

Abstracts

ТЕЗИСЫ

Molecular Genetic Markers for Birds Evolutionary and Population Research

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ЭВОЛЮЦИОННЫХ И ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ОРНИТОФАУНЫ

Kulikov A. M. (IDB RAS, Moscow, Russia)

Куликов А.М. (ИБР РАН, Москва, Россия)

Контакт:

Алексей М. Куликов
amkulikov@gmail.com

Contact:

Alexey M. Kulikov
amkulikov@gmail.com

Задачи изучения и охраны крупных хищных птиц часто осложнены проблемами определения собственно видового статуса особей изучаемой популяции и/или популяционной группировки. Вообще в биологии концепция вида на протяжении последнего столетия является предметом острых дискуссий. Проблемы, связанные с определением видового статуса, разнообразны. Это и наличие партеногенетических видов, фактически образующих клон особей родственного происхождения, и наличие различных форм и морф, обладающих разной степенью родства и разной степенью изоляции, и возможности для различных изолированных видов быстрого снятия, или «вскрытия» изолирующих барьеров, и наоборот, мгновенного их формирования, например, под влиянием внутриклеточных паразитов/симбионтов. Для птиц с их способностью к миграции на существенные расстояния, и с разнообразием форм брачного поведения, характерно существование популяций и морфотипов с различной степенью изоляции и родства. Какими формальными критериями и методологическими подходами мы можем пользоваться при оценке видового и популяционного разнообразия птиц, угрозы обеднения и вымирания популяций и видов?

Ключевым вопросом при формулировке концепции вида является признание его объективности. Соответственно, номиналистическое представление о виде отрицает его объективное существование в природе и рассматривает вид как понятие, используемое в качестве инструмента классифицирования. Эмпирические концепции вида и концептуалистический подход признают его объективное существование, и акцентируются, соответственно, либо на полном описании признаков,

Research and protection of large predatory birds have faced difficulties because of the problem of determining the actual species status of individuals of the studied population or population's group.

In biology, the concept of the species was a subject of debates during the last century. There are many problems associated with the definition of species status. These problems include uncertainty due to presence of parthenogenetic species, and the presence of various forms and morphs with different degrees of relationship and different degrees of isolation. The problems are also related with the possibilities of rapid removal, or "opening" of isolating barriers between forms, and vice versa, their instantaneous formation, for example, under the influence of intracellular parasites / symbionts. The existence of populations and morphotypes with different degree of isolation and kinship is typical for birds because of their ability to long distance migration. What formal criteria and methodological approaches can we use to evaluate the species and population diversity of birds, as well as the threat of their depletion and extinction?

The key issue in formulating the concept of a species is the objectivity of this definition. Accordingly, the nominalistic view rejects idea of objective existence of species in nature and consider the species as a classification concept. The empirical concepts of the species and the conceptual approach assume that the species are objectively exist. This approach is focused on one of the following, the full description of the features that limit the definition of "species" in each particular case, or on the methodology for identifying and describing concepts that are essential for describing the species. In practice, we can find difficulty in determining the species status of populations which

ограничивающих сущность «вид» в каждом конкретном случае, либо на методологии выявления и описания понятий, являющихся существенными для описания вида. На практике мы можем затрудняться с определением видового статуса комплексов популяций, не завершивших дивергенцию, способных к ограниченной гибридизации и представляющих собой определенный этап развития данной эволюционной ветви. Тем не менее, спорный статус морфотипов, представленных в соответствующих популяциях, не должен препятствовать оценке их генетического разнообразия и устойчивости. Как бы мы не классифицировали такие популяции, обеднение их генофондов приводит к риску вымирания, и возможность их восстановления зависит не от их формальной классификации, а от особенностей эволюционной истории формирования данной популяции, уникальности ее генофонда. Проблема поддержания устойчивой структуры и численности природных популяций, таким образом, заключается в адекватном определении степени изолированности данной популяции от родственных популяций и в оценке полиморфизмов, связанных со специфическими адаптациями.

Каким образом мы можем оценить эволюционно значимую изменчивость популяции? Кроссгеномные популяционные исследования по большому количеству молекулярных маркеров позволяют оценить генетическую структуру популяций. Различные меры однородности/гетерогенности представленных частот аллелей и гаплотипов, в частности, тест Мантеля, дают оценки генетической подразделенности популяций. Отсутствие пересечения множества гаплотипов тестируемых популяций или их слабая перекрываемость свидетельствуют о дивергенции популяций на видовом уровне. Следует отметить, что адекватные оценки генетической структуры популяций и их однородности/гетерогенности требуют анализа представительных выборок, многократно превышающих число выявленных гаплотипов. При анализе генетической структуры популяции оценивают полиморфизм случайного набора локусов, по SNP- или микросателлитным маркерам, и выявленная изменчивость является преимущественно нейтральной, в соответствии с характером накопления мутационной изменчивости. Анализ адаптивно-значимой изменчивости требует более комплексного исследования фенотипического и генотипического

have not completed the divergence, and are capable of limited hybridization; such populations represent a certain stage of development of their evolutionary branch. At the same time, the questionable status of the morphotypes, which are represented in the relevant populations, should not prevent to analysis of their genetic diversity and sustainability. No matter how we would classify such populations, depletion of their gene pools leads to the risk of extinction. The possibility of their restoration does not depend on the formal classification, but rely on the features of the evolutionary history of formation of this population, the uniqueness of its gene pool. Analysis of stable structure and size of natural populations rely on correct determination of the degree of isolation of a given population and in the evaluation of polymorphisms associated with specific adaptations.

How can we evaluate the evolutionarily significant variability of a population? Cross-genomic population research based on a large number of molecular markers provides good evaluation of the genetic structure of populations. Various measures of homogeneity / heterogeneity of the presented frequencies of alleles and haplotypes, in particular, the Mantel test, serve for estimation of the genetic subdivision of populations. The absence or weak overlapping of intersection of the set of haplotypes testify to the divergence of tested populations at the species level. It should be mentioned that correct estimates of the genetic structure and homogeneity / heterogeneity of populations require the analysis of representative samples, which are many times larger than the number of detected haplotypes.

Polymorphism of a random set of loci is evaluated by using SNP or microsatellite markers for analysis of the genetic structure of a population. The variability found in this analysis is predominantly neutral, in accordance with the nature of the accumulation of mutational variability.

Analysis of adaptively significant variability requires a more comprehensive study of the phenotypic and genotypic diversity of the population. For this purpose, the non-random links of multiple molecular markers obtained in the cross-genomic studies of the samples as well as their phenotypic features (full-genomic association search, GWAS) are searched for. One or few samples having specific phenotypic characteristics and a control sample from a popu-

разнообразия популяции. С этой целью проводят поиск неслучайных связей множественных молекулярных маркеров, полученных в кроссгеномных исследованиях образцов, и фенотипических признаков от этих же образцов (полногеномный поиск ассоциаций, GWAS). При проведении GWAS используют одну или несколько выборок, имеющих специфические фенотипические характеристики, и контрольную выборку из популяции со случайным набором фенотипов. В качестве фенотипических признаков могут быть использованы характеристики пищевой базы данной особи или пары, признаки размера и окраски, особенности гнездования, миграционного поведения.

GWAS может быть проведен как по геномным, так и по транскриптомным данным. Каждый из этих подходов имеет свои сильные и слабые стороны. Применение полногеномных данных осложнено большим объемом избыточной информации, связанной с полиморфизмами нейтральных локусов, включая полиморфизмы по вырожденным позициям кодирующих последовательностей и нефункциональные полиморфизмы некодирующих последовательностей. При анализе всех выявленных полиморфизмов тесты на ложноположительные ассоциации (FDR-test) задают очень высокую планку базовой вероятности неслучайной связи, отсекая значительную часть реальных зависимостей, особенно для полигенных признаков. При использовании фильтров, отсеивающих неинформативные сайты, есть риск ошибочного удаления из анализа значимых сайтов. Тем не менее, положительный результат такого анализа свидетельствует о высокой вероятности отбора по выявленному участку последовательности. Анализ транскриптома исключает всю изменчивость некодирующих последовательностей, и выявляет как значимые различия профиля экспрессии генов в сравниваемых группах, так и неслучайные ассоциации изменчивости кодирующих последовательностей с характеристиками фенотипа. Ограничения такого подхода связаны с необходимостью использования специфических образцов материала, пригодных для выделения РНК, и получения таких образцов из определенных тканей, органов и определенных стадий развития, связанных с формированием и выраженностью анализируемого признака.

Определив полиморфизмы, связанные с анализируемыми признаками, можно

использовать для GWAS. Характеристики пищевой базы данного индивидуума или пары, его размер и окраска, особенности гнездования, миграционного поведения могут быть использованы как фенотипические признаки.

GWAS может быть проведен как по геномным, так и по транскриптомным данным. Каждый из этих подходов имеет свои сильные и слабые стороны. Использование полногеномных данных осложнено большим объемом избыточной информации, связанной с полиморфизмами нейтральных локусов, включая полиморфизмы по вырожденным позициям кодирующих последовательностей и нефункциональные полиморфизмы некодирующих последовательностей. При анализе всех выявленных полиморфизмов тесты на ложноположительные ассоциации (FDR-test) задают очень высокую планку базовой вероятности неслучайной связи, отсекая значительную часть реальных зависимостей, особенно для полигенных признаков. При использовании фильтров, отсеивающих неинформативные сайты, есть риск ошибочного удаления из анализа значимых сайтов. Тем не менее, положительный результат такого анализа свидетельствует о высокой вероятности отбора по выявленному участку последовательности. Анализ транскриптома исключает всю изменчивость некодирующих последовательностей, и выявляет как значимые различия профиля экспрессии генов в сравниваемых группах, так и неслучайные ассоциации изменчивости кодирующих последовательностей с характеристиками фенотипа. Ограничения такого подхода связаны с необходимостью использования специфических образцов материала, пригодных для выделения РНК, и получения таких образцов из определенных тканей, органов и определенных стадий развития, связанных с формированием и выраженностью анализируемого признака.

Определив полиморфизмы, связанные с анализируемыми признаками, можно использовать для GWAS. Характеристики пищевой базы данного индивидуума или пары, его размер и окраска, особенности гнездования, миграционного поведения могут быть использованы как фенотипические признаки. GWAS может быть проведен как по геномным, так и по транскриптомным данным. Каждый из этих подходов имеет свои сильные и слабые стороны. Использование полногеномных данных осложнено большим объемом избыточной информации, связанной с полиморфизмами нейтральных локусов, включая полиморфизмы по вырожденным позициям кодирующих последовательностей и нефункциональные полиморфизмы некодирующих последовательностей. При анализе всех выявленных полиморфизмов тесты на ложноположительные ассоциации (FDR-test) задают очень высокую планку базовой вероятности неслучайной связи, отсекая значительную часть реальных зависимостей, особенно для полигенных признаков. При использовании фильтров, отсеивающих неинформативные сайты, есть риск ошибочного удаления из анализа значимых сайтов. Тем не менее, положительный результат такого анализа свидетельствует о высокой вероятности отбора по выявленному участку последовательности. Анализ транскриптома исключает всю изменчивость некодирующих последовательностей, и выявляет как значимые различия профиля экспрессии генов в сравниваемых группах, так и неслучайные ассоциации изменчивости кодирующих последовательностей с характеристиками фенотипа. Ограничения такого подхода связаны с необходимостью использования специфических образцов материала, пригодных для выделения РНК, и получения таких образцов из определенных тканей, органов и определенных стадий развития, связанных с формированием и выраженностью анализируемого признака.

оценить действие отбора на данные аллельные варианты. Для оценки эффекта отбора используют разнообразные тесты скорости накопления изменчивости на разных ветвях дендрограммы. Наиболее надежными можно считать тесты Макдональда–Крейтмана (McDonald–Kreitman test, МК) и МК-тест в модификации Базыкина, для кодирующих последовательностей. Для этих тестов требуется выборка последовательностей с заданным полиморфизмом тестируемого вида и набор гомологичных последовательностей (от одной и больше) родственных видов. Суть тестов состоит в сопоставлении частот несинонимических и синонимических замен в сравниваемых последовательностях, на разных этапах формирования этих последовательностей в ходе эволюционной дивергенции. Дополнительным критерием действия положительного отбора на аллель является обеднение изменчивости вокруг сайта, подверженного отбору (эффект hitchhiking) и повышенная частота отбираемого аллеля в популяции.

А.В. Трухина и Д.Ю. Леоке в докладе «Сколько в мире видов птиц?» в докладе на 5-й международной конференции MolPhy5 (2018) отметили, что данные по видовому разнообразию птиц, полученные с применением молекулярно-генетических методов, и классические представления, полученные на основе сравнения морфометрических данных, различаются в два раза. Причем именно применение молекулярно-генетических методов оценки разнообразия позволяет более детально дифференцировать виды. Существенный прогресс в области применения таких методов и значительное удешевление процедуры анализа молекулярных маркеров позволяет надеяться на новые интересные данные, посвященные анализу эволюции птиц, истории их распространения и механизмам поддержания устойчивого разнообразия их видов.

comparison sequences, at different stages of the formation of these sequences during the evolutionary divergence. An additional criterion for the effect of positive selection on the allele is the impoverishment of variability around the site which is subject of selection (the hitchhiking effect). The increased frequency of the selected allele in the population also can be used as additional criterion.

A.V. Trukhina and D.Yu. Leoke in the report “How many birds in the world?” (5th International Conference MolPhy5, 2018) noted that there is two times difference between numbers of birds species obtained using molecular genetic methods and classical representations which are based on the basis of a comparison of morphometric data. The application of molecular genetic methods for evaluation of diversity allows to differentiate species in more detail. Significant progress in the use of such methods and a noticeable decreasing in the cost of the procedure for analyzing molecular markers promises new interesting data on the analysis of the evolution of birds, the history of their distribution, and mechanisms for maintaining the sustainable diversity of their species.