

УДК 575.858

Межродовая геномная интрогрессия повышает адаптивный потенциал у девятииглой колюшки (*Pungitius pungitius*)

А. В. Недолужко^{1*}, Ф. С. Шарко^{1,2}, С. М. Расторгуев^{3**}¹Европейский Университет в Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, 191187 Россия²НИЦ «Курчатовский институт», Москва, 123182 Россия³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, 117997 Россия

*E-mail: nedoluzhko@gmail.com

**E-mail: rastorgueff@gmail.com

Поступило в редакцию 03.10.2024

Принято к печати 30.01.2025

DOI: 10.32607/actanaturae.27528

РЕФЕРАТ За последние десятилетия проведено значительное количество наблюдений, демонстрирующих важность геномной интрогрессии между относительно отдаленными видами позвоночных животных. В том числе, интрогрессия описана между двумя видами костистых рыб – трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) и девятииглой (*Pungitius pungitius*) колюшками. Полученные ранее полногеномные данные для обоих видов позволяют предположить, что морские популяции девятииглой колюшки увеличивают свой адаптивный потенциал к морской среде благодаря интрогрессивной гибридизации с проходной трехиглой колюшкой. Эти результаты требуют переосмысления механизмов эволюционного процесса, при которых новые признаки у организмов появляются не только путем долгого накопления случайных мутаций, но и через заимствования у других видов и экологических форм.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА интрогрессия, гибридизация, девятииглая колюшка, *Pungitius pungitius*, адаптация, трехиглая колюшка, *Gasterosteus aculeatus*.

ВВЕДЕНИЕ

Естественная межвидовая гибридизация, которая приводит к появлению жизнеспособного и плодотворного потомства, происходит относительно часто даже между генетически отдаленными видами растений [1–3] и животных [4–8]. В большинстве случаев остается неясным, является ли такой обмен генами следствием случайных процессов или он играет значимую роль в адаптации видов к меняющимся условиям окружающей среды или при завоевании ими новых экологических ниш [9, 10].

В некоторых случаях показано, что геномная интрогрессия как следствие гибридизации может быть адаптивной, приводить к появлению морфологически и физиологически отличных форм при использовании генетического материала обоих родительских видов. Такие адаптивные механизмы продемонстрированы только в случае гибридных форм со значительным уровнем интрогрессии от обоих родителей [11–14]. В то же время до сих пор остается неясным, является ли не приводящая

к заметным морфологическим изменениям интрогрессия между видами адаптивной или она происходит случайно и со временем ее следы «вымываются» из генофонда видов.

Ранее интрогрессивная гибридизация была обнаружена нами в беломорских популяциях трехиглой (*Gasterosteus aculeatus*) и девятииглой (*Pungitius pungitius*) колюшек [15, 16]; предполагалось, что эта интрогрессия способствует появлению фенотипов девятииглой колюшки, адаптированных к морской воде. Следует отметить, что такой уровень интрогрессии не приводил к значительным морфологическим изменениям и мог идентифицироваться только с помощью полногеномного секвенирования. В этом случае также оставалось неясным, было ли появление интрогрессивных локусов у девятииглой колюшки следствием случайной гибридизации или же носило адаптивный характер [16].

В данной работе, опираясь на ранее опубликованные наборы геномных данных морских и пресноводных особей девятииглой колюшки [17] и используя

анализ D-статистики, известный также как ABBA-BABA-тест [18], мы обнаружили следы интрогрессии трехиглой колюшки в генотипы голарктических популяций девятииглой колюшки. Кроме того, выявлен значительно более высокий уровень интрогрессии в морских, нежели чем в пресноводных популяциях девятииглой колюшки, что позволяет предположить, что интрогрессия между этими двумя видами имеет адаптивное значение.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Биоинформатический анализ

В данной работе использованы данные полногеномного секвенирования 870 особей девятииглой колюшки, ранее полученные Фенгом и соавт. для реконструкции филогеографической истории голарктических популяций девятииглой колюшки [17] и размещенные в Европейском нуклеотидном архиве, ENA (PRJEB39599).

Наборы геномных данных девятииглых колюшек были классифицированы нами в соответствии с их экотипом на морскую (271 экземпляр) и пресноводную (599 экземпляров) группы. Затем мы провели сравнительный анализ, направленный на оценку уровня геномной интрогрессии трехиглой колюшки в генотипы особей, относящихся к морскому и пресноводному экотипам девятииглой колюшки (рис. 1А).

Интрогрессию между двумя видами колюшек выявляли с помощью ABBA-BABA-теста [18]; в качестве внешней группы для этого теста использовали геном обыкновенного лаврака (*Dicentrarchus labrax*, diclab1, PRJEB5099). Первоначально данные секвенирования каждой особи девятииглой колюшки, а также проходной трехиглой колюшки (SRR11611415) были откартированы на референсный геном *D. labrax* с использованием программного пакета bowtie2 (версия 2.3.4.1) с параметром *very-sensitive-local* [19] (Приложение 1). Затем откартированные данные были преобразованы из формата SAM в формат BAM, отсортированы и проиндексированы с помощью пакета SAMtools (версия 0.1.19) [20]. Полученные BAM-файлы анализировали при помощи программного пакета ANGSD [21] для оценки интрогрессии между проходной трехиглой колюшкой и двумя экотипами девятииглой колюшки. Значимость результатов тестов на интрогрессию оценивали с помощью непараметрического критерия Уилкоксона.

Для выявления локусов интрогрессии использовали таблицу SNP-генотипов, полученную при картировании данных геномного секвенирования на референсный геном *D. labrax*. В качестве референсного генома *P. pungitius* был выбран пресноводный об-

разец ERR9997510, который показал минимальное значение D-статистики. В качестве референса *G. aculeatus* использовали геномные данные особи SRR11611426, полученные Недолужко и соавт. [16]. Анализировали только те локусы, которые имели гомозиготное состояние по референсному аллелю у образца ERR9997510 и гомозиготное состояние по альтернативному аллелю у SRR11611426. Во всех отфильтрованных локусах вычисляли частоту альтернативного аллеля у всех особей морского экотипа девятииглой колюшки. В локусах, частота альтернативного аллеля в которых превышала 0.5, определяли гены с помощью картирования на референсную базу данных данио рерио (*Danio rerio*) GRCz11 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000002035.6/) и программы blastx v2.12.0+ [22]. Анализ генных онтологий проводили с помощью веб-сервиса ShinyGO v0.81 [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Используя ABBA-BABA-тест, мы оценили уровень интрогрессии трехиглой колюшки в генотипы особей девятииглой колюшки, относящихся к морскому и пресноводному экотипам. Интрогрессию оценивали путем вычисления значения D-статистики для каждой особи из обеих выборок (Приложение 1). Среднее распределение значений D-статистики в морских популяциях девятииглой колюшки составило 0.1488593, в то время как у пресноводных оно равнялось 0.03277605, что близко к нулю (рис. 1Б).

Таким образом, уровень интрогрессии от трехиглой колюшки к девятииглой был значительно выше в группе морских особей, чем в группе пресноводных особей (Приложение 1; рис. 1Б). Это открытие подтверждает гипотезу о том, что геномная интрогрессия от трехиглой колюшки к девятииглой, которая эволюционировала в основном в пресной воде [24] и, возможно, не очень хорошо адаптирована к морской среде, имеет адаптивный эффект [16].

Использование непараметрического критерия Уилкоксона позволило нам оценить статистическую значимость разницы значений D-статистики между морскими и пресноводными особями девятииглой колюшки ($p\text{-value} = 1.004\text{e-}07$), показав высокую достоверность различий в уровне интрогрессии в геномах морских и пресноводных особей девятииглой колюшки.

Предполагается, что более высокий уровень интрогрессии в морских популяциях может быть объяснен наличием в их геномах аллелей проходной трехиглой колюшки, которые закрепились в морских популяциях девятииглой колюшки, помогая их носителям быстрее адаптироваться к повышенной солености.

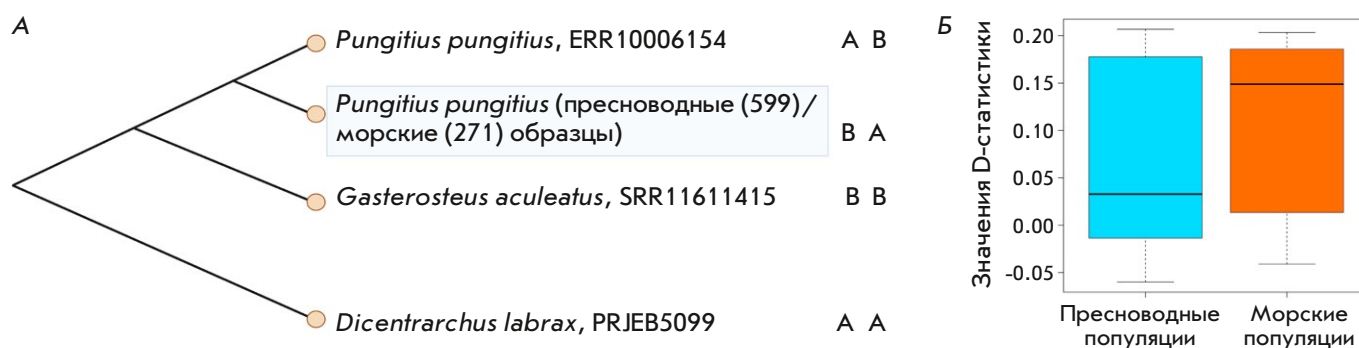


Рис. 1. ABBA-BABA-тест. А – схематическая интерпретация ABBA-BABA-теста для четырех таксонов, используемых для выявления интрогрессии между пресноводными и морскими популяциями девятииглой колюшки и трехиглой колюшки. АВ – случайно выбранная пресноводная девятииглая колюшка из набора данных, полученного Фенгом и соавт. [17]. ВА – особи морской и пресноводной девятииглой колюшки, изученные Фенгом и соавт. [17]. ВВ – геномные данные особи трехиглой колюшки, ранее опубликованные Недолужко и соавт. [16], АА – обыкновенный лаврак (*Dicentrarchus labrax*), внешняя группа. Б – распределение значений D-статистики среди пресноводных и морских особей девятииглой колюшки

Анализ участков интрогрессии выявил 715 локусов, в которых частота аллеля, характерного для трехиглой колюшки, превышает 0.5 в морских популяциях девятииглой колюшки. Эти локусы расположены в 432 генах. Список генов представлен в Приложении 2. Анализ обогащения генных категорий (gene ontology, GO analysis) показал, что список генов интрогрессии обогащен группами категорий, связанных с процессами развития организма, регуляции транскрипции, клеточной адгезии и трансмембранного ионного транспорта (Приложения 3–5). Эти группы генов, в первую очередь функционально связанные с клеточной адгезией и ионным транспортом, потенциально могут быть связаны с адаптацией к солености.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прогресс и удешевление использования технологий глубокого секвенирования ДНК, а также появление принципиально новых методов биоинформатического анализа позволяют оценить причины взрывного видообразования, множественные экологические радиации, быструю адаптацию к изменяющейся среде обитания или же описать следы древней гибридизации в геномах [12, 14, 25].

Возможность интрогрессивной гибридизации между трехиглой и девятииглой колюшками в бассейне Белого моря была продемонстрирована ранее [15, 16]. Интересно, что большинство геномов изученных особей девятииглой колюшки имели слабые, но отчетливые сигналы интрогрессии от трехиглой колюшки [16], однако в отсутствие морских особей девятииглой колюшки не представлялось

возможным доказать адаптивный потенциал подобной межродовой интрогрессии. В настоящем исследовании, используя геномные данные морских и пресноводных популяций девятииглой колюшки и статистические тесты, наглядно показано, что морские популяции этого вида повышают адаптивность к солености за счет интрогрессии от преимущественно морского вида – трехиглой колюшки.

Полученные нами результаты подразумевают необходимость переосмысления имеющихся геномных данных с точки зрения того, что разрушение репродуктивных барьеров между видами, в том числе эволюционно отдаленными, происходит чаще, чем считалось ранее. Кроме того, интрогрессивная гибридизация может иметь значительный адаптивный потенциал в периоды изменений окружающей среды, глобальных катаклизмов и массового вымирания видов [11]. Другой вывод, вытекающий из полученных нами результатов, – необходимость более внимательного рассмотрения событий геномной интрогрессии как одного из существенных факторов эволюции. Кроме того, интрогрессию следует учитывать при проведении филогенетических исследований и оценки демографической истории видов, поскольку явления интрогрессивной гибридизации вносят значительный вклад в них. ●

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-76-10054).

Приложения доступны на сайте <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27528>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hu L., Yang R., Wang Y.-H., Gong X. // *AoB PLANTS*. 2021. V. 13. № 2. P. plab012. doi: 10.1093/aobpla/plab012
2. Martin G., Cottin A., Baurens F.C., Labadie K., Hervouet C., Salmon F., Paulo-de-la-Reberdiere N., Van den Houwe I., Sardos J., Aury J.M., et al. // *Plant J*. 2022. V. 113. № 4. P. 802–818. doi: 10.1111/tpj.16086
3. Zhang H., Zhang X., Wu G., Dong C., Liu J., Li M. // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2022. V. 180. P. 107686. doi: 10.1016/j.ympev.2022.107686
4. Chiba S. // *Evolution*. 2005. V. 59. P. 1712–1720.
5. Nichols P., Genner M.J., van Oosterhout C., Smith A., Parsons P., Sungani H., Swannstrom J., Joyce D.A. // *Proc. Biol. Sci.* 2015. V. 282. P. 20142272. doi: 10.1098/rspb.2014.2272
6. Pereira R.J., Barreto F.S., Burton R.S. // *Evolution*. 2014. V. 68. P. 204–215. doi: 10.1111/evo.12254
7. Korniienko Y., Nzimora K.C., Vater M., Tiedemann R., Kirschbaum F. // *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens Neural Behav. Physiol.* 2022. V. 208. P. 355–371. doi: 10.1007/s00359-022-01542-5
8. Wang Y., Wang Y., Cheng X., Ding Y., Wang C., Merila J., Guo B. // *Mol. Biol. Evolution*. 2023. V. 40. № 2. P. msad026. doi: 10.1093/molbev/msad026
9. Frei D., Reichlin P., Seehausen O., Feulner P.G.D. // *Mol. Ecol.* 2022. V. 32. P. 841–853. doi: 10.1111/mec.16791
10. Heliconius Genome C. // *Nature*. 2012. V. 487. P. 94–98. doi: 10.1038/nature11041
11. Brauer C.J., Sandoval-Castillo J., Gates K., Hammer M.P., Unmack P.J., Bernatchez L., Beheregaray L.B. // *Nat. Climate Change*. 2023. V. 13. P. 282–289. doi: 10.1038/s41558-022-01585-1
12. Lamichhaney S., Han F., Webster M.T., Andersson L., Grant B.R., Grant P.R. // *Science*. 2018. V. 359. P. 224–228. doi: 10.1126/science.aao4593
13. Levin B., Simonov E., Gabrielyan B.K., Mayden R.L., Rastorguev S.M., Roubenyan H.R., Sharko F.S., Nedoluzhko A.V. // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2022. V. 167. P. 107346. doi: 10.1016/j.ympev.2021.107346
14. Meier J.I., Marques D.A., Mwaiko S., Wagner C.E., Excoffier L., Seehausen O. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 14363. doi: 10.1038/ncomms14363
15. Nedoluzhko A., Sharko F., Tsygankova S., Boulygina E., Ibragimova A., Teslyuk A., Galindo-Villegas J., Rastorguev S. // *Heliyon*. 2021. V. 7. № 2. P. e06160. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06160
16. Nedoluzhko A., Sharko F., Tsygankova S., Boulygina E., Slobodova N., Teslyuk A., Galindo-Villegas J., Rastorguev S. // *Front Genet.* 2022. V. 13. P. 863547. doi: 10.3389/fgene.2022.863547
17. Feng X., Merila J., Loytynoja A. // *Mol. Ecol.* 2022. V. 31. P. 5386–5401. doi: 10.1111/mec.16651
18. Green R.E., Krause J., Briggs A.W., Maricic T., Stenzel U., Kircher M., Patterson N., Li H., Zhai W., Fritz M.H., et al. // *Science*. 2010. V. 328. P. 710–722. doi: 10.1126/science.1188021
19. Langmead B., Salzberg S.L. // *Nat. Meth.* 2012. V. 9. P. 357–359. doi: 10.1038/nmeth.1923
20. Li H. // *Bioinformatics*. 2011. V. 27. P. 2987–2993. doi: 10.1093/bioinformatics/btr509
21. Korneliussen T.S., Albrechtsen A., Nielsen R. // *BMC Bioinformatics*. 2014. V. 15. P. 356. doi: 10.1186/s12859-014-0356-4
22. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L. // *BMC Bioinformatics*. 2009. V. 10. P. 421. doi: 10.1186/1471-2105-10-421
23. Ge S.X., Jung D., Yao R. // *Bioinformatics*. 2020. V. 36. P. 2628–2629. doi: 10.1093/bioinformatics/btz931
24. Wang C., Shikano T., Persat H., Merilä J. // *J. Biogeography*. 2015. V. 42. P. 2334–2348. doi: https://doi.org/10.1111/jbi.12591
25. Brawand D., Wagner C.E., Li Y.I., Malinsky M., Keller I., Fan S., Simakov O., Ng A.Y., Lim Z.W., Bezault E., et al. // *Nature*. 2014. V. 513. P. 375–381. doi: 10.1038/nature13726