R. Poulin, S. Morand // *The Quarterly Review of Biology.* – 2000. – Vol. 75, № 3. – P. 277–293.
319. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming / J.A. Pounds [et al.] // *Nature.* – 2006. – V. 439. – № 7073. – P. 161–167.
320. Prokopenko A.A. Continental response to Heinrich events and Bond cycles in sedimentary record of Lake Baikal, Siberia / A.A. Prokopenko [et al.] // *Glob Planet Change.* – 2001. – № 28. – P. 217–226.
321. Host-parasite biodiversity and speciation in ancient species flocks / Y. Qiu [et al.] // *Abstracts of the International Symposium Speciation in Ancient Lakes,*

SIAL 4, Berlin, 2006. – P. 51.

322. Quek S. Codiversification in an ant-plant mutualism: stem texture and the evolution of host use in *Crematogaster* (Formicidae: Myrmicinae) inhabitants of *Macaranga* (Euphorbiaceae) / S. Quek [et al.] // *Evolution*. – 2004. – № 58. – P. 554–570.

323. Testing for mating isolation between ecotypes: laboratory experiments with lake, stream and hybrid stickleback / J.A.M. Raeymaekers [et al.] // *Journal of Evolutionary Biology*. – 2010. – V. 23. – № 12. – P. 2694–2708.

324. Raeymaekers J.A.M. Contrasting parasite communities among allopatric colour morphs of the Lake Tanganyika cichlid *Tropheus* / J.A.M. Raeymaekers [et al.] // *BMC Evolutionary Biology*. – 2013. – V. 13. – № 41. – P. 1–16.

325. Rhode K. Ecology of marine parasites / K. Rhode. – St. Lucia: Univ. Queensland Press, 1982. – 235 p.

326. Rice W.R. Speciation via habitat specialization: the evolution of reproductive isolation as a correlated character / W.R. Rice // *Evolutionary Ecology*. – 1987. – № 1. – P. 301–314.

327. Rice W. R. The enemies within: intergenomic conflict, interlocus contest evolution (ICE), and the intraspecific Red Queen / W.R. Rice, B. Holland // *Behavioral Ecology and Sociobiology*. – 1997. – V. 41. – № 1. – P. 1–10.

328. Rice W. R. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years? / W.R. Rice, E.E. Hostert // *Evolution*. – 1993. – P. 1637–1653.

329. Von Rintelen K. Molecular phylogeny and diversification of freshwater shrimps (Decapoda, Atyidae, Caridina) from ancient Lake Poso (Sulawesi, Indonesia)--the importance of being colourful / K. von Rintelen, T. von Rintelen, M. Glaubrecht // *Mol Phylogenet Evol*. – 2007. – Vol. 45. – № 3. – P. 1033–1041.

330. Rieseberg L.H. Transgressive segregation, adaptation and speciation / L.H. Rieseberg, M.A. Archer, R.K. Wayne // *Heredity (Edinb)*. – 1999. – Vol. 83 (Pt 4). – P. 363–372.

331. The genetic architecture necessary for transgressive segregation is common in both natural and domesticated populations / Rieseberg L.H. [et al.] // *Philos*

- Trans R Soc Lond B Biol Sci. – 2003. – Vol. 358. – № 1434. – P. 1141–1147.
332. Roger A.J. Reconstructing Early Events in Eukaryotic Evolution / A.J. Roger // *Am Nat.* – 1999. – Vol. 154(S4). – P. 146–163.
333. Rogers A.R. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences / A.R. Rogers, H. Harpending // *Mol Biol Evol.* – 1992. – Vol. 9. – № 3. – P. 552–569.
334. Ronquist F. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models / F. Ronquist, J.P. Huelsenbeck // *Bioinformatics.* – 2003. – № 19. – P. 1572–1574.
335. Population structure in two sympatric species of the Lake Tanganyika cichlid tribe Eretmodini: evidence for introgression / Rüber L. [et al.] // *Mol Ecol.* – 2001. – Vol. 10. – № 5. – P. 1207–1225.
336. Rundle H.D. Ecological speciation / H.D. Rundle, P. Nosil // *Ecology letters.* – 2005. – V. 8. – № 3. – P. 336–352.
337. Wormy mice in a hybrid zone / Sage R.D. [et al.] // *Nature.* – 1986. – V. 324. – № 6092. – P. 60–63.
338. Salzburger W. The interaction of sexually and naturally selected traits in the adaptive radiations of cichlid fishes / W. Salzburger // *Mol Ecol.* – 2009. – Vol. 18(2). – P. 169–185.
339. Phylogeny of the Lake Tanganyika Cichlid Species Flock and Its Relationship to the Central and East African Haplochromine Cichlid Fish Faunas / W. Salzburger [et al.] // *Systematic Biology.* – 2002. – Vol. 51(1). – P. 113–135.
340. Colour-assortative mating among populations of *Tropheus moorii*, a cichlid fish from Lake Tanganyika, East Africa / W. Salzburger [et al.] // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* – 2006. – V. 273. – № 1584. – P. 257–266.
341. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual / J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis. – N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1967. – 1626 p.
342. Schemske D. W. Pollinator preference and the evolution of floral traits in monkeyflowers (*Mimulus*) / D.W. Schemske, H.D. Bradshaw // *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences. – 1999. – V. 96. – № 21. – P. 11910–11915.
343. Schlieven U.K. Sympatric speciation suggested by monophyly of crater lake cichlids / U.K. Schlieven, D. Tautz, S. Paabo // *Nature*, 1994. – Vol. 368. – P. 629–632.
344. Schlieven U.K. Reticulate sympatric speciation in Cameroonian crater lake cichlids / U.K. Schlieven, B. Klee // *Front Zool.* – 2004. – Vol.1. – № 1. – 5 p.
345. Schluter D. Ecological speciation in postglacial fishes / D. Schluter, A. Rambaut // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences.* – 1996. – V. 351. – № 1341. – P. 807–814.
346. Schluter D. Parallel speciation by natural selection / D. Schluter, L.M. Nagel // *The American Naturalist.* – 1995. – V. 146. – № 2. – P. 292–301.
347. Schluter D. Ecology and the origin of species / D. Schluter // *Trends in Ecology & Evolution.* – 2001. – V. 16. – № 7. – P. 372–380.
348. Schmid-Hempel P. Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology, ecology, and genetics / P. Schmid-Hempel. – USA: Oxford University Press, 2011.
349. Schneider S. Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: application to human mitochondrial DNA / S. Schneider, L. Excoffier // *Genetics.* – 1999. – T. 152. – № 3. – P. 1079–1089.
350. Schneider S. Arlequin: a software for population genetics data analysis / S. Schneider, D. Roessli, L. Excoffier // *User manual ver.* – 2000. – T. 2. – C. 2496–2497.
351. Schubart C.D. Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs / C.D. Schubart [et al.] // *Nature.* – 1998. – № 393. – P. 363–365.
352. Seehausen O. Hybridization and adaptive radiation / O. Seehausen // *Trends Ecol Evol.* – 2004. – Vol. 19. – № 4. – P. 198–207.
353. Multiple reciprocal adaptations and rapid genetic change upon experimental coevolution of an animal host and its microbial parasite / R.D. Schulte [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2010. – V. 107. – № 16. – P.

7359–7364.

354. Semovski S.V. Simulating the evolution of neutrally evolving sequences in a population under environmental changes / S.V. Semovski, E. Verheyen, D.Y. Sherbakov // *Ecological Modelling*. – 2004. – Vol. 176. – № 1. – P. 99–107.

355. Sherbakov D.Yu. A comparison of evolutionary histories of invertebrate species flocks in Lake Baikal / D.Yu. Sherbakov // 27 SIL (Societas Internationalis Limnologiae) congress: Book of abstracts (Aug. 8-14). – Dublin, Ireland, 1998. – P. 177.

356. Patterns of evolutionary change in Baikalian Gammaridae inferred from DNA sequences (Crustacea, Amphipoda) / D.Yu. Sherbakov [et al.] // *Molecular Phylogeny and Evolution*. – 1998. – Vol. 10, № 2. – P. 160–167.

357. Sherbakov D.Yu. Molecular phylogenetic studies on the origin of biodiversity in Lake Baikal / D.Yu. Sherbakov // *Trends in Ecology and Evolution*. – 1999. – Vol. 14, № 3. – P. 92–95.

358. On the phylogeny of Lake Baikal amphipods in the light of mitochondrial and nuclear DNA sequence data / D.Yu. Sherbakov [et al.] // *Crustaceana*. – 1999. – Vol. 72. – № 8. – P. 911–919.

359. Sidorov D.A. Unexpected finding of the invasive Baikalian amphipod *Gmelinoides fasciatus* in a cold spring of the southern Pamir Mountains / D.A. Sidorov, Gontcharov A.A., Palatov D.M. // *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*. – 2013. – V. 411. – № 12. – P. 1–8.

360. Slatkin M. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations / M. Slatkin, R.R. Hudson // *Genetics*. – 1991. – V. 129. – № 2. – P. 555–562.

361. Smith J.E. Transovarial Transmission / J.E. Smith, A.M. Dunn // *Parasitology Today*. – 1991. – Vol. 7. – № 6. – P. 146–148.

362. Smith J.W. A coevolutionary arms race causes ecological speciation in crossbills / J.W. Smith, C.W. Benkman // *The American Naturalist*. – 2007. – V. 169. – № 4. – P. 455–465.

363. Sogin M.L. Phylogenetic meaning of the kingdom concept: an unusual

- RRNA from *Giardia lamblia* / M.L. Sogin [et al.] // Science. – 1989. – № 243. – P. 75–77.
364. Solter L.F. Physiological host specificity of microsporidia as an indicator of ecological host specificity / L.F. Solter, J.V. Maddox // J Invertebr Pathol. – 1998. – Vol. 71. – № 3. – P. 207–216.
365. Sedimentary Steryl Chlorin Esters (SCEs) and Other Photosynthetic Pigments as Indicators of Paleolimnological Change Over the Last 28,000 Years from the Buguldeika Saddle of Lake Baikal / Y. Soma [et al.] // J Paleolimnol. – 2007. – № 37. – P. 163–175.
366. Sprague V. Systematics of the microsporidia / V. Sprague, J. Vavra In L.A. Bulla, T.C. Cheng (ed.) // Comparative Pathobiology. Vol. 2. – New York: Plenum Press, 1977. – P. 31–335.
367. Concordant female mate preferences in the cichlid fish *Tropheus moorii* / B. Steinwender [et al.] // Hydrobiologia. – 2012. – V. 682. – № 1. – P. 121–130.
368. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis / R. Stouthamer [et al.] // Nature. – 1993. – Vol. 361. – № 6407. – P. 66–68.
369. Sweeney A.W. Intermediate host for an *Amblyospora* sp. (microspora) infecting the mosquito, *Culex annulirostris* / A.W. Sweeney, E.I. Hazard, M.F. Graham // J Invertebr Pathol. – 1985. – Vol. 46. – № 1. – P. 98–102.
370. Sweeney A.W. Life cycle of *Amblyospora dyxenoides* sp. nov. in the mosquito *Culex annulirostris* and the copepod *Mesocyclops albicans* / A.W. Sweeney, M.F. Graham, E.I. Hazard // J Invertebr Pathol. – 1988. – Vol. 51 – № 1. – P. 46–57.
371. Tajima F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations / F. Tajima // Genetics. – 1983. – Vol. 105. – P. 437–460.
372. Tajima F. The effect of change in population size on DNA polymorphism / F. Tajima // Genetics. – 1989. – Vol. 123. – № 3. – P. 597–601.
373. Tajima F. Statistical analysis of DNA polymorphism / F. Tajima // Jpn J Genet. – 1993. – Vol. 68. – № 6. – P. 567–595.
374. Tajima F. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences

- / F. Tajima, M. Nei // *Mol Biol Evol.* – 1984. – Vol.1. – № 3. – P. 269–285.
375. Takhteev V.V. Amphipods (Amphipoda) of thermal and mineral springs of northern part Baikal region / V.V. Takhteev // *Biota of waterbodies of Baikal rift zone.* – Irkutsk: Publishers of Irkutsk state university, 2009. – P. 123–130 (in Russian).
376. Takvorian P.M. Enzyme histochemical identification of the Golgi apparatus in the microsporidian, *Glugea stephani* / P.M. Takvorian, A. Cali // *J. Eukaryot. Microbiol.* – 1994. – № 41. – P. 63–64.
377. Tanabe Y. Are Microsporidia really related to Fungi?: a reappraisal based on additional gene sequences from basal fungi / Y. Tanabe, M.M. Watanabe, J. Sugiyama // *Mycological Research.* – 2002. – T. 106. – № 12. – P. 1380–1391.
378. Templeton A.R. The theory of speciation via the founder principle / A.R. Templeton // *Genetics.* – 1980. – V. 94. – № 4. – P. 1011–1038.
379. Templeton A.R. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation / A.R. Templeton, K.A. Crandall, C.F. Sing // *Genetics.* – 1992. – № 132. – P. 619–633.
380. Terry R.S. Cellular distribution of a feminizing microsporidian parasite: a strategy for transovarial transmission / R.S. Terry, A.M. Dunn, J.E. Smith // *Parasitology.* – 1997. – Vol. 115. – P. 157–163.
381. Terry R.S. Segregation of a microsporidian parasite during host cell mitosis / R.S. Terry, A.M. Dunn, J.E. Smith // *Parasitology.* – 1999. – Vol. 118. – P. 43–48.
382. Ultrastructural characterisation and molecular taxonomic identification of *Nosema granulosis* n. sp., a transovarially transmitted feminising (TTF) microsporidium / R.S. Terry [et al.] // *J Eukaryot Microbiol.* – 1999. – Vol. 46. – № 5. – P. 43–48.
383. Widespread vertical transmission and associated host sex-ratio distortion within the eukaryotic phylum Microspora / R.S. Terry [et al.] // *Proc. R. Soc. Lond. B.* – 2004. – Vol. 271. – P. 1783–1789.
384. Thompson J.N. *The Coevolutionary Process* / J.N. Thompson. – Chicago:

University of Chicago Press, 1994.

385. Thompson J.N. Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution / J.N. Thompson // *American Naturalist*. – 1999. – V. 153. – № S5. – C. S1–S14.
386. Toft C.A. Communities of parasites with parasitic life-styles / C.A. Toft // *Community ecology*. – 1986. – P. 445–463.
387. Tram U. Role of delayed nuclear envelope breakdown and mitosis in *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility / U. Tram, W. Sullivan // *Science*. – 2002. – Vol. 296. – № 5570. – P. 1124–1126.
388. Turelli M. Dominance, epistasis and the genetics of postzygotic isolation / M. Turelli, H.A. Orr // *Genetics*. – 2000. – V. 154. – № 4. – P. 1663–1679.
389. Trehalose levels and trehalase activity in germinated and ungerminated spores of *Nosema algerae* (Microspora: Nosematidae) / A.H. Undeen [et al.] // *J. Invertebr. Pathol.* – 1987. – № 50. – P. 230–237.
390. Undeen A.H. Microsporidian intrasporal sugars and their role in germination / A.H. Undeen, R.K. Vander Meer // *J Invertebr Pathol.* – 1999. – Vol. 73. – № 3. – P. 294–302.
391. Urabe A. Lake-level changes during the past 100,000 years at Lake Baikal, southern Siberia / A. Urabe // *Quat Res.* – 2004. – № 62. – P. 214–222.
392. Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater / R. Väinölä [et al.] // *Hydrobiologia*. – 2008. – № 595. – P. 241–255.
393. Vandermeer J.H. Varieties of mutualistic interaction in population models / J.H. Vandermeer, D.H. Boucher // *Journal of Theoretical Biology*. – 1978. – V. 74. – № 4. – P. 549–558.
394. Van de Peer Y. Microsporidia: accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi / Y. Van de Peer, A. Ben Ali, A. Meyer // *Gene*. – 2000. – Vol. 246. – № 1-2. – P. 1–8.
395. Van Dooren T.J.M. The evolutionary ecology of dominance-recessivity / Van T.J.M. Dooren // *Journal of theoretical biology*. – 1999. – V. 198. – № 4. – P. 519–532.

396. Vavra J. Structure of the Microsporidia. Development of the Microsporidia / J. Vavra In L.A. Bulla, T.C. Cheng (ed.) // Comparative Pathobiology. Vol. 1. – New York: Plenum Press, 1976. – P. 1–109.
397. Vavra J. Structure of the microsporidia / J. Vavra, J. Larson // In: Wittner M, Weiss LM, editors. The microsporidia and microsporidiosis. – Washington (DC): ASM Press, 1999. – P. 7–84.
398. Vellend M. Connection between species diversity and genetic diversity / M. Vellend, M.A. Geber // Ecol. Lett. – 2005. – Vol. 8. – № 7. – P. 767–781.
399. Via S. The ecological genetics of speciation / S. Via // American Naturalist. – 2002. – V. 159. – № S3. – P. S1-S7.
400. Via S. Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments / S. Via [et al.] // Evolution. – 2000. – V. 54. – № 5. – P. 1626–1637.
401. Via S. Back to the future: genetic correlations, adaptation and speciation / S. Via, D.J. Hawthorne // Genetics of Adaptation. – Springer Netherlands, 2005. – P. 147–156.
402. Via S. The genetic mosaic suggests a new role for hitchhiking in ecological speciation / S. Via, J. West // Molecular Ecology. – 2008. – V. 17. – № 19. – P. 4334–4345.
403. Chromosomal localization of five genes in *Encephalitozoon cuniculi* (Microsporidia) / C. Vivares [et al.] // J Eukaryot Microbiol. – 1996. – Vol. 43. – № 5. – 97 p.
404. Vossbrink C.R. Eukaryotic ribosomes that lacks a 5.8S RNA / C.R. Vossbrink, C.R. Woese // Nature. – 1986. – № 320. – P. 287–288.
405. Ribosomal rRNA sequence suggests microsporidia are extremely ancient eukaryotes / S.R. Vossbrink [et al.] // Nature. – 1987. – Vol. 326. – P. 411–414.
406. Large-scale survey of variation and signals of selection in 168 immunological genes / E.C. Walsh [et al.] // Human Genetics. – 2005. –
407. Human microsporidial infections / R. Weber [et al.] // Clin. Microbiol. Rev. – 1994. – № 7. – P. 426–461.

408. Weir B.S. Estimating F-statistics for the analysis of population structure / B.S. Weir, C.C. Cockerham // *Evolution*. – 1984. – Vol. 38. – P. 1358–1370.
409. Weiss L.M. Microsporidia: emerging pathogenic protists / L.M. Weiss // *Acta Tropica*. – 2001. – Vol. 78. – P. 89–102.
410. Weiss L.M. Microsporidiosis: molecular and diagnostic aspects / L.M. Weiss, C.R. Vossbrinck // *Adv Parasitol*. – 1998. – Vol. 40. – P. 351–395.
411. Weiss L.M. Molecular biology, molecular phylogeny, and molecular diagnostic approaches to the microsporidia / L.M. Weiss, C.R. Vossbrinck // *The Microsporidia and Microsporidiosis*. American Society for Microbiology, Washington, DC. – 1999. – P. 129–171.
412. Lake Baikal record of continental climate response to orbital isolation during the past 5 million years / D.F. Williams [et al.] // *Science*. – 1997. – Vol. 278. – P. 1114–1117.
413. Wilke T. *Salenthydrobia* gen. nov. (Rissooidea: Hydrobiidae): a potential relict of the Messinian salinity crisis / T. Wilke // *Zool J Linn Soc*. – 2003. – № 137. – P. 319–336.
414. Wittner M. The microsporidia and microsporidiosis / M. Wittner, L.M. Weiss. – Washington: ASM Press, 1999. – 553 p.
415. Do parasites lower *Daphnia* hybrid fitness? / J. Wolinska [et al.] // *Limnology and oceanography*. – 2004. – V. 49. – № 4. – P. 1401–1407.
416. Zerbib C. Ultrastructural observation of oogenesis in the crustacea amphipoda *Orchestia gammarellus* (Pallas) / C. Zerbib // *Tissue Cell*. – 1980. – Vol. 12. – № 1. – P. 47–62.