

На правах рукописи

МАСАЛЬКОВА
НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФИЛОГЕНИИ МИДИЙ (BIVALVIA,
MYTILIDAE) ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ РОССИИ И ОСОБЕННОСТЕЙ
ДИВЕРГЕНЦИИ, ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ
ИЗМЕНЧИВОСТИ ВИДОВ КОМПЛЕКСА *MYTILUS* EX. GROUP *EDULIS***

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владивосток – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки
«Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

Доктор биологических наук, профессор **Картавец Юрий Федорович**

Официальные оппоненты:

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

Татонова Юлия Викторовна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Защита диссертации состоится «15» мая 2020 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 005.008.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук по адресу: 690041 г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17

Факс: (423) 2310-900, e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук: <http://www.imb.dvo.ru/misc/dissertations/index.php/sovet-d-005-008-01/48-masalkova-natalya-aleksandrovnna>

Отзывы просим присылать на e-mail: mvaschenko@mail.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Ващенко

Ващенко Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. По оценкам разных авторов, митилиды представлены разнообразием от 250 (Boss, 1971) до 400 видов, которые, в свою очередь, объединяются в более чем 50 родов (Huber, 2010). Некоторые митилиды, в том числе почти все представители подсемейства Mytilinae, имеют ценность как объекты промысла и марикультуры (Вауне, 1964; Скарлато, 1981). Митилиды входят в состав различных биологических сообществ водной биоты, а некоторые из них, включая исторически молодой комплекс видов *Mytilus* ex. group *edulis*, играют важнейшую роль в формировании самих этих сообществ (Скарлато, Старобогатов, 1979; Seed, 1992). Распространены мидии от литоральной зоны до глубин в несколько километров. Они формируют поселения на каменистых и галечных грунтах, сверлят камни, поселяются в илах (Вауне, 1964; Скарлато, 1981), а также в районах глубоководных гидротермальных источников и на выходах холодных минерализованных вод (Lutz, Kennish, 1993; Distel et al., 2000).

Эволюционные и таксономические исследования на митилидах проводили многократно. Однако, большинство филогенетических гипотез, выдвинутых в течение последнего столетия на основе классических морфологических работ для Mytilidae в целом, а также для таких подсемейств как Mytilinae и Modiolinae, противоречивы и требуют уточнения.

Одним из родов, вызывающих большое число вопросов по поводу таксономического статуса, является род *Mytilus*, включающий три основных таксона: *M. trossulus*, *M. edulis* и *M. galloprovincialis*. Причиной нерешенных таксономических вопросов в данном таксоне является генетическая близость видов, а также их морфологическая пластичность. Осложняет ситуацию то, что все три основных вида комплекса *Mytilus* ex. group *edulis* могут образовывать смешанные популяции, формируя гибридов в различных районах Мирового океана. В частности, в зал. Петра Великого Японского моря образована гибридная зона *M. trossulus* и *M. galloprovincialis*. Исследование этой зоны является отдельным предметом диссертационной работы.

Исходя из представленного рассмотрения предметной области, ясно, что комплексное популяционно-генетическое, морфометрическое и молекулярно-филогенетическое исследование с применением методов биохимической и

молекулярной генетики, а также современных многомерных статистических подходов при анализе изменчивости морфологических и других признаков, является крайне актуальным и имеет как важное фундаментальное значение, так и потенциальные приложения в марикультуру и рыбохозяйственную практику в целом.

Степень разработанности темы. Исследованию систематики мидий (*Bivalvia*, *Mytilidae*), которая постоянно пересматривалась и дополнялась в течение десятков лет, посвящено большое число работ (Soot-Ryen, 1955; Seed, 1968; Newell, 1969; Boss, 1971; Habe, 1977; Скарлато, Старобогатов, 1979; Bernard, 1983; Moore, 1983; Kafanov, Drozdov, 1997; Higo et al., 1999; Distel, 2000; Chichvarkhin, 2002).

Большинство этих работ основано на морфологии. Подсемейства и рода, в основном, описывались по форме и признакам створок, отпечатков мускулов замыкателей и особых образований – «зубов» раковин (Soot-Ryen, 1955; Seed, 1968; Newell, 1969; Boss, 1971). Наиболее известной, основанной на палеонтологических данных, классификацией является так называемая «сут-райэновская» (Soot-Ryen, 1969). Помимо нее было предложено еще несколько схем классификации митилид. Более поздние классификации (Bernard, 1983; Moore, 1983) выделяли те же подсемейства, что и Сут-Райэн (Soot-Ryen, 1955), но с отличным составом (Kafanov, 1987). Позже Хабэ (Habe, 1977) выделил пятое подсемейство, *Musculinae* Iredale, 1939, а Хиго с соавторами (Higo et al., 1999) дополнили список подсемейств сравнительно недавно описанными *Dacrydiinae* Ockelmann, 1983 и *Bathymodiolinae* Kenk et Wilson, 1985.

Одним из родов, вызывающих большое число вопросов по поводу таксономического статуса видов, является род *Mytilus*, с тремя общепризнанными видами: *M. trossulus* Gould, 1850, *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819 и *M. edulis* Linnaeus, 1758. (Heath et al., 1995; Inoue et al., 1997; Скурихина и др., 2001; Kartavtsev et al., 2005). Систематика видов мидий рода *Mytilus* традиционно основывалась на морфологических признаках. Наиболее подходящим признаком для дифференциации пары видов *M. trossulus* и *M. galloprovincialis* был признан характер развития наружного призматического слоя на внутренней поверхности раковины (Золотарев, 1989; Золотарев, Шурова, 2008). Более широко взглянуть на проблему удалось с развитием генетико-биохимических методов и появившихся на их основе многочисленных новых данных, которые расширили представления о популяционно-

генетических процессах и о систематике группы видов *Mytilus* ex. group *edulis*. Выявились отчетливые различия *M. galloprovincialis*, *M. edulis* и *M. trossulus* по генотипам ряда аллозимных локусов (Koehn, 1991; Gosling, 1992; Hummel et al., 2001; Kartavtsev et al., 2005), а также, по полиморфным маркерам яДНК и мтДНК (Heath et al., 1995; Rawson et al., 1996; Inoue et al., 1997; Hilbish et al., 2000; Скурихина и др., 2001).

Но, несмотря на обширное количество работ по этой теме, гибридная зона видов *Mytilus* ex group *edulis* в зал. Петра Великого изучена слабее, чем в других районах мирового океана, а крупные комплексные исследования в этом регионе не проводились вовсе.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является исследование внутривидовой и межвидовой изменчивости и дивергенции мидий, преимущественно подсемейства *Mytilinae*, на основе генетико-биохимических и молекулярных маркеров генов, а также с использованием морфологических признаков, и приложение полученных данных в эволюционную генетику и систематику таксона.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести молекулярно-генетическое исследование изменчивости и дивергенции нуклеотидных последовательностей трех генов – 28S рРНК, 18S рРНК, а также гистона *H3*, и на этой основе выполнить реконструкцию филогении мидий (*Mytilidae*) и уточнить систему таксона.

2. На основе генетико-биохимических и молекулярно-генетических маркеров генов, а также используя морфологические признаки, провести популяционно-генетическое и морфометрическое исследование зоны гибридизации между двумя представителями рода *Mytilus* – аборигенным для Японского моря *M. trossulus* и интродуцированным (инвазивным) *M. galloprovincialis*.

3. Выполнить исследование сопряженности аллозимной, молекулярно-генетической и морфологической изменчивости.

4. Оценить наличие и уровень интрогрессивной гибридизации пары видов *M. trossulus* – *M. galloprovincialis* в зал. Петра Великого на основе комплексного популяционно-генетического и морфометрического анализа.

Научная новизна. Впервые, для анализа внутривидовой и межвидовой изменчивости и дивергенции видов мидий комплекса *Mytilus* ex. group *edulis* (в

данном случае *M. trossulus* и *M. galloprovincialis*) в зал. Петра Великого и близлежащих акваториях был использован комплекс генетико-биохимических, молекулярно-генетических и морфометрических признаков. На основе точной генотипической идентификации с использованием молекулярных маркеров в проведенном исследовании впервые доказано существование обособленных поселений вида-интродуцента *M. galloprovincialis*, расположенных в районе пос. Зарубино в зал. Посъета и в б. Киевка. В данной работе доказано, что признаки морфологии лигамента (LP_L) и положения заднего ретрактора (LPR_L) не могут считаться абсолютно диагностическими для идентификации особей видов *M. trossulus* и *M. galloprovincialis*, как это предполагалось ранее. Установлена монофилия семейства Mytilidae и подсемейства Mytilinae, первое из которых ранее было признано полифилитичным. Подтверждено выделение таксонов Modiolinae G. Termier & H. Termier, 1950 и Bathymodiolinae Kenk & Wilson 1985 в ранге подсемейств внутри семейства Mytilidae.

Теоретическое и практическое значение работы. Данные, полученные в ходе настоящей работы, могут быть полезны для понимания систематики Mytilidae и истории их эволюции. А результаты исследования гибридирующих видов *M. trossulus* и *M. galloprovincialis* помогут лучше идентифицировать особей этих видов и их гибридов друг от друга, что может быть полезным для хозяйств, занимающихся их разведением. Многие виды семейства Mytilidae являются важными промысловыми объектами, культивируемыми в разных странах. Очевидно, что исследование таких видов необходимо с практической точки зрения.

Методология и методы диссертационного исследования. В данной работе традиционный генетико-биохимический и морфологический методы анализа использованы наравне с современными молекулярно-генетическими методами. Фрагменты ДНК для молекулярно-генетического анализа получали посредством выделения методом HotSHOT. Амплификацию осуществляли про помощи ПЦР. Филогенетические деревья реконструировались с использованием подходов максимального правдоподобия (ML), Байесовского (BA), максимальной парсимонии (MP) и ближайшего соседства (NJ) в программном пакете MEGA.

Морфометрическое исследование основано на широко используемых многомерных подходах (Sokal, Sneath, 1963; Afifi, Azen, 1979; Андреев, 1980). Особи проанализированы по 11 основным мерным признакам и 10 индексам.

Анализ изменчивости частот генотипов и аллелей проведен по 6–8 аллозимным локусам, которые являются полудиагностическими для дискриминации видов *M. trossulus* и *M. galloprovincialis*. Для оценки видовой принадлежности отдельных особей по мультилокусным генотипам применяли программу Structure (Pritchard et al., 2000).

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведены сбор, идентификация, фиксация и первичная обработка материала для анализа гибридной зоны *Mytilus* ex. group *edulis* и часть материала для филогенетического анализа, сравнительно-морфологический и молекулярно-генетический анализ собранного материала, обработка данных. Автор принимала участие в подготовке материалов для публикаций и предоставления результатов исследования на конференциях.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Семейство Mytilidae и подсемейство Mytilinae являются монофилитичными по своей структуре.
2. Морфологические признаки LP и LP_L, которые ранее считались полностью диагностическими для дискриминации видов рода *Mytilus*, не могут считаться таковыми.
3. Инвазия вида *M. galloprovincialis* на территорию залива Петра Великого продолжается. Граница ареала этого вида пролегает севернее районов, документированных ранее в генетических исследованиях, в б. Киевка и б. Лазурная.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обеспечена использованием комплекса традиционных и современных молекулярно-генетических подходов и статистической обработкой полученной информации. Различные подходы и методы анализа позволили всесторонне взглянуть на проблему, проанализировать ее и получить более точные результаты. Все полученные результаты и выводы подкреплены данными, приведенными в рисунках и таблицах.

Апробация результатов работы. Результаты работы представлены на годичных конференциях ННЦМБ ДВО РАН (Владивосток, 2014 – 2018), на Международном симпозиуме «Modern Achievements in Population, Evolutionary, and

Ecological Genetics» (Vladivostok, 2015, 2017, 2019) и на международном семинаре по биоразнообразию и эволюции моллюсков «International Seminar on Biodiversity and Evolution of Mollusks» (Владивосток, 2019).

Публикации. По результатам исследования опубликовано 10 научных работ: 4 – статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, 6 – тезисы научных конференций.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 118 страницах, содержит 13 рисунков и 7 таблиц. Работа состоит из Введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», а также «Заключения», «Выводов», «Списка литературы» и 4 Приложений. Список литературы содержит 154 источник, из них 109 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает огромную благодарность своему научному руководителю Картавцеву Юрию Федоровичу за постановку задач и всестороннюю помощь и поддержку в ходе подготовки настоящей работы, Католиковой Марине Викторовне за предоставленный материал и помощь в подготовке диссертации, Лутаенко Константину Анатольевичу и Чичвархину Антону Юрьевичу за помощь в определении материала, а также коллективам Лаборатории генетики и Лаборатории молекулярной систематики за помощь в формировании экспериментальных навыков и содействие в работе.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В первой части главы приведены литературные данные об исследуемой проблеме и разобраны наиболее известные таксономические и филогенетические представления о систематике мидий (Newell, 1969; Soot-Ryen, 1969; Скарлато, Старобогатов, 1979, 1984; Скарлато, 1981; Starobogatov, 1992; Distel, 2000). Отдельное внимание уделяется роду *Mytilus*, на котором сфокусирована большая часть диссертации. Систематика видов данного рода вызывает большие вопросы в связи с их генетической и морфологической близостью. Известно, что виды рода образуют смешанные популяции и гибридные формы друг с другом в различных районах мирового океана (Heath et al., 1995; Inoue et al., 1997; Скурихина и др., 2001; Kartavtsev et al., 2005). В следующей части главы диссертации дается общее описание видов семейства *Mytilidae*: характерные морфологические признаки, ареал обитание,

основные биологические характеристики. Род *Mytilus*, с видами *M. galloprovincialis* и *M. trossulus*, рассматривается в этом разделе отдельно и более подробно. В третьей части главы кратко рассказывается о районе исследования, особенности его географического положения, данные о температуре, солености и другая абиотическая информация. В заключительной части главы диссертации представлен краткий обзор и история использования генетико-биохимических методов, позволяющих различать виды *M. trossulus* и *M. galloprovincialis* по ряду локусов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Филогенетический анализ. Для анализа филогении использовали особей, отловленных в 2011–2016 гг. в нескольких локальностях Японского моря, в Черном и Белом морях РФ, а также особей из сборов в других точках Мирового океана. Помимо самостоятельно отобранного и обработанного материала использовались особи из GenBank.

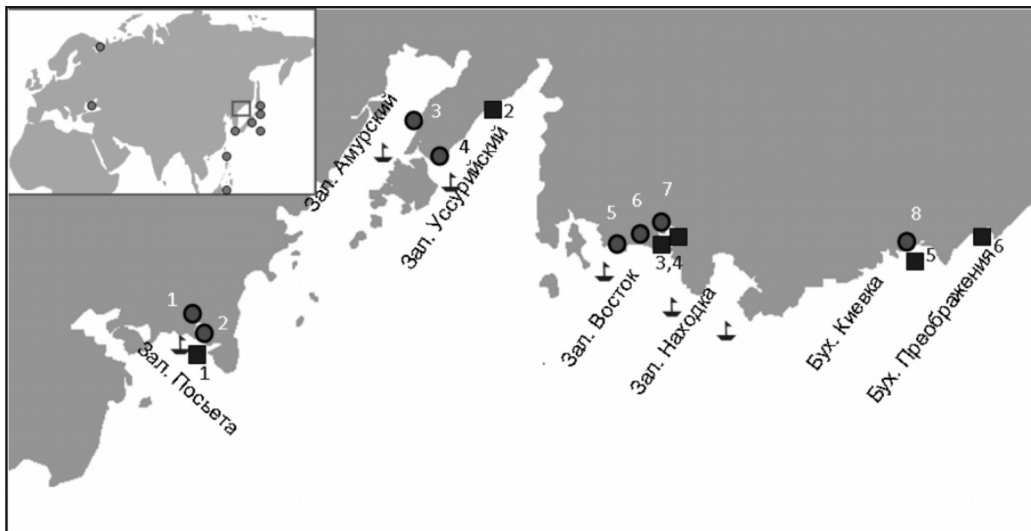


Рисунок 1. Карта основных сборов материала при исследовании гибридной зоны (большая карта), а также основных выборок таксономического исследования (карта вверху слева). 2011 г. (отмечены кругами): 1) зал. Посъета, рядом с пос. Зарубино; 2) зал. Посъета, б. Витязь; 3) зал. Амурский; 4) зал. Уссурийский, б. Соболев; 5) зал. Восток, Ливадия; 6) зал. Восток, б. Подсобная; 7) зал. Восток, МБС Восток; 8) б. Киевка. 2012–2013 гг. (отмечены квадратами): 1) зал. Посъета, пос. Зарубино; 2) Уссурийский залив, б. Лазурная; 3) зал. Восток, МБС Восток; 4) зал. Восток, пос. Ливадия; 5) б. Киевка; 6) б. Преображение.

В диссертационной работе для анализа использовали три маркера ядерной ДНК: 28S рРНК, 18S рРНК и гистона H3. Фрагменты генов 18S рРНК и гистона H3 были получены посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием

универсальных праймеров. Для 18S рРНК применяли праймеры: 1F (TACCTGGTTGATCCTGCCAGTAG), 5R (CTTGGCAAATGCTTTTCGC) (Colgan et al., 1998), а для гистона H3: H3af (ATGGCTCGTACCAAGCAGACVGC), H3ar (ATATCCTTRGGCATTRATRGTGAC) (Colgan et al., 1998). Для амплификации фрагмента гена 28S рРНК были использованы пары праймеров C1 /C2r и C2/ LSU-rev1 (Bellocq et al., 2001; Sonnenberg et al., 2007), где C2r является обратнo-комплементарной последовательностью C2.

Секвенирование проводили с использованием ПЦР, и набора реактивов «Bright Dye Terminator» V. 3.1 (Nimagen) согласно методике производителя. Капиллярный электрофорез осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI-3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABI, США). Последовательности выверяли и редактировали вручную при помощи программного обеспечения BioEdit (Hall, 1999) или ChromasPro 1.34 (<http://www.techneesium.com.au/ChromasPro.html>).

Последовательности ДНК были выравнены с помощью программы Clustal-W, интегрированной в пакет MEGA-6 (Tamura, 2013.). На основе выравненного набора последовательностей строили филогенетические деревья, используя следующие подходы: максимального правдоподобия (ML), Байесовского анализа (BA), максимальной парсимонии (MP) и ближайшего соседства (NJ). ML-, BA- и NJ-деревья строили, используя TrN93+G или K2P+G модели нуклеотидных замещений. Для массива нуклеотидов каждого гена оптимальную модель замен подбирали с помощью программного пакета (ПП) MEGA-6. В этом же ПП выполнена реконструкция генных деревьев ML, MP и NJ. BA-деревья реконструированы с использованием ПП MrBayes 3.2 (Ronquist et al., 2012).

Изучение гибридной зоны. Материал для изучения гибридной зоны был собран в 2011, 2012 и 2013 гг. Общее число особей, отловленных в зал. Петра Великого Японского моря и близлежащих бухтах Киевка и Преображение, составило 908.

Морфометрическое исследование, как отмечено выше, базировалось на многомерных подходах. Особи проанализированы по 11 основным мерным признакам и 10 индексам. Индексы получали нормированием (делением) значений 10 признаков на длину раковины. Затем индексы преобразовывали по формуле (Рокицкий, 1973; Лакин, 1980): $2 \arcsin \sqrt{p}$, где p – значение соответствующего

индекса. Исходные признаки и преобразованные индексы стандартизировали для проведения многомерного анализа $(x_i - M)/s_x$, приведя все вариационные ряды к виду с $M = 0, s_x = 1$, где M - средняя арифметическая, s_x - стандартное отклонение. Анализ изменчивости частот генотипов и аллелей проведен по 6–8 аллозимным локусам (или генетико-биохимическим локусам – GBL) и двум маркерам ядерной ДНК: *Me-5* (ген прикрепительного белка нитей биссуса) и *ITS-1,2* (транскрибируемый спейсер рДНК). Исследованы 8 маркеров ферментных локусов: *PGM-1**, *GPI**, *AAT-1**, *AAT-2**, *ODH**, *MPI**, *AAP** и *LAP**. Указанные локусы являются полудиагностическими для дискриминации видов *M. trossulus* и *M. galloprovincialis* (МакДональд и др., 1990; Gosling, 1992). Изученные маркеры ядерной ДНК, локус *Me-5* и *ITS-1,2*, являются диагностическими для дискриминации этих видов. На основании генотипирования особей по всем описанным локусам оценены доли встречаемости особей аборигенного вида, гибридов и интродуцентов (*M. galloprovincialis*) в выборках из исследованных районов. Для оценки видовой принадлежности отдельных особей по мультилокусным генотипам применяли программу Structure, использующую описанные ранее алгоритмы (Pritchard et al., 2010). В качестве специфических праймеров использовали *Me15* 5'-CCAGTATACAAACCTGTGAAAA-3' и *Me16* 5'-TGTTGTCTTAATAGGTTTGTAAGA-3' (Inoue et al., 1995). Для идентификации *ITS* ядерной рРНК использовали условия амплификации и последовательности праймеров, опубликованные ранее (Скурихина и др., 2001).

Классификация генотипов по ДНК-маркерам, имеющим только два аллеля, каждый из которых типичен для одного из родительских видов (условно, аллель 1 и аллель 2), проводилась следующим образом: генотип 1-1 – *M. trossulus*, 1-2 – гибриды и 2-2 – *M. galloprovincialis*. На основании полученных данных были рассчитаны доли встречаемости аборигенного вида, гибридов и интродуцентов.

Для сопоставления данных, полученных по разным значениям, оценивали стандартные ошибки средних значений и, соответственно, отклонения в пределах доверительных интервалов. С использованием пакета программ (ПП) Statistica 6 (StatSoft, 2001) выполнен также дискриминантный и дисперсионный анализ. Анализ изменчивости частот аллелей, генетических расстояний и F-статистик выполнен в ПП Specstat (Картавцев, Соловьев, 1992; Kartavtsev, Soloviev, 1993).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Молекулярно-филогенетическое исследование семейства Mytilidae

Генное дерево 28S рРНК обнаруживает три основных ветви в ранге семейства: Mytilidae, Septiferidae, Crenellidae и шесть ветвей в ранге подсемейства: 1) Mytilinae, 2) Bathymodiolinae, 3) Modiolinae, 4) Musculinae, 5) Septiferinae, 6) Limnoperninae (1-4 – таксоны Mytilidae, 5 и 6 – Septiferidae). Род *Xenostrobus* представлен неразрешенным узлом и поэтому, судить о его принадлежности невозможно. Дерево показывает отчетливую кластеризацию отдельных видов в пределах рода, кроме рода *Mytilus*, в котором 2 вида группы *Mytilus* ex. group *edulis*, *M. edulis* и *M. galloprovincialis*, не дифференцируются, а *M. trossulus* занимает по отношению к ним внешнюю позицию. Базальное положение на дереве занимают представители семейства Septiferidae, использованные как указано выше в качестве внешней группы. Далее для остальных реконструкций эта особенность топологии повторяться не будет. Наиболее отчетливо в генном дереве 28S рРНК поддержана монофилия семейства Septiferidae (93 – 100% поддержки), тогда как по этим данным ветвь Musculinae – Crenellidae занимает внутреннюю позицию в пределах Mytilidae, а само семейство выявляется только в ВА-реконструкции и слабо поддержано (64%). Из подсемейств, представленных несколькими видами, наиболее надежно поддержаны топологически два – Mytilinae и Septiferinae: 99 – 100% и 96 – 100% поддержки, соответственно. На дереве есть несколько неразрешенных и слабо поддержанных топологически узлов. В частности, на генном дереве 28S рРНК не полностью разрешенной является топология Mytilidae и Mytilinae. Некоторые ветви не имеют таксономического обозначения.

Генное дерево 18S рРНК обнаруживает также три основных ветви в ранге семейства: Mytilidae, Septiferidae, Crenellidae, шесть ветвей в ранге подсемейства как уровня иерархии: 1) Mytilinae, 2) Modiolinae, 3) Musculinae, 4) Bathymodiolinae, 5) Septiferinae, 6) Limnoperninae, с входящими в них родами и видами (Рисунок 3.2 диссертации). Дерево гена 18S рРНК показывает очень слабую кластеризацию отдельных видов в пределах рода. Наиболее отчетливо в генном дереве 18S рРНК поддержана монофилия семейства Septiferidae (93 – 99% поддержки), ветвь Crenellidae занимает внутреннюю позицию в пределах Mytilidae, последнее, как и для деревьев 28S рРНК и гистона H3, поддержано только в ВА-реконструкции (98%), но к тому же, является парафилетичным. Из подсемейств, представленных несколькими

видами, наиболее надежно поддержаны топологически два – Mytilinae и Bathymodiolinae: 89 – 99% и 99 – 100% поддержки, соответственно. На дереве 18S рРНК многие ветви являются неразрешенными и слабо поддержанными топологически, не исключая топологию для Mytilidae и Mytilinae. Одна из ветвей, включающая представителя *Perna*, имеет обособленное положение на дереве с представителями Crenellidae, что также, возможно, требует таксономического обоснования. По этой особенности дерево 18S рРНК сходно с генными деревьями 28S рРНК и гистона *H3*.

Филогенетическое дерево гистона *H3* яДНК обнаруживает три основных ветви в ранге семейства: Mytilidae, Septifiridae, Crenellidae и четыре ветви в ранге подсемейства: Mytilinae, Modiolinae, Musculinae и Septiferinae. Дерево гистона *H3* показывает отчетливую кластеризацию отдельных видов в пределах рода, кроме рода *Mytilus*, в котором 2 вида группы *Mytilus* ex. group *edulis* не дифференцируются, а *M. coruscus* занимает по отношению к ним внешнюю позицию. Наиболее отчетливо в генном дереве гистона *H3* поддержана монофилия семейства Septiferidae, ветвь Crenellidae занимает внешнюю позицию вне Mytilidae, последнее поддержано только в ВА и ML-реконструкциях (98% и 54%, соответственно). Из подсемейств, представленных несколькими видами, наиболее надежно поддержанным топологически является подсемейство Mytilinae (99–100%). Однако на генном дереве гистона *H3* топология Mytilidae и Mytilinae (кроме *Mytilus*) является полностью разрешенной. Одна из ветвей, включающая представителей *Perna*, имеет обособленное положение на дереве с представителями Crenellidae, и, возможно, требует таксономического обоснования.

Генное дерево 25 объединенных последовательностей 28S рРНК и гистона *H3* яРНК обнаруживает также три основных ветви в ранге семейства: Mytilidae, Septiferidae, Crenellidae, три ветвей в ранге подсемейства: 1) Mytilinae, 2) Modiolinae, 3) Musculinae, с входящими в них родами и видами (Рисунок 2).

Дерево показывает более отчетливую кластеризацию отдельных видов в пределах рода *Mytilus*, в котором, как и ранее 2 вида группы *Mytilus* ex. gr. *edulis* не дифференцируются, но *M. coruscus* занимает по отношению к ним внешнюю позицию. Наиболее отчетливо в объединенном генном дереве 28S рРНК и гистона *H3* поддержана монофилия семейства Septiferidae (100% поддержки), ветвь Crenellidae

занимает внешнюю позицию по отношению к Mytilidae, но последнее, как и для отдельных деревьев 28S и H3, поддержано в ВА- и ML-реконструкциях.

Из подсемейств, представленных несколькими видами, наиболее надежно поддержаны топологически два – Mytilinae и Septiferinae: 99–100% и 96–100% повторяемости, соответственно. На дереве нет неразрешенных топологий, но слабо поддерживаемые топологически узлы есть. Однако на объединенном геномном дереве 28S р РНК и гистона H3 топология Mytilidae и Mytilinae (кроме *Mytilus ex. gr. edulis*) является полностью разрешенной, а *M. trossulus* занимает по отношению к двум другим видам комплекса внешнюю позицию. Одна из ветвей, включающая представителей *Perna* и *Musculus*, имеет обособленное положение на дереве с представителями Crenellidae, и, соответственно, в связи с ранее изложенным, требует таксономического обоснования. По этой особенности дерево 28S и H3 сходно со всеми остальными деревьями.

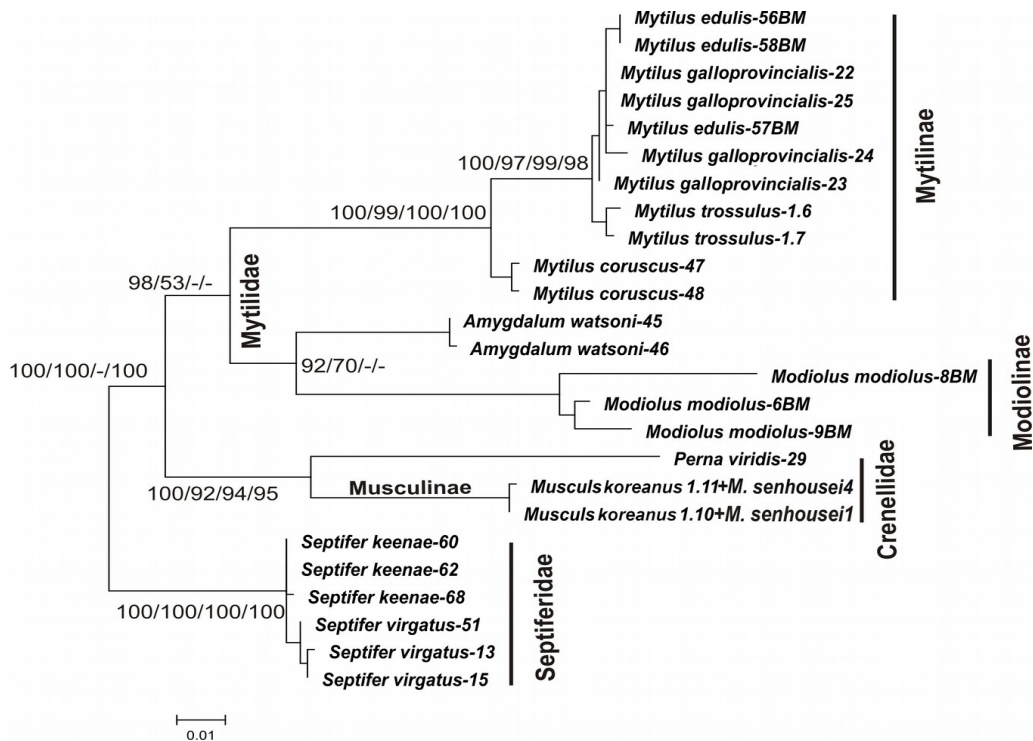


Рисунок 2. Укорененное консенсусное ВА-дерево мидий (*Mollusca*, *Mytilidae*), построенное на основе 25 объединенных последовательностей нуклеотидов генов 28S рРНК и гистона H3, с использованием методов реконструкции ВА/ML/MP/MJ. Поддержки даны в указанной последовательности. Пары последовательностей *M. koreanus* и *M. senhousei* были объединены для полноты анализа топологии, учитывая их идентичность.

По совокупности молекулярно-филогенетических данных (гены 28S рРНК и гистона *H3*) можно определенно заключить о таксономической валидности *Mytilidae* Rafinesque, 1815 и *Mytilinae* Rafinesque, 1815. Полученные в данной работе данные опровергают также заключение о полифилетичности подсемейства *Mytilinae* Rafinesque, 1815 (Рисунок 2).

Помимо этого, результаты диссертационной работы поддерживают выделение таксонов *Modiolinae* G. Termier & H. Termier, 1950 и *Bathymodiolinae* Kenk & Wilson 1985 в ранге подсемейств (Carter et al., 2011; Morals, Svensen, 2001; Bieler et al., 2010) внутри семейства *Mytilidae*, также, как и семейство *Septiferidae* Scarlato et Starobogatov, 1979b и подсемейство *Septiferinae* Scarlato et Starobogatov, 1979b.

Дополнительный интерес вызывают виды *C. grayanus* и *M. coruscus*, которые образуют внешнюю группу к остальным видам рода *Mytilus*, что говорит о необходимости пересмотреть систематику этих видов и их отношение к роду *Mytilus*.

3.2. Анализ гибридной зоны двух видов комплекса *Mytilus ex. group edulis* в Японском море

3.2.1. Генетический анализ гибридной зоны *M. trossulus* – *M. galloprovincialis* в северо-западных акваториях Японского моря на основе выборок 2011 года. В ходе анализа гибридной зоны было выявлено от 4 до 14 аллелей для каждого из 8 исследованных локусов. Аборигенный вид *M. trossulus* оказался доминирующим в выборках (средняя частота встречаемости составила $80 \pm 7\%$). Исключением является выборка из зал. Посъета, на акватории пос. Зарубино, которая характеризуется минимальной среди всего материала долей генотипов *M. trossulus* (37–49%) и максимальной долей генотипов *M. galloprovincialis* (30–42%). Еще одной выборкой с высокой долей генотипа *M. galloprovincialis* стала выборка из б. Киевка (14%). В большинстве же выборок доля *M. galloprovincialis* либо очень низкая (1–2%) (б. Витязь, Амурский залив), либо представители этого вида вообще отсутствовали (выборка из Уссурийского залива и две выборки из зал. Восток). На основе представленной информации можно сделать вывод о возможном нарастании инвазии вида *M. galloprovincialis* в северо-западную часть Японского моря. Так, в заливе Восток доля гибридных особей доходит до $23 \pm 3\%$. Этот показатель был значительно ниже в прошлых работах: $8,95 \pm 1,68\%$ в 1999 г. (Скурихина и др., 2001) и $1,60 \pm 0,90\%$

в 2003 г. (Kartavtsev et al., 2005). Помимо этого, были впервые обнаружены постоянные поселения инвазивного вида близ пос. Зарубино в зал. Посъета.

Также на основе данных популяционно-генетического анализа было сделано предположение, о мозаичном характере распространения двух видов в масштабе региона. Что, скорее всего, обусловлено векторами расселения *M. galloprovincialis*. Зарубино – международный порт и поэтому возможен занос мидий в качестве обрастателей судов из зон постоянного обитания *M. galloprovincialis*. Правда, источник инвазии *M. galloprovincialis* в б. Киевка не вполне ясен. Доминирование особей родительских видов над гибридами во всех выборках позволяет описать гибридную зону как бимодальную (Barton, Hewitt, 1985). Предположительно, гибридизация между аборигенным и инвазивным видами до определенной степени ограничена какими-то изоляционными механизмами. Анализ данных по ядерным ДНК-маркерам, *Me-5* и *ITS-1,2*, выявил те же тенденции, что описаны и по 8 аллозимным локусам

3.2.2. Генетический и морфологический анализ гибридной зоны *M. trossulus* – *M. galloprovincialis* в зал. Петра Великого в 2012–2013 гг. В ходе анализа установлена небольшая, но статистически значимая генетическая дифференциация исследованных поселений мидий в зал. Петра Великого. В тесте хи-квадрат значимой является гетерогенность частот аллелей трех из шести локусов. По значениям комплекса признаков для 5 выборок, 10 индексов и векторов генотипических значений для 6 локусов выявлены пересекающиеся кластеры особей, (на Рисунках 3 и 4 показаны ломаными линиями), что свидетельствует о наличии значительного сходства проанализированных особей в выборках из поселений мидий. Наиболее обособлены выборки из зал. Посъета (в районе пос. Зарубино), где ранее было обнаружено большое число особей инвазивного вида, и б. Преображение (Рисунок 3).

Для 6 выборок и большего числа анализируемых морфологических признаков и индексов точность дискриминации особей по всему комплексу признаков составила 87%. Как следует из данных Рисунка 4, мидии в 5 выборках слабо различаются между собой по комплексу GBL и 10 морфометрическим индексам. Таким образом, добавление признаков вносит вклад в итоговую дифференциацию, по-видимому, за счет экологических факторов, определяющих рост моллюсков. Максимальная точность дискриминации выборок не превышает 87 %, а средняя равна 77,6%.

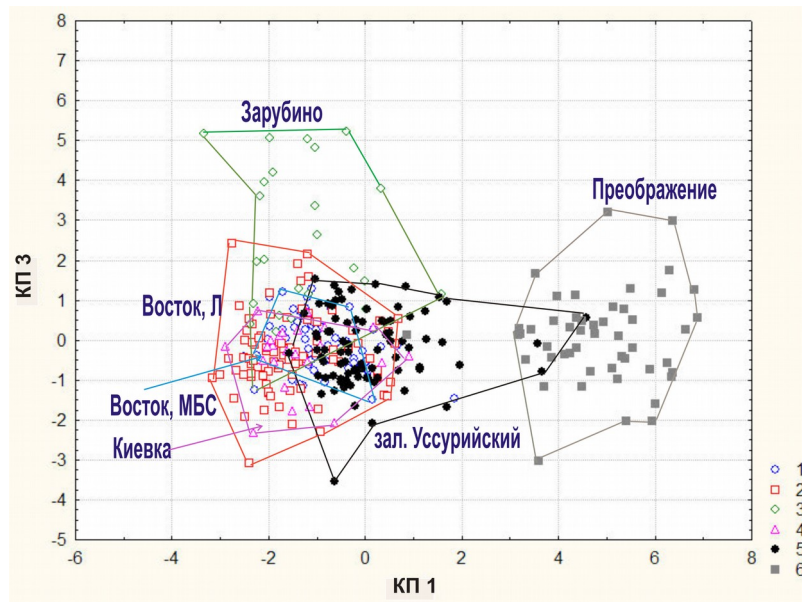


Рисунок 3. График распределения значений координат для двух канонических переменных (КП, КП 1 и КП 3) из 6 поселений мидий Японского моря, изученных по комплексу 11 признаков, 10 индексов и генотипических значений 6 локусов.

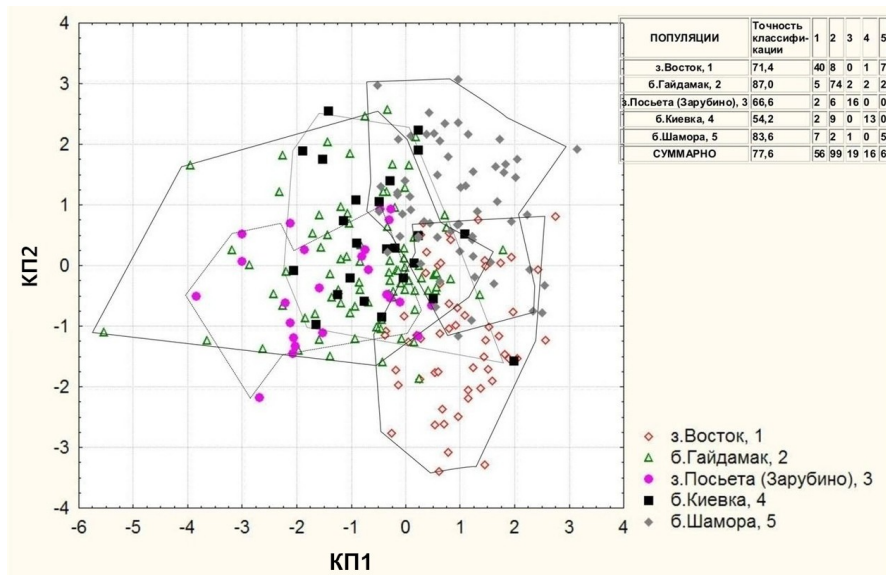


Рисунок 4. График распределения значений координат двух канонических переменных (КП 1 и КП 2) для модифицированных значений генотипов 6 аллозимных локусов и 10 морфологических индексов исследованных мидий 5 выборок. В таблице сверху справа показана точность дискриминации выборок по комплексу представленных признаков.

Представленные результаты показывают, что граница ареала инвазивного вида *M. galloprovincialis*, идентифицированная на основе генетических данных, пролегает севернее, располагаясь в б. Киевка, и что появился новый очаг инвазии в б. Лазурная (рисунок 5). Многолетние генетические данные указывают на варьирование

интенсивности инвазии год от года. Изменяются также и доли гибридов в общей структуре комплекса *Mytilus* ex. group *edulis*.

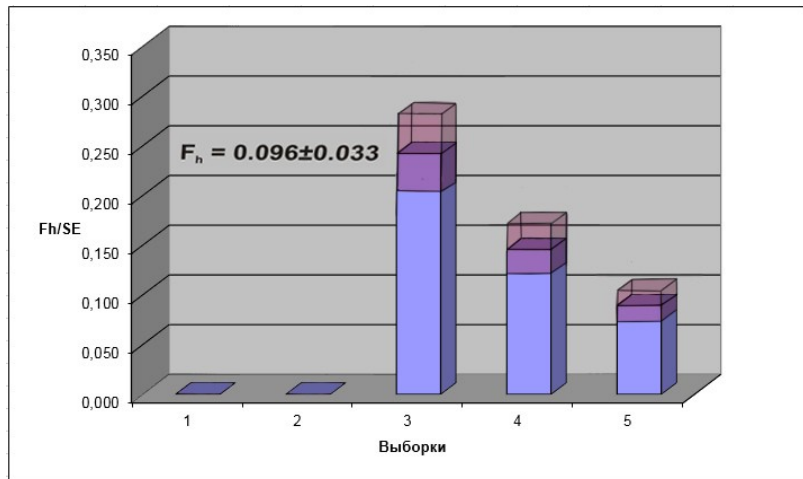


Рисунок 5. Распределение доли гибридных особей (Fh) в 5 исследованных выборках мидий по ДНК-маркеру *Me-5*. По оси X – номера выборок, по оси Y – значения Fh/SE по локусу *Me-5* в выборках 2012 г. Нумерация выборок: 1 – зал. Восток, МБС «Восток», 2 – зал. Восток, б. Ливадия, 3 – зал. Посыета, пос. Зарубино, 4 – б. Киевка, 5 – б. Лазурная. Отдельными секторами на гистограммах показаны стандартные ошибки (SE) для Fh. На графике отмечено среднее значение Fh = 9,6% с SE для всех пяти выборок.

3.2.3. Комплексный анализ гибридной зоны *M. trossulus* – *M. galloprovincialis* в зал. Петра Великого и сопредельных акваториях по материалам за весь период исследования

Генетический анализ. Значительных различий по уровню гетерозиготности среди 8 исследованных локусов в выборках не обнаружено. Как и у многих других видов мидий, наблюдается дефицит гетерозигот по отношению к ожидаемым частотам по Харди-Вайнбергу. Тем не менее, средние значения для F_{is} -статистики, измеряющие отклонения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, незначительны. Дефицит гетерозигот в поселениях, исследованных в 2012–2013 гг., увеличивается на обследованном участке ареала для всех локусов, как следует из существенно большего значения второй из двух сопоставленных F-статистик, F_{it} по сравнению с F_{is} ($F_{is} = 0,1358 \pm 0,0454$, а $F_{it} = 0,1816 \pm 0,0490$). Для данных 2011 г. такая тенденция тоже наблюдается.

Суммарная гетерогенность аллельных частот во всех выборках в 2011 г., которая включает в себя межпопуляционные и межвидовые компоненты (в выборках

этого года наблюдались оба вида), в соответствии с оценками F_{st} -статистики, нормированной для большей сопоставимости данных на число выборок, F'_{st} , равна: $F'_{st} = 0,1330 \pm 0,0300$. Это значение почти в два раза, выше обнаруженного для внутривидового уровня: $F'_{st} = 0,0732 \pm 0,0200$. Такой же результат наблюдался в этом году на основе средних несмещенных оценок минимального расстояния Нея, Dm^{\wedge} .

Частоты генотипов видов *M. trossulus*, *M. galloprovincialis* и их гибридов, полученные с использованием двух различных типов маркеров (GBL и яДНК), показали, что гибриды абсолютно точно присутствуют в выборках, но уступают по частоте аборигенному виду, что согласуется с результатами предыдущих этапов анализа.

Популяционно-генетический анализ. Небольшое различие между средними значениями F_{is} и F_{it} и низкая статистическая значимость величин дивергенции, Dm^{\wedge} и F'_{st} (Таблица 1) предполагает, что вероятность влияния смешения генофондов и последующего эффекта Валунда на увеличение дефицита гетерозигот невелика (Таблица 1). Скорее всего, причиной слабого эффекта является небольшое число гибридов и особей инвазивного вида в изучаемом районе; в целом в выборках за 2011 г. гибридов меньше, чем в 2012–2013 гг., если судить по более точным генетическим данным.

Таблица 1. F-статистика и минимальное несмещенное генетическое расстояние Dm^{\wedge} семи локусов для 5 и 8 поселений *Mytilus ex. group edulis*.

Локус	F_{is}	F_{it}	F_{st}	F_{is}	F_{it}	F_{st}	F_{is}	F_{it}	F_{st}
	А			В			С		
<i>PGM-1*</i>	0,2768	0,3127	0,0483	0,3031	0,3449	0,0742	0,2902	0,3226	0,0724
<i>AAT-1*</i>	0,0764	0,1818	0,0136	-0,0150	-0,0150	0,0366	-0,0163	-0,0156	0,0365
<i>GPI*</i>	0,1130	0,1806	0,0783	0,1504	0,2032	0,1155	0,1865	0,2510	0,0954
<i>ONDH*</i>	0,2860	0,3015	0,0127	0,2211	0,2884	0,0711	0,0586	0,1174	0,0334
<i>MPI*</i>	0,1410	0,2464	0,0189	0,2400	0,5532	0,1313	0,0425	0,1199	0,0733
<i>LAP</i>	0,0978	0,1119	0,0128	0,2225	0,2916	0,1472	0,0266	0,1687	0,1434
<i>Me-5</i>	-0,0406	-0,0640	0,0502	0,1411	0,6340	0,2560	0,1411	0,8470	0,0490
	0,0153 ± 0,0057			0,0462 ± 0,0133			0,0257 ± 0,0121		
$Dm^{\wedge}(F'_{st})$	(0,0425 ± 0,0120)			(0,1330 ± 0,0300)			(0,0732 ± 0,0200)		

Примечание. А – данные F-статистики и Dm^{\wedge} для пяти выборок 2012 г.; В – данные F-статистики и Dm^{\wedge} для восьми выборок 2011 г.; С – анализ данных 2011 г. без учета генотипов *M. galloprovincialis* и гибридов в выборках.

На основе полученных данных, кроме рассчитанных при моделировании долей гибридов (F_h), установлена доля межвидовых мигрантов по фактическим численностям гибридов, F_b+F_2 и т.д. равная $0,9\pm 0,7\%$.

Основываясь на результатах выше, можно говорить о том, что генетическая интрогрессия между двумя видами *Mytilus* ex group *edulis* в зал. Петра Великого и прилегающих районах все же происходит, что доказывается даже просто самим фактом присутствия гибридов второго поколения и возвратных скрещиваний, F_b+F_2 (Рисунок 6). Хотя, безусловно, интрогрессия сохраняется на низком уровне, который, очевидно, варьирует из года в год, если судить по очевидному различию в числе обнаруженных гибридов в 2011 г. и 2012–2013 гг. и по другим данным. Так, встречаемость гибридов в зал. Восток за 14 лет составила: в 2012–2013 гг. – 0% (данные этой работы), в 2011 г. – 0% (данные этой работы), в 2003 г. – $1,60\pm 0,90\%$ (Kartavtsev et al., 2005) и в 1999 г. – $8,95\pm 1,68\%$ (Скурихина и др., 2001).

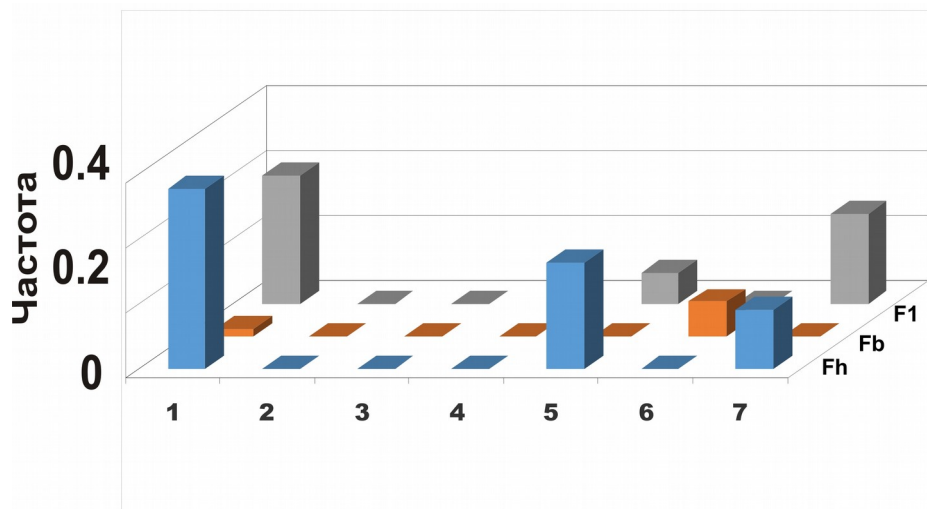


Рисунок 6. Пример изменчивости частоты трех типов гибридов (F_h , F_b , F_1) комплекса мидий *Mytilus* ex. group *edulis* в Японском море, но отсутствия потока генов между видами или его малого эффекта. По оси X – номера выборок из поселений мидий в заливе Петра Великого Японского моря и близких акваториях (нумерация выборок по данным 2011 года; Kartavtsev, Masalkova, Katolikova, 2018), по оси Y – частота гибридных особей.

Объединенный генетический и морфометрический анализ. Во время дальнейшего анализа удалось установить фенотипические различия местного вида *M. trossulus* и гибридов *M. trossulus* × *M. galloprovincialis*. Тип *M. trossulus* и потомство F_1 , определенные здесь для набора данных 2011 г. были выявлены с высокой

точностью – около 94% и лишь с небольшой ошибкой перекрытия данных по оси КП1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам молекулярно-филогенетического анализа генных деревьев ДНК-маркеров 28S рРНК, 18S рРНК и гистона H3 был решен ряд вопросов систематики митилид, в частности, установлена монофилия семейства Mytilidae и подсемейства Mytilinae, что опровергает заключение о полифилетичности подсемейства Mytilinae Rafinesque, 1815 (Distel, 2000). Также подтверждено выделение таксонов Modiolinae G. Termier & H. Termier, 1950 и Bathymodiolinae Kenk & Wilson 1985 в ранге подсемейств (Carter et al., 2011; Morales, Svensen, 2001; Bieler et al., 2010) внутри семейства Mytilidae, как и семейства Septiferidae Scarlato et Starobogatov, 1979b и подсемейства Septiferinae Scarlato et Starobogatov, 1979b.

На основании комплекса из восьми генетико-биохимических локусов, двух ДНК-маркеров, а также морфометрических признаков (11 признаков и 10 индексов), выявлено преобладание в поселениях мидий особей местного вида – *M. trossulus*. Особи вида-интродуцента *M. galloprovincialis* в отдельные годы, как например, в исследованном материале 2013 г., отсутствуют полностью. Однако в зал. Посьета, вблизи пос. Зарубино в зоне активного международного судоходства, в бухтах Киевка и Лазурная в данный год выявлена довольно значительная доля гибридов (Fh): 24,2±8,0%, 14,6±5,1% и 9,0±3,2%. Отгалкиваясь от полученных данных, можно сделать вывод о продолжении инвазии *M. galloprovincialis* в зал. Петра Великого и сопредельные воды. Более того, обнаружено, что граница ареала *M. galloprovincialis* пролегает севернее районов, документированных ранее в генетических исследованиях, достигая б. Киевка.

На основе точной генотипической идентификации с использованием молекулярных маркеров в проведенном исследовании впервые доказано существование обособленных поселений инвазивного вида, расположенных в районе пос. Зарубино в зал. Посьета и в б. Киевка. Несмотря на то, что точность дискриминации по комплексу GBL и морфометрических индексам составила: по 11 индексам и 6 аллозимным локусам для 5 поселений – 77,6%, а по 10 признакам, 11 индексам, 4 локусам для 6 поселений – 78,7%, мидии в проанализированных выборках слабо отличаются между собой. Помимо прочего, данное исследование

подтвердило вывод о том, что признаки морфологии лигамента LP и LP_L, которые ранее считались полностью диагностическими для данной группы, не могут считаться таковыми.

ВЫВОДЫ

1. По результатам молекулярно-филогенетического анализа генных деревьев 28S рРНК, 18S рРНК и гистона H3 решен ряд вопросов систематики митилид, в частности, установлена монофилия семейства Mytilidae и подсемейства Mytilinae. Опровергнута полифилетичность подсемейства Mytilinae. Подтверждено также выделение таксонов в ранге подсемейства Modiolinae и Bathymodiolinae в составе семейства Mytilidae.

2. При исследовании комплекса *Mytilus* ex. group *edulis*, обнаружено, что в выборках преобладает местный вид *M. trossulus*, а инвазия *M. galloprovincialis* в заливе Петра Великого и сопредельных водах по данным за несколько лет сохраняется, хотя и на низком уровне. Кроме гибридов и местного вида *M. trossulus* впервые обнаружены поселения инвазивного вида *M. galloprovincialis* в районе пос. Зарубино в зал. Посьета и в б. Киевка.

3. Проведенное исследование позволяет сделать вывод о мозаичном характере гибридной зоны мидий. Эта мозаичность обусловлена варьированием во времени расселения *M. galloprovincialis*, другими экологическими факторами и случайными инвазиями, вызванными судоходством.

4. Обнаружено, что граница ареала *M. galloprovincialis* пролегает севернее районов, документированных ранее в генетических исследованиях, в б. Киевка. Выявлен новый очаг инвазии в б. Лазурная.

5. Выяснено что, мидии в проанализированных выборках слабо отличаются между собой по комплексу GBL и морфометрических индексов. Хотя точность дискриминации составила по 11 индексам и 6 аллозимным локусам для 5 поселений – 77,6%, а по 10 признакам, 11 индексам, 4 локусам для 6 поселений – 78,7%.

6. Результаты, полученные в данном исследовании, подтвердили вывод о том, что признаки LP и LP_L, которые ранее считались полностью диагностическими для данной группы, не могут считаться таковыми.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах из списка, рекомендованного ВАК:

1. Картавец Ю.Ф., Католикова М.В., Шарина С.Н., Чичвархина О.В., **Масалькова Н.А.** Популяционно-генетическое исследование зоны гибридизации *Mytilus trossulus* Gould, 1850 и инвазивного вида *M. galloprovincialis* Lamarck, 1819 (Bivalvia: Mytilidae) в заливе Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2014. Т. 40, № 3. С. 220–228.
2. **Масалькова Н.А.**, Картавец Ю.Ф., Чичвархина О.В. Генетический и морфометрический анализ поселений мидии (Mytilidae: *Mytilus* ex. gr. *edulis*) из вод Приморья: исследование дифференциации популяций в гибридной зоне // Вестник ДВО РАН. 2016. № 3. С. 47–57.
3. Kartavtsev Y.P., **Masalkova N.A.**, Katolikova M.V. Genetic and morphometric variability in settlements of two mussel species (*Mytilus* ex. gr. *Edulis*), *Mytilus trossulus* and *Mytilus galloprovincialis*, in the northwestern Sea of Japan // Journal of Shellfish Research. 2018. V. 37, № 1. P. 103–119.
4. Картавец Ю.Ф., Шарина С.Н., Чичвархин А.Ю., Чичвархина О.В., **Масалькова Н.А.**, Лутаенко К.А., Оливейра К. Генетическая дивергенция мидий (Mollusca, Mytilidae) по нуклеотидным последовательностям ядерных генов 28S рРНК, 18S рРНК и *H3* // Генетика. 2018. Т. 54, № 6. С. 639–660.

Работы в материалах конференций:

1. Kartavtsev Y.Ph., Katolikova M.V., Sharina S.N., Chichvarkhina O.V., **Masalkova N.A.** The study of genetic variability and hybridization of two species of Mussels *Mytilus trossulus* and *Mytilus galloprovincialis* in Peter the Great Bay (Sea of Japan) // Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International Symposium, Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 2–6, 2013: Program and Abstracts. – Vladivostok, 2013. P. 36.
2. **Masalkova N.A.**, Kartavtsev Y.P., Katolikova M.V., Sharina S.N., Chichvarkhina O.V. Genetic and morphometric variability and hybridization of two species of mussels, *Mytilus trossulus* and *Mytilus galloprovincialis*, in the north-west of Sea of Japan // Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International

Symposium. Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 1–10, 2015: Program and Abstracts. – Vladivostok, 2015. P. 45.

3. Kartavtsev Y.Ph., Sharina S.N., Chichvarkhin A.Yu., Chichvarkhina O.V., **Masalkova N.A.**, Lutaenko K.A., Oliveira C. Current molecular phylogenetics evidence on relationships and systematics of Mussels (Mollusca, Mytilidae) using sequences on 28S rRNA, 18S rRNA and *H3* markers // Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics: International Symposium. September 3–9, 2017: Program and Abstracts. – Vladivostok, 2017. P. 21.

4. **Masalkova N.A.**, Kartavtsev Y.Ph., Katolikova M.V. Genetic and morphometric variability of two mussel species (*M. trossulus* and *M. galloprovincialis*) in the north-west part Sea of Japan // Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics: International Symposium. September 3–9, 2017: Program and Abstracts. – Vladivostok, 2017. P. 26.

9. Kartavtsev Y.Ph., Sharina S.N., Chichvarkhin A.Yu., Chichvarkhina O.V., **Masalkova N.A.**, Lutaenko K.A. Molecular phylogeny of mussels (Mollusca, Mytilidae) based on three nuclear genes (28S RDNA, 18S RDNA and *H3*) // Modern Achievements in Population, Evolutionary and Ecological Genetics: International Symposium. Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 8–13, 2019: Program and Abstracts. – Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2019. P. 30.

10. **Masalkova N.A.**, Kartavtsev Y.Ph. Hybrid zone between two mussel species, *Mytilus trossulus* and *Mytilus galloprovincialis*, in north-western Japan Sea: genetic and morphologic variability// Abstracts of the International Seminar on Biodiversity and Evolution of Mollusks, September 26–27, 2019, Vladivostok, Russia. – Vladivostok: NSCMB FEB RAS and RFEMS, 2019. P. 44.

МАСАЛЬКОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФИЛОГЕНИИ МИДИЙ (BIVALVIA,
MYTILIDAE) ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ РОССИИ И ОСОБЕННОСТЕЙ
ДИВЕРГЕНЦИИ, ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ
ИЗМЕНЧИВОСТИ ВИДОВ КОМПЛЕКСА *MYTILUS* EX. GROUP *EDULIS***

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук