

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЙ ЛОКУС, ВОВЛЕЧЕННЫЙ В ИЗМЕНЧИВОСТЬ РАЗМЕРОВ ЧЕРЕПА ЛИСИЦ (*Vulpes vulpes*)

© 2023 г. А. В. Харламова^{1, *}, С. Г. Шихевич¹, А. В. Владимирова¹,
А. В. Кукекова², В. М. Ефимов^{1, 3, 4}

¹Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

²Университет штата Иллинойс в Урбана-Шампейн, Иллинойс, 61801 США

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090 Россия

⁴Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия

*e-mail: kharlam@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 21.11.2022 г.

После доработки 24.11.2022 г.

Принята к публикации 29.11.2022 г.

Представлены результаты анализа промеров черепа лисиц (*Vulpes vulpes*) из популяций, прошедших длительный отбор на дружелюбное (ручное, или доместикационное) и агрессивное поведение по отношению к человеку, а также не подвергавшихся направленному отбору по свойствам поведения. Краниометрические показатели сняты с двух выборок лисиц: 1) со 140 лисиц, потомков возвратного скрещивания гибридов первого поколения между представителями дружелюбной и агрессивной линий (F1), с представителями дружелюбной линии, 2) с объединенной выборки из 50 дружелюбных, 50 агрессивных и 50 неселекционированных по поведению (контрольных) особей. Потомки возвратного скрещивания ранее были генотипированы по 350 микросателлитным маркерам. Эти микросателлиты были использованы в настоящей работе для проведения совместного статистического анализа методом 2B-PLS генетических и краниометрических данных лисиц из первой выборки. Выявлен регион на 10-й хромосоме лисицы, маркированный тремя микросателлитами (FH2535, RVC1, REN193M22), контролирующей изменчивость размеров черепа. Вторая выборка была генотипирована только по трем маркерам, которые показали ассоциацию с размерами черепа у потомков возвратного скрещивания. Аналогичный анализ методом 2B-PLS этой выборки подтвердил участие региона на 10-й хромосоме лисицы в контроле размеров черепа, причем эта связь оказалась более выраженной у самцов, чем у самок. В идентифицированном геномном участке расположен ген *IGF1*, который обуславливает 15% изменчивости размеров тела у собак. Полученные в настоящей работе результаты дают основание предполагать участие гена *IGF1* в контроле размеров черепа лисиц.

Ключевые слова: лисица, отбор по поведению, размеры черепа, локусы количественных признаков.

DOI: 10.31857/S0016675823050089, **EDN:** FNUESY

Процесс доместикации характеризуется комплексными генетическими преобразованиями животных [1–3]. Одомашненные животные, как правило, отличаются от диких видов-предшественников пониженной агрессивностью по отношению к человеку и устойчивостью к стрессирующим факторам [4]. Хотя изменения в поведении являются ключевыми характеристиками доместикации, одомашненные животные также отличаются от диких предков и по другим признакам, в частности морфологическим параметрам [5]. Видом с наиболее ярким морфологическим разнообразием является домашняя собака (*Canis familiaris*). Доместикация собаки от волка началась не менее 15 тыс. лет назад [6–9]. Первые признаки исполь-

зования собак, в соответствии с их морфологическими характеристиками, были обнаружены при анализе черепов собак, живших около 9 тыс. лет назад [10]. В популяции собак на о-ве Жохов прослеживается четкое разделение между особями среднего размера, которых использовали как ездовых собак, и крупными собаками, которых использовали для охоты. Хотя основные морфологические типы уже обнаруживаются у собак, живших несколько тысяч лет назад [11–16], наиболее интенсивная селекция собак по морфологическим признакам началась с образованием пород. Регистрация стандартов пород собак в XIX в. и последующее их разведение как изолированных генетических линий способствовали увеличению

морфологических различий. Например, чихуахуа и дог различаются по весу более чем в 20 раз. Породное разведение также привело к значительным различиям в пропорциях черепа: брахицефальные породы собак характеризуются большой черепной коробкой и короткой мордой, а долихоцефальные породы — узким и удлинённым черепом. В настоящее время зарегистрировано около 400 пород собак, стандарт каждой из которых описывает породные характеристики поведения и морфологии.

Многообразие пород создало беспрецедентную возможность для изучения генетики морфологических признаков собак [17, 18]. В отличие от генетики человека, где такие количественные признаки, как рост, регулируются малыми вкладами большого числа генов [19], исследования морфологических признаков собак и сельскохозяйственных животных показывают, что количественные признаки у одомашненных животных могут контролироваться небольшим числом генов, имеющих значительный эффект [20–23]. Так, у собак около 65% вариации в размере тела контролируются шестью генами: *GHR*, *HMG2*, *IGF1*, *IGF1R*, *SMAD2* и *STC2* [24]. Генетический анализ размеров и формы черепа собак также обнаружил небольшое число локусов, вносящих значительный вклад в формирование межпородных различий [25–28]. Относительно простая генетическая архитектура морфологических признаков собак объясняется историей породного разведения. Хотя исследования на исторически одомашненных видах внесли фундаментальный вклад в изучение генетического регулирования признаков поведения и морфологии [29, 30], длительный искусственный отбор, который прошли все современные домашние животные, создает трудности в поиске генов, вклад которых был важен на ранних этапах одомашнивания. Гены, влияющие на генетическое преобразование животных на начальных этапах одомашнивания, можно попытаться найти в анализе экспериментально одомашненных животных.

Эксперимент по одомашниванию лисицы, проводимый более 60 лет в новосибирском Институте цитологии и генетики (ИЦиГ СО РАН), привел к созданию популяции ручных лисиц, напоминающих по поведению домашнюю собаку [3]. В отличие от исторически одомашненных животных, история которых включает в себя селекцию по самым разнообразным признакам, экспериментальная domestикация лисиц велась путем интенсивного отбора по единственному признаку — на дружелюбное отношение к человеку. Кроме того, в ИЦиГ СО РАН более сорока лет ведется отбор совхозных лисиц на агрессивное поведение по отношению к человеку [3, 31]. Агрессивная популяция характеризуется более негативным отношением к человеку, чем совхозные лисицы, разводимые

в клеточных условиях, но не подвергающиеся прямому отбору по поведению. Экспериментальная популяция дружелюбных лисиц может быть использована как аналог ранних этапов одомашнивания при сравнении ее с совхозными лисицами. Как и исторически одомашненные виды, лисицы ИЦиГ СО РАН демонстрируют многие признаки, связанные с изменением поведения [3, 31]. Интересным представляется исследование связи отбора с изменением пропорций черепа, поскольку показано, что краниальные признаки в процессе domestикации млекопитающих претерпевают значительные изменения [32, 33]. Ранее у дружелюбных лисиц были показаны изменения пропорций черепа [34, 35], а также увеличение объема серого вещества по сравнению с совхозными неселекционируемыми по поведению лисицами [36].

В настоящей работе мы провели генетический анализ краниометрических данных дружелюбных, агрессивных и неселекционированных по поведению (контрольных) лисиц. Первый этап анализа был проведен с использованием беккроссов, являющихся потомками возвратного скрещивания гибридов первого поколения между представителями дружелюбной и агрессивной линий (F1), с представителями дружелюбной линии. Поскольку ранее эти животные были генотипированы по 350 микросателлитным маркерам равномерно распределенными по геному лисицы, а также протестированы по их реакции на человека [37], мы поставили задачу провести поиск участков генома лисицы, вовлеченных в вариацию краниологических признаков, и попытаться выявить локусы, общие для вариации этих признаков и поведения. В результате генетического анализа были обнаружены участки в геноме лисицы, показавшие связь с краниометрическими признаками независимо от поведения. Один из обнаруженных локусов содержит ген *IGF1*, который отвечает за ~15% вариации в размере собак [26]. Анализ данного локуса в независимых выборках из ручной, агрессивной и совхозной популяций подтвердил связь выявленного участка генома с краниометрическими признаками лисиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

В исследовании использованы лисицы из экспериментальных популяций новосибирского ИЦиГ СО РАН, прошедшие многолетний отбор по свойствам поведения — на domestикационное (доместицируемые, или ручные лисицы) и агрессивное поведение по отношению к человеку, а также лисицы ИЦиГ СО РАН, не подвергающиеся специальному отбору по свойствам поведения. На первом этапе в анализ были включены 140 потомков

возвратного скрещивания гибридов первого поколения (F1) между доместизируемыми и агрессивными особями с представителями исходной популяции доместизируемых лисиц. Возраст животных на момент исследования составлял 12 мес.

На втором этапе использована вторая выборка — из ручных, агрессивных и не подвергавшихся отбору лисиц ИЦиГ СО РАН (по 50 животных из каждой популяции, в равном количестве самцов и самок, всего 150 животных). На данном этапе исследования животные из трех указанных популяций были объединены вместе. В анализ включали объединенную группу, состоящую из ручных, агрессивных и неселекционируемых по поведению лисиц. Возраст животных на момент исследования — 8 мес. В этом возрасте молодые лисицы близки по размеру и пропорциям тела к взрослым особям.

Правила работы с животными в ИЦиГ СО РАН соответствуют международным нормам охраны животных, используемых в научных целях (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза). Условия содержания и ухода идентичны для всех лисиц, содержащихся на экспериментальной ферме ИЦиГ СО РАН.

Фенотипирование по краниометрическим признакам

Измерение краниальных признаков лисиц-потомков возвратного скрещивания ($n = 140$) проводили на цифровых рентгенограммах с использованием программы Looker (разработчик — Институт прикладной физики СО РАН, Новосибирск). Для этого животных рентгенофотографировали в трех проекциях (фронтальной, левой и правой) в возрасте одного года. Каждое животное было охарактеризовано по 21 метрическому признаку (список промеров приведен в табл. 1). Схема измерений была опубликована ранее [38]. Для минимизации возможных ошибок все измерения были проведены дважды одним исследователем. Для каждого из промеров были вычислены среднегрупповые значения и среднеквадратическое отклонение (сигма). После этого искали значения, уклоняющиеся от среднегруппового за пределы трех сигм. Такие измерения считались выполненными некорректно, или “выбросами”, и были исключены. Такие промеры были повторены третий раз. В анализ всегда включали среднее значение из двух корректных измерений.

Краниометрические признаки животных из второй выборки (исходных родительских популяций ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц) были измерены на очищенных черепахах, полученных путем вываривания после планового забоя. Измерения сделаны с использованием электронного цифрового штангенциркуля (цена деле-

ния 0.01 мм). Каждое животное охарактеризовано 23 краниометрическими признаками. Один и тот же исследователь проводил измерения дважды. Как и в первой выборке, значения, уклоняющиеся от среднегруппового за пределы трех сигм, считались некорректными, исключались и измерялись заново, как описано выше для беккроссов. В анализ всегда включали среднее значение из двух корректных измерений. Перечень промеров и схема измерения из второй выборки приведены на рис. 1. Средние значения промеров для самцов и самок приведены в табл. 2.

Анализ исходных признаков второй выборки проводили методом главных компонент [39] в пакете Statistical10. По значению первой из главных компонент (определяющей общий размер) были выделены особи, характеризующиеся наиболее крупным и наиболее мелким черепом, которые затем анализировались с помощью программы 2B-PLS, как и потомки возвратного скрещивания. Две выборки (потомков возвратного скрещивания и исходных родительских линий) никогда не смешивались и всегда анализировались отдельно. Для того чтобы исключить влияние пола на размерные признаки, исходные данные были выровнены по полу (для этого из исходных значений у самок было вычтено среднее значение по самкам, у самцов — среднее значение по самцам). После этой процедуры проводили анализ главных компонент. Анализ морфологической изменчивости лисиц и собак, проведенный нами ранее, показал высокую степень их гомологии по главным компонентам — интегральным показателям, выявленным для скелетных признаков, а также высокую наследуемость компонент [40, 41].

Генотипирование по микросателлитным маркерам

Потомки от возвратного скрещивания были ранее генотипированы по 350 микросателлитным маркерам (SSR, simple sequence repeat) для поиска локусов, отвечающих за доместикационное и агрессивное поведение, процедура генотипирования и подсчета аллелей для маркеров описана ранее [37]. Список маркеров см. [Supplementary, Table 3, 37].

Выделение ДНК и генотипирование животных из второй выборки (представителей ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц) проводили в ходе настоящей работы в ИЦиГ СО РАН. Образцы крови были собраны из *vena safena*. ДНК выделяли из образцов крови методом фенольной экстракции [42]. Животные из второй выборки были генотипированы по трем микросателлитным маркерам (RVC1, REN193M22 и FH2535) — тем, которые показали ассоциацию с размером черепа беккроссов.

Таблица 1. Корреляции морфологических признаков с первой парой бикомпонент (генетической и морфологической). 2B-PLS-анализ потомков лисиц от возвратного скрещивания гибридов первого поколения между представителями дружелюбной и агрессивной линий (F1) с представителями дружелюбной линии

Признак	Генетическая ось_01	Морфологическая ось_01	Генетическая ось_02	Морфологическая ось_02
Длина черепа (фронт.)	0.663	0.927	–0.149	–0.236
Длина черепа (лев.)	0.591	0.910	–0.156	–0.252
Длина черепа (прав.)	0.655	0.909	–0.168	–0.275
Скуловая ширина	0.685	0.879	0.063	0.097
Ширина атланта	0.619	0.865	–0.016	–0.125
Длина нижней челюсти (прав.)	0.560	0.847	–0.192	–0.311
Ширина моляра	0.560	0.813	–0.025	0.004
Ширина нижней челюсти (лев.)	0.613	0.805	0.087	0.059
Длина носовой кости	0.480	0.790	–0.275	–0.391
Ширина сосцевидного отростка	0.559	0.775	0.158	0.131
Ширина мозговой капсулы	0.521	0.675	0.033	0.129
Длина шеи	0.460	0.640	0.068	0.012
Высота носовой кости (прав.)	0.402	0.549	0.06	0.095
Высота мозговой капсулы	0.330	0.465	0.454	0.629
Высота носовой кости (лев.)	0.319	0.464	0.024	0.072
Ширина между клыками	0.215	0.402	0.112	0.168
Длина нижней челюсти (лев.)	0.236	0.321	–0.204	–0.331
Высота нижней челюсти (прав.)	0.232	0.300	0.331	0.379
Высота мозговой капсулы без слуховых барабанов	0.151	0.219	0.415	0.59
Ширина плеч	0.138	0.184	0.311	0.356
Высота нижней челюсти (лев.)	–0.015	0.005	0.188	0.362

Генотипы ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц по микросателлитам RVC1, REN193M22 и FH2535 определяли с помощью ПЦР. Праймеры и условия амплификации описаны ранее [43, 44]. Прямой праймер каждого маркера был помечен флуоресцентным красителем FAM. Последующий фрагментный анализ проводили в ЦКП “Геномика” ИЦиГ СО РАН на приборе Applied Biosystems 3130xl в присутствии GeneScan-500 LIZ Size Standard. Для анализа результатов использовали программное обеспечение “Peak Scanner” (Applied Biosystem, США). Результаты ПЦР анализировали индивидуально для каждого маркера, аллели идентифицировали исходя из длины фрагментов микросателлитной последовательности. Информация о генотипах животных из второй выборки по каждому из аллелей микросателлитных маркеров лисицы для включения ее в анализ была записана в следующем виде: название маркера_длина микросателлитной последовательности_количество копий конкретного аллеля у конкретного животного, т.е. “0” – отсутствие данного аллеля, “1” – гетерозигота и “2” – гомозигота по данному аллелю.

2B-PLS-анализ

Первая и вторая выборки анализировались отдельно с помощью метода 2B-PLS (two-block partial least-squares analysis) [45] в пакетах программ PAST и Jacobi4 [46]. Данные для анализа каждого животного из первой выборки (поколение беккроссов) включали информацию о генотипах по 350 микросателлитным маркерам, записанную в виде длин двух аллелей (далее они определяются как “генетические” признаки), и 21 промере черепа (далее – “морфологические” признаки). Данные для анализа второй выборки (ручные, агрессивные и неселекционированные лисицы) включали информацию о генотипах по трем маркерам (RVC1, REN193M22 и FH2535), локализованным на 10-й хромосоме, и 23 краниометрическим признакам. Метод 2B-PLS базируется на возможности геометрического представления объектов в виде точек евклидова пространства невысокой размерности для любых типов описаний. Для каждого типа данных строится своя матрица расстояний между объектами. По всем матрицам расстояний между объектами вычисляются представляющие их евклидовы пространства. Систе-

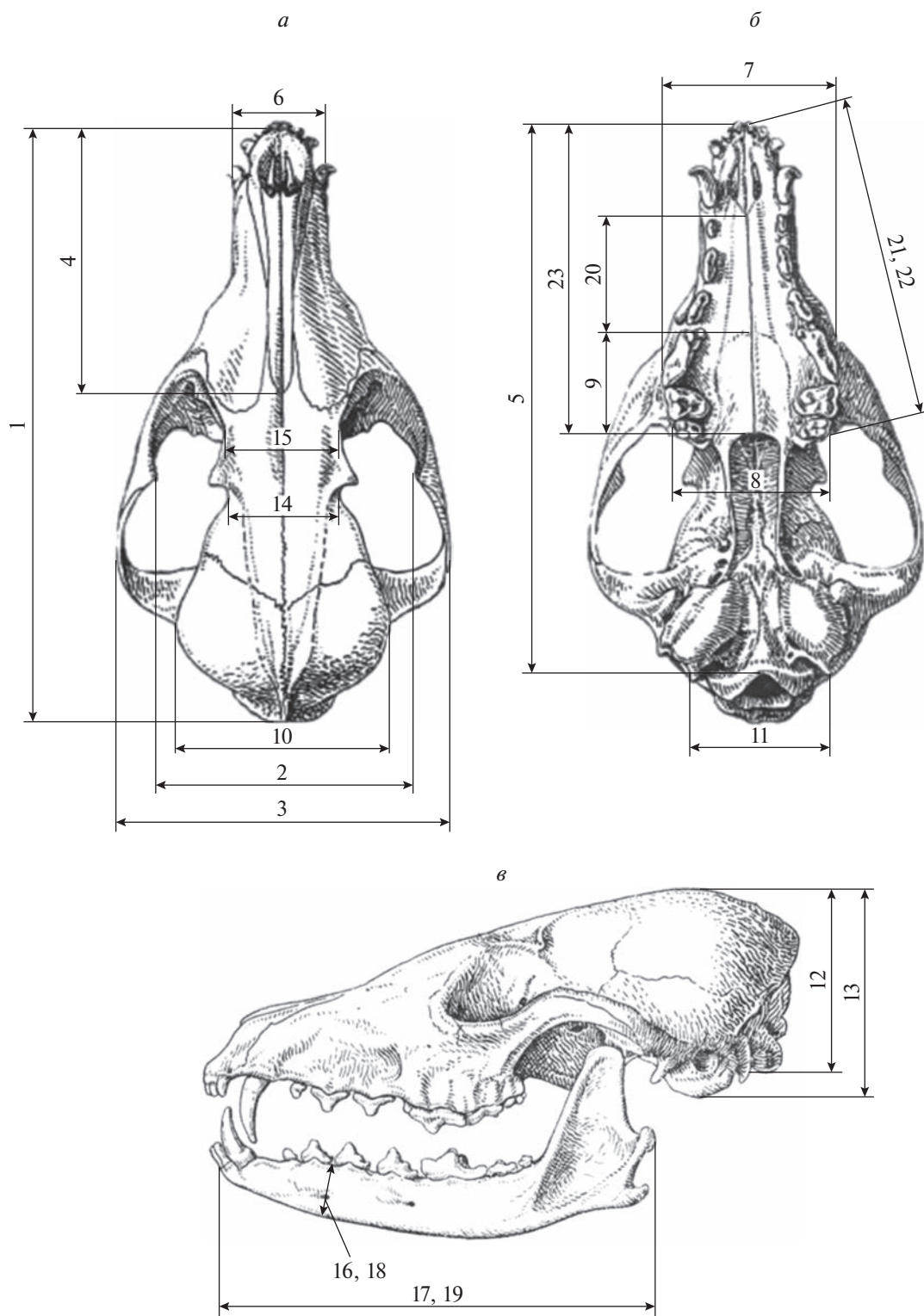


Рис. 1. Схема промеров черепа лисиц из выборки ручных, агрессивных и неселекционированных по поведению. *а* – фронтальная проекция, вид сверху; *б* – фронтальная проекция, вид снизу; *в* – боковая проекция. 1 – общая длина черепа; 2 – ширина на уровне орбит; 3 – скуловая ширина; 4 – длина лицевой части черепа; 5 – базальная длина черепа; 6 – ширина на уровне клыков; 7 – ширина на уровне премоляров; 8 – ширина на уровне моляров; 9 – длина нёбной кости; 10 – ширина мозгового черепа; 11 – ширина на уровне сосцевидного отростка (мастоида); 12 – высота мозговой капсулы без слуховых барабанов; 13 – максимальная высота мозговой капсулы; 14 – заглазничная ширина; 15 – межглазничная ширина; 16 – высота нижней челюсти (лев.); 17 – длина нижней челюсти (лев.); 18 – высота нижней челюсти (прав.); 19 – длина нижней челюсти (прав.); 20 – нёбный отросток преднёбной верхней челюсти; 21 – длина верхнего зубного ряда (прав.); 22 – длина верхнего зубного ряда (лев.); 23 – длина твердого нёба.

Таблица 2. Средние значения (мм) промеров ручных, агрессивных и неселекционируемых по поведению самцов и самок лисиц

Номер промера	Ручные самцы (n = 25)	Ручные самки (n = 23)	Агрессивные самцы (n = 25)	Агрессивные самки (n = 25)	Контрольные самцы (n = 25)	Контрольные самки (n = 26)
1	148.0 ± 0.88	139.7 ± 0.44	147.4 ± 0.62	140.6 ± 0.57	146.2 ± 0.68	141.1 ± 0.80
2	63.9 ± 0.54	61.0 ± 0.30	64.7 ± 0.33	62.5 ± 0.31	63.4 ± 0.38	62.1 ± 0.54
3	75.0 ± 0.40	71.1 ± 0.30	76.0 ± 0.34	72.5 ± 0.30	73.4 ± 0.35	72.3 ± 0.45
4	55.2 ± 0.62	51.8 ± 0.35	54.7 ± 0.35	51.7 ± 0.46	55.4 ± 0.49	52.3 ± 0.39
5	134.9 ± 0.74	127.5 ± 0.44	133.3 ± 0.61	127.7 ± 0.64	132.4 ± 0.69	128.4 ± 0.68
6	24.3 ± 0.18	22.6 ± 0.16	25.1 ± 0.39	23.7 ± 0.19	24.8 ± 0.22	23.6 ± 0.22
7	41.6 ± 0.24	39.5 ± 0.22	41.5 ± 0.23	40.1 ± 0.21	41.1 ± 0.25	40.2 ± 0.26
8	37.4 ± 0.22	35.6 ± 0.20	37.6 ± 0.18	36.3 ± 0.20	37.2 ± 0.28	36.3 ± 0.25
9	21.7 ± 0.24	20.7 ± 0.19	21.5 ± 0.26	20.8 ± 0.26	20.9 ± 0.23	20.7 ± 0.19
10	48.3 ± 0.18	47.0 ± 0.23	48.3 ± 0.21	47.2 ± 0.26	48.1 ± 0.26	47.6 ± 0.26
11	35.9 ± 0.20	34.4 ± 0.19	35.5 ± 0.15	34.3 ± 0.19	35.3 ± 0.15	34.4 ± 0.1
12	41.8 ± 0.18	40.5 ± 0.15	41.5 ± 0.15	40.7 ± 0.23	41.9 ± 0.23	41.1 ± 0.24
13	49.6 ± 0.24	48.2 ± 0.15	49.4 ± 0.18	48.5 ± 0.27	50.1 ± 0.22	49.2 ± 0.30
14	24.6 ± 0.17	24.9 ± 0.30	25.1 ± 0.21	25.2 ± 0.25	24.5 ± 0.26	24.3 ± 0.31
15	26.4 ± 0.23	24.8 ± 0.21	28.1 ± 0.20	27.0 ± 0.19	26.9 ± 0.24	25.9 ± 0.21
16	10.3 ± 0.11	9.4 ± 0.11	10.0 ± 0.09	9.6 ± 0.09	10.4 ± 0.10	9.9 ± 0.11
17	109.4 ± 0.49	102.3 ± 0.38	108.3 ± 0.45	103.5 ± 0.41	107.6 ± 0.56	102.9 ± 0.56
18	10.5 ± 0.10	9.6 ± 0.10	10.2 ± 0.09	9.9 ± 0.10	10.6 ± 0.10	10.1 ± 0.14
19	109.1 ± 0.47	101.8 ± 0.42	108.4 ± 0.47	103.3 ± 0.40	107.3 ± 0.57	102.5 ± 0.54
20	33.5 ± 0.37	31.9 ± 0.32	32.5 ± 0.33	31.4 ± 0.28	32.6 ± 0.34	31.4 ± 0.37
21	77.9 ± 0.47	74.0 ± 0.34	77.3 ± 0.39	74.0 ± 0.44	77.4 ± 0.47	74.7 ± 0.47
22	77.9 ± 0.48	74.0 ± 0.32	77.2 ± 0.39	73.9 ± 0.44	77.2 ± 0.45	74.9 ± 0.48
23	77.0 ± 0.54	73.2 ± 0.35	75.9 ± 0.41	72.8 ± 0.44	75.1 ± 0.46	72.6 ± 0.50

Примечание. Обозначения и схема промеров приведены на рис. 1. Значения приведены в формате $M \pm SEM$.

мы координат в этих пространствах вращаются до получения максимального соответствия между конфигурациями объектов. Далее конфигурации объектов исследуются средствами многомерного анализа. В методе 2B-PLS вычисляются линейные комбинации (латентные векторы, или компоненты) между переменными двух блоков, которые максимально учитывают ковариацию между двумя исходными наборами данных, хотя существуют расширения PLS для моделирования отношений между большим количеством наборов [45, 47, 48]. Метод 2B-PLS успешно используется в мировой практике для анализа сложных количественных признаков [49–56], в том числе при анализе соответствия морфологических и молекулярно-генетических данных [29, 57–63]. В обоих рассматриваемых нами случаях для морфологических и генетических признаков лисиц были вычислены конгруэнтные друг другу компоненты краниометрической и генетической изменчивости (бикомпоненты – “морфологические” и “генетические”). Набор корреляций исходных мор-

фологических признаков с “морфологическими” компонентами позволяет дать им фенотипическую интерпретацию. Корреляции микросателлитных маркеров с генетическими компонентами могут дать информацию о локализации в геноме лисицы участков, вовлеченных в контроль изучаемых признаков [57, 58].

Пороговые значения уровня значимости для корреляции фенотипических и генетических признаков с бикомпонентами были рассчитаны с использованием критерия false discovery rate (FDR) [64]. Модуль порогового значения корреляции признаков с генетической и морфологической компонентами для уровня статистической значимости $P < 0.01$ составил 0.348, для уровня $P < 0.05$ – 0.280.

Для обработки данных использовались пакеты программ PAST (Paleontological statistics software package) [65], а также Jacobi4, разрабатываемый в ИЦиГ СО РАН [46]. Jacobi4 специально разработан для анализа и комбинирования данных раз-

Таблица 3. Доля ковариации генетической и морфологической изменчивости, описываемой бикомпонентами, рассчитанная для потомков лисиц от возвратного скрещивания (беккроссов) на ручного родителя

Бикомпоненты (пары осей)	Собственное значение	Процент общей ковариации	Кумулятивный % общей ковариации
Оси_01	0.646	66.431	66.431
Оси_02	0.068	7.034	73.465
Оси_03	0.044	4.569	78.034
Оси_04	0.038	3.953	81.988
Оси_05	0.032	3.249	85.237
Оси_06	0.027	2.745	87.981
Оси_07	0.022	2.283	90.265
Оси_08	0.016	1.685	91.950
Оси_09	0.014	1.458	93.408
Оси_10	0.012	1.253	94.662
Оси_11	0.011	1.145	95.807
Оси_12	0.009	0.894	96.701
Оси_13	0.008	0.801	97.501
Оси_14	0.006	0.662	98.163
Оси_15	0.006	0.572	98.734
Оси_16	0.004	0.438	99.172
Оси_17	0.003	0.330	99.502
Оси_18	0.002	0.188	99.690
Оси_19	0.001	0.148	99.838
Оси_20	0.001	0.117	99.956
Оси_21	0.000	0.044	100.000

личных типов, в том числе количественных и качественных признаков.

РЕЗУЛЬТАТЫ

2B-PLS анализ первой выборки (поколение беккроссов)

На основе данных о морфологии (краниометрических промерах) и генотипах (данные по 350 микросателлитным маркерам для каждой особи) лисиц поколения беккроссов были вычислены пары бикомпонент с помощью метода 2B-PLS. Первая из них описывает максимальную долю общей ковариации морфологических и генетических признаков (в данном анализе — 66%) (табл. 3). Биологическая интерпретация компонент определяется величиной и знаком корреляции исходных признаков с каждой из компонент. По значениям корреляции краниометрических признаков с первой “морфологической” компонентой (табл. 1) ее следует интерпретировать как размерную, так как все признаки показывают с ней высокую положительную корреляцию. Следовательно, более крупные особи будут иметь большие значения первой компоненты. Последующие компоненты вносят меньший вклад в изменчивость изучаемых

признаков (табл. 3). Они имеют различный знак и разный уровень корреляции с признаками, по которым эти компоненты могут быть интерпретированы как определяющие пропорции краниальных признаков. Для примера в табл. 1 представлены корреляции признаков со второй парой генетической и морфологической бикомпонент. В настоящей работе мы рассматриваем первую пару бикомпонент. Далее мы будем называть первую морфологическую компоненту “размерной”.

Корреляции же генетического признака с обеими бикомпонентами могут являться показателем участия данного локуса в формировании изучаемых фенотипических признаков. Так, статистически значимая корреляция с первой парой бикомпонент была обнаружена для 55 аллелей 48 микросателлитных маркеров, локализованных почти на каждой из хромосом (за исключением 3-й и 13-й) у лисиц-потомков возвратного скрещивания (Дополнительный материал, табл. 1). Выявленные локусы были сопоставлены нами с известными из литературы данными по генетическому контролю скелетных признаков у собак. Одним из наиболее интересных локусов является участок на 10-й хромосоме лисицы протяженностью менее 10 сМ. Три полиморфных маркера, локализован-

Таблица 4. Корреляции генетических признаков (микросателлитных маркеров) с первой парой бикомпонент (генетической и морфологической осями) на 10-й хромосоме лисицы. 2B-PLS-анализ, беккроссы

Генотип	Генетическая ось_01	Морфологическая ось_01	Частота носителей генотипа, %
Ch10_RVC1_151_0	0.333	0.333	60.0
Ch10_RVC1_151_1	−0.313	−0.321	32.3
Ch10_REN193M22_188_2	0.407	0.310	67.1
Ch10_REN193M22_191_0	0.407	0.310	67.1
Ch10_FH2535_186_0	0.154	0.289	65.0
Ch10_FH2535_186_1	−0.141	−0.282	26.0

Примечание. Генотипы записаны в следующем виде: номер хромосомы_название маркера_длина аллеля_число копий этого аллеля. Например, Ch10_RVC1_151_1 означает: гетерозигота по аллелю длиной 151 пн маркера RVC1 на 10-й хромосоме лисицы.

Таблица 5. Генетические варианты, выявленные у лисиц для каждого из маркеров Ch10_RVC1, Ch10_REN193M22, Ch10_FH2535

Название маркера	Хромосома лисицы	Хромосома собаки	Число аллелей маркера у лисицы	Перечень аллелей (длина в пн)
FH2535	10	15	5	174, 182, 186, 178, 196
RVC1	10	15	4	149, 151, 153, 155
REN193M22	10	15	2	188, 191

ных в данном участке, — RVC1, REN193M22 и FH2535 показали в настоящей работе статистически значимую связь с размерной осью (табл. 4, 5). Выявленный регион синтеном одному из ключевых регионов в геноме собак, вовлеченному в контроль изменчивости размеров тела [17, 26, 66]. Взаимное расположение этих микросателлитов на 10-й хромосоме лисицы, а также соответствующие им синтеномные участки 15-й хромосомы собаки показаны на рис. 2. На 15-й хромосоме собаки в районе 43.5 тпн, т.е. в участке между двумя микросателлитами, использованными в настоящей работе (RVC1_151 и REN193M22), локализован ген *IGF-1*, являющийся одним из ключевых в контроле размеров тела собак [21].

Распределение особей по генотипам одного из трех использованных в работе микросателлитов представлено графически на плоскости первых бикомпонент (рис. 3). Как было сказано выше, отрицательные значения оси соответствуют наиболее мелким, положительные — более крупным особям. Ось генотипов показывает количество копий соответствующего аллеля у каждой из особей (0, 1 или 2). Как следует из рис. 3, особи, несущие по крайней мере одну копию аллеля RVC1_151, по размеру черепа мельче особей, не имеющих данного аллеля. Неслучайное распределение особей разного генотипа в пространстве бикомпонент указывает на влияние аллеля RVC1_151 на размер черепа лисиц (значение кор-

реляций микросателлитных маркеров с первой морфологической осью приведены в табл. 4).

Анализ “размерного” локуса на десятой хромосоме лисиц из второй выборки (ручные, агрессивные и неселекционированные лисицы)

На втором этапе был проведен отдельный независимый анализ промеров черепа лисиц из второй выборки (по 25 самцов и 25 самок из ручной, агрессивной и неселекционируемой популяций — всего 150 особей). Эти животные представляют собой репрезентативную выборку из экспериментальных популяций, содержащихся на данном этапе на лисьей ферме ИЦиГ СО РАН. Очищенные черепа были измерены, полученные промеры проанализированы методом главных компонент. Как ранее было показано на собаках, главные компоненты (ГК) представляют собой интегральные признаки, которые могут охарактеризовать особь как по размерам, так и по пропорциям скелетных признаков [17]. Первая из компонент как у собак, так и в нашем исследовании объясняет наибольший процент изменчивости и описывает вариации размеров. Корреляции исходных признаков с ГК1 имеют очень высокие значения (например, с длиной черепа 0.94, со скуловой шириной 0.78). С учетом результатов анализа главных компонент для последующего генотипирования были отобраны 34 особи с мелкими размерами черепов (из области отрицательных значений ГК1), а также с

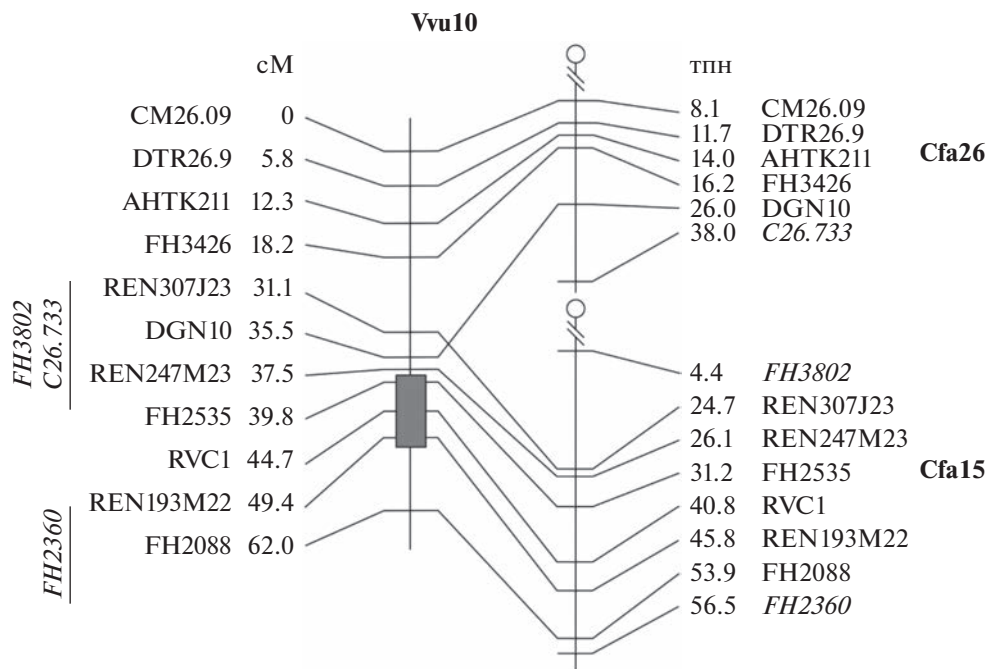


Рис. 2. Сравнительная карта 10-й хромосомы лисицы (Vvu10) с гомологичными участками генома собаки (Cfa15 и Cfa26 – 15-я и 26-я хромосомы собаки) (из: Kukekova et al., 2007, Genome Research [44]).

крупными черепами (из области положительных значений ГК1), наиболее контрастные как по абсолютным размерам черепа, так и по первой главной компоненте.

Генотипы определяли по трем описанным выше микросателлитным маркерам (RVC1, REN193M22 и FH2535) для подтверждения вклада этих маркеров в вариацию размеров черепа лисиц. Перечень контрастных животных, их принадлежность к той или иной популяции, краниометрические данные и генотипы представлены в табл. 6. Информация о генотипе каждого животного, как и ранее для беккроссов, была записана в виде дозы (числа копий 0, 1 или 2) каждого аллеля каждого из трех маркеров и проанализирована в пакете программ PAST для оценки степени их совместного влияния на краниологический фенотип – были вычислены PLS-оси (бикомпоненты) совместной генетической и морфологической изменчивости. В результате была выявлена статистически значимая связь между генетической и морфологической осями (коэффициент корреляции между осями $r = -0.4137$, $P = 0.015$; $n = 34$, самцы и самки вместе, рис. 4).

После этого мы определили генотипы по тем же трем микросателлитам у оставшихся животных из второй выборки, добавили их данные к контрастным по размерам животным и провели аналогичный анализ. Компонентный анализ показал, что на долю первой компоненты (ГК1), описывающей вариацию размеров черепа этой

выборки, приходится 49.9% общей изменчивости. Далее значение ГК1 было взято в качестве размерного фенотипа, и в пакете PAST был вычислен коэффициент корреляции ГК1 с генотипом по трем перечисленным выше микросателлитам, локализованным на 10-й хромосоме лисицы, для объединенной выборки измеренных лисиц (также без учета их поведения): $r = 0.240$, $P = 0.007$ ($n = 127$). Анализ, проведенный отдельно для самцов и самок, показал статистически достоверную корреляцию у самцов ($r = 0.282$, $P = 0.026$, $n = 62$; рис. 5). У самок не обнаружено статистически значимой корреляции ($r = 0.202$, $P = 0.106$, $n = 65$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то что размер тела является одним из классических примеров полигенных признаков, в последние годы у разных видов животных выявляется ключевое влияние отдельных генов на этот признак. В особенности это касается исследований на одомашненных видах, претерпевших сильное давление искусственного отбора по различным признакам, в том числе по размеру тела. Например, показано влияние на размер тела генов из семейства *Insulin growth factor* у собак [21, 66]. Одним из генов-кандидатов у свиней является *IGFBP-6* – ген *insulin-like growth factor binding protein-6* (IGF-связывающий белок) [67]. Описаны четыре ключевых гена, участвующих в регуляции размеров тела лошадей [68]. Влияние гена

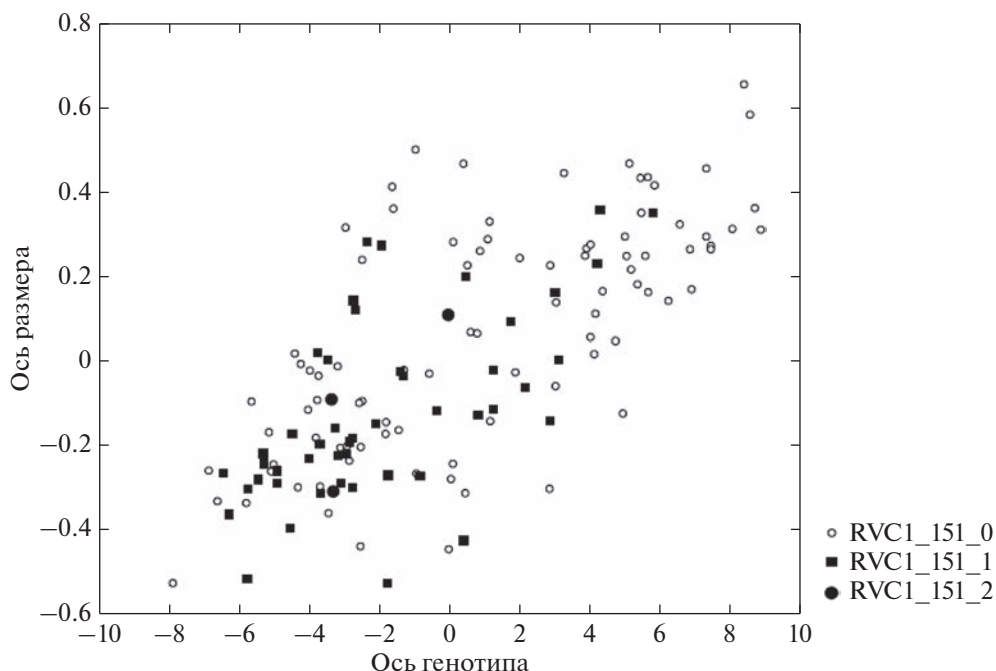


Рис. 3. Распределение генотипов маркера RVC1 на плоскости бикомпонент у потомков возвратного скрещивания. Оси размера и генотипа — первые, т.е. максимальные по вкладу в изменчивость морфологическая (“размерная”) и генетическая оси, рассчитанные методом 2B-PLS для оценки ковариации генетических и морфологических признаков лисиц. RVC1_151 — один из аллелей маркера RVC1 длиной 151 пн. Полые кружки RVC1_151_0 — особи, не имеющие данного аллеля; закрашенные кружки RVC1_151_2 — особи, гомозиготные по RVC1_151; закрашенные квадраты RVC1_151_1 — особи, гетерозиготные по данному аллелю.

IGF-1 на размерные признаки показано также для мыши [69, 70] и человека [70].

Анализ промеров черепа потомков возвратного скрещивания методом 2B-PLS

Анализ обнаружил значимую ковариацию морфологических признаков с многочисленными микросателлитами, локализованными на различных хромосомах лисицы (см. Дополнительные материалы, табл. 1). В настоящей работе более детальному анализу был подвергнут один из локусов, маркированный тремя микросателлитами, локализованными на участке протяженностью менее 10 см на 10-й хромосоме лисицы. Каждый из этих микросателлитов показал статистически значимую связь с наиболее значимой по вкладу в изменчивость, описывающей вариации размеров компонентой. Этот участок генома лисицы синтенен участку 15-й хромосомы собаки, в котором ранее был обнаружен локус, сцепленный с размером тела у самок португальской водной собаки [71]. В нем локализован ген *IGF1*, обуславливающий 15% вариабельности размеров у собак [26, 66]. Ранее показано, что один из трех наиболее часто встречающихся аллельных вариантов *IGF1* является главным фактором, определяющим

мелкий размер у собак [21]. Как было сказано выше, участие гена *IGF1* в контроле размеров тела показано для разных видов млекопитающих [21, 26, 67–71], причем у псовых размер контролируется наличием разных мутаций [72]. В недавней работе у собак и волков выявлена новая одонуклеотидная замена (SNP) в локусе *IGF1*, связанная с крупным размером тела [72]. Авторами собран большой материал в поддержку того, что за крупный размер у собак и волков отвечает аллель *T* этого SNP. Однако у других псовых, в том числе и у лисиц, аллеля *T* обнаружено не было. Как мы показали в настоящей работе, различия по размеру черепа у лисиц также картируются в геномный участок, содержащий ген *IGF1*. Можно предположить, что если у лисиц размер тоже регулируется действием *IGF1*, то за это у них отвечает не та же, что у собак и волков, а другая мутация в этом гене. Это предполагает, что механизм вариации размера у псовых (возможно, и в целом у млекопитающих) довольно консервативен, в него вовлечен *IGF1*, но даже у таких относительно близкородственных видов как лиса и собака мутации, влияющие на размер, могут быть разные. Нельзя исключить, однако, что за различия в размере у лисиц может отвечать и другой ген в этом локусе.

Таблица 6. Генотипы (пн) по трем маркерам и значение “размерной” компоненты (ГК1) для 34 лисиц, наиболее контрастных по размеру черепа

Номер	ГК1	Популяция	Возраст	REN193M22	REN193M22	FH2535	FH2535	RVC1	RVC1
7424-1м	-7.64	А	243	188	188	178	196	149	151
Кафе-1м	-7.32	Р	231	188	191	178	196	153	151
466-1м	-6.59	Н	243	188	188	178	186	155	155
7456-1м	-5.84	А	246	188	191	174	178	153	155
7824-1м	-5.74	А	246	188	188	178	182	153	155
292-1м	-5.50	Н	231	188	191	174	186	153	155
Джей-1м	-4.89	Р	227	191	191	178	178	149	151
254-1м	-4.74	Н	248	188	188	182	186	155	155
232-1м	-4.65	Н	231	188	188	182	186	153	155
Мура-1м	-4.55	Р	235	188	191	182	186	149	151
508-1ж	-3.96	Н	232	188	188	174	186	153	155
7936-1м	-2.72	А	243	188	188	174	178		
256-1ж	-2.45	Н	232	188	188	182	190	153	151
314-1ж	-2.29	Н	239	188	188	174	178	153	155
Аспи-1м	-1.72	Р	204	188	188	182	182	153	151
7972-1ж	-0.84	А	255	188	188	196	186	155	155
7838-1ж	-0.66	А	254	188	188	182	196	153	155
7848-1ж	-0.53	А	247	188	188	178	186	155	151
7768-1ж	-0.24	А	238	188	188	178	196	153	155
618-1м	0.01	Н	235	188	188	174	178	153	155
612-1ж	0.20	Н	259	188	188	182	182	153	151
230-1м	0.34	Н		188	191	182	196	153	155
264-1м	2.45	Н	231	188	188	182	182	153	
Дева-1м	3.10	Р	250	188	188	182	182	153	153
452-1м	3.96	Н	232	188	188	174	182	153	153
612-2ж	4.06	Н	259	188	188	174	182	153	151
602-1ж	4.62	Н	247	188	188	178	182	149	153
Адап-1м	4.65	Р	247	188	191	182	186	151	151
7244-1ж	5.00	А	248	188	188		196	153	155
7528-1ж	5.19	А	252	188	188	196	196	153	155
960-1ж	5.42	Н	248	188	188	178	196		
Экст-1ж	5.55	Р	244	188	188	182	178	153	151
7972-2ж	5.87	А	255	188	188	196	186	155	155
7754-1ж	6.27	А	250	188	188	178	178	153	155

Примечание. Номер – уникальный идентификационный номер (имя) животного (ж – самка, м – самец); А – агрессивные, Р – ручные, Н – неселекционированные по поведению; возраст указан в днях на момент измерения; ГК1 – значение первой главной компоненты, описывающей вариацию размеров черепа.

Анализ “размерного” локуса на десятой хромосоме у потомков ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц

Анализ подтвердил показанную на беккроссах связь размерной компоненты с участком на 10-й хромосоме лисицы. Такая связь была значимой для наиболее контрастных по абсолютным разме-

рам тела лисиц ($n = 34$, $P = 0.015$). При анализе же выборки, в которую были включены как селекционированные по поведению, так и контрольные животные, данная связь оказалась более выраженной у самцов лисиц. У самок не обнаружено достоверной корреляции между размерной и генетической осями. Ранее при анализе ручной и

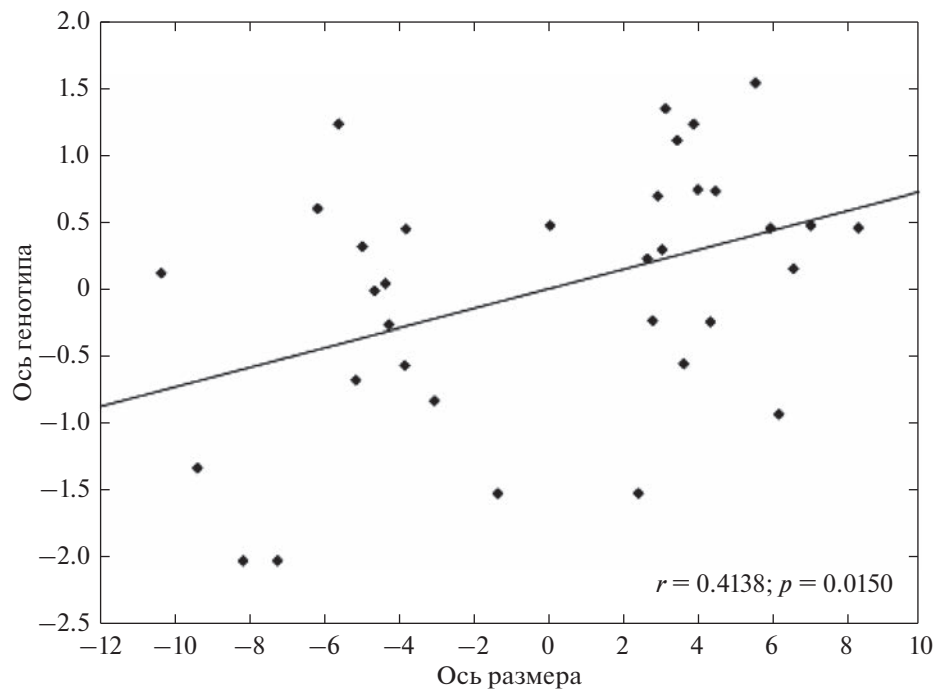


Рис. 4. Распределение в пространстве первой пары (размерной и генетической) осей особей ручных, агрессивных и не-селекционированных лисиц. Ось генотипа рассчитана на основе информации по микросателлитным маркерам Ch10_RVC1, Ch10_REN193M22 и Ch10_FH2535 для $n = 34$ контрастных по размеру черепа лисиц (в том числе 18 самцов и 16 самок). Линия показывает регрессию генотипической оси на размерную ось.

агрессивной популяций лисиц влияние отбора по поведению выявлялось для отдельных скелетных признаков [34, 41]. Отбор на ручное поведение изменяет пропорции черепа лисиц в том же направлении, в каком они изменяются у исторически одомашненных видов, и этот эффект был также более выражен у самцов [34, 35]. Мы видим возможное объяснение в том, что искусственный отбор по любым признакам среди самцов является более интенсивным, поскольку в промышленных популяциях лисиц, как и в нашей экспериментальной, соотношение самцов и самок поддерживается на уровне 1 : 3. То есть количество самцов, отбираемых для размножения, как правило в 3 раза меньше количества отбираемых на племя самок. Поэтому можно ожидать, что любые коррелированные изменения в процессе отбора в первую очередь коснутся самцов. На собаках, однако, было показано, что синтенный выявленному нами локус, маркированный микросателлитом FH2295 на 15-й хромосоме португальских водных собак, сцеплен с размерными признаками самок [71].

На современном этапе отбора было выявлено увеличение объема серого вещества мозга у ручных лисиц по сравнению с неселекционируемыми по поведению, причем одни и те же области увеличены в объеме при отборе как на ручное, так и на агрессивное поведение [36]. Этот факт хотя и противоречит общепринятым представлениям об

уменьшении объема мозга при доместикации [73], он свидетельствует, что отбор по поведению в противоположных направлениях (на дружелюбие и агрессивность) может аналогичным образом влиять на морфологию мозга и расширяет наши представления о возможных эффектах такого отбора [36]. Кроме того, интересным является то, что аллельный вариант *IGF1*, показывающий связь с мелким размером собак, в то же время демонстрирует связь с признаками поведения [74]. В настоящей работе также показано, что некоторые из микросателлитных маркеров (на 8-й, 12-й, 14-й и 15-й хромосомах лисицы — см. Дополнительные материалы, табл. 1), обнаруживших значимую ассоциацию с размерами черепа лисиц, расположены в геномных районах, отвечающих за различия в поведении между ручными и агрессивными лисицами [3, 75]. Мы предполагаем провести дальнейший детальный анализ этих районов, чтобы оценить их потенциальную связь с морфологией и поведением лисиц.

Выражаем искреннюю благодарность Л.Н. Трут, Ю.Э. Гербеку и Р.Г. Гулевич за участие в обсуждении результатов, ЦКП Геномных исследований ИЦиГ СО РАН и Г.В. Васильеву за проведенный фрагментный анализ ДНК лисиц, а также Marshfield Laboratories Mammalian Genotyping Service и сотруднице Корнелльского университета (Итака, США) Светлане Темных за генотипирование об-

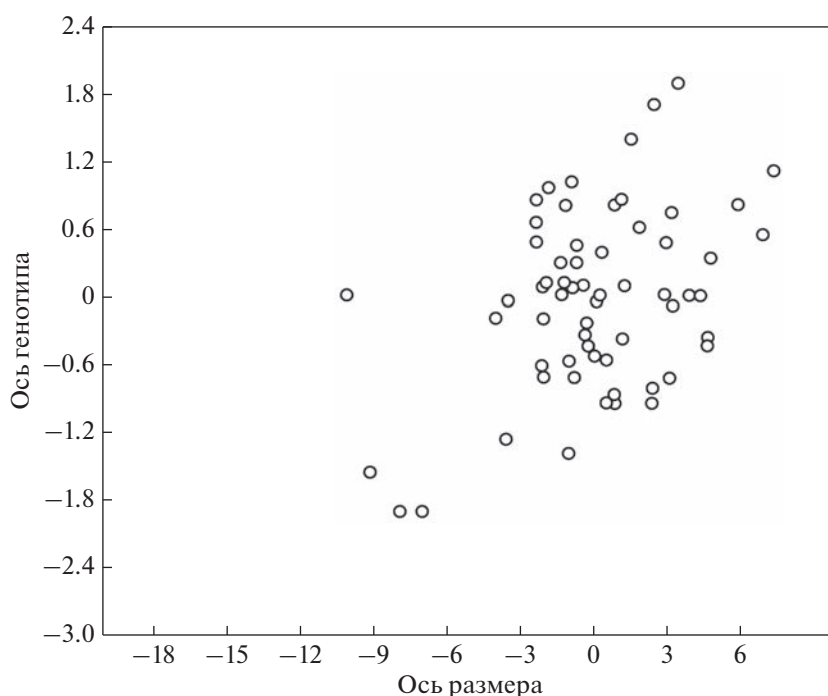


Рис. 5. Распределение в пространстве первой пары (размерной и генетической) осей самцов ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц (корреляция размерной оси с осью генотипа: $r = 0.282$, $P = 0.026$; $n = 62$). Ось генотипа рассчитана на основе информации по трем микросателлитным маркерам: Ch10_RVC1, Ch10_REN193M22 и Ch10_FH2535.

разцов лисиц-потомков возвратного скрещивания с помощью набора микросателлитных маркеров собак.

Содержание и разведение экспериментальных животных в ЦКП “Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных” ИЦиГ СО РАН поддерживались бюджетным проектом № FWNR-2022-0019. Экспериментальная работа частично поддержана проектом РНФ № 21-44-04405.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Belyaev D.K. Destabilizing selection as a factor of domestication // *J. Hered.* 1979. V. 70. P. 301–308.
2. Coppinger R., Coppinger L. *Dogs: A Startling New Understanding of Canine Origin, Behavior & Evolution*. N.Y.: Scribner, 2001. 356 p.
3. Trut L., Oskina I., Kharlamova A. Animal evolution during domestication: the domesticated fox as a model // *BioEssays*. 2009. V. 31. № 3. P. 349–360. <https://doi.org/10.1002/bies.200800070>
4. Price E.O. *Animal Domestication and Behavior*. Wallingford, United Kingdom: CABI Publ., 2002. 297 p.
5. Clutton-Brock J. *Origins of the dog: the archaeological evidence* // *The Domestic Dog: Its Evolution, Behavior and Interactions with People*. Second ed. Cambridge: Cambr. Univ. Press, 2017. P. 7–22.
6. Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S. et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog // *Nature*. 2005. V. 8. № 438(7069). P. 803–819. <https://doi.org/10.1038/nature04338>
7. Frantz L.A., Mullin V.E., Pionnier-Capitan M. et al. Genomic and archaeological evidence suggest a dual origin of domestic dogs // *Science*. 2016. V. 3. № 352(6290). P. 1228–1231. <https://doi.org/10.1126/science.aaf3161>
8. Germonpré M., Lázničková-Galetová M., Sablin M.V., Bocherens H. Self-domestication or human control? The Upper Palaeolithic domestication of the wolf // *Hybrid Communities*. London: Routledge, 2018. 324 p.
9. Bergström A., Frantz L., Schmidt R. et al. Origins and genetic legacy of prehistoric dogs // *Science*. 2020. V. 30. № 370(6516). P. 557–564. <https://doi.org/10.1126/science.aba9572>
10. Pitulko V.V., Kaspárov A.K. Archaeological dogs from the Early Holocene Zhokhov site in the Eastern Siberian Arctic // *J. Archaeol. Sci.: Reports* 13. 2017. P. 491–515. <https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2017.04.003>
11. Zeuner F.E. *A History of Domesticated Animals*. London: Hutchinson & Co. (Publishers) Ltd., 1963. 560 p.
12. Harcourt R.A. The dog in prehistoric and early historic Britain // *J. Archaeol. Sci.* 1974. V. 1. P. 151–175.

13. *Clutton-Brock J.* Domesticated Animals from Early Times. London: British Museum (Natural History) and William Heinemann Ltd., 1981. 208 p.
14. *Clutton-Brock J.* Origins of the dog: domestication and early history // *The Domestic Dog: Its Evolution, Behaviour, and Interactions with People*. Cambridge: Cambr. Univ. Press, 1995. P. 7–20.
15. *Zedda M., Manca P., Chisu V. et al.* Ancient pompeian dogs – morphological and morphometric evidence for different canine populations // *Anat. Histol. Embryol.* 2006. V. 35. № 5. P. 319–324.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2006.00687.x>
16. *Pionnier-Capitan M., Bemilli C., Bodu P. et al.* New evidence for Upper Palaeolithic small domestic dogs in South-Western Europe // *J. Archaeol. Sci.* 2011. V. 38. № 9. P. 2123–2140.
<https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.02.028>
17. *Chase K., Carrier D.R., Adler F.R. et al.* Genetic basis for systems of skeletal quantitative traits: Principal component analysis of the canid skeleton // *PNAS* 2002. V. 99. № 15. P. 9930–9935.
<https://doi.org/10.1073/pnas.152333099>
18. *Parker H.G., Shearin A.L., Ostrander E.A.* Man's best friend becomes biology's best in show: genome analyses in the domestic dog // *Annu. Rev. Genet.* 2010. V. 44. P. 309–336.
<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-115200>
19. *Yengo L., Sidorenko J., Kemper K.E. et al.* GIANT Consortium. Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700000 individuals of European ancestry // *Hum. Mol. Genet.* 2018. V. 27. № 20. P. 3641–3649.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddy271>
20. *Rimbault M., Beale H.C., Schoenebeck J.J. et al.* Derived variants at six genes explain nearly half of size reduction in dog breeds // *Genome Research.* 2013. № 23. P. 1985–1995.
<https://doi.org/10.1101/gr.157339.113>
21. *Sutter N.B., Bustamante C.B., Chase K. et al.* A single IGF1 allele is a major determinant of small size in dogs // *Science.* 2007. № 316. P. 112–115.
<https://doi.org/10.1126/science.1137045>
22. *Fang X.B., Liu S.C., Wu Q.Y. et al.* Linkage analysis of SNPs in IGFBP-6 and its relation with the body sizes of pig // *Genet. Mol. Res.* 2015. V. 14. № 4. P. 17273–17280.
<https://doi.org/10.4238/2015>
23. *Makvandi-Nejad S., Hoffman G.E., Allen J.J. et al.* Four loci explain 83% of size variation in the horse // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 7. P. e39929.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039929>
24. *Plassais J., Kim J., Davis B.W. et al.* Whole genome sequencing of canids reveals genomic regions under selection and variants influencing morphology // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 1489.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09373-w>
25. *Bannasch D., Young A., Myers J. et al.* Localization of canine brachycephaly using an across breed mapping approach // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 3. P. e9632.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009632>
26. *Boyko A.R., Quignon P., Li L., Schoenebeck J.J. et al.* A simple genetic architecture underlies morphological variation in dogs // *PLoS Biol.* 2010. № 8. P. e1000451.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000451>
27. *Schoenebeck J.J., Hutchinson S.A., Byers A. et al.* Variation of BMP3 contributes to dog breed skull diversity // *PLoS Genet.* 2012. V. 8. № 8. P. e1002849.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002849>
28. *Schoenebeck J.J., Ostrander E.A.* Insights into morphology and disease from the dog genome project // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2014. V. 30. P. 535–560.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-012927>
29. *Wilson L.A.B., Balcarcel A., Geiger M. et al.* Modularity patterns in mammalian domestication: Assessing developmental hypotheses for diversification // *Evol. Lett.* 2021.
<https://doi.org/10.1002/evl3.231>
30. *Wright D., Henriksen R., Johnsson M.* Defining the Domestication Syndrome: Comment on Lord et al. 2020 // *Trends Ecol. Evol.* 2020. V. 35. № 12. P. 1059–1060.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.08.009>
31. *Trut L.N.* Early Canid Domestication: The Farm-Fox Experiment: Foxes bred for tamability in a 40-year experiment exhibit remarkable transformations that suggest an interplay between behavioral genetics and development // *Am. Sci.* 1999. V. 87. № 2. P. 160–169.
32. *Wayne R.K.* Consequences of domestication: Morphological diversity of the dog // *The Genetics of the Dog*. N.Y.: CABI Publ., 2001. P. 43–60.
33. *Evin A., Dobney K., Schafberg R. et al.* Phenotype and animal domestication: A study of dental variation between domestic, wild, captive, hybrid and insular *Sus scrofa* // *BMC Evol. Biol.* 2015. V. 15. P. 6.
<https://doi.org/10.1186/s12862-014-0269-x>
34. *Трут Л.Н., Дзержинский Ф.Я., Никольский В.С.* Компонентный анализ краниологических признаков серебристо-черных лисиц (*Vulpes vulpes* Desm) и их изменений, возникающих при доместикации // *Генетика.* 1991. Т. 27. № 8. С. 1440–1449.
35. *Трут Л.Н., Дзержинский Ф.Я., Никольский В.С.* Внутрочерепная аллометрия и краниологические изменения при доместикации серебристо-черных лисиц // *Генетика.* 1991. Т. 27. № 9. С. 1605–1612.
36. *Hecht E.E., Kukekova A.V., Gutman D.A. et al.* Neuro-morphological changes following selection for tameness and aggression in the Russian farm-fox experiment // *J. Neurosci.* 2021. V. 41. № 28. P. 6144–6156.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3114-20.2021>
37. *Kukekova A.V., Trut L.N., Chase K. et al.* Mapping loci for fox domestication: deconstruction/reconstruction of a behavioral phenotype // *J. Behav. Genet.* 2011. V. 41. № 4. P. 593–606.
<https://doi.org/10.1007/s10519-010-9418-1>
38. *Trut L.N., Kharlamova A.V., Kukekova A.V. et al.* Morphology and behavior: Are they coupled at the genome level? // *The Dog and Its Genome*. Woodbury N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2006. P. 515–538.
39. *Jackson J.E.* A User's Guide to Principal Components. N.Y.: A Wiley Interscience Publ., 1991. 563 p.
40. *Kharlamova A.V., Trut L.N., Carrier D.R. et al.* Genetic regulation of canine skeletal traits: Trade-offs between the hind limbs and forelimbs in the fox and dog // *Integr. Comp. Biol.* 2007. V. 47. P. 373–381.
<https://doi.org/10.1093/icb/icm023>

41. Харламова А.В., Чейз К., Ларк К.Г. и др. Сопоставление вариации параметров скелетной системы лисиц (*Vulpes vulpes*), отбираемых по поведению, и собак (*Canis familiaris*) // Вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 32–38.
42. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 545 с.
43. Kukekova A.V., Trut L.N., Oskina I.N. et al. A marker set for construction of a genetic map of the silver fox (*Vulpes vulpes*) // J. Hered. 2004. V. 95. № 3. P. 185–194.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esh033>
44. Kukekova A.V., Trut L.N., Oskina I.N. et al. A meiotic linkage map of the silver fox, aligned and compared to the canine genome // Genome Res. 2007. V. 17. P. 387–399.
<https://doi.org/10.1101/gr.5893307>
45. Rohlf F.J., Corti M. Use of two-block partial least squares to study covariation in shape // System. Biology. 2000. V. 49. P. 740–753.
<https://doi.org/10.1080/106351500750049806>
46. Polunin D., Shtager I., Efimov V. JACOBI4 software for multivariate analysis of biological data // bioRxiv. 2019. P. 803684.
<https://doi.org/10.1101/803684>
47. Wold H. Path models with latent variables: The NIPALS approach // Quantitative Sociology: International Perspectives on Mathematical and Statistical Model Building. N.Y.: Acad. Press, 1975. P. 307–357.
48. Rosipal R., Krämer N. Overview and recent advances in partial least squares // International Statistical and Optimization Perspectives Workshop “Subspace, Latent Structure and Feature Selection”. Berlin; Heidelberg: Springer, 2005. P. 34–51.
49. Baab K.L., Freidline S.E., Wang S.L., Hanson T. Relationship of cranial robusticity to cranial form, geography and climate in *Homo sapiens* // Am. J. Phys. Anthropol. 2010. V. 141. № 1. P. 97–115.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.21120>
50. Goswami A., Polly P.D. Methods for studying morphological integration, modularity and covariance evolution // Quantitative Methods in Paleobiology. Ithaca; N.Y.: Paleontol. Society Papers Series, 2010. V. 16. P. 213–243.
<https://doi.org/10.1017/S1089332600001881>
51. Goswami A., Polly P.D. The influence of modularity on cranial morphological disparity in carnivora and primates (Mammalia) // PLoS One. 2010. V. 5. № 3. P. e9517.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009517>
52. Goswami A., Smaers J.B., Soligo C., Polly P.D. The macroevolutionary consequences of phenotypic integration: From development to deep time // Phil. Trans. R. Soc. B. 2014. V. 369. № 1649. P. 20130254.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0254>
53. Álvarez A., Perez S.I., Verzi D.H. The role of evolutionary integration in the morphological evolution of the skull of caviomorph rodents (Rodentia: Hystricomorpha) // Evol. Biol. 2015. V. 42. № 3. P. 312–327.
<https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02395.x>
54. Goswami A., Watanabe A., Felice R.N. et al. High-density morphometric analysis of shape and integration: the good, the bad, and the not-really-a-problem // Integr. Comp. Biol. 2019. V. 59. № 3. P. 669–683.
<https://doi.org/10.1093/icb/icz120>
55. Alhajeri B.H. Cranial variation in geographically widespread dwarf gerbil *Gerbillus nanus* (Gerbillinae, Rodentia) populations: Isolation by distance versus adaptation to local environments // J. Zool. Systematics and Evol. Res. 2019. V. 57. № 1. P. 191–203.
<https://doi.org/10.1111/jzs.12247>
56. Brassard C., Merlin M., Guintard C. et al. Interrelations between the cranium, the mandible and muscle architecture in modern domestic dogs // Evol. Biol. 2020. V. 47. № 4. P. 308–324.
<https://doi.org/10.1007/s11692-020-09515-9>
57. Ковалева В.Ю., Абрамов С.А., Дунал Т.А., Ефимов В.М. Анализ соответствия и комбинирование молекулярно-генетических и морфологических данных в зоологической систематике // Изв. РАН. Серия биол. наук. 2012. № 4. С. 404–414.
58. Ковалева В.Ю., Литвинов Ю.Н., Ефимов В.М. Землеройки (Soricidae, Eulipotyphla) Сибири и Дальнего Востока: комбинирование и поиск конгруэнтности молекулярно-генетических и морфологических данных // Зоол. журн. 2013. Т. 92. № 11. С. 1383–1398.
<https://doi.org/10.7868/S0044513413110081>
59. Klingenberg C.P., Spence J.R., Mirth C.K. Introgressive hybridization between two species of waterstriders (Hemiptera: Gerridae: *Limnoporus*): Geographical structure and temporal change of a hybrid zone // J. Evol. Biol. 2000. V. 13. № 5. P. 756–765.
60. Myers E.M., Janzen F.J., Adams D.C., Tucker J.K. Quantitative genetics of plastron shape in slider turtles (*Trachemys scripta*) // Evolution. 2006. V. 60. № 3. P. 563–572.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb01137.x>
61. Claverie T., Patek S.N. Modularity and rates of evolutionary change in a power-amplified prey capture system // Evolution. 2013. V. 67. № 11. P. 3191–3207.
<https://doi.org/10.1111/evo.12185>
62. Hanot P., Herrel A., Guintard C., Cornette R. Unravelling the hybrid vigor in domestic equids: the effect of hybridization on bone shape variation and covariation // BMC Evol. Biol. 2019. V. 19. № 1. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1186/s12862-019-1520-2>
63. Hanot P., Bayarsaikhan J., Guintard C. et al. Cranial shape diversification in horses: Variation and covariation patterns under the impact of artificial selection // BMC Ecol. Evol. 2021. V. 21. № 1. P. 1–19.
<https://doi.org/10.1186/s12862-021-01907-5>
64. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing // J. Royal Stat. Society. Series B. 1995. № 57. P. 289–300.
<https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>
65. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontol. Electronica. 2001. V. 4. № 1. P. 9.
66. Rimbault M., Beale H.C., Schoenebeck J.J. et al. Derived variants at six genes explain nearly half of size reduction in dog breeds // Gen. Res. 2013. № 23. P. 1985–1995. 113
<https://doi.org/10.1101/gr.15733>

67. Fang X.B., Liu S.C., Wu Q.Y. et al. Linkage analysis of SNPs in IGFBP-6 and its relation with the body sizes of pig // Genet. Mol. Res. 2015. V. 14. № 4. P. 17273–17280.
<https://doi.org/10.4238/2015>
68. Makvandi-Nejad S., Hoffman G.E., Allen J.J. et al. Four loci explain 83% of size variation in the horse // PLoS One. 2012. V. 7. № 7. P. e39929.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039929>
69. Baker J., Liu J.P., Robertson E.J., Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth // Cell. 1993. V. 75. P. 73–82.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(05\)80085-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(05)80085-6)
70. Kawai M., Rosen C.J. Insulin-like growth factor-I and bone: lessons from mice and men // Pediatr. Nephrol. 2009. V. 24. P. 1277–1285.
<https://doi.org/10.1007/s00467-008-1040-6>
71. Bérubé S.C., Johnsson P.R., Bunimov N. et al. Two length variants of the microsatellite FH2295 as markers for body size of female Portuguese water dogs // J. Appl. Genetics. 2012. V. 53. P. 121–123.
<https://doi.org/10.1007/s13353-011-0076-7>
72. Plassais J., vonHoldt B.M., Parker H.G. et al. Natural and human-driven selection of a single noncoding body size variant in ancient and modern canids // Current Biol. 2022. V. 32. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.12.036>
73. Sánchez-Villagra M.R., Geiger M., Schneider R.A. The taming of the neural crest: A developmental perspective on the origins of morphological covariation in domesticated mammals // Royal Soc. Open Sci. 2016. V. 3. № 6. P. 160107.
<https://doi.org/10.1098/rsos.160107>
74. Zapata I., Lilly M.L., Herron M.E. et al. Genetic testing of dogs predicts problem behaviors in clinical and non-clinical samples // BMC Genomics. 2022. V. 23. P. 1–19.
<https://doi.org/10.1186/s12864-022-08351-9>
75. Nelson R.M., Temnykh S.V., Johnson J.L. et al. Genetics of interactive behavior in silver foxes (*Vulpes vulpes*) // Behavior Genet. 2017. V. 47. № 1. P. 88–101.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Дополнительные материалы, Таблица 1. Корреляции генетических признаков (микросателлитных маркеров) с первой парой бикомпонент (генетической и морфологической осями). Совместный 2B-PLS-анализ промеров черепа и генотипов по SSR-маркерам лисиц – потомков возвратного скрещивания гибридов первого поколения между представителями дружелюбной и агрессивной линий (F1), с представителями дружелюбной линии

SSR-маркеры*	Генетическая ось_01	Морфологическая ось_01
Ch1_FH2598_382_0	0.5088750124	0.4256672561
Ch1_FH2294_218_0	0.5009753704	0.4120003283
Ch14_C03.629_198_1	0.5734645128	0.4118264616
Ch14_C03.629_196_1	0.5734645128	0.4118264616
Ch14_C03.629_198_0	–0.5947184563	–0.3993136883
Ch5_FH3603_375_1	0.3812309206	0.3852052987
Ch14_C03.629_196_2	–0.5750371814	–0.3829647005
Ch9_FH2528_281_0	–0.6281602383	–0.3704173565
Ch14_FH2137_164_2	–0.5661104918	–0.3690257967
Ch5_FH3603_375_2	–0.3131198585	–0.3649965227
Ch14_REN157C08_237_0	0.5950171947	0.3544715047
Ch2_REN278L10_254_1	0.5012012124	0.3536485732
Ch2_REN278L10_254_0	–0.5012012124	–0.3536485434
Ch14_REN157C08_241_0	–0.5223002434	–0.3491254747
Ch14_FH3377_162_2	–0.5177600980	–0.3476556838
Ch5_FH3746_323_0	–0.3997269273	–0.3451761603
Ch5_FH3746_323_1	0.3997269273	0.3451761603
Ch14_REN157C08_241_1	0.4729447663	0.3439171314
Ch9_FH2528_281_1	0.5723578930	0.3348945677
Ch10_RVC1_151_0	0.3319693804	0.3304607868
Ch12_REN01G01_238_0	0.7113391757	0.3301526308
Ch9_REN93E07_172_0	–0.5634263754	–0.3297780454
Ch9_REN93E07_172_1	0.5634263158	0.3297780156
Ch15_DTRCN14_449_0	0.4528990388	0.3270610571
Ch2_REN278L10_250_1	–0.3135467172	–0.3243272305
Ch7_REN292N24_146_2	–0.4042654037	–0.3237753808
Ch12_CM5.63_324_0	–0.2345804572	–0.3207023144

SSR-маркеры*	Генетическая ось_01	Морфологическая ось_01
Ch8_CM27.22d_158_0	0.2836382687	0.3193939030
Ch10_RVC1_151_1	-0.3122069538	-0.3190278411
Ch10_REN193M22_188_2	0.4091495574	0.3175673187
Ch10_REN193M22_191_0	0.4091495574	0.3175673187
Ch1_C02509_195_1	0.5183656812	0.3162743747
Ch4_DTR19.31_163_0	-0.4382106364	-0.3151617348
Ch4_DTR19.31_163_1	0.4382106364	0.3151617050
Ch1_D01505_169_0	0.3052595556	0.3139682114
Ch14_FH2137_164_1	0.4966157675	0.3119449019
Ch12_CM11.33_279_0	-0.4668546319	-0.3089730144
Ch8_CM27.22d_158_1	-0.2737227082	-0.3077421784
Ch6_CM8.63_155_0	-0.4145818651	-0.3071575761
Ch1_FH2598_363_0	-0.6573292017	-0.3059901893
Ch1_FH2294_218_1	-0.3344947398	-0.3037176728
Ch7_FH2258_314_0	-0.3061069250	-0.3036116064
Ch7_REN292N24_146_1	0.2336719334	0.3030025363
Ch7_REN292N24_140_1	0.2336719334	0.3030025363
Ch16_C04107_140_0	-0.2194583714	-0.3024165630
Ch15_CM30.20_199_1	0.3300955296	0.3016671240
Ch15_CM30.20_199_0	-0.3300955296	-0.3016670942
Ch8_CM27.16_293_2	0.3791619837	0.3003662229
Ch11_REN118B15_223_0	-0.3092670739	-0.3003400266
Ch11_REN118B15_223_1	0.3092670739	0.3003400266
Ch12_CM5.63_324_1	0.2149613649	0.2995644212
Ch12_CM5.41_200_0.	-0.3931669295	-0.2988489270
Ch12_CM5.41_200_1.	0.3931669593	0.2988488972
Ch8_CM27.22e_200_0	-0.4428538084	-0.2985331714
Ch8_CM27.22e_200_1	0.4428538084	0.2985331416
Ch8_CM27.22_244_0	-0.3017807007	-0.2974354029
Ch8_CM27.22_244_1	0.3017807305	0.2974354029
Ch14_FH3377_160_0	-0.5228435993	-0.2967728078
Ch14_FH3377_160_1	0.5228435993	0.2967728078
Ch14_FH3377_162_1	0.5228435993	0.2967728078
Ch12_REN245N06_185_0	-0.4902884364	-0.2966138721
Ch12_REN245N06_185_1	0.4902884364	0.2966138422
Ch7_REN292N24_140_0	-0.4059456885	-0.2943195403
Ch7_FH2175_205_0	-0.3457841575	-0.2919130027
Ch3_26749b_372_0	0.1377184987	0.2916675806
Ch1_D01505_169_1	-0.2841742337	-0.2912140191
Ch4_FH3834_271_1	0.3003900051	0.2908516824
Ch12_CM11.33_279_1	0.4354266226	0.2895141542
XX_FH2584_378_2	0.3655744791	0.2887584269
Ch1_D01505_151_2	0.4256709516	0.2881330848
Ch11_FH2312_188_1	0.3937124610	0.2868360579
Ch10_FH2535_186_0	0.1462546885	0.2856175900
Ch14_АНТН138_223_1	0.4600208402	0.2853651345
Ch5_АНТН91_214_1	-0.1349556893	-0.2816416025
Ch5_АНТН91_214_0	0.1349556893	0.2816416025

SSR-маркеры*	Генетическая ось_01	Морфологическая ось_01
Ch1_C02509_195_0	−0.4775922298	−0.2816212773
Ch7_FH2670_216_0	−0.4681460559	−0.2809127271
Ch7_FH2670_216_1	0.4681460559	0.2809127271
Ch11_FH2312_188_0	−0.3515757322	−0.2805899680
Ch8_CM27.12b_169_0	0.3093428016	0.2800920904
Ch10_FH2535_186_1	−0.1336975396	−0.2798022926
Ch14_АНТН138_223_0	−0.4644137919	−0.2795152664
Ch9_PЕZ19_203_0	0.3321470022	0.2782078385
Ch15_DTRCN14_449_1	−0.3463239670	−0.2765797079
Ch5_REN183B03_139_0	−0.4823150933	−0.2765341401
Ch12_CM11.15_195_0	0.5695562959	0.2765189111
Ch16_FH2532_258_0	−0.3306177557	−0.2761352062
Ch16_FH2532_258_1	0.3306177258	0.2761351764
Ch5_FH3815_165_2	−0.4665594399	−0.2759817243
Ch5_FH3868_231_2	−0.3336104155	−0.2751336694

* — представлены все микросателлитные маркеры, показавшие статистически значимую связь с морфологической осью.

Putative Locus for Cranial Size Variability of the Fox (*Vulpes vulpes*)

A. V. Kharlamova^{a, *}, S. G. Shikhevich^a, A. V. Vladimirova^a, A. V. Kukekova^b, and V. M. Efimov^{a, c, d}

^aFederal Research Center Institute of Cytology and Genetics,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

^bUniversity of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, 61801 USA

^cNovosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia

^dTomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: kharlam@bionet.nsc.ru

Skull morphology was studied in three populations of red foxes (*Vulpes vulpes*): tame, which was produced by long-term selection for friendly behavior to humans; aggressive, which was produced by long-term selection for aggressive behavior to humans; and conventional farm-bred, which was not deliberately selected for behavior. We have collected skulls measurements from two sets of foxes: (1) 140 backcross foxes produced by breeding of tame and aggressive foxes to each other and then crossing F1 foxes to tame strain, and (2) 150 foxes from original populations (50 tame, 50 aggressive and 50 conventional farm-bred). The backcross foxes have been genotyped with 350 microsatellite markers and analyzed using 2B-PLS analysis. A significant correlation between microsatellite genotypes and skull shape was identified for three microsatellite markers on 10-th fox chromosome: FH2535, RVC1, REN193M22. The second set of foxes (tame, aggressive and conventional) was genotyped for these three markers and also analysed with 2B-PLS. Significant correlation was identified between genotypes and skull size for males, but not for females. The genomic region identified in this study contains *IGF-1* gene, which is responsible for 15% of body size variation in dogs. Our findings suggest that *IGF-1* gene is also involved in skull size regulation in red foxes.

Keywords: fox, selection for behavior, cranial size, quantitative trait loci.