

*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.

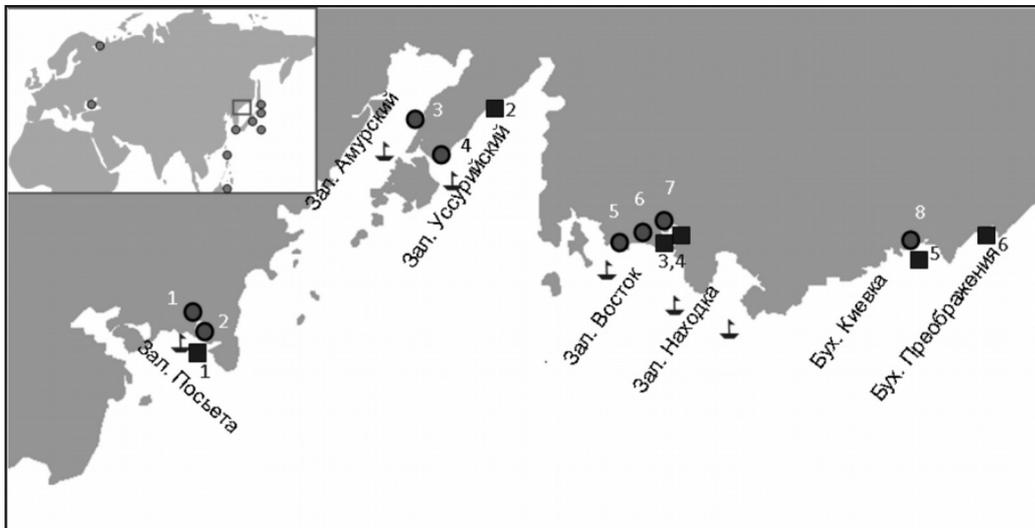


Рисунок 1. Карта основных сборов материала при исследовании гибридной зоны (большая карта), а также основных выборок таксономического исследования (карта вверху слева). 2011 г. (отмечены кругами): 1) зал. Посыета, рядом с пос. Зарубино; 2) зал. Посыета, б. Витязь; 3) зал. Амурский; 4) зал. Уссурийский, 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. Посыета, 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 поддерживанные 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.

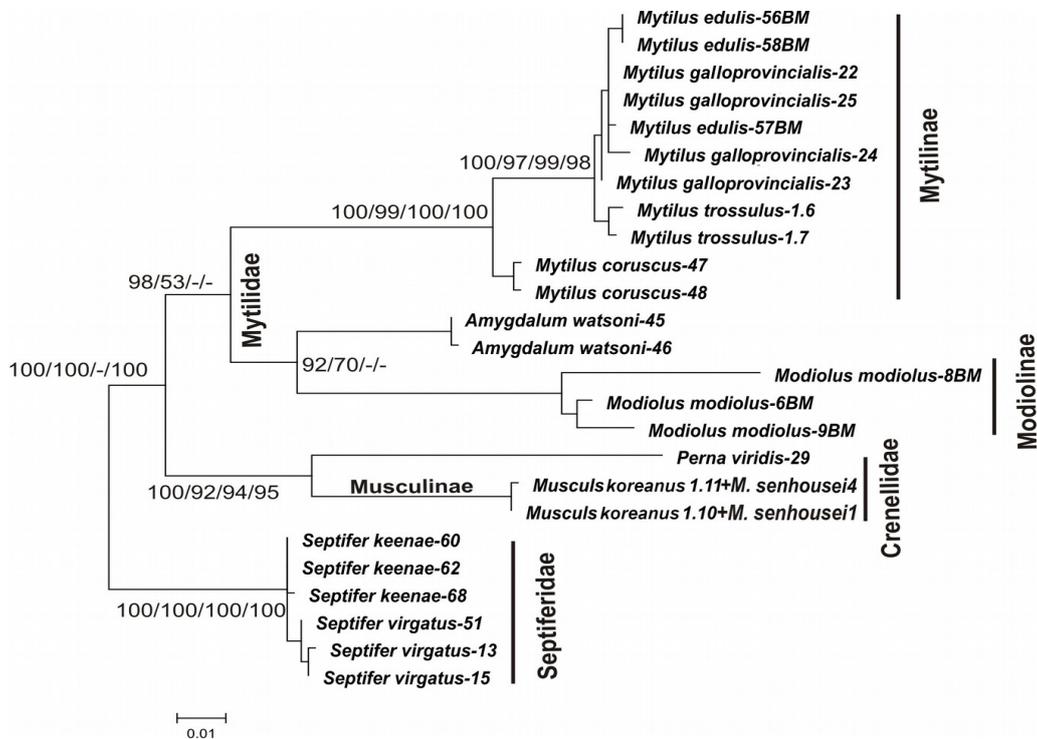


Рисунок 2. Укорененное консенсусное ВА-дерево мидий (*Mollusca*, *Mytilidae*), построенное на основе 25 объединенных последовательностей нуклеотидов генов 28S рРНК и гистона H3, с использованием методов реконструкции ВА/ML/MP/MJ. Поддержки даны в указанной последовательности. Пары последовательностей *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%.

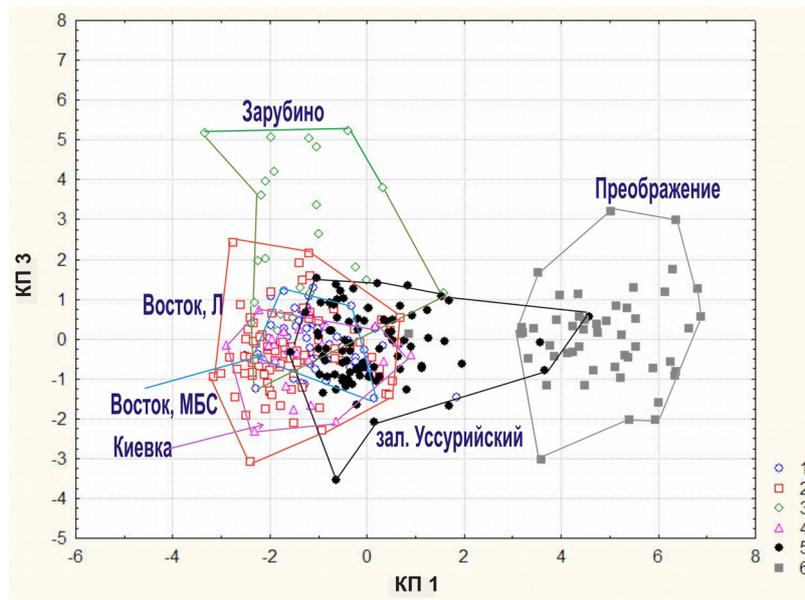


Рисунок 3. График распределения значений координат для двух канонических переменных (КП, КП 1 и КП 3) из 6 поселений мидий Японского моря, изученных по комплексу 11 признаков, 10 индексов и генотипических значений 6 локусов.

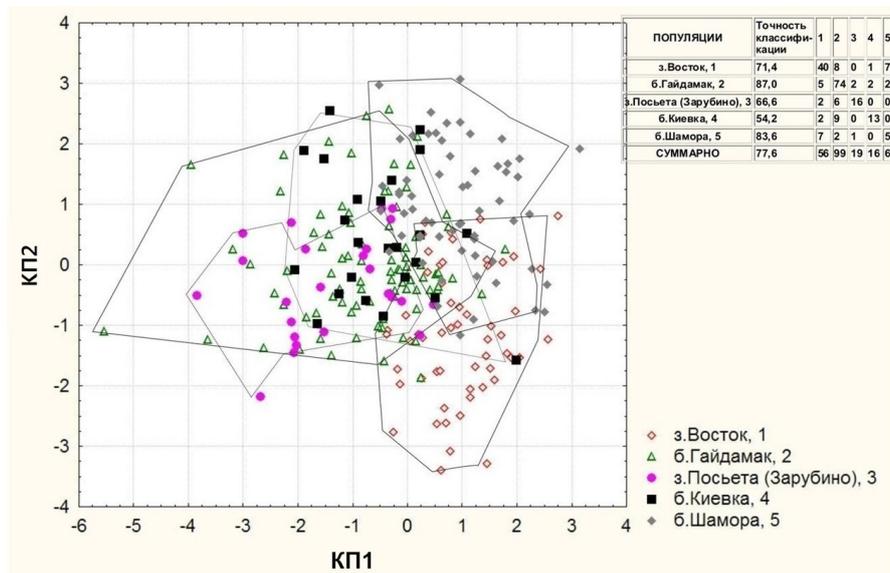


Рисунок 4. График распределения значений координат двух канонических переменных (КП 1 и КП 2) для модифицированных значений генотипов 6 аллозимных локусов и 10 морфологических индексов исследованных мидий 5 выборок. В таблице сверху справа показана точность дискриминации выборок по комплексу представленных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

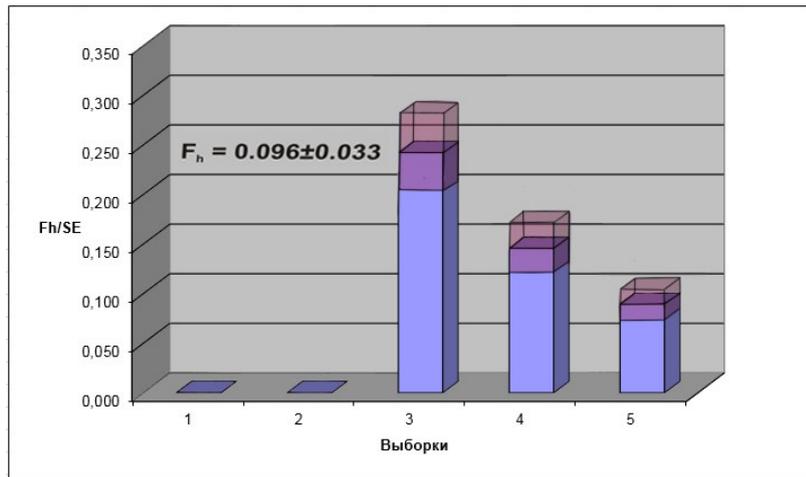


Рисунок 5. Распределение доли гибридных особей (Fh) в 5 исследованных выборках мидий по ДНК-маркеру *Me-5*. По оси X – номера выборок, по оси Y – значения Fh/SE по локусу *Me-5* в выборках 2012 г. Нумерация выборок: 1 – зал. Восток, МБС «Восток», 2 – зал. Восток, б. Ливадия, 3 – зал. Посыета, пос. Зарубино, 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
	<b>0,0153 ± 0,0057</b>			<b>0,0462 ± 0,0133</b>			<b>0,0257 ± 0,0121</b>		
<b><math>Dm^{\wedge}(F'_{st})</math></b>	<b>(0,0425 ± 0,0120)</b>			<b>(0,1330 ± 0,0300)</b>			<b>(0,0732 ± 0,0200)</b>		

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).

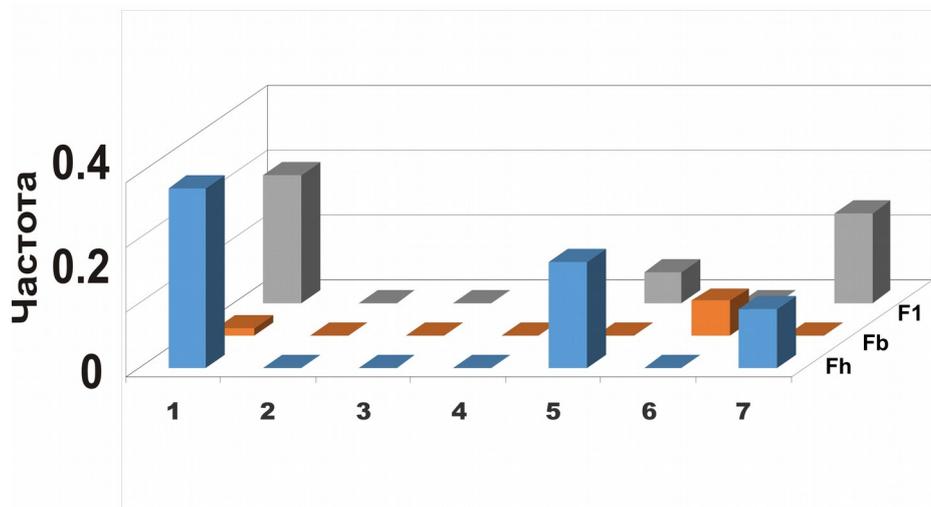


Рисунок 6. Пример изменчивости частоты трех типов гибридов ( $F_h$ ,  $F_b$ ,  $F_1$ ) комплекса мидий *Mytilus* ex. group *edulis* в Японском море, но отсутствия потока генов между видами или его малого эффекта. По оси X – номера выборок из поселений мидий в заливе Петра Великого Японского моря и близких 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