

УДК 574.3:575.2:595.77

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ КРАТКОВРЕМЕННОГО ТЕПЛОВОГО СТРЕССА В КОРОТКО- И ДОЛГОЖИВУЩИХ ЛИНИЯХ КОМНАТНОЙ МУХИ (*MUSCA DOMESTICA* L.): ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ МОРФОМЕТРИЯ КРЫЛА

© 2023 г. А. Г. Васильев^а, *, Г. В. Беньковская^б, Т. Т. Ахметкиреева^б

^аИнститут экологии растений и животных УрО РАН, Россия 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

^бИнститут биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Россия 450054 Уфа, просп. Октября, 71

*e-mail: vag@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 16.09.2022 г.

После доработки 30.03.2023 г.

Принята к публикации 24.04.2023 г.

Изучены морфогенетические последствия воздействия кратковременного теплового стресса (КТС) в двух массово селектированных по длительности жизни линиях комнатной мухи на основе оценки изменчивости крыла имаго методами геометрической морфометрии. Выявлены значимые различия по размерам и форме крыла между контрольными и импактными группами разного пола в линиях *Shg* (короткоживущие) и *Lg* (долгоживущие). Эффект КТС проявился в увеличении размера крыла и направленном изменении его формы. Межгрупповая иерархия половых и стресс-индуцированных различий выражена одинаково в обеих линиях мух. Размах линейных различий существенно выше половых, которые в свою очередь выше уровня стресс-индуцированных. Нестабильность развития крыла имаго (*Vm*) линии *Shg* значимо выше, чем у линии *Lg*, и выше во всех группах самок, но в большинстве случаев значимо ниже в импактных группах (с учетом роста размеров последнее может быть связано с эффектом гормезиса). Высказана гипотеза о том, что в основе направленных морфогенетических эффектов КТС лежат скрытые видовые модификации, появление которых в фенотипе обусловлено стресс-индуцированными эпигенетическими перестройками генома, вызывающими сходные морфологические изменения крыла в группах самцов и самок имаго обеих линий. Фенотипическая пластичность линий при селекции на разную продолжительность жизни и вызванные КТС изменения прямо указывают на реальность стресс-индуцированных быстрых морфогенетических перестроек при резкой смене экологических условий.

Ключевые слова: *Musca domestica*, изменчивость, селектированные линии, продолжительность жизни, тепловой стресс, геометрическая морфометрия

DOI: 10.31857/S036705972305013X, **EDN:** UQOLOS

Проблема оценки быстрых адаптивных изменений морфогенеза в природных популяциях животных и растений стала в последние десятилетия крайне актуальной из-за необходимости прогнозирования ожидаемых в XXI в. биоценотических кризисных явлений [1, 2], вызванных усилением воздействия климатогенных и антропогенных факторов на биоту [3–5]. Для этих целей в мире предложены разные подходы, включая применение методов функциональной и признаковой (trait-ecology или trait-based ecology) экологии [6–11]. Ключевое значение для верификации экологических методов прогнозирования имеют экспериментальные оценки генетических, эпигенетических и морфогенетических эффектов стресс-индуцирующих воздействий на модельные природные объ-

екты [12–15]. Особый интерес представляет не только возможность быстрых морфогенетических перестроек в исторические характерные времена, но и явление трансгенерационной пластичности (TGP) [16, 17] – способности эпигенетически наследовать возможность сохранения диапазона модификаций, достигнутого ранее родителями в определенных экологических условиях. В ряде исследований обнаружено проявление трансгенерационного наследования стресс-индуцированных эпигенетических перестроек генома, вызывающих определенные морфогенетические изменения [18–20]. Регистрация и визуализация таких изменений возможны при использовании методов геометрической морфометрии [21–23], которые позволяют оценивать изменения формы

объектов в общем морфопространстве, допуская морфогенетическую интерпретацию выявляемых различий [24, 25].

В конце XX в. в экспериментах по эффектам тяжелого теплового шока (ТТШ) на линии *Drosophila melanogaster* были выявлены наиболее чувствительные к воздействию ранние этапы онтогенеза, на которых происходили сходно направленные транспозиции мобильных генетических элементов (МГЭ), вызывавшие определенные изменения морфогенеза крыла в зависимости от времени воздействия [26, 27]. Позднее были установлены также характерные перемещения МГЭ в ответ на радиоактивное облучение дрозофил в малых дозах [28, 29]. В экспериментах по селекции на низкую и высокую выживаемость инбредных линий *Drosophila melanogaster*, полученных от особей природных популяций, обнаружено [30, 31], что, в отличие от контроля, после 18 поколений отбора изменились и фенотип, и структура размещения МГЭ (*mdg1*, *hobo*, *P* и др.). Стресс-индуцированные транспозиции, коррелирующие с морфогенетическими перестройками, были выявлены для разных групп и семейств мобильных генетических элементов на широкий спектр стрессовых воздействий — слабые и сильные температурные воздействия, гамма-излучение, пары этанола, токсичные соли тяжелых металлов и др. [27, 32]. Тепловой стресс активирует защитную систему факторов теплового шока (HSF — heat shock factors), включающих транскрипцию пептидов семейства Hsp70 (Heat shock proteins) [33, 34], которые потенциально могут влиять как на процесс акклимации [35], так и на индивидуальное развитие [34].

Тем не менее на двух близких видах дрозофил *Drosophila melanogaster* и *D. simulans* при анализе геномных последовательностей популяций разных широт было установлено [36], что селективные силы, ассоциированные с климатическими факторами, действуют на те же самые гены и фенотипы у этих симпатрических видов. Последнее указывает на эволюционно-экологическую преэминентность видовых адаптаций и роль определенных генов в их становлении. У четырех видов дрозофил — пустынных эндемиков на юге Северной Америки — были обнаружены разная резистентность имаго к тепловому стрессу в разные сезоны года и высокая общая устойчивость молодых (однодневных) мух к этому фактору по сравнению с имаго старших возрастов [37]. Важные результаты [38] получены на серии полногеномных последовательностей при оценке ассоциаций встречаемости SNP и транспонируемых элементов (TEs) у природных популяций *D. melanogaster* в Европе и Северной Америке с переменными среды, включая температуру, влажность, испарение, ветер, дневное освещение, тип почвы и мн. др. Установлено, что от 23 до 51% генов, которые

проявили значительные ассоциации с более чем 50 переменными среды, слабо различались в разных удаленных популяциях. При этом наряду с адаптивно значимыми SNP были выявлены 10 типичных вставок транспонируемых мобильных элементов, которые также оказались связаны с переменными природной среды.

В экспериментах по выращиванию дрозофил в градиенте температурных режимов от 12 до 30°C выявлены направленное достоверное уменьшение размера крыла, а также изменения его формы [39]. При регрессионном исключении влияния аллометрической зависимости изменчивости формы крыла от его размеров конфигурация крыльев экспериментальных мух при крайних значениях температурных режимов 12 и 30°C, вызывающих “умеренный” стресс развития, фенотипически сближалась и значимо отличалась от таковой у мух, выращиваемых при нормальных температурных условиях (21–25°C). Высокая фенотипическая пластичность и стресс-реактивность фенотипа дрозофил были также обнаружены при анализе сочетанного эффекта влияния мутаций и температуры развития [40]. Ранее у другого представителя двукрылых — комнатной мухи (*Musca domestica*) на территории Америки [41] — также была выявлена высокая фенотипическая пластичность в градиенте условий обитания в широтном направлении. Показано, что размеры крыльев комнатной и полевой (*M. autumnalis*) мух из наиболее южных регионов Бразилии становятся меньше [42], что связывают с повышением температуры развития. Последнее обусловлено не прямым воздействием температуры, а исторически длительным естественным селективным процессом, формирующим генетические изменения локальных популяций. Исследование влияния разных температурных режимов на развитие комнатной мухи *Musca domestica* L. [43] выявило широкий диапазон значений (от 20 до 35°C), вызывающий определенное снижение выживаемости, продолжительности жизни имаго, плодовитости и фертильности в контролируемых лабораторных условиях. Все это указывает на адекватность выбора комнатной мухи в качестве модельного объекта для изучения фенотипической пластичности.

В предыдущей публикации [44] мы сравнили на основе методов геометрической морфометрии изменчивость формы крыла в линиях коротко- и долгоживущих комнатных мух (*Musca domestica*), экспериментально полученных после длительной противоположно направленной массовой селекции, нацеленной на раннее и позднее время репродукции. В результате были выявлены существенные межлинейные различия по форме и размерам крыла, а также половые различия в каждой линии.

В дальнейшем нами был получен новый экспериментальный материал — результаты оценки воздействия кратковременного теплового стресса (КТС) на морфогенез крыла в обеих линиях при высокотемпературной экспозиции одних и тех же особей последовательно на каждой стадии онтогенеза. Сравнение предыдущих и новых материалов позволяет методами геометрической морфометрии решить задачу изучения последствий параллельного повторяющегося теплового воздействия на морфогенез крыла у обеих линий.

Проблема быстрых перестроек морфогенеза вида при резких изменениях экологических условий обитания носит общебиологический характер, а ее решение потенциально позволяет в свете ожидаемых климатогенных изменений температуры приблизиться к пониманию эволюционно-экологической роли стресс-индуцированной фенотипической пластичности, а также генетической и/или эпигенетической природы “мобилизационного резерва” модификационной изменчивости.

Цель настоящей работы — изучить изменчивость и внутригрупповое разнообразие размеров и формы крыла самцов и самок коротко- и долгоживущих линий комнатной мухи (*Musca domestica* L.) в контрольных и параллельно подвергнутых на разных этапах онтогенеза кратковременному тепловому стрессу (КТС) экспериментальных группах на основе методов геометрической морфометрии. Особое внимание уделили оценке устойчивости морфогенеза крыла и соотношения направлений изменчивости селекционированных линий в общем морфопространстве после повторяющегося теплового стресса как экологической модели экстремальных стресс-индуцирующих температурных флуктуаций среды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали имаго комнатной мухи *Musca domestica* L., полученные из лабораторной линии *S*, берущей начало от линии *Cooper*. Исходный материал был любезно предоставлен проф. С.А. Рославцевой (НИИ дезинфектологии, Москва). Экспериментальные группы мух содержали в капроновых садках с металлическим каркасом размером 30 × 30 × 30 см, а в качестве стандартного корма использовали сухое молоко. Личинки мух развивались в пластиковых контейнерах на среде с увлажненными отрубями в стандартных условиях [45] при комнатной температуре (+23...+26°C) и освещении с периодом 12:12 ч [46]. Среди представителей исходной линии *S* с помощью отбора на раннюю и позднюю репродукцию выделили массовые гетерогенные линии *Shg* (короткоживущие) и *Lg* (долгоживущие), значимо различавшиеся по средней наименьшей продолжительности жизни имаго — соответственно 22 и 54 сут. Для со-

здания линии *Shg* из исходной линии в течение трех поколений отбирали яйца, отложенные в первые две недели со дня вылета имаго. При создании линии *Lg* отбирали яйца, отложенные не ранее 25–28 сут со дня вылета имаго. На основе линий *Shg* и *Lg* (соответственно 65 и 45 поколений отбора на раннюю и позднюю репродукцию) были выделены контрольные и экспериментальные группы, к которым отбор по срокам репродукции в дальнейшем не применяли.

Кратковременное воздействие высокой температуры — кратковременный тепловой стресс, КТС (+ 65°C на протяжении 10 мин) — осуществляли однократно на каждом этапе онтогенеза (личинки, куколки, имаго), экспонируя при этом группы одних и тех же особей, помещая контейнеры с 5-суточными личинками в субстрате, суточными пупариями, а также садки с 3-суточными имаго в термостат ТС-80-М. Сроки экспозиции для отдельных стадий развития были выбраны в соответствии с полученными ранее результатами оценки чувствительности комнатной мухи к температурным воздействиям в онтогенезе [46, 47]. При нагреве температура субстрата повышалась на 3–7°C. Экспозицию особей стрессируемых групп проводили в каждом поколении, начиная с первого.

Исходная численность в каждой группе (*ShgC* — контрольная, *ShgS* — стрессируемая; *LgC* — контрольная, *LgS* — стрессируемая) составляла 50 самок и 50 самцов, отобранных после выхода из пупариев. В ходе эксперимента отмечена тенденция к продлению развития на стадии пупария у группы стрессируемых долгоживущих особей (*LgS*) и противоположная тенденция — у группы стрессируемых короткоживущих (*ShgS*). В то же время у короткоживущих имаго отмечали эффект более длительной репродукции, сопровождавшийся повышением плодовитости, тогда как в группе долгоживущих под влиянием теплового стресса репродуктивный период сокращался, но общая плодовитость при этом не изменилась [48].

В работе использовали крылья имаго, фиксированных в растворе (3 части спирта + 3 части пропиленгликоля + 1 часть дистиллированной воды) или естественно погибших. Крылья отделяли пинцетом в месте соединения с тораксом и размещали на предметные стекла, смоченные фиксирующим раствором, а затем расправляли, накрывали покровными стеклами и фотографировали под микроскопом МБС-10 при помощи USB камеры UCMOS03100KPA и программного обеспечения TopView при разрешении 2048 × 1536 пикс.

Геометрическая морфометрия крыльев выполнена на основе конфигурации 17 меток-ландмарков (landmarks), размещенных на фотографиях правых крыльев (рис. 1) с помощью программ tpsUtil и tpsDig2 Ф.Дж. Рольфа [49, 50].

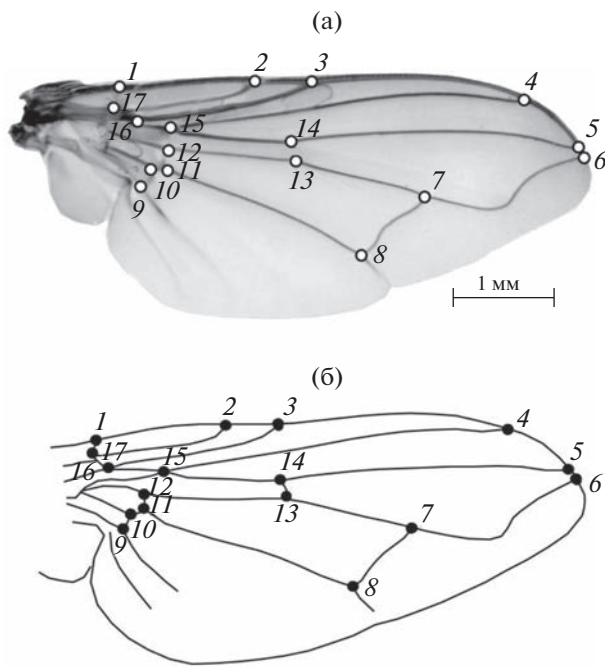


Рис. 1. Локализация меток-ландмарков (1–17) на фотографии правого крыла (а) комнатной мухи (*Musca domestica*) и схема их локализации на крыле (б) в виде динамической контурной модели конфигурации – аутлайна (outline).

Изученный материал в линии *Lg* составил 156 (контрольные группы (*LgC*): самцы – 30, самки – 48; импактные группы (*LgS*), подвергнутые кратковременному тепловому стрессу (КТС): самцы – 29, самки – 49), а в линии *Shg* – 144 (контрольные группы (*ShgC*): самцы – 17, самки – 42; импактные группы (*ShgS*): самцы – 42, самки – 43) оцифрованных крыльев. При косвенной оценке размеров крыльев использовали их центроидный размер (CS – centroid size), который вычисляли как квадратный корень из суммы квадратов расстояний от центра конфигурации до каждой ландмарки [21]. Учитывая потенциальную иерархию факторов изменчивости CS, оценку их вкладов с учетом взаимодействий оценили на основе трехфакторного дисперсионного анализа.

Суперимпозицию конфигураций ландмарков провели методом генерализованного Прокрустова анализа (GPA) на основе использования метода наименьших квадратов [21] и вычислили прокрустовы координаты (Procrustes coordinates), характеризующие изменчивость формы (shape) крыльев. Оценку возможной аллометрии крыльев согласно существующим рекомендациям [22] выполнили на основе регрессии первой главной компоненты (PC1) на логарифм CS. С помощью дискриминантного и канонического анализов прокрустовых координат оценили межгрупповые различия конфигураций крыла.

В целях интерпретации и оценки значимости факторов межгрупповой изменчивости вдоль канонических переменных (CV1–CV7) провели многомерный трехфакторный дисперсионный анализ – Three-way MANOVA [51, 52].

По симметричной матрице обобщенных расстояний Махаланобиса (D) на основе кластерного анализа (UPGMA) определили иерархию межгрупповых различий: межлинейных, половых и индуцированных стрессом.

Степень проявления полового диморфизма центроидного размера оценили по следующей формуле: $SDM = [(Xf/Xm) - 1] \times 100$, где Xf – среднее значение CS у самок, а Xm – у самцов [53]. При многомерном сравнении формы крыла для этой цели использовали квадратированные обобщенные расстояния Махаланобиса (D^2) с оценкой уровней их значимости.

При оценке уровня групповой нестабильности морфогенеза (внутригруппового морфоразнообразия) использовали показатель Vm – объем внутригруппового морфопространства, занятого ординатами данной группы [11]. Поскольку в данном случае сравнивали случайно выровненные по числу наблюдений выборки, этот показатель позволяет получить сопоставимые характеристики величин рассеивания ординат особей в морфопространстве: чем больше величина Vm , тем менее стабильно протекает развитие особей и в большей мере наблюдается рассеивание их ординат в морфопространстве – расширение веера морфогенетических траекторий [11]. В более благоприятных условиях, т. е. при минимальном стрессе в процессе развития, величина показателя Vm меньше, чем в неблагоприятных условиях. Расчет Vm , т. е. объема морфопространства, заключенного внутри выпуклой оболочки – convex hull [9, 54, 55], построенной по множеству наружных краевых координат групп объектов, провели по первым трем каноническим переменным (CV1–CV3), вычисленным по прокрустовым координатам, характеризующим изменчивость формы крыла [11]. Расчет объемов внутригруппового морфопространства выполнен в надстройке (add-in) CalculateVolume (автор А.Г. Курсанов) для Microsoft Office Excel, написанной на основе встроенной Matlab функции convhull, позволяющей вычислить объем выпуклой оболочки конечного множества точек (3D convex hull). Для вычисления объема convex hull можно также использовать R-программу hypervolume [56]. При оценке стандартной ошибки измерения $Vm (\pm SE)$ применяли технику бутстрепа со случайным замещением (bootstrap with replacement) объектов в выборке [57].

Однородность выборочных дисперсий определяли с помощью теста Левена (Levene's test) для средних значений. Парные сравнения провели на основе апостериорного Q-теста Тьюки (post-hoc

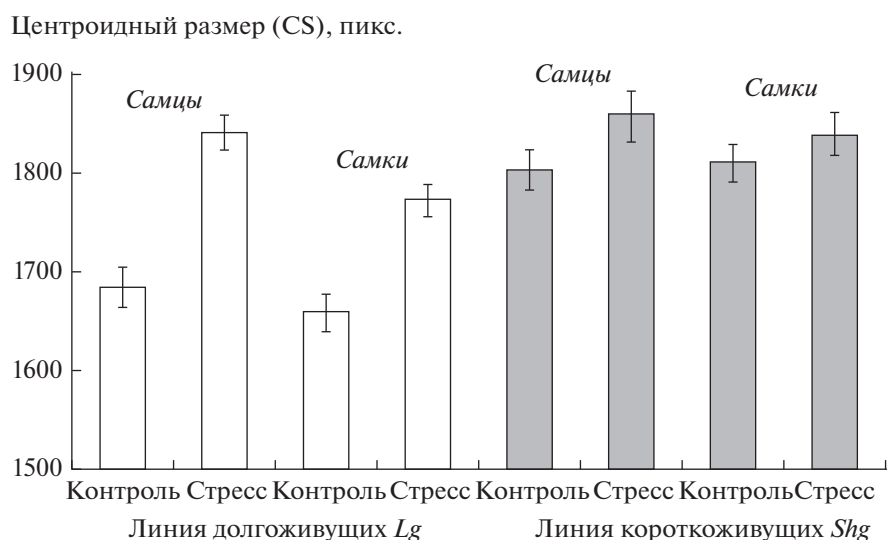


Рис. 2. Сравнение средних центроидных размеров CS (с учетом стандартных ошибок $\pm SE$) между контрольными и экспериментальными группами долгоживущих (*Lg*) и короткоживущих (*Shg*) линий комнатной мухи (*Musca domestica*).

Tukey's Q-test). Статистическую значимость различий при множественном сравнении выборок оценивали с помощью трехфакторного дисперсионного анализа. Расчеты выполнены с помощью пакетов прикладных программ TPS [49, 50], PAST4.06 [58], MorphoJ 1.06d [23] и Statistica [52].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Центроидные размеры крыла имаго линии *Shg* (1843.74 ± 11.77) в целом оказались значимо больше ($t = 5.30$; $p < 0.0001$), чем у представителей линии *Lg* (1759.53 ± 10.72). Результаты сравнения величин CS с учетом стандартных ошибок ($\pm SE$) между контрольными и экспериментальными группами самцов и самок двух линий мух представлены на рис. 2. Поскольку все три фактора изменчивости — линия, пол и воздействие КТС — могли оказывать параллельное влияние на ростовые процессы, применили трехфакторный дисперсионный анализ центроидных размеров (CS) крыла между изученными контрольными и импактными (подвергнутыми стрессу — КТС) группами с учетом их половой принадлежности. Результаты анализа (табл. 1) показали, что наибольшее влияние на изменчивость CS оказывает принадлежность к линии, причем доля дисперсии, обусловленной межлинейными (в основном генетическими) различиями, составила 9% от общей дисперсии. На второе место по размеру эффекта (см. табл. 1) вышел фактор кратковременного теплового стресса, доля дисперсии которого составила 7%. Половые различия проявили также значимый, но меньший размер эффекта (причем доля дисперсии, обусловленной половым диморфизмом мух, составила 1.2%).

При анализе влияния на CS взаимодействий факторов установлено, что значимый размер эффекта проявился только при взаимодействии факторов “линия $\times$ стресс” ($L \times S$), на долю которого приходится 2.3% дисперсии. Остальные взаимодействия факторов, включая вариант “ $L \times G \times S$ ”, были статистически незначимы (см. табл. 1). Примечательно, что размеры эффекта для межлинейных (в основном генетических) различий, хотя и несколько превышают, но сопоставимы по уровню с таковыми для стресс-индуцированных (средовых модификационных и, вероятно, эпигенетических) различий. По принятой Коэном [59] системе оценок и те, и другие выше минимальных значений, но не достигают среднего уровня. Размер эффекта для половых различий по величине CS при усреднении межлинейных данных оказался даже ниже принятого минимального уровня (см. табл. 1).

В группах стресс-индуцированных КТС мух обеих линий выражена общая тенденция к увеличению центроидного размера крыла. Лишь при сравнении контрольной и импактной групп самок линии короткоживущих (*Shg*) мух тенденция увеличения размеров крыла не была статистически доказана. Наиболее контрастные различия по величине CS выявлены у представителей линии долгоживущих (*Lg*). Поскольку размеры крыльев в этой линии в среднем меньше по величине, можно предполагать, что в другой линии (*Shg*), исходно имеющей большие значения CS, как в контроле, так и при стрессе крылья приближаются к наибольшему допустимым размерам. Половые различия внутри линий по величине CS не выражены между контрольными группами, но проявились у обеих линий в импактных группах:

Таблица 1. Результаты трехфакторного дисперсионного анализа центроидных размеров крыла (CS) контрольных и импактных (стресс-индуцированных – КТС) самцов и самок линий *Shg* и *Lg* комнатной мухи с учетом размера эффекта

Источник изменчивости (фактор)	Сумма квадратов (SS)	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат (MS)	F	Уровень значимости (<i>p</i>)	Размер эффекта (η^2)
Линия (L)	569625	1	569625	33.62	<0.0001	0.103249
Пол (G)	70893	1	70893	4.18	0.0417	0.014127
Стресс (S)	427812	1	427812	25.25	<0.0001	0.079590
L × G	2514	1	2514	0.15	0.7003	0.000508
L × S	140363	1	140363	8.28	0.0043	0.027589
G × S	18115	1	18115	1.07	0.3020	0.003648
L × G × S	14	1	14	0.001	0.9774	0.000003
Внутригрупповая	4947363	292	16943			
Общая	6180301	299				

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значимые размеры эффекта.

у самок в обоих случаях центроидный размер крыла меньше, чем у самцов. Показатель полового диморфизма *SDM* для CS в линии *Lg* у контрольной группы составил 0.56, а у импактной – 3.87, тогда как в линии *Shg* – соответственно 1.24 и 2.87. Следовательно, проявилась тенденция к усилению половых различий по размерам крыла у мух, подвергнутых стрессу, и относительно меньшей ростовой реакции самок в ответ на КТС.

Значимая дисперсия, отражающая взаимодействие факторов линия и стресс (L × S), демонстрирует, что ростовые реакции (по размерам крыла) у контрольных и импактных групп проявляются по-разному. Действительно, парное сравнение значений CS между выборками на базе апостериорного Q-теста Тьюки выявило значимые различия между выборками контрольной и импактной групп только в линии *Lg*: между самцами – $Q = 8.82$ ($p < 0.001$), между самками – $Q = 5.01$ ($p = 0.009$). В линии *Shg* те же пары сравнения не проявили значимых различий: между самцами – $Q = 3.10$ ($p = 0.357$), а между самками – $Q = 1.14$ ($p = 0.993$).

Интересно было оценить, проявляется ли своеобразие формы крыльев у представителей разных линий комнатной мухи независимо от того, к какой группе – контрольной или импактной (КТС) – они относятся. Для этой цели на объединенном по экспериментальным группам и полу материале провели линейный дискриминантный анализ прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы крыла (рис. 3). В результате дискриминантного анализа выявлены существенные межлинейные различия по конфигурации крыла (Лямбда Уилкса (Wilks' Λ) = 0.151; $D^2 = 4.608$; T^2 Хотеллинга (Hotelling's T^2) = 1781.9; d.f._{1,2} = 34, 287; $F = 47.4$; $p < 0.0001$). На рисунке видно, что крыло короткоживущих мух линии *Shg*

в основании костального края до пересечения с первой радиальной жилкой имеет отчетливое расширение в области плечевой жилки, а также более широкую заднюю часть крыловой пластинки в зоне кубитальной и анальной жилок. Вероятность корректной дискриминации и диагностики имаго обеих линий составила 98.5% и сохранилась высокой (96.3%) после кросс-валидационной (cross-validation) проверки с помощью джеккнайф процедуры (jackknifed estimate). Следовательно, стресс не привел к уменьшению уровня межлинейных различий, выявленного нами ранее между контрольными выборками имаго *Shg* и *Lg* по форме крыла [43].

В этой связи интересно было оценить проявление устойчивых различий по форме крыла между контрольными и импактными (КТС) выборками: можно ли также почти безошибочно, как представителей разных линий, различить контрольные и импактные группы особей на смешанной выборке обеих линий? Для этого провели дискриминантный анализ прокрустовых координат между контрольными и импактными группами без учета принадлежности объектов к линии и полу. Такой прием сравнения статистически и морфометрически вполне оправдан, поскольку даже при сравнении сообществ допустимо применение метода “taxon-free”, т.е. объединения представителей разных видов в обобщенные выборки (снятия видовых “таксономических границ”) и парного сравнения морфологических различий в облике сообществ [9, 60], например при синэкологических и палеоэкологических сравнениях фрагментов сообществ и биоты. Процедура линейного дискриминантного анализа собственно и предполагает только парное сравнение выборок во всех вариантах, причем при сравнении разных дискриминантных функций часто наблюдается их некоторая коррелированность [51, 61], т.е. оси не строго

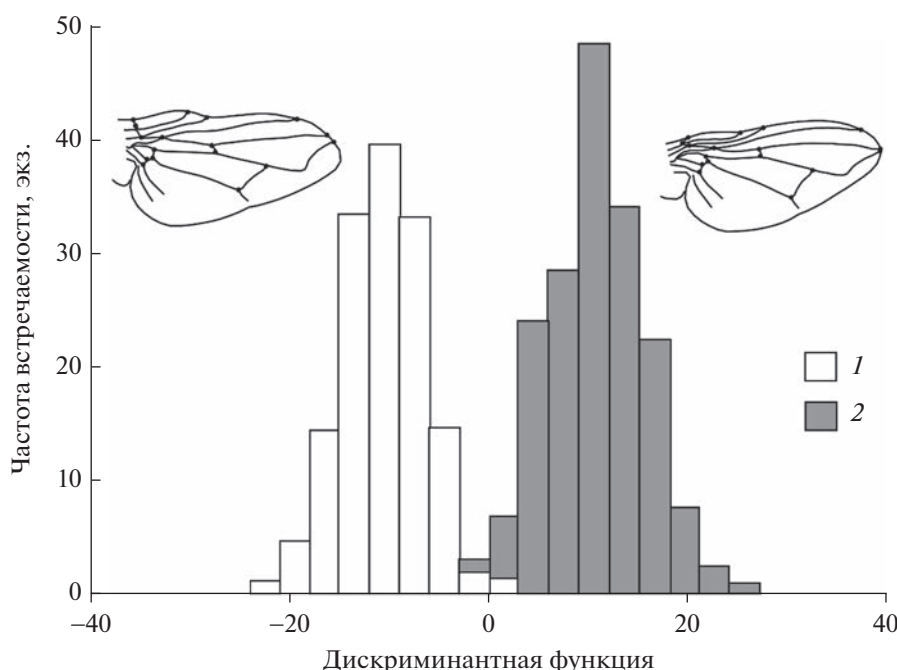


Рис. 3. Результаты дискриминантного анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы крыла короткоживущих (1 – Shg) и долгоживущих (2 – Lg) линий комнатной мухи (*Musca domestica*) без учета половой принадлежности. Контурные конфигурации крыльев (outlines) соответствуют центроидам сравниваемых линий.

ортогональны, что затрудняет использование их в многофакторном дисперсионном анализе.

Результаты данного варианта дискриминантного анализа представлены на рис. 4: и в этом случае межгрупповые различия оказались статистически значимыми (Лямбда Уилкса (Wilks' Λ) = 0.5455; D^2 = 3.566; T^2 Хотеллинга (Hotelling's T^2) = 464.8; d.f._{1,2} = 34, 287; F = 6.37; p < 0.0001). Вероятность корректной диагностики крыла имаго из контрольной и стресс-индуцированной групп составила 85.4%, а после кросс-валидационной проверки – 78.3%, т.е. осталась сравнительно высокой. Выявленная дифференциация велика и сопоставима по уровню даже с типичными подвидовыми различиями. Из рис. 4 следует, что крылья стресс-индуцированных мух в обеих линиях имеют общие черты строения, отличаясь лишь заостренной апикальной формой с расширением заднего края крыловой пластинки в области кубитальной и анальной жилок, а также относительно увеличенной площадью медиально-кубитальной ячейки.

Поскольку важно было оценить влияние каждого из трех упомянутых факторов на изменчивость формы крыльев, включая их возможные взаимодействия, т.е. получить полную картину межгрупповых различий, мы провели канонический анализ прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы крыла по выборкам самцов и самок контрольных и импактных групп

обеих линий мух (рис. 5). Так как канонический анализ основан на максимизации отношения межгрупповых различий к внутригрупповым, он позволяет оценить максимально возможные различия между центроидами выборок с учетом взаимной ориентации их эллипсоидов рассеивания. В результате расчетов ортогонально формируется последовательная иерархия межгрупповой изменчивости в морфопространстве последовательных канонических переменных [51, 62].

Межгрупповая изменчивость вдоль первых шести канонических осей оказалась высоко статистически значимой (p < 0.0001), и лишь вдоль седьмой канонической оси уровень значимости различий составил всего p = 0.0398. Соотношения значений центроидов выборок с учетом стандартных ошибок, а также величин межгрупповых дисперсий и оценок их значимости вдоль первых четырех канонических переменных (CV1–CV4) приведены в табл. 2. Видно, что первые канонические переменные характеризуют около 94.4% межгрупповой дисперсии, т.е. достаточно полно отражают основную структуру изменчивости формы крыльев в линиях комнатной мухи. Вдоль первой канонической переменной (CV1), на которую приходится около 63% межгрупповой дисперсии, четко проявились межлинейные различия (см. рис. 5). Результаты канонического анализа позволяют оценить взаимное размещение эллипсоидов выборок в общем 3D морфопространстве. Каждый из эл-

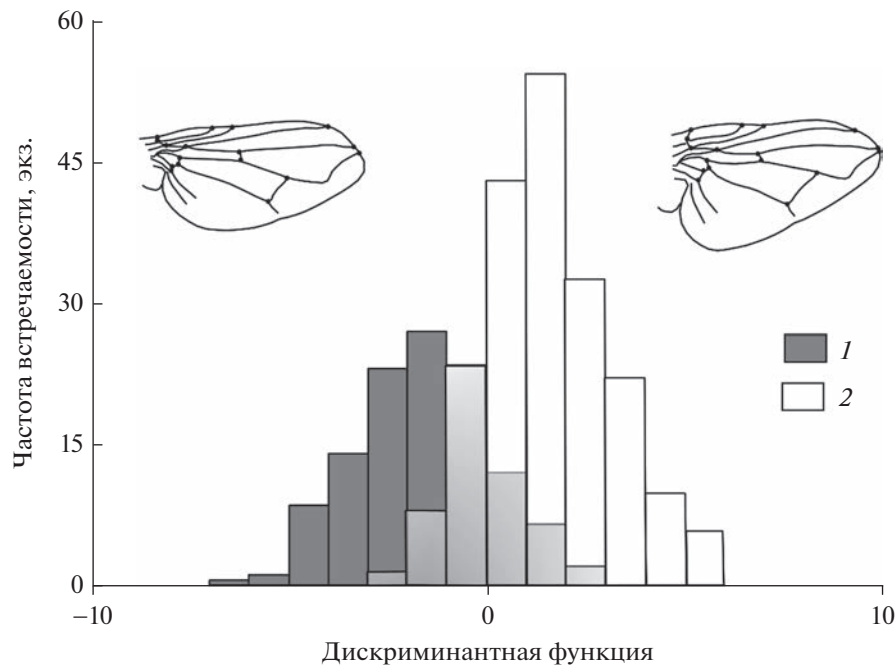


Рис. 4. Результаты дискриминантного анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы крыла контрольных (1) и подвергнутых кратковременному тепловому стрессу на трех этапах онтогенеза (2) групп комнатной мухи (*Musca domestica*) без учета их принадлежности к линии и полу. Контурные конфигурации крыльев (outlines) соответствуют центроидам сравниваемых выборок.

липсоидов рассеивания ординат объединяет 95% внутригрупповой дисперсии.

Судя по знакам центроидов выборок (см. табл. 2), все групповые центроиды линии *Shg* размещены в области положительных значений CV1, а линии *Lg* — отрицательных. Вторая каноническая ось (CV2), характеризующая 21% дисперсии, отражает половые различия. У всех групп самцов вдоль CV2 наблюдаются отрицательные величины центроидов, а у всех групп самок — положительные. Соответственно все эллипсоиды групп самок расположены в области положительных значений CV2. Вдоль третьей канонической переменной (CV3) проявились различия (около 6% дисперсии), связанные с влиянием теплового стресса на экспериментальные группы обеих линий. Эллипсоиды и центроиды всех импактных групп смещены в общем морфопространстве вдоль CV3 в направлении положительных значений (см. рис. 5). Стрелки на рисунке указывают направления межгрупповых различий в морфопространстве, связанные с факторами “линия”, “пол” и “стресс”.

Для оценки возможной аллометрии крыла — значимой связи его размеров и формы, провели регрессионный анализ между значениями логарифмированных центроидных размеров (lnCS) и первой главной компоненты (PC1), вычисленной по прокрустовым координатам. В результате расчетов ни в одной из изученных групп мух значимой регрессионной зависимости между размера-

ми центроида и формой не обнаружили. Доли объясненной регрессии колебались при этом от 0.41 до 4.9%, а уровень их значимости — от $p = 0.659$ до $p = 0.068$. Таким образом, выявленные нами межгрупповые различия формы крыльев не обусловлены эффектами аллометрии.

Для получения количественной оценки и более строгой интерпретации межгрупповых различий выполнили трехфакторный многомерный дисперсионный анализ всех семи канонических переменных (табл. 3, 4). Из табл. 3 следует, что объединенная факториальная дисперсия, включая варианты взаимодействий, приблизительно характеризует около 63% общей дисперсии. Если на долю межлинейных различий пришлось около 35.3% общей дисперсии, то на половые — 17.1%, а на стресс-индуцированные — 3.8%. Доля дисперсии, характеризующей взаимодействие “линия × пол” ($L \times G$) составила 2.2%, вариант взаимодействия “линия × стресс” ($L \times S$) — 3.6%, а для факторов “пол × стресс” ($G \times S$) — 1.5%. Минимально проявилось тройное взаимодействие “линия × пол × стресс” ($L \times G \times S$), на долю которого пришлось около 1.2%. Шумовой необъясненный компонент изменчивости составил приблизительно 2.8%. Обобщенные межгрупповые различия по каждому фактору и всем вариантам взаимодействий, включая тройное, оказались статистически достоверными (см. табл. 4).

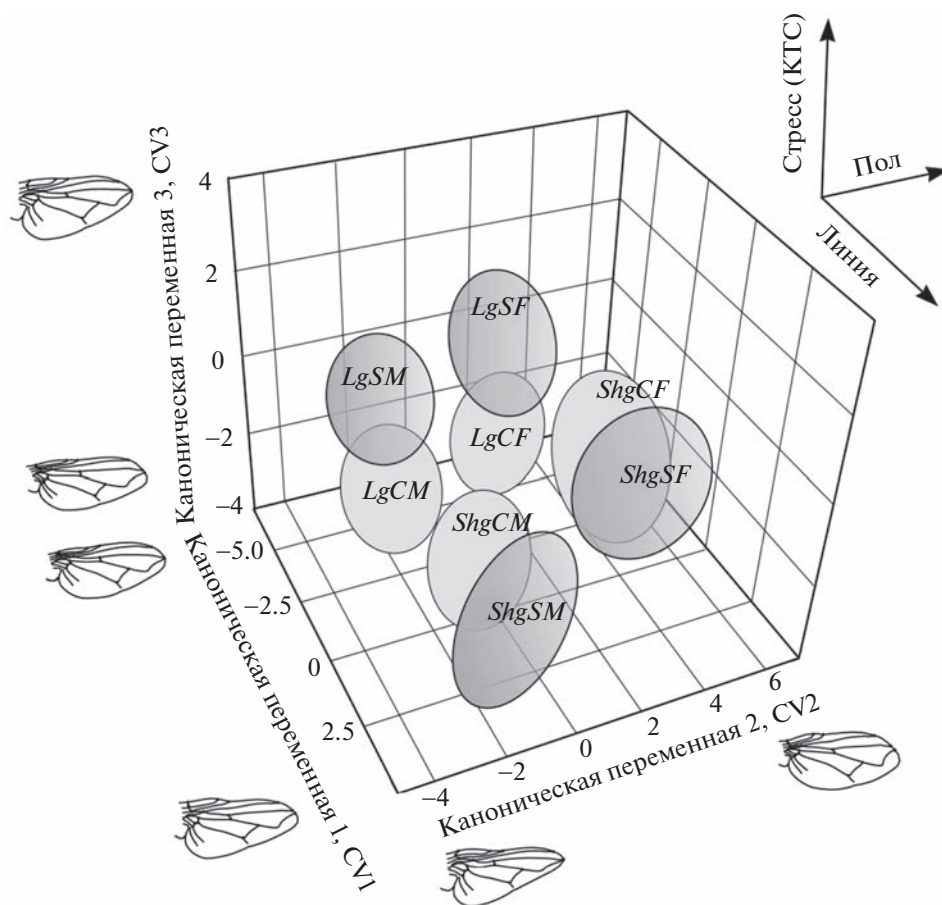


Рис. 5. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, характеризующих изменчивость формы крыла контрольных (C) и экспериментальных (S) групп самцов (M) и самок (F) в линиях долгоживущих (Lg) и короткоживущих (Shg) комнатных мух (*Musca domestica*). Вдоль канонических переменных (CV1–CV3) размещены контурные конфигурации крыльев (outlines), соответствующие минимальным и максимальным значениям осей. Эллипсоиды включают 95% внутригрупповой дисперсии ординат выборки. Стрелки – направления межгрупповой изменчивости формы крыла в 3D морфопространстве.

Таким образом, межлинейные различия примерно в два раза больше половых и почти на порядок превышают уровень стресс-индуцированных различий. Сравнительно невысокая доля дисперсии, обусловленной взаимодействием “линия $\times$ стресс” ($L \times S$), свидетельствует о том, что в обеих линиях мух проявляется во многом сходная морфогенетическая реакция на фактор стрессового воздействия. Незначимый вклад взаимодействия факторов “пол $\times$ стресс” ($G \times S$) показал, что представители разного пола почти одинаково реагировали на КТС. Дисперсия взаимодействия факторов “линия $\times$ пол” ($L \times G$) близка по величине к уровню дисперсии, вызванной влиянием фактора “стресс”, что косвенно указывает на исходные различия, сформировавшиеся после селекции на разное время репродукции в морфогенезе крыла у самцов и самок разных линий.

Используя квадратируемые значения обобщенных расстояний Махаланобиса (D^2), мы со-

поставили половые различия по форме крыла как между контрольными, так и между импактными группами имаго (все дистанции были высоко значимы – $p < 0.0001$). Оказалось, что “половой диморфизм” по форме крыла у представителей каждой линии несколько сильнее проявился между контрольными выборками: контрольные *Shg* – $D^2 = 23.17$, импактные *Shg* – $D^2 = 18.66$; контрольные *Lg* – $D^2 = 17.68$, импактные *Lg* – $D^2 = 15.11$. Межлинейные парные сравнения одних и тех же половых групп тоже выявили большие различия между контрольными группами: контрольные самцы *Shg* и *Lg* – $D^2 = 40.04$, импактные самцы *Shg* и *Lg* – $D^2 = 27.33$; контрольные самки *Shg* и *Lg* – $D^2 = 46.15$, импактные самки *Shg* и *Lg* – $D^2 = 32.74$. Таким образом, в контрольных группах “половой диморфизм” по форме крыла выражен сильнее, чем в импактных, т.е. кратковременный тепловой стресс привел к некоторой нивелировке половых различий в морфогенезе крыла.

Таблица 2. Результаты канонического анализа прокрустовых координат, отражающих изменчивость формы крыла самцов и самок контрольных и импактных (стресс-индуцированных – КТС) групп в линиях *Shg* и *Lg* комнатной мухи вдоль первых четырех канонических переменных

Линия, пол, контроль/стресс	Каноническая переменная			
	CV1	CV2	CV3	CV4
Центроиды выборок ($\pm SE$)				
<i>Shg</i> , самцы, контроль	4.078 $\pm$ 0.210	–1.395 $\pm$ 0.263	–1.827 $\pm$ 0.160	0.520 $\pm$ 0.246
<i>Shg</i> , самки, контроль	2.115 $\pm$ 0.162	2.496 $\pm$ 0.164	–1.329 $\pm$ 0.189	0.1690 $\pm$ 0.154
<i>Shg</i> , самцы, стресс	3.928 $\pm$ 0.157	–1.587 $\pm$ 0.135	0.758 $\pm$ 0.168	–0.306 $\pm$ 0.154
<i>Shg</i> , самки, стресс	1.791 $\pm$ 0.134	1.861 $\pm$ 0.115	1.377 $\pm$ 0.179	0.448 $\pm$ 0.152
<i>Lg</i> , самцы, контроль	–1.614 $\pm$ 0.178	–2.750 $\pm$ 0.142	–0.583 $\pm$ 0.128	0.559 $\pm$ 0.182
<i>Lg</i> , самки, контроль	–4.144 $\pm$ 0.183	0.283 $\pm$ 0.138	–0.118 $\pm$ 0.152	–1.251 $\pm$ 0.144
<i>Lg</i> , самцы, стресс	–0.791 $\pm$ 0.147	–1.224 $\pm$ 0.217	0.247 $\pm$ 0.130	1.636 $\pm$ 0.185
<i>Lg</i> , самки, стресс	–3.951 $\pm$ 0.154	0.786 $\pm$ 0.117	0.100 $\pm$ 0.139	–0.542 $\pm$ 0.142
Итоги канонического анализа				
Λ Уилкса (Wilks' Λ)	0.0040	0.0399	0.1602	0.2977
Собственные числа	8.9982	3.0159	0.8582	0.66750
Каноническая корреляция	0.95	0.87	0.68	0.63
Доля дисперсии, %	62.73	21.03	5.98	4.65
Критерий χ^2	1549.5	903.6	513.7	339.9
Число степеней свободы (d.f.)	203	168	135	104
F-критерий	328.44	110.08	31.32	24.36
Уровень значимости	$p < 0.00001$	$p < 0.00001$	$p < 0.00001$	$p < 0.00001$

По итогам канонического анализа на основе матрицы неквадратированных обобщенных расстояний Махаланобиса (D) между сравниваемыми выборками мы провели кластерный анализ (UPGMA) (рис. 6), используя евклидову метрику дистанций (ее выбор обусловлен наибольшим значением коэффициента кофенетической корреляции ($CCC = 0.95$) по сравнению с другими метриками). Из рисунка следует, что кластерная структура иерархически включает два крупных кластера, один из которых объединяет все выборки линии короткоживущих мух (*Shg*), а второй – все выборки линии долгоживущих (*Lg*). Каждый из кластеров далее четко разбивается на два иерархически подчиненных субкластера, характеризующих с одной стороны выборки самцов, а с другой – самок, а кластеры каждого пола – на подчиненные субкластеры контрольных и импактных групп. Следует отметить относительно высокие уровни бутстреп-поддержки для большинства узлов кластера, т.е. устойчивость его структуры. Общая структура кластера отражает иерархию направлений межгрупповой изменчивости: наибольший уровень иерархии соответствует межлинейным, в основном генетическим, различиям, промежуточный характеризует половые различия, а наименьший, обусловленный КТС, указывает на уровень экологического сре-

дového воздействия. Интересно подчеркнуть, что в узлах ветвления кластера, соответствующих половым и стресс-индуцированным различиям, средние величины дистанций, соответствующие иерархическим уровням агрегирования выборок, у обеих линий оказались приблизительно одинаковы.

Важный аспект исследований касается оценки уровней внутригруппового разнообразия и стабильности развития контрольных и импактных групп мух. Для этой цели на основе значений трех первых канонических переменных мы провели серию расчетов объемов внутригрупповых морфопространств (Vm) по случайно выровненным по числу наблюдений выборкам (рис. 7). Средний объем морфопространства линии *Shg* ($Vm = 132.79 \pm 0.51$) значимо ($t = 20.8$; $p < 0.00001$) превысил таковой у линии *Lg* ($Vm = 111.28 \pm 0.90$), т.е. морфогенез крыла короткоживущих мух в целом протекает менее стабильно, чем долгоживущих. Эта общая тенденция проявилась и при парном сравнении величин Vm у аналогичных контрольных и импактных групп самцов и самок обеих линий (см. рис. 7).

При оценке соотношения вкладов межгрупповых различий, обусловленных факторами линия, пол и стресс, мы также применили трехфакторный дисперсионный анализ значений Vm . Общий эффект оказался высоко статистически значимым ($F = 135.7$; d.f._{1,2} = 7, 72; $p < 0.0001$), а множе-

Таблица 3. Результаты трехфакторного дисперсионного анализа (Three-way ANOVA) канонических переменных (CV1–CV7), характеризующих различия в изменчивости формы крыла контрольных и импактных (подвергавшихся КТС) групп самцов и самок линий *Shg* и *Lg* комнатной мухи

Источник изменчивости (фактор)	Число степеней свободы, d.f.	CV1 (MS)	<i>p</i>	CV2 (MS)	<i>p</i>	CV3 (MS)	<i>p</i>
Линия (L)	1	2119.896	0.0000	77.300	0.0000	1.748	0.1872
Пол (G)	1	405.285	0.0000	643.184	0.0000	8.824	0.0032
Стресс (S)	1	1.755	0.1863	5.712	0.0175	175.783	0.0000
L × G	1	10.077	0.0017	23.361	0.0000	1.886	0.1707
L × S	1	8.971	0.0030	34.879	0.0000	72.721	0.0000
G × S	1	2.608	0.1074	8.983	0.0030	0.768	0.3817
L × G × S	1	0.790	0.3748	1.581	0.2096	1.813	0.1792
Ошибка (Error)	292	1.000		1.000		1.000	
	d.f.	CV4 (MS)	<i>p</i>	CV5 (MS)	<i>p</i>	CV6 (MS)	<i>p</i>
Линия (L)	1	0.752	0.3865	11.902	0.0006	0.354	0.5522
Пол (G)	1	6.671	0.0103	2.004	0.1579	2.565	0.1103
Стресс (S)	1	52.025	0.0000	1.004	0.3172	2.214	0.1379
L × G	1	22.625	0.0000	62.018	0.0000	4.856	0.0283
L × S	1	82.603	0.0000	20.027	0.0000	3.061	0.0812
G × S	1	2.131	0.1454	45.651	0.0000	19.557	0.0000
L × G × S	1	9.081	0.0028	1.055	0.3053	42.832	0.0000
Ошибка (Error)	292	1.000		1.000		1.000	
	d.f.	CV7 (MS)	<i>p</i>	Общая дисперсия (SS)		Доля дисперсии, %	
Линия (L)	1	0.061	0.8045	2212.014		35.29	
Пол (G)	1	0.078	0.7797	1068.612		17.05	
Стресс (S)	1	0.003	0.9560	238.495		3.80	
L × G	1	11.542	0.0008	136.364		2.18	
L × S	1	1.955	0.1631	224.218		3.58	
G × S	1	14.197	0.0002	93.894		1.50	
L × G × S	1	14.995	0.0001	72.147		1.15	
Ошибка (Error)	292	1.000		2044.003		32.61	
Общая	299			6268.734		100.00	

Примечание: MS – средняя сумма квадратов; *p* – уровень значимости; полужирным шрифтом выделены максимальные значения MS для каждой канонической переменной.

Таблица 4. Оценка значимости результатов трехфакторного многомерного дисперсионного анализа (MANOVA) канонических переменных (CV1–CV7), характеризующих различия в изменчивости формы крыла контрольных и подвергавшихся КТС самцов и самок линий *Shg* и *Lg* комнатной мухи

Источник изменчивости (фактор)	Тест Уилкса (Wilks' test)	Размер эффекта (η^2)	F	Число степеней свободы эффекта (d.f. ₁)	Число степеней свободы ошибки (d.f. ₂)	Уровень значимости (<i>p</i>)
Линия (L)	0.11661	0.88339	309.51	7	286	<0.0001
Пол (G)	0.21461	0.78539	149.52	7	286	<0.0001
Стресс (S)	0.55043	0.44957	33.37	7	286	<0.0001
L × G	0.68166	0.31834	19.08	7	286	<0.0001
L × S	0.56565	0.43435	31.37	7	286	<0.0001
G × S	0.75668	0.24332	13.14	7	286	<0.0001
L × G × S	0.80187	0.19813	10.09	7	286	<0.0001

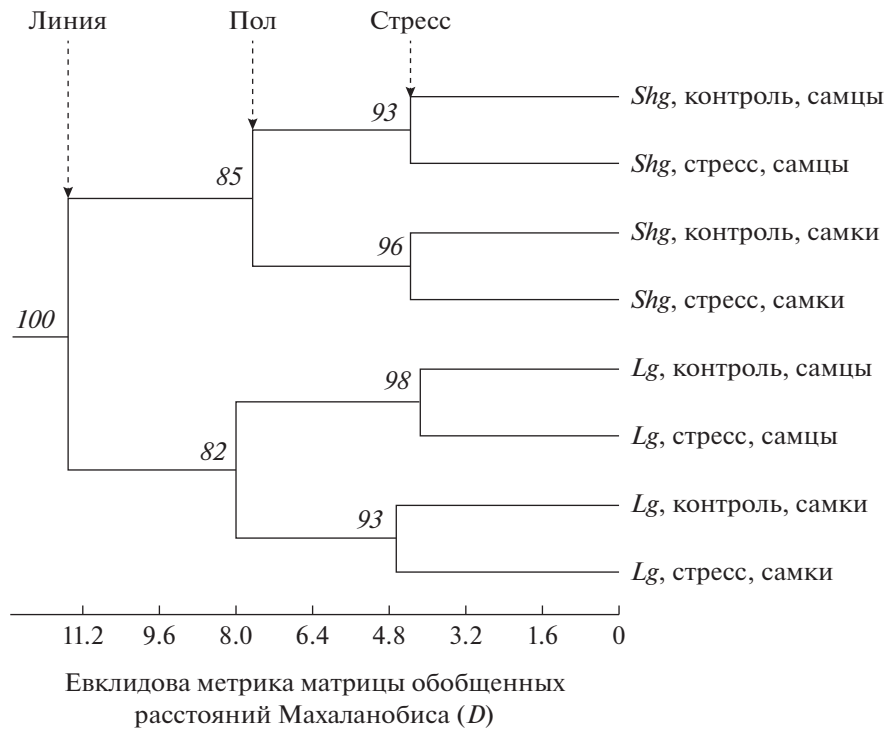


Рис. 6. Кластерный анализ (UPGMA) матрицы обобщенных расстояний Махаланобиса (D) по форме крыла между контрольными и подвергнутыми КТС импактными группами самцов и самок у имаго короткоживущих (*Shg*) и долгоживущих (*Lg*) линий комнатной мухи (вертикальные стрелки — уровни иерархии межгрупповых различий).

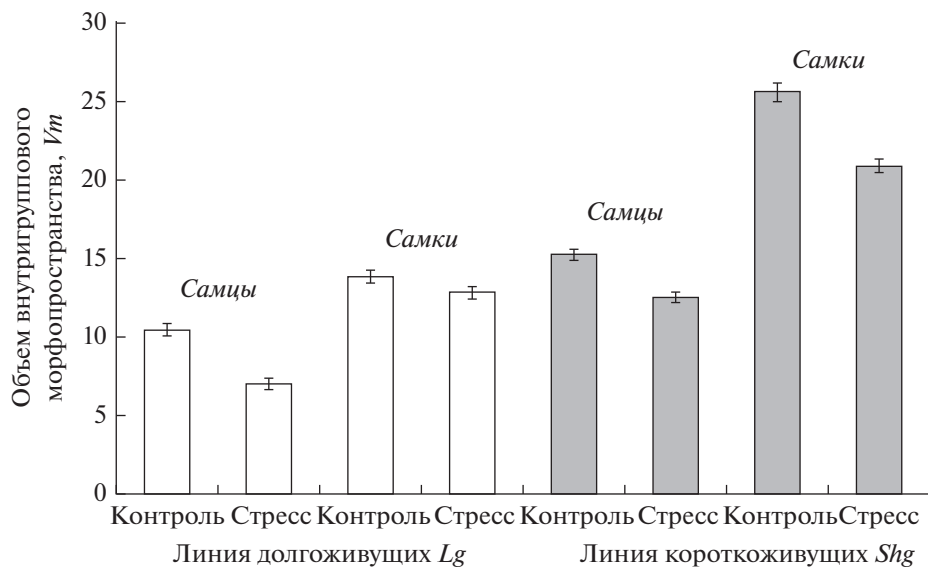


Рис. 7. Сравнение объемов внутригруппового морфопространства V_m (с учетом стандартных ошибок $\pm SE$) в контрольных и импактных (КТС) группах самцов и самок короткоживущих (*Shg*) и долгоживущих (*Lg*) линий комнатной мухи (перед расчетом V_m во всех исходных выборках после рандомизации число наблюдений выровнено: $n = 17$).

ственный коэффициент детерминации, характеризующий долю объясненной дисперсии, составил $R^2 = 0.93$. Факторы линия и пол, на долю которых пришлось более 80% дисперсии, внесли основные и почти равные вклады в межгруппо-

вые различия по изменчивости объемов внутригрупповых морфопространств (табл. 5). Межлинейные различия при этом лишь несколько превышают половые, а размер эффекта в обоих случаях близок к максимальному.

Таблица 5. Трехфакторный дисперсионный анализ объемов внутригруппового морфопространства (V_m) вдоль первых трех канонических переменных при оценке различий формы крыла контрольных и импактных (КТС) самцов и самок линий *Shg* и *Lg* комнатной мухи с учетом размера эффекта и доли объясненной дисперсии, %

Источник изменчивости (фактор)	Сумма квадратов (SS)	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат (MS)	F	Уровень значимости (p)	Размер эффекта (η^2)	Доля дисперсии, %
Линия (L)	1075.17	1	1075.17	427.80	<0.0001	0.8559	41.86
Пол (G)	1004.01	1	1004.01	399.49	<0.0001	0.8473	39.09
Стресс (S)	154.68	1	154.68	61.55	<0.0001	0.4609	6.02
L $\times$ G	106.14	1	106.14	42.23	<0.0001	0.3697	4.13
L $\times$ S	12.47	1	12.47	4.96	0.0290	0.0645	0.49
G $\times$ S	0.07	1	0.07	0.03	0.8726	0.0004	0.003
L $\times$ G $\times$ S	35.18	1	35.18	14.00	0.0004	0.1628	1.37
Внутригрупповая	180.95	72	2.51				7.04
Общая	2568.68	79					100.00

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значимые размеры эффекта. Все группы при процедуре редификации предварительно случайно выровнены по минимальному числу наблюдений, а значения V_m для каждой выборки получены на основе проведения повторных ($n = 10$) циклов бутстрэпа (bootstrap) со случайным замещением особей.

Таким образом, межлинейные (в основном генетически обусловленные) различия, отражающие относительно высокую стабильность развития конфигураций крыльев у линии *Lg*, но повышенную нестабильность формирования крыльев у представителей линии *Shg*, можно рассматривать как результат проведенной селекции на сроки репродукции. Половые различия, выраженные в большей нестабильности развития крыльев самок обеих линий, по-видимому, отражают как общую видовую черту фенотипической изменчивости, так и, вероятно, итоги селекции. Следует подчеркнуть, что во всех группах самок величины объемов внутригрупповых морфопространств оказались достоверно больше, чем в группах самцов (см. рис. 7): в линии *Shg* – между самцами и самками контрольной группы $Q = 20.18$ ($p = 0.00013$), а в импактной группе $Q = 16.35$ ($p = 0.00013$); в линии *Lg* в контрольной группе – $Q = 6.60$ ($p = 0.00052$), в импактной – $Q = 11.13$ ($p = 0.00013$). Последнее отражает большую нестабильность развития крыла во всех группах самок по сравнению с соответствующими группами самцов.

Фактор КТС, на долю которого пришлось около 6% дисперсии, существенно меньше влияет на изменчивость показателя V_m , т.е. нестабильность развития конфигурации крыльев во многом отражает сходную общую реакцию импактных групп у самцов и самок разных линий. При этом, как уже отмечалось выше, проявляется общая тенденция к снижению величины V_m у всех импактных групп по сравнению с соответствующими им контрольными (см. рис. 7), но у разных линий различия выражены несколько по-разному. Неудивительно, что существенен и вклад взаимодействия “линия $\times$ пол” (L $\times$ G), на который приходится

около 4% дисперсии. Следует также отметить, что хотя доля дисперсии взаимодействия факторов “линия $\times$ стресс” (L $\times$ S) составила всего 0.5%, его вклад формально близок к минимальному уровню значимости, а размер эффекта превышает принятый Коэном минимальный уровень. Полученный результат прямо указывает на то, что в обеих линиях, несмотря на большое сходство общего снижения значения V_m у импактных групп, иногда эффект может быть выражен у представителей разных линий несколько слабее или сильнее. Эффект взаимодействия “пол $\times$ стресс” (G $\times$ S) при этом не проявился (см. табл. 5). Однако значимым неожиданно оказалось взаимодействие трех факторов “линия $\times$ пол $\times$ стресс” (около 1.4% дисперсии), причем размер эффекта ($\eta^2 = 0.16$) превысил средний уровень различий по Коэну. Данный эффект взаимодействия отражает общие последствия как селективного процесса, так и повторного влияния КТС на генотипы самцов и самок, отражающиеся в разном проявлении нестабильности развития крыльев мух у представителей контрольных и импактных групп разных полов в разных линиях. Наиболее высокие уровни значений V_m оказались у обеих групп самок линии *Shg* (см. рис. 7), что косвенно указывает на незавершенность стабилизации морфогенеза крыла у самок этой линии после окончания ее селекции на раннюю репродукцию.

Обсуждая полученные результаты, необходимо сопоставить их с выводами других авторов. В отличие от прямого температурного воздействия, вызывающего определенные модификационные изменения, связь размеров крыла с температурой у географически удаленных популяций может отражать исторически возникшие генетически обусловленные адаптивные эффекты. В эксперимен-

тах на дрозофиле В. Деба с соавт. [38] выявили сильную отрицательную зависимость размера крыла от температуры — при высокой постоянной температуре развития крыло имело небольшие размеры. Анализ географической изменчивости размеров крыла дрозофилы [63] и комнатной мухи [41] также выявил уменьшение крыльев в более южных широтах при более высокой температуре. Следовательно, как и в случае модификаций и генетически обусловленных адаптивных реакций разных географических популяций при повышении температуры среды размер крыла становился меньше. По нашим данным, у обеих экспериментальных групп комнатной мухи в ответ на повторяющееся кратковременное повышение температуры размер крыла не только не уменьшился, но, напротив, в большинстве случаев существенно увеличился. Выявленный с помощью трехфакторного ANOVA центроидного размера крыла значимый эффект взаимодействия факторов “линия × стресс” частично объясняет природу этой ростовой реакции, протекающей по типу “гормезиса” [64, 65]. Напомним, что линия *Shg* имеет в целом крупные крылья, а линия *Lg* — меньшего размера, т.е. рост и развитие у ее особей замедлены. У обеих линий, как уже отмечалось, наблюдается общая тенденция увеличения крыльев в импактных (КТС) группах. При этом у крупных мух линии *Shg* крыло после повторяющегося стресса лишь немного увеличивается, а у мелких представителей *Lg* существенно увеличивается, что и обусловило значимый эффект взаимодействия ($L \times S$). Эффект КТС, по-видимому, вызывает ускорение роста и развития, причем в наибольшей степени в линии *Lg*.

В. Деба с соавт. [39] на примере линий *D. melanogaster* установили, что температура и геномные мутации способны модифицировать уровни флуктуирующей асимметрии (ФА) как показателя дестабилизации развития, а также оказывают влияние на индивидуальную изменчивость экспериментальных линий. Одновременно показано, что величина ФА не прямо зависит от температуры, а опосредованно задается проявлением индивидуальной изменчивости групп, стимулированной температурным воздействием. У комнатной мухи при оценке стабильности развития по величине *Vm* наблюдается, по-видимому, сходная картина, т.е. генотипы самцов и самок проявляют разную чувствительность к стрессу при развитии. Полностью сходного с нашим дизайном экспериментального исследования на других эктотермных видах мы не нашли. Однако в литературе имеются [64–69] примеры влияния кратких по времени или умеренных по степени воздействия гипо- и гипертермических стрессовых воздействий, которые часто сопровождаются эффектом гормезиса, проявляющегося в том числе в увеличении размеров. Поэтому и в нашем случае кратковременный тепловой стресс вызывает увеличение размеров, усиливает

стабильность развития и приводит к сходному морфогенетическому изменению (см. рис. 4) крыльев, однако аллометрические эффекты при этом не обнаруживаются.

Мы уже отмечали исследования, в которых доказано проявление трансгенерационного наследования стресс-индуцированных эпигенетических перестроек генома, вызывающих определенные морфогенетические изменения [15, 18–20]. Примечательно, что ранее Ю.М. Никоноров и Г.В. Беньковская [70] установили, что в обеих линиях комнатной мухи к стадии имаго по сравнению со стадией куколки существенно увеличивается содержание копий транспозона *Hermes* в ДНК. Распространение транспозона *Hermes* в геноме мухи и увеличение его копийности могут происходить на основе механизма транспозиции без промежуточной эписомной формы [70]. По аналогии с выявленными у дрозофилы механизмами стресс-индуцированных МГЭ перестроек ДНК, вызывающих определенные морфогенетические изменения [27], можно ожидать и у комнатной мухи активацию КТС сходных процессов функциональных перестроек генома и морфогенеза за счет транспозиций мобильных элементов. Однако наряду с этой версией объяснения возможна и другая, во многом альтернативная, связывающая изменения среды и геномную реакцию на отбор.

В работе [71] на 20 географически разобщенных популяциях *D. melanogaster* был проведен анализ частот встречаемости аллелей по всему геному у мух, собранных в начале и конце вегетационного периода. В результате были установлены обратимые параллельные сезонные сдвиги частот аллелей как в Северной Америке, так и в Европе, отражая общие проявления сезонной адаптации к изменяющейся среде. Показано, что сезонные колебания полиморфизма аллелей дополняются крупными хромосомными инверсиями, причем наблюдается соответствие между сезонными и пространственными изменениями частот аллелей. Авторы пришли к выводу, что флуктуирующий отбор — важная эволюционная сила, которая может влиять на паттерны генетической изменчивости модельного вида. Параллельные изменения частот аллелей по сезонам при полной изоляции сравниваемых популяций указывают на то, что возможны экологически стимулированные и явно селективно обусловленные параллельные перестройки генетической структуры популяций по известному механизму адаптивного полиморфизма [72]. Ранее академик С.С. Шварц [73], рассматривая модель быстрых направленных и обратимых изменений частот морф в популяции, предполагал существование особого механизма гомеостатических колебаний генетической структуры популяций. Возможно, и в рассмотренных выше случаях в разные сезоны могли отбираться разные генотипы дрозофил с разным репродуктивным потенциалом,

зависящим от условий сезонов года (например, пороговых воздействий на их репродуктивную систему температуры и влажности). Данный эффект позволяет предполагать возможность срабатывания сходного селективного генотипического механизма и при ответе на повторные экспозиции КТС в череде потомков импактных сублиний. Соответственно генотипы, реагирующие на КТС ростом размеров, могут в течение всего нескольких поколений увеличить свою относительную численность за счет большей индивидуальной плодовитости.

Следовательно, есть основания предполагать, что эффективность отбора по времени репродукции мух, формирующего генетически дифференцированные линии, а также быстрое становление морфогенетических различий между линиями и сходная однонаправленная морфогенетическая и ростовая реакции импактных групп в ответ на КТС могут быть обусловлены как селективными механизмами перестройки генотипического состава линий за счет генотипов с разным репродуктивным потенциалом в разных условиях среды, так и стресс-индуцированными эпигенетическими процессами, в том числе вызванными транспозицией МГЭ, трансгенерационно формирующими устойчивые “длительные модификации”. Дальнейший, в том числе генетический и эпигенетический, анализ модельных экспериментальных групп в сочетании с морфометрическими исследованиями может прояснить природу механизмов быстрых стресс-индуцированных морфогенетических изменений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Массовый противоположно направленный дизруптивный отбор на разное время репродукции мух был проведен на исходно гетерогенном материале, но имеющем единое происхождение. Поэтому выявленные параллелизмы в изменении размеров и формы крыла у линий отражают их общий потенциал возможных морфогенетических изменений. В то же время проявление у контрольных и импактных групп мух специфических морфогенетических реакций отражает как эпигенетические, так и генетические изменения, возникшие в результате действия направленного отбора. Следует отметить, что результаты отбора на разную продолжительность жизни [44] в целом укладываются в видовой диапазон времени репродукции и продолжительности жизни (longevity) комнатной мухи, который, как известно, колеблется в природных и лабораторных условиях от 2–3 недель до 2 мес. и более [74]. Другими словами, пул возможных модификаций исходной гетерогенной линии вполне мог содержать ранее возникшие в истории вида потенциальные варианты морфогенеза, на осно-

ве которых сформировались и были селектированы линии коротко- и долгоживущих мух.

Поэтому все сказанное выше приводит нас к главной гипотезе о том, что в основе морфогенетических изменений, параллельно возникших в обеих линиях комнатной мухи после КТС, лежат две из многих исторически выработанных у вида естественных модификаций развития, которые в норме эпигенетически зарегулированы и блокированы, но могут реализоваться в критической ситуации. Такая естественная направленная модификация, проявившаяся в обеих линиях как стресс-индуцированная перестройка морфогенеза крыла, вызвала комплекс сходных морфологических изменений, включая увеличение размера крыла, однонаправленное изменение его формы у импактных групп, а также обеспечила сходные процессы повышения у них уровня стабильности развития (при снижении *Vm*). Кроме того, напомним, что в условиях эксперимента с КТС ранее была отмечена тенденция к продлению развития на стадии пупария в группе стрессируемых долгоживущих особей *Lg* и обратная тенденция — в группе стрессируемых короткоживущих особей *Shg* [47]. Обе эти тенденции были направлены на нормировку морфогенеза импактных групп в русле общей модификации. Сочетание этих фенотипических особенностей можно интерпретировать как проявление стресс-индуцированного эффекта гормезиса у импактных групп обоих полов. Феномен гормезиса был отмечен многими исследователями при разных умеренных и кратковременных стрессовых воздействиях, включая влияние умеренной гипо- и гипертермии особенно на ранние стадии развития насекомых [64, 65, 75].

Достигнутые при селекции межлинейные различия весьма велики как по размерам, так и по форме крыла, несмотря на сравнительно небольшое (14–16) число поколений отбора. Такие быстрые и эффективные изменения можно также рассматривать и как результат фиксации в процессе отбора заранее имеющихся в видовом “веере” модификаций за счет вероятной эпигенетической перестройки (по К. Уоддингтону: аккомодации) и трансгенерационного наследования типичных морфотипов (по Шмальгаузену: морфозов), на основе которых сформировались линии коротко- и долгоживущих мух. При этом стабильность развития долгоживущих особей линии *Lg* выше, чем у короткоживущих мух линии *Shg*, т.е. морфогенез долгоживущих стабилизировался относительно быстро (это не противоречит гипотезе). Осталось неясным, почему у всех групп самок по сравнению с самцами наблюдался и сохранился более высокий уровень нестабильности развития крыла. Возможно, модификационное переключение развития крыла и его стабилизация у самцов обеих линий осуществились “легче” и быстрее, чем у самок, тем более в линии *Shg*, где физиологи-

ческие процессы самок настроены на быстрое созревание и раннюю репродукцию. Установленная высокая фенотипическая пластичность линий при селекции на разную продолжительность жизни и вызванные КТС изменения прямо указывают на реальность стресс-индуцированных быстрых морфогенетических перестроек вида при резкой смене экологических условий, позволяющих комнатной мухе адаптироваться к обитанию в широком климатическом и сезонном диапазоне условий.

Однако приведенный выше пример параллельных сезонных колебаний генотипического состава европейских и американских популяций дрозофилы (см. [71]) показывает, что в рассмотренном нами случае, наряду с вероятными эпигенетическими механизмами, могут действовать особые сбалансированные селективные процессы быстрого накопления определенных генотипов, репродуктивный потенциал которых зависит от конкретных экологических условий среды (температура, влажность, комплекс сезонных факторов).

Дальнейший параллельный сравнительный анализ генотипического состава и репродуктивных возможностей разных генотипов, а также эпигенетических профилей метилирования ДНК и размещения мобильных элементов (TEs) по сайтам хромосом у представителей линий коротко- и долгоживущих мух, отобранных по времени репродукции, может позволить проверить обе предложенные гипотезы и прояснить возникшие эволюционно-экологические вопросы, связанные с наблюдаемыми быстрыми морфогенетическими перестройками.

Сравнительное изучение межгрупповой изменчивости контрольных и стрессированных кратковременным тепловым воздействием групп мух выполнено при поддержке гранта РФФИ (№ 15-04-04801), а анализ уровней внутригруппового разнообразия и стабильности развития модельных линий методами геометрической морфометрии проведен в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН (№ 122021000091-2).

Авторы благодарны к.б.н. К.А. Китаеву за неоценимую помощь в планировании и организации цикла экспериментальных работ, а также обсуждение результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жерихин В.В. Избранные труды по палеоэкологии и филогенетике. М.: Тов-во научн. изд. КМК, 2003. 542 с.
2. Ceballos G., Ehrlich P.R., Barnosky A.D. et al. Accelerated modern human-induced species losses: entering the sixth mass extinction // *Science Advance*. 2015. V. 1. № 5. e1400253. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400253>
3. Parmesan C. Ecological and evolutionary responses to recent climate change // *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2006. V. 37. P. 637–669.
4. Steffen W., Grinevald J., Crutzen P., McNeil J. The Anthropocene: conceptual and historical perspectives // *Philosophical Transactions of the R. Soc. A*. 2011. V. 369. P. 842–867.
5. Alberti M. Eco-evolutionary dynamics in an urbanizing planet // *Trends in Ecology and Evolution*. 2015. V. 30. № 2. P. 114–126.
6. McGill B.J., Enquist B.J., Weiher E., Westoby M. Rebuilding community ecology from functional traits // *Trends in Ecology and Evolution*. 2006. V. 21. № 4. P. 178–185.
7. Violle C., Enquist B.J., McGill B.J. et al. The return of the variance: intraspecific variability in community ecology // *Trends in Ecology and Evolution*. 2012. V. 27. № 4. P. 244–252.
8. Mouillot D., Graham N.A.J., Villéger S. et al. A functional approach reveals community responses to disturbance // *Trends in Ecology and Evolution*. 2013. V. 28. № 3. P. 167–177.
9. Fontaneto D., Panisi M., Mandrioli M. et al. Estimating the magnitude of morphoscapes: how to measure the morphological component of biodiversity in relation to habitats using geometric morphometrics // *Sci. Nat*. 2017. V. 104. № 55. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1475-3>
10. Blonder B. Hypervolume concepts in niche- and trait-based ecology // *Ecography*. 2018. V. 41. P. 1441–1455.
11. Васильев А.Г. Концепция морфониши и эволюционная экология. М.: Тов-во научн. изд. КМК, 2021. 316 с.
12. West-Eberhard M.J. Developmental plasticity and evolution. Oxford: Oxford University Press, 2003, 816 p.
13. Bonduriansky R. Rethinking heredity, again // *Trends in Ecology and Evolution*. 2012. V. 27. № 6. P. 330–336.
14. Duncan E.J., Gluckman P.D., Dearden P.K. Epigenetics, plasticity and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? // *J. Exp. Zool. Part B. Molecular and Developmental Evolution*. 2014. V. 322. P. 208–220.
15. Donelan S.C., Hellmann J.K., Bell A.M. et al. Transgenerational plasticity in human-altered environments // *Trends in Ecology and Evolution*. 2020. V. 35. № 2. P. 115–124.
16. Herman J., Sultan S. Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations // *Front. Plant Sci*. 2011. V. 2. № 102. P. 1–10.
17. Bell A.M., Hellmann J.K. An integrative framework for understanding the mechanisms and multigenerational consequences of transgenerational plasticity // *Annual Rev. of Ecology Evolution and Systematics*. 2019. V. 50. № 1. P. 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110218-024613>
18. Jablonka E., Raz G. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution // *Q. Rev. Biol*. 2009. V. 84. P. 131–176.

19. *Becker C., Weigel D.* Epigenetic variation: Origin and transgenerational inheritance // *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2012. V. 15. P. 562–567.
20. *Bošković A., Rando O.J.* Transgenerational epigenetic inheritance // *Annual Rev. Genet.* 2018. V. 52. P. 21–41.
21. *Rohlf F.J., Slice D.* Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks // *Syst. Biol.* 1990. V. 39. № 1. P. 40–59.
22. *Zelditch M.L., Swiderski D.L., Sheets H.D., Fink W.L.* Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer. New York: Elsevier Acad. Press, 2004. 437 p.
23. *Klingenberg C.P.* MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics // *Mol. Ecol. Resour.* 2011. V. 11. P. 353–357.
24. *Zelditch M.L., Wood A.R., Bonett R.M., Swiderski D.L.* Modularity of the rodent mandible: integrating bones, muscles, and teeth // *Evolution and Development.* 2008. V. 10. P. 756–768.
25. *Sheets H.D., Zelditch M.L.* Studying ontogenetic trajectories using resampling methods and landmark data // *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy.* 2013. V. 24. № 1. P. 67–73.
26. *Васильева Л.А., Юнакович Н., Ратнер В.А., Забанов С.А.* Анализ изменений локализации МГЭ дрозофилы после селекции и температурного воздействия методом блот-гибридизации по Саузерну // *Генетика.* 1995. Т. 31. № 3. С. 333–341.
27. *Васильева Л.А., Антоненко О.В., Захаров И.К.* Роль мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila melanogaster* // *Вавиловский журн. генетики и селекции.* 2011. Т. 15. № 2. С. 225–260.
28. *Забанов С.А., Васильева Л.А., Ратнер В.А.* Множественная индукция транспозиций МГЭ B104 тяжелым тепловым шоком у дрозофилы // *Генетика.* 1994. Т. 30. № 2. С. 218–224.
29. *Забанов С.А., Васильева Л.А., Ратнер В.А.* Индукция транспозиций МГЭ Dm412 γ -облучением в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* 1995. Т. 31. № 6. С. 798–803.
30. *Biemont C., Terzian C.* MDG-1 mobile element polymorphism in selected *Drosophila melanogaster* population // *Genetica (Ned.).* 1988. V. 76. № 1. P. 7–14.
31. *Biemont C., Vieira C.* What transposable elements tell us about genome organization and evolution: the case of *Drosophila* // *Cytogenet. Genome Res.* 2005. V. 110. № 1/4. P. 25–34.
32. *Васильева Л.А.* Влияние изогенизации на фенотипическое проявление количественных признаков у *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* 2004. Т. 40. № 8. С. 1053–1057.
33. *Feder M.E., Hofmann G.E.* Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology // *Annual Rev. Physiol.* 1999. V. 61. P. 243–282.
34. *Åkerfelt M., Morimoto R.I., Sistonen L.* Heat-shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010. V. 11. P. 545–555.
35. *Barua D., Heckathorn S.A.* Acclimation of the temperature set-points of the heat-shock response // *J. Therm. Biol.* 2004. V. 29. P. 185–193.
36. *Machado H.E., Bergland A.O., O'Brien K.R. et al.* Comparative population genomics of latitudinal variation in *Drosophila simulans* and *Drosophila melanogaster* // *Molecular Ecology.* 2016. V. 25. № 3. P. 723–740.
37. *Stratman R., Markow T.A.* Resistance to thermal stress in desert *Drosophila* // *Functional Ecology.* 1998. V. 12. № 6. P. 965–970.
<https://doi.org/10.1007/s00114-017-1475-3>
38. *Bogaerts-Márquez M., Guirao-Rico S., Gautier M., González J.* Temperature, rainfall and wind variables underlie environmental adaptation in natural populations of *Drosophila melanogaster* // *Molecular Ecology.* 2021. V. 30. № 4. P. 938–954.
39. *Debat V., Bégin M., Legout H., David J.R.* Allometric and non-allometric components of *Drosophila* wing shape respond differently to developmental temperature // *Evolution.* 2003. V. 57. № 12. P. 2773–2784.
40. *Debat V., Debelle A., Dworkin I.* Plasticity, canalization, and developmental stability of the *Drosophila* wing: joint effects of mutations and developmental temperature // *Evolution.* 2009. V. 63. № 11. P. 2864–2876.
41. *Bryant E.H.* Morphometric adaptation of the housefly *Musca domestica* (L.) in the United States // *Evolution.* 1977. V. 31. P. 580–596.
42. *Bryant E.H., Turner C.R.* Comparative morphometric adaptation of the housefly and face fly in United States // *Evolution.* 1978. V. 32. P. 759–770.
43. *Asiri B.M.K.* The influence of environmental factors on biological parameters of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) // *Internat. J. of Chinese Medicine.* 2017. V. 1. № 3. P. 81–87.
44. *Ахметкиреева Т.Т., Беньковская Г.В., Васильев А.Г.* Изменчивость формы и размеров крыла в селектированных по продолжительности жизни линиях *Musca domestica* L.: геометрическая морфометрия // *Экологическая генетика.* 2018. Т. 16. № 1. С. 35–44.
45. *Беньковская Г.В.* Возможности и ограничения изменений продолжительности жизни в лабораторном эксперименте // *Успехи геронтологии.* 2010. Т. 23. № 3. С. 442–446.
46. *Беньковская Г.В., Мустафина Р.Ш.* Влияние светового режима на биохимические показатели развития стресс-реакции в линиях *Musca domestica* L. с различной продолжительностью жизни // *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* 2012. Т. 48. № 5. С. 433–438.
47. *Ахметкиреева Т.Т., Беньковская Г.В., Кутаев К.А., Долматова И.Ю.* Комнатная муха как объект экологической генетики: структура лабораторной популяции и устойчивость к стрессовым воздействиям // *Вестник Башкирского гос. аграрного ун-та.* 2014. № 3. С. 34–37.
48. *Ахметкиреева Т.Т., Кутаев К.А.* Влияние кратковременного теплового стресса на показатели изменчивости в лабораторных линиях комнатной мухи // *Экология. Генетика. Эволюция: Мат-лы Всероссийской конф. молодых ученых, посвящ. 115-летию Н.В. Тимофеева-Ресовского.* Екатеринбург: Изд-во “Гошицкий”. 2015. С. 4–7.
49. *Rohlf F.J.* TpsDig2, digitize landmarks and outlines, version 2.30. Department of Ecology and Evolution,

- State University of New York at Stony Brook. 2017b (program).
50. Rohlf F.J. TpsUtil, file utility program, version 1.74. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. 2017a (program).
 51. Дэвис Д.С. Статистический анализ данных в геологии. Кн. 2. М.: Недра, 1990. 427 с.
 52. STATISTICA. StatSoft, Inc. (data analysis software system), version 10. 2011 (program).
 53. Lovich J.E., Gibbons J.W. A review of techniques for quantifying sexual size dimorphism // Growth, Development & Aging. 1992. V. 56. P. 269–281.
 54. Barber C.B., Dobkin D.P., Huhdanpaa H.T. The Quickhull algorithm for convex hulls // ACM Trans. on Mathematical Software. 1996. V. 22. № 4. P. 469–483.
 55. Cornwell W.K., Schwikl D.W., Ackerly D.A. A trait-based test for habitat filtering: convex hull volume // Ecology. 2006. V. 87. P. 1465–1471.
 56. Blonder B. Hypervolume. R package version 1.0.1. 2019. [Электронный ресурс – URL: <https://cran.r-project.org/package=hypervolume>].
 57. Efron B., Tibshirani R. Bootstrap methods for standard errors. Confidence intervals and other measures of statistical accuracy // Statistical Science. 1986. V. 1. P. 54–77.
 58. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. V. 4. № 1. 9 p.
 59. Cohen J. A power primer // Psychological Bulletin. 1992. V. 112. № 1. P. 155–159. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.112.1.155>
 60. Damuth J.D., Jablonski D., Harris R.M. et al. Taxon-free characterization of animal communities // Terrestrial ecosystems through time: Evolutionary paleoecology of terrestrial plants and animals / Eds. Behremsmeyer A.K., Damuth J.D., DiMichele W.A. et al. Chicago, Illinois: University of Chicago Press, 1992. P. 183–203.
 61. Ким Дж.О., Мюллер Ч.У., Клекка У.Р. и др. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. 215 с.
 62. Кендалл М., Стьюарт А. Многомерный статистический анализ и временные ряды. М.: Наука, 1976. 736 с.
 63. Ayriinac A., Debat V., Gibert P. et al. Cold adaptation in geographical populations of *Drosophila melanogaster*: phenotypic plasticity is more important than genetic variability // Functional Ecology. 2004. V. 18. P. 700–706.
 64. Berry R., López-Martínez G. A dose of experimental hormesis: When mild stress protects and improves animal performance // Review Comp. Biochem. Physiol. 2020. V. 242. 110658. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110658>
 65. Rix R.R., Cutler G.C. Review of molecular and biochemical responses during stress induced stimulation and hormesis in insects // Science of the Total Environment. 2022. V. 827. 154085. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154085>
 66. Coulson S.J., Bale J.S. Characterisation and limitations of the rapid cold-hardening response in the housefly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) // Journal of Insect Physiology. 1990. V. 36. № 3. P. 207–211.
 67. Hercus M.J., Loeschke V., Rattan S.I.S. Lifespan extension of *Drosophila melanogaster* through hormesis by repeated mild heat stress // Biogerontology. 2003. V. 4. P. 149–156.
 68. Sørensen J.G., Kristensen T.N., Kristensen K.V., Loeschke V. Sex specific effects of heat induced hormesis in Hsf-deficient *Drosophila melanogaster* // Experimental Gerontology. 2007. V. 42. P. 1123–1129.
 69. Le Bourg E. A mild heat stress increases resistance to heat of dFOXO *Drosophila melanogaster* mutants but less in wild-type flies // Biogerontology. 2021. V. 22. P. 237–251.
 70. Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В. Механизмы поддержания полиморфизма по продолжительности жизни в лабораторных линиях комнатной мухи // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26. № 4. С. 594–600.
 71. Machado H.E., Bergland A.O., Taylor R. et al. Broad geographic sampling reveals the shared basis and environmental correlates of seasonal adaptation in *Drosophila* // eLife. 2021. V. 10. e67577. <https://doi.org/10.7554/eLife.67577>
 72. Тимофеев-Ресовский Н.В., Свирежнев Ю.М. Об адаптационном полиморфизме в популяциях *Adalia bipunctata* // Проблемы кибернетики. М.: Наука, 1966. Вып. 16. С. 137–146.
 73. Шварц С.С. Экологические закономерности эволюции. М.: Наука, 1980. 277 с.
 74. Skidmore P. The biology of the Muscidae of the world // Dr. W. Junk. Series Entomologica. 1985. V. 29. P. 1–150.
 75. López-Martínez G., Hahn D.A. Early life hormetic treatments decrease irradiation-induced oxidative damage, increase longevity, and enhance sexual performance during old age in the Caribbean Fruit Fly // PLoS One. 2014. V. 9. № 1. e88128. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088128>