

ДУПЛИКАЦИЯ ГЕНОМА В ЭВОЛЮЦИИ ЖИВОТНЫХ

© 2018 г. К. С. Задесенец^{1, *}, Н. Б. Рубцов^{1, 2}

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

²Новосибирский государственный университет, кафедра цитологии и генетики, Новосибирск 630090 Россия

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

Поступила в редакцию 14.11.2017 г.

В настоящем обзоре обобщены имеющиеся данные о полногеномной дупликации в разных филогенетических линиях животных, рассмотрены возможные механизмы дупликации генома и ее роль в эволюции животных. Особое внимание уделено проблемам изучения первых этапов эволюции генома после его удвоения, поиску видов, изучение которых позволит выяснить особенности процесса “диплоидизации” генома после его удвоения. В качестве перспективного модельного объекта для проведения такого рода исследований предлагается группа видов свободноживущих плоских червей рода *Macrostomum*. Согласно полученным нами данным, геномы некоторых представителей макростом (*M. lignano*, *Macrostomum* sp. 8) являются результатом недавней дупликации генома и последующих хромосомных перестроек. Кроме того, особенности морфологии, жизненного цикла, не-большой размер генома и просто организованный кариотип делают макростом практически идеальным модельным объектом для изучения ранних этапов реорганизации дуплицированного генома.

Ключевые слова: полногеномная дупликация, эволюция генома, хромосомные перестройки, микро-диссекционные ДНК-библиотеки, флуоресцентная гибридизация *in situ*.

DOI: 10.1134/S0016675818090163

Геномы большинства современных видов животных и растений представляют собой результат одного или нескольких раундов полногеномной дупликации (Whole Genome Duplication, **WGD**), произошедших сотни миллионов лет назад (рис. 1). **WGD** представляет собой геномную мутацию, дающую организм с дополнительной копией генома исходной особи. Известны два варианта **WGD**: автополиплоидизация, приводящая к тетраплоидии, и аллополиплоидизация (удвоение генома межвидового гибрида, представляющего собой совокупность геномов родительских видов). Несмотря на небольшое число раундов у большинства видов, **WGD** привела к крупным эволюционным преобразованиям. Койне и Опп [1] полагают, что открытие видообразования путем **WGD** “представляет собой первый и главный триумф в генетике видообразования”. До последнего времени основное внимание уделялось изучению **WGD** у растений. Возникновение и развитие новой методической базы привели к росту исследований **WGD** у животных. Данный обзор посвящен анализу результатов этих работ, а также рассмотрению потенциальных модельных объектов, которые могут быть эффективно использованы в таких исследованиях.

С точки зрения эволюции большинство современных видов, имеющих полиплоидные вариан-

ты, выглядят малоперспективными. Ряд исследователей полагает, что они не способны конкурировать с диплоидными вариантами и, следовательно, являются тупиковой эволюционной ветвью [2–4]. Однако следы **WGD**, найденные в геномах современных видов из разных филетических линий, свидетельствуют об обратном.

В геномах большинства видов позвоночных выявлены следы двух раундов **WGD**, но в некоторых филогенетических линиях имели место дополнительные: третий раунд, специфичный для костистых рыб (**TGD** или **Ts3D**), произошедший около 320–350 млн лет назад, и четвертый, имевший место около 100 млн лет назад, специфичный раунд **WGD** был описан у лососевых (**SaGD** или **Ss4R**) [5, 6]. Примеры палеоплоидии найдены и в других таксонах позвоночных [7].

Накапливающиеся данные различных геномных проектов позволили сформулировать правило “1 : 4” у большинства позвоночных (гены беспозвоночных представлены четырьмя генами-ортологами у большинства позвоночных) и “1 : 8” у костистых рыб (соответственно восемью генами-ортологами) [8, 9]. Однако стоит отметить, что данное правило соблюдается не для всех представителей костистых рыб: например, в ходе эволюции имела место частичная потеря дуплициро-

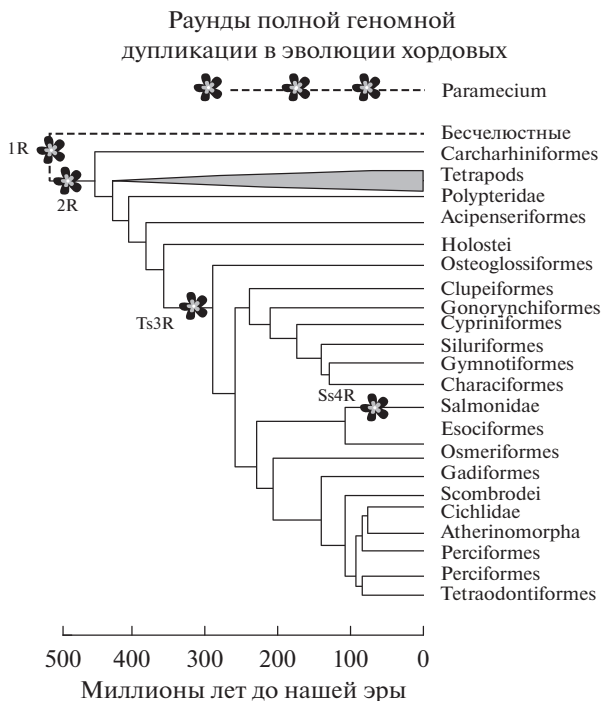


Рис. 1. Филогенетическое дерево хордовых. Цветками обозначены события полной дупликации генома: 1R и 2R — полная дупликация генома для всех позвоночных животных; Ts3R и Ss4R — полная дупликация генома у костистых рыб и лососевых соответственно. Адаптировано из [5].

ванных генов, приводящая к уменьшению числа генов-паралогов [10].

Удвоение генома путем автополиплоидизации теоретически не изменяет баланс генов, не приводит к увеличению генетического разнообразия, но наряду с этим открывает большие возможности для формирования новых генов и генетических систем. Изменения в гене-дубликате, не нарушая работу исходного гена, дают возможность для его превращения в новый полезный элемент генома. При этом решена проблема сохранения исходных генов при возникновении и закреплении мутаций в их дублицированных копиях. Негативной стороной автополиплоидизации является увеличение нарушений в мейозе (нарушение конъюгации хромосом, формирование мультивалентов и пр.) Удвоение генома межвидового гибрида (аллополиплоидизация), как правило, не приводит к таким нарушениям. Более того, формирование межвидового гибрида увеличивает генетическое разнообразие.

Очевидно, во многих филогенетических линиях WGD была событием, определившим их дальнейшую эволюцию, однако возможности изучения этого феномена и особенностей эволюции генома после WGD были до последнего времени сильно ограничены отсутствием адекватных ме-

тодов анализа и соответствующих модельных объектов. Если развитие методов массового параллельного секвенирования во многом сняло остроту первой проблемы, то отсутствие соответствующих модельных объектов, как и раньше, препятствует изучению первых этапов “диплоидизации” дублицированного генома.

Большинство видов в исследованиях WGD — либо недавно возникшие полиплоидные формы, либо представители филогенетических линий, в которых последний раунд WGD произошел около ста миллионов лет назад. Наряду с этим сравнительный анализ их геномов осложнен либо их большим размером, либо большим числом хромосом в кариотипе. Новым потенциальным объектом для ранних этапов эволюционных преобразований генома после WGD может стать группа видов свободноживущих плоских червей рода *Macrostomum* [11]. Мы предполагаем, что представители этого рода могут включать в себя виды, не прошедшие WGD и недавно прошедшие его. Ранее было показано, что представители рода *Macrostomum* характеризуются небольшим размером генома и небольшим числом хромосом ($2N = 6-12$). Вероятно, у предковой формы макростом оно было $2N = 6$. После WGD оно стало $2N = 12$, а у *M. lignano* уменьшилось до $2N = 8$ [11–13]. Реорганизация кариотипа *M. lignano* относительно предковых форм указывает, что его геном уже претерпел ряд изменений на пути к его “диплоидизации” [11]. Небольшой размер генома *M. lignano* упрощает секвенирование и последующую сборку его генома [14] и, наряду с простотой его содержания и разведения в лабораторных условиях, наличием лабораторных инбредных линий и аутбредных культур [13], делает его практически идеальным объектом для изучения ранних этапов эволюции после дупликации генома. Дополнительные возможности в изучении WGD и последующей реорганизации генома открываются благодаря недавнему описанию нового вида, близкородственного *M. lignano*, со скрытой гексаплоидией в геноме [11, 13].

ПОДХОДЫ И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛНОГЕНОМНОЙ ДУПЛИКАЦИИ

Представление о происхождении новых генов в результате дупликации уже существующих возникло в 60-х годах XX в. [15]: известный генетик и эволюционный биолог Сусуму Оно предположил, что новые гены возникают в основном вследствие дупликации предкового гена и дальнейшего изменения его копии. Кратные различия в числе паралогичных генов в разных филогенетических линиях рассматривались как косвенные свидетельства разного числа раундов WGD. Представления о числе раундов WGD базировались на данных цитогенетического анализа, разме-

рах генома и изучении генных семейств. В одном из первых исследований был проведен сравнительный анализ гомеозисных генов (*Hox*-генов) у видов из разных филогенетических линий [16]. В поддержку гипотезы 2R (два раунда WGD) хорошо укладывались результаты филогенетического анализа 35 семейств генов позвоночных [17].

Однако анализа отдельных семейств генов для выявления WGD и изучения ее последствий оказалось недостаточно. Для этого потребовался комплексный сравнительный анализ геномов [18]. Так, были выявлены раунды WGD, имевшие место в различное время и в различных филогенетических линиях [7, 19]. Сравнительный анализ геномов современных видов, использующий анализ меж- и внутривидовой коллинеарности геномов, филогенетическую реконструкцию эволюции отдельных семейств генов, анализ распространения синонимичных замен [20], показал, что WGD, как правило, сопровождается резкой и массивной потерей генов-дубликатов, а также многочисленными хромосомными перестройками (инверсии, делеции, транслокации, транспозиции) [21, 22].

При анализе следов WGD, имевшей место сотни миллионов лет назад, эффективными являются методы сравнительной геномики, позволяющие проводить поиск и анализ паралогичных и ортологичных генов, тогда как выявление протяженных районов хромосом методами молекулярной цитогенетики может оказаться проблематичным из-за многочисленных хромосомных перестроек. Накоплению массива данных полнотеломного секвенирования способствуют многочисленные геномные проекты по секвенированию как модельных видов (инфузория-туфелька *Paramecium aurelia*, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, резуховидка *Arabidopsis thaliana*, рыбка *Danio rerio*, амфибия *Xenopus laevis*), так и большого числа видов из разных таксонов. Стоит упомянуть “Genome 10K” – секвенирование, сборка и аннотирование геномов 10000 видов позвоночных, по одному из каждого рода; i5K – расшифровка 5000 геномов членистоногих; B10K – секвенирование геномов 10500 видов птиц; GIGA – проект по секвенированию 7000 морских видов беспозвоночных [23–25].

Изучение особенностей первого этапа эволюционных преобразований после WGD затрудняют специфические проблемы, во многом связанные с отсутствием подходящих объектов исследования. Также необходимо учитывать, что на первых этапах эволюции после WGD сохраняются протяженные паралогичные районы хромосом. Они могут быть выявлены флуоресцентной гибридизацией *in situ* хромосомо- и районоспецифичных ДНК-проб, а сборка геномов таких видов, как и их сравнительный анализ затруднены присутствием

в них высокоомологичных паралогичных участков [26].

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ВАРИАНТЫ ПОЛНОЙ ГЕНОМНОЙ ДУПЛИКАЦИИ

Дупликация генома возможна разными способами, которые приводят к различным в дальнейшем сценариям эволюции генома. Обычно рассматривают авто- и аллополиплоидию. Автополиплоидия представляет собой результат геномной мутации, приводящей к удвоению стандартного числа хромосом исходного вида и не привносящей в геном чужеродного материала. На первом этапе она, не увеличивая генетического разнообразия, снижает фертильность за счет формирования в мейозе тетравалентов и приводит к морфологическим изменениям организма, что, как правило, снижает его приспособленность к условиям окружающей среды [27].

В отличие от автополиплоидии аллополиплоидия является результатом удвоения генома межвидового гибрида. Она широко распространена у растений и гораздо реже встречается у животных. Хотя, возможно, ее значение, как и значение межвидовой гибридизации у животных, недооценено [28–30]. Аллополиплоидизация приводит к увеличению генетического разнообразия, так как происходит не удвоение копий генов одного родительского генома, а объединение гомеологичных, уже различающихся родительских генов. Более того, неполная идентичность гомеологичных хромосом снижает остроту проблем, с которыми сталкиваются в мейозе автополиплоиды.

Основным механизмом дупликации гибридного генома считается слияние нередуцированных гамет [31]. Феномен формирования нередуцированных гамет широко распространен во многих таксонах, включая дрожжи, растения, насекомые, амфибии, рептилии и рыбы [31, 32]. У межвидовых гибридов формирование нередуцированных гамет происходит с большей частотой, чем у их родительских видов. Для слияния нередуцированных гамет гибридных особей требуется либо их большая численность, либо возникновение специфических событий, приводящих к резкому падению численности популяции при селективном преимуществе у гибридов. Рост численности гибридных форм возможен при партеногенезе с отбором наиболее приспособленных гибридных особей. Повышенную частоту слияния нередуцированных гамет, содержащих гибридный геном, можно ожидать у гибридных гермафродитов при самооплодотворении.

Чаще всего к формированию жизнеспособных гамет приводит эндорепликация или элиминация хромосом. Особый интерес представляет эндорепликация генома в зародышевых клетках, кото-

рая приводит к формированию гамет с двойным гаплоидным геномом [33] и являющихся предпосылкой к полной дупликации гибридного генома. К сожалению, процессы эндорепликации генома в зародышевых клетках практически не изучены, не известны ни частота, ни точность процесса эндорепликации. Следует отметить, что для успешных клональных гибридов характерна полиплоидия. Помимо обычных тетраплоидов отмечено формирование триплоидов, которые, вероятно, являются следствием элиминации и/или эндорепликации в ходе гаметогенеза [34, 35]. В некоторых исследованиях даже рассматриваются варианты элиминации хромосом в гаметогенезе у триплоидных форм, например у плоского червя *Dugesia ryukyuensis* так происходит формирование жизнеспособных гаплоидных гамет [36].

ДУПЛИКАЦИЯ ГЕНОМА И ЕСТЕСТВЕННЫЙ ОТБОР

Первым шагом к WGD, вероятно, является развитие предрасположенности к возникновению полиплоидии. Так, на частоту нередуцированных гамет могут оказывать влияние как внешние, так и внутренние факторы: температура и влажность, мутации генов, ответственных за формирование параллельного веретена деления и преждевременный цитокинез в мейозе [31]. Генетический контроль формирования нередуцированных гамет является важным фактором возникновения полиплоидов и их дальнейшей эволюции. Высокая частота возникновения полиплоидов обеспечивает не только их необходимое количество, но и независимое происхождение, что позволяет сохранить генетическое разнообразие внутри сообщества полиплоидов даже при автополиплоидии. Полиплоидные потомки от разных родителей одного вида могут в дальнейшем скрещиваться, сохраняя или даже увеличивая (при межвидовой гибридизации) генетическое разнообразие и давая жизнеспособное и плодовитое потомство. Так как полиплоиды едва ли могут успешно конкурировать в стабильных условиях с прошедшими длительный естественный отбор представителями исходной формы, то следующим этапом эволюции должно быть освоение полиплоидами новых экологических ниш либо в результате их расселения, либо при изменении условий окружающей среды [37, 38].

Уже сама полиплоидизация может способствовать видообразованию, приводя к репродуктивной изоляции между тетраплоидами-потомками и диплоидными родительскими формами. Триплоиды обычно стерильны, но возможно формирование триплоидов, которые могут поддерживать существование полиплоидных вариантов, формируя “триплоидные мостики” [37]. В стабильных условиях окружающей среды замещение диплоидов

тетраплоидами маловероятно, но возникновение таких популяций возможно в результате их прохождения через “бутылочное горлышко” или при реализации “эффекта основателя”.

Сохранению и размножению новой полиплоидной формы может способствовать бесполое размножение или самооплодотворение. Они могут способствовать увеличению численности возникших полиплоидов, их расселению и освоению новых экологических ниш [39]. Негативной стороной использования этих систем размножения является снижение генетического разнообразия, а при самооплодотворении возможно развитие инбредной депрессии. Однако острота этих проблем снижена при дупликации генома межвидового гибрида. Исходные различия геномов родительских видов обеспечивают достаточно высокий уровень “генетического разнообразия” за счет генов, пришедших от разных видов. Ряд исследователей полагает, что стратегия бесполого размножения/самооплодотворения может иметь широкое распространение, так как полиплоидия может приводить к потере самонесовместимости и снижению инбредной депрессии у тетраплоидов (из-за маскирования негативных мутаций). Объединение двух родительских геномов у аллополиплоида может иметь и негативные последствия в виде геномной нестабильности, так как возможна резкая активация ранее неактивных транспозонов [40], что будет приводить к структурным хромосомным перестройкам.

В ряде работ высказывалось предположение, что полиплоидные формы в потенциале могут иметь повышенную скорость адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды, а также более высокую пластичность при адаптации к освоению новых экологических ниш, нежели их диплоидные предшественники. Также вредные рецессивные мутации, фатальные для диплоидного предка, могут в дальнейшем стать полезными и даже давать преимущество полиплоидному потомку [41]. Например, при выращивании культур гапло-, ди- и тетраплоидных дрожжей в среде с рафинозой вместо глюкозы через 250 поколений тетраплоидные особи оказались к ней лучше адаптированы. Стоит отметить, что наряду с лучшей приспособляемостью у них было выявлено большое число различных хромосомных перестроек [42].

РЕОРГАНИЗАЦИЯ ДУПЛИЦИРОВАННОГО ГЕНОМА

Развитие сравнительной геномики позволило выявить существенную потерю или сайленсинг генов-дубликатов. Были высказаны предположения, что возникающее после WGD межвидовое разнообразие в большей степени связано с утратой или выключением генов, чем с формированием

новых транскрипционно активных элементов. Предложенная модель получила название “видообразование через дубликацию генома и дивергентное разрешение” [43]. Она включает три различных сценария: 1) потеря копией гена исходной функции в результате мутаций (псевдогенизация); 2) приобретение копией гена новой функции (неофункционализация) при практически неизменной другой копии; 3) снижение вследствие мутаций суммарного уровня экспрессии копий гена до уровня, соответствующего предковому варианту (субфункционализация). Вероятность первого сценария намного выше: вследствие мутаций в кодирующих и/или регуляторных участках многие копии дублированных генов утрачивают свою функцию, превращаясь в псевдогены [43]. Несмотря на то что такая модель предполагает сохранение в значительной степени исходных генетических элементов, ряд исследователей считает, что утрата генов играет ключевую роль в видообразовании путем дивергентного разрешения дублированных генов, реципрокного сайленсинга или реципрокной потери генов [44, 45]. Авторы полагают, что накопление изменений в геномах особей в аллопатрических популяциях со временем приводит к репродуктивной изоляции.

Известны примеры, когда помимо полной утраты функциональности или делеции дублированные копии генов подвергались существенной суб- или неофункционализации. Например, у радужной форели *Oncorhynchus mykiss* после последнего раунда WGD около 48% предковых генов остались продублированными, в то время как оставшиеся 52% потеряли дополнительную копию. Между двумя копиями генов-онологов наблюдались различия в паттернах и уровне их экспрессии [5]. Сравнительный геномный анализ у представителей семейства Saccharomycetaceae, среди которых удалось выделить виды, не прошедшие и прошедшие WGD, показал, что предковый геном содержал около 5000 генов, в то время как современный геном *Saccharomyces cerevisiae*, прошедший WGD около 100–200 млн лет назад, содержит всего около 5500 генов, т.е. в результате многочисленных преобразований при диплоидизации дублированного генома в современный геном добавилось лишь 500 дополнительных генов-онологов [10].

Такая глобальная реорганизация дублированного генома в процессе его диплоидизации приводит к тому, что в современном геноме часто трудно выявить следы давно прошедшей WGD. В значительной степени они оказываются стерты и замаскированы многочисленными делециями копий генов и хромосомными перестройками. Дисомическая сегрегация хромосом оказывается полностью восстановленной, многие синтенные группы разрушены, копии генов

потеряны либо существенно изменены [46]. Этот феномен получил название “парадокс высокодиплоидизированных полиплоидных популяций” [47].

Многочисленные хромосомные перестройки, характерные для кариотипической эволюции после WGD, очевидно обусловлены нарушениями в мейозе вследствие негомологичной конъюгации и рекомбинации хромосом [48]. Механизмы, лежащие в основе конъюгации хромосом в мейозе, окончательно не изучены. Конъюгация хромосом не всегда определяется гомологией ДНК их районов. В случае автополиплоидии дополнительная пара гомологичных хромосом приводит к формированию три- и тетравалентов. При удвоении генома гибридного организма гомеологичные хромосомы также могут конъюгировать с последующей рекомбинацией, что зависит от степени дивергенции геномов родительских видов. Рекомбинация гомеологов может давать разнообразные хромосомные перестройки. На первых этапах эволюции после WGD из-за сходства между гомологами (автополиплоиды) или гомеологами (аллополиплоиды) следует ожидать высокую частоту хромосомных перестроек. Со временем и увеличением уровня дивергенции между субгеномами кариотипы должны стабилизироваться [48].

Генетический контроль конъюгации хромосом является важным фактором, влияющим на частоту хромосомных перестроек. Однако имеющиеся данные были описаны лишь у растений. У аллополиплоидов пшеницы ген *Ph1* эффективно предотвращает конъюгацию негомологичных хромосом из разных субгеномов [49, 50]. В недавних работах было показано, что *Ph1* включает кластер генов циклин-зависимых киназ и, вероятно, отвечает за регуляцию динамики формирования мейотических хромосом, в том числе за распознавание гомеологов и конъюгацию путем супрессии активности циклин-зависимых киназ второго типа. Продукт гена *Ph1* регулирует спаривание гомологов и синапсис, координируя ремоделирование хроматина в гомологичных хромосомах. У аллополиплоидов задержка синхронизации гомеологичных хромосом для изменения конформации хроматина уменьшает шансы спаривания гомеологов [51]. Также у некоторых видов растений были найдены дополнительные гены, осуществляющие контроль конъюгации хромосом в мейозе. К сожалению, на сегодняшний день факторы генетического контроля мейоза у животных при гибридизации остаются малоизученными.

МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ WGD И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА

При изучении WGD, ее роли и значения в эволюции животных можно выделить три блока ис-

следований, требующих разные модельные объекты. К ним относятся: 1) изучение механизмов дубликации генома и формирования популяций полиплоидных особей; 2) анализ первых этапов диплоидизации тетраплоидного генома, содержащего четыре копии каждой хромосомы (автополиплоидия) или две копии каждой хромосомы родительских видов (аллополиплоидия), в “диплоидизированный” геном, состоящий из пар гомологичных хромосом; 3) изучение реорганизации “диплоидизированного” генома в ходе дальнейшей эволюции. Сравнительный анализ видов, геномы которых являются следствием WGD, прошедшей сотни миллионов лет назад, позволит оценить скорости изменения генов-дубликатов, ориентировочный промежуток времени потери дублицированных копий, но полученные результаты едва ли дадут какую-либо информацию о механизмах дубликации генома и первых этапах его эволюции после WGD.

В настоящее время накоплен достаточно большой опыт получения полиплоидных растений [52], однако примеров экспериментального получения полиплоидных животных существенно меньше [53–55]. Тем не менее некоторые из них дали конкретный практический выход. Помимо знаменитых работ Б.Л. Астаурова по получению полиплоидов тутового шелкопряда [53], коммерческое значение имело получение триплоидов у некоторых промысловых видов рыб [56]. Также были получены тетраплоиды у некоторых представителей амфибий и рептилий [54, 55]. Изучению особенностей прохождения мейоза у полиплоидов посвящены многочисленные исследования [57, 58]. Основной проблемой в размножении автополиплоидов являются нарушения в мейозе, обусловленные одновременной конъюгацией нескольких гомологичных хромосом.

При аллополиплоидии в поддержании дублицированного варианта гибридного генома могут участвовать промежуточные триплоидные формы. Примером формирования популяций особей с разным уровнем плоидности является природный комплекс видов средневропейских зеленых лягушек и их гибридов [59, 60]. Изучение их гибридов может дать ценную информацию о механизмах и роли элиминации и эндорепликации геномов в ходе гаметогенеза, о формировании жизнеспособных гамет с необычным составом хромосом. В гаметогенезе гибридов этих видов описана высокая частота элиминации и эндорепликации хромосом. У межвидовых гибридов озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* (генотип *RR*) и прудовой лягушки *P. lessonae* (генотип *LL*) выявлены и описаны процессы полуклонального размножения и полиплоидизации. В природных популяциях помимо обычной диплоидной формы межвидового гибрида *P. esculentus* (генотип *RL*) были найдены триплоидные (*LLR* и

RRL) и тетраплоидные формы (*RRLR*), что указывает на высокую частоту формирования у них нередуцированных гамет. Кроме того, у диплоидных гибридных лягушек в клетках зародышевой линии были выявлены элиминация генома одного родительского вида и эндорепликация другого [61, 62]. Механизм этого удивительного феномена неизвестен, но он предполагает наличие на хромосомах неких видоспецифичных маркеров, которые являются основой для видоспецифичной элиминации и эндорепликации хромосом в процессе гаметогенеза.

Исследования средневропейских зеленых лягушек позволили выявить ряд механизмов поддержания в популяции диплоидных, триплоидных и тетраплоидных гибридов [63]. Были описаны популяции, состоящие только из гибридных форм с генотипами *LR*, *LLR* и *RRL*, продуцирующих разнообразные гаметы [64]. Триплоидные формы обоих полов производили преимущественно гаплоидные гаметы с геномом, который был представлен у них в двух копиях, однако самки с генотипом *LLR* также давали около 10% гамет *LL*. Включение в систему размножения триплоидных форм позволяло поддерживать популяции, состоящие только из гибридных животных разной плоидности [60, 64]. Гибридные триплоидные формы достаточно многочисленны в Центральной и Северной Европе. В Восточной Украине они формируют популяции со сложной структурой и присутствием гибридных форм обоих полов [65]. Возможно, что популяции подобных гибридных триплоидов могут представлять собой своеобразный промежуточный вариант при формировании вида, характеризующегося WGD на основе геномов двух исходных видов.

Как уже упоминалось выше, последний раунд WGD в эволюции генома большинства современных видов животных имел место сотни млн лет назад. Но в некоторых филогенетических линиях были выявлены дополнительные раунды WGD. Около 320–350 млн лет назад третий раунд WGD имел место в эволюции костистых рыб. У лососевых четвертый раунд WGD произошел, вероятно, около 100 млн лет назад [5, 6]. Отчетливые следы этих раундов WGD можно видеть в геномах большинства современных видов лососевых, однако их использование в качестве лабораторной модели затруднительно. Существуют проблемы содержания и размножения представителей этих видов, а также большой размер их генома и большое число хромосом. Мы предполагаем, что удобной и перспективной лабораторной моделью для изучения первых этапов эволюции генома животных после WGD могут стать представители свободноживущих плоских червей рода *Macrostomum*. Недавно у одного из видов нами была выявлена скрытая дубликация генома, которая сопровождалась крупными хромосомными перестройками [11].

СВОБОДНОЖИВУЩИЕ ПЛОСКИЕ ЧЕРВИ РОДА *Macrostomum* – НОВАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАННИХ СТАДИЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА ПОСЛЕ WGD

Идеальным объектом для изучения первых этапов диплоидизации генома после его удвоения является группа недавно дивергировавших видов, включающая как виды с предковым геномом, так и виды, геномы которых прошли дополнительный раунд WGD и уже претерпели некоторую реорганизацию на пути к “диплоидизации”. Стоит отметить, что небольшой размер их генома и просто организованный кариотип послужили бы дополнительным преимуществом при выборе в качестве объекта исследований. Представители рода *Macrostomum* полностью отвечают поставленным требованиям [11]. Размер генома у некоторых видов из этой группы отличается в 2 раза, а число хромосом в их кариотипах варьирует от 6 до 12 [12]. На сегодняшний день выполнена первая черновая сборка генома и транскриптома *M. lignano* [14]. Выполненный нами детальный молекулярно-цитогенетический анализ его хромосом ($2N = 8$) и близкородственного ему вида *Macrostomum* sp. 8 ($2N = 10$) показал, что их хромосомы содержат по четыре и шесть копий, соответственно, гомологичных районов хромосом [11].

К настоящему времени выполнены многочисленные исследования *M. lignano* в качестве модельного объекта в различных областях биологии: от изучения механизмов регенерации и старения до эволюционной биологии [66–70]. Благодаря высокому регенерационному потенциалу червь *M. lignano* способен восстанавливать целостность тела после существенных повреждений. Он имеет небольшой размер тела с легко визуализируемыми системами органов, относительно короткий жизненный цикл, является перекрестным гермафродитом и легко размножается в лабораторных условиях. На сегодняшний день поддерживается коллекция лабораторных инбредных линий и аутбредных культур этого вида [13, 69]. Ранее нами был показан высокий уровень гетерогенности кариотипа у ряда лабораторных линий *M. lignano* [13], преимущественно характеризующихся вариацией числа копий крупной хромосомы MLI1 (от 2 до 4 копий), содержащей практически половину генома *M. lignano*. Возможность проведения прижизненного кариотипирования [13] позволила провести серию экспериментов по скрещиванию эу- и анеуплоидных особей с различным числом копий хромосомы MLI1. Было показано, что анеуплоидные особи, как и эуплоидные, способны давать потомство. Также были описаны случаи появления потомства с кариотипом $2N = 9$ у особей с нормальным кариотипом ($2N = 8$). Так как анеуплоидные особи демонстрировали нормальную морфологию и жизнеспособность, а при

культивировании в лабораторных условиях, вероятно, даже имели селективное преимущество над особями с нормальным кариотипом, остро встал вопрос о составе хромосомы MLI1. Для его решения был получен набор микродиссекционных ДНК-библиотек хромосом MLI1, MLI2, MLI3_4 [11], а также проксимального района и суммы дистальных районов хромосомы MLI1 (рис. 2) [71]. Супрессионная гибридизация *in situ* с полученными микродиссекционными ДНК-пробами выявила гомологию протяженных районов хромосомы MLI1 хромосомам MLI2–MLI4 (рис. 3) [11]. Проведенный анализ не выявил в хромосоме MLI1 нарушения целостности районов, гомологичных хромосомам MLI2–MLI4. В настоящее время наиболее вероятным представляется следующий сценарий эволюции генома *M. lignano*: 1) WGD генома предкового вида или межвидового гибрида; 2) теломеро-теломерные слияния хромосом одного из предковых геномов; 3) эволюция хромосом, обусловленная внутрихромосомной реорганизацией.

Рассмотрим более детально эту гипотезу геномной эволюции у *M. lignano*. Особи *M. lignano* являются гермафродитами, размножающимися в основном перекрестным оплодотворением. Известно, что при межвидовой гибридизации и автополиплоидии у гермафродитов увеличивается вероятность самооплодотворения. Первичный рост численности особей с WGD может происходить либо за счет размножения путем самооплодотворения, либо в результате естественного отбора. Сейчас трудно отдать предпочтение одному из возможных вариантов происхождения WGD: автополиплоидизации или удвоению гибридного генома (аллополиплоидизации). Мы предполагаем, что удвоение гибридного генома несколько более вероятный вариант, чем автополиплоидизация. Возникающий в случае межвидовой гибридизации повышенный уровень генетического разнообразия может дать значительное преимущество гибридам в случае резкого изменения условий обитания или при освоении новой экологической ниши. Также стоит отметить необычный факт слияния в одну хромосому одного полного хромосомного набора предкового вида либо соответствующих ему гомеологичных хромосом. В гаметогенезе гибридов средневропейских зеленых лягушек работает механизм, обеспечивающий видоспецифическую элиминацию и эндорепликацию хромосом [63]. То есть существуют механизмы, способные в генеративных клетках или непосредственно в мейозе дифференцировать хромосомы, пришедшие от разных родительских видов. Подобные механизмы могли обеспечить предпочтительное слияние хромосом одного из родительских видов в ходе эволюции генома *M. lignano*. Однако отметим, что и при случайном

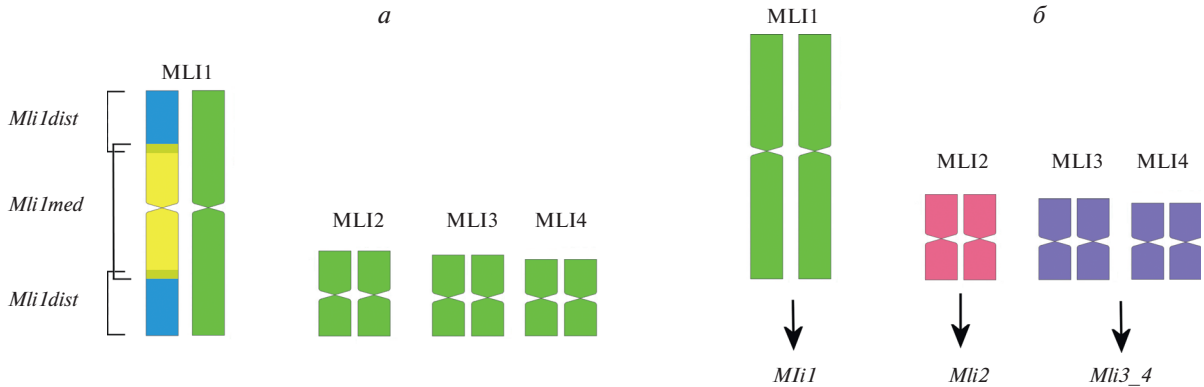


Рис. 2. Схема микроманипуляционного сбора материала районов хромосомы MLI1 (а) и метафазных хромосом *M. lignano* (б) для создания комплекта микродиссекционных ДНК-библиотек и ДНК-зондов. Цветной рисунок см. в электронной версии.

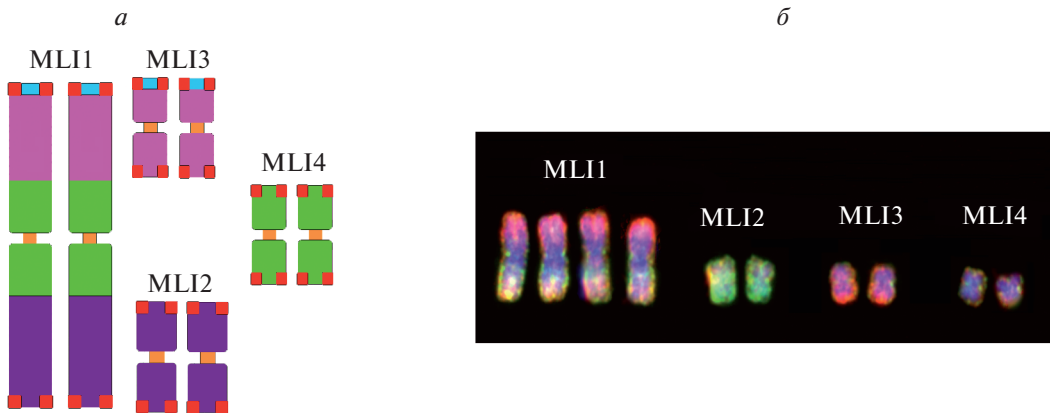


Рис. 3. Результаты проведения флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с полученным комплектом микродиссекционных ДНК-проб. а – локализация паралогичных районов и кластеров повторенных последовательностей (28S рДНК (голубой), теломерных (красный) и прицентромерных (желтый) повторов) в хромосомах *M. lignano*. С-негативные районы хромосом MLI2, MLI3, MLI4 и гомологичные им районы хромосомы MLI1 окрашены в одинаковые цвета. б – результаты FISH микродиссекционных ДНК-проб на хромосомы *M. lignano*. Цветной рисунок см. в электронной версии.

слиянии хромосом вероятность формирования хромосом типа MLI1 достаточно велика.

Хромосомные перестройки на втором этапе диплоидизации дублированного генома снижают остроту проблем нарушений в мейозе, типичных для тетраплоидов. Возникновение хромосомы MLI1 должно снижать частоту формирования в мейозе три- и тетравалентов, повышая выход жизнеспособных гамет. Однако результаты экспериментов со скрещиваниями указывают на то, что гаметогенез *M. lignano*, вероятно, характеризуется большим числом анеуплоидных гамет. Частота анеуплоидов в инбредных линиях *M. lignano* удивительно высока: некоторые из них состоят преимущественно из анеуплоидов. Более того, нами были зарегистрированы случаи воз-

никновения анеуплоидов в потомстве у особей с нормальным кариотипом. Стоит отметить, что частота анеуплоидов в аутбредных культурах и природных популяциях значительно ниже [13]. Вероятно, высокое генетическое разнообразие обеспечивает более точное прохождение мейоза. Проведенное сравнение хромосом MLI2, MLI3 и MLI4 с гомологичными им районами хромосомы MLI1 выявило пока лишь следующие отличия: на границах районов, гомологичных разным хромосомам, отсутствуют кластеры теломерных повторов; в районах, гомологичных хромосомам MLI2 и MLI3, отсутствуют кластеры повторенных последовательностей, гомологичных прицентромерной ДНК этих хромосом (рис. 3,а). Потеря генетического материала после WGD была описана

во многих филогенетических линиях [10]. У *M. lignano* она выявлена в хромосоме MLI1. Если кластеры теломерных повторов могли быть потеряны в процессе теломеро-теломерных слияний хромосом, то кластеры повторов в хромосоме MLI1, гомологичные повторам прицентромерного гетерохроматина, были потеряны уже в ходе последующей реорганизации хромосомы MLI1. Попытка поиска потерянных копий фрагментов генома с помощью биоинформатического анализа результатов секвенирования генома *M. lignano* пока не дала результатов. К сожалению, при секвенировании генома *M. lignano* использовали линию, характеризующуюся высокой частотой анеуплоидий по хромосоме MLI1 [13, 14], что существенно усложняет анализ числа копий различных фрагментов ДНК. В качестве альтернативного подхода нами получены и секвенированы ДНК-библиотеки хромосом MLI1 и MLI2, ведется их сравнительный биоинформатический анализ. Ведутся работы по созданию ДНК-библиотек хромосом MLI3 и MLI4.

Другим важным типом хромосомных перестроек помимо делеций, которые можно ожидать после WGD, являются инверсии хромосомных районов. Однако существующая в настоящее время сборка генома *M. lignano* не позволяет их выявить с помощью биоинформатического анализа [14]. В связи с этим нами ведутся работы по созданию молекулярно-цитогенетических маркеров хромосомных районов и их локализации в метафазных хромосомах *M. lignano*.

Удивительную находку представляют собой особи *Macrostomum* sp. 8, близкородственного вида *M. lignano* [13]. Кариотип большинства особей состоял из десяти хромосом и полностью совпал с кариотипом особей из созданной нами инбредной линии DV1/10, содержащих две дополнительные копии хромосомы MLI1 [11]. Ни по морфометрическим показателям, ни по паттерну сигналов супрессионной гибридизации *in situ* микродиссекционных ДНК-проб не было выявлено никаких отличий [11, 13]. Единственным признаком, отличающим кариотип *Macrostomum* sp. 8 от кариотипа линии *M. lignano* DV1/10, является отсутствие в крупной хромосоме кластера повторов 28S рДНК [11]. Исходя из полученных нами результатов, геном *Macrostomum* sp. 8 является скрытым гексаплоидом относительно исходного родительского вида (или видов). Так как кластер повторенных последовательностей, гомологичных рДНК, отсутствует во всех копиях самой крупной хромосомы, то наиболее вероятным представляется происхождение *Macrostomum* sp. 8 от ветви предка *M. lignano* или популяции *M. lignano*, в которых уже произошла потеря этого кластера повторов. Возможно, крупные хромосомы *Macrostomum* sp. 8 различаются между собой и отличаются от хромосомы MLI1 также наличием

небольших скрытых перестроек (делеций и инверсий). Выявление таких различий позволило бы несколько прояснить механизмы стабилизации мейоза после сегментной полиплоидизации предкового генома.

Создание модели у животных для изучения механизмов WGD и первых шагов кариотипической и геномной эволюции на пути к диплоидизации генома требует включения в нее видов, близкородственных предку *M. lignano*, еще до прохождения WGD. Среди представителей рода *Macrostomum* описаны виды с различным числом хромосом, в том числе и виды, кариотипы которых состоят из трех пар мелких хромосом [12]. В настоящее время мы продолжаем кариотипирование новых видов и поиск возможных кандидатов. Их детальный молекулярно-цитогенетический анализ позволит выбрать потенциальных кандидатов для изучения эволюции генома путем WGD.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие и широкое внедрение в современные исследования новых технологий полногеномного секвенирования вывели на новый уровень работы по сравнительной геномике животных. Успешное развитие этих работ во многом зависит от правильного выбора объектов изучения. Результаты молекулярно-цитогенетического сравнительного анализа видов свободноживущих червей рода *Macrostomum* предполагают, что отдельные представители этого таксона могут служить идеальной моделью в изучении механизмов WGD и последующих этапов в процессе диплоидизации генома.

Наряду с уже перечисленными выше характеристиками видов червей рода *Macrostomum*, которые делают их практически идеальным объектом для лабораторных исследований, нужно отметить наличие ряда задач, требующих срочного решения для превращения этой группы видов в действительно эффективную модель изучения первых этапов диплоидизации генома после его удвоения. При кариотипировании особей *M. lignano* не был проведен анализ мейотических хромосом. Кариотипирование лабораторных линий *M. lignano* и эксперименты по скрещиванию и анализу потомства особей как с нормальным кариотипом, так и особей с трисомией и тетрасомией по хромосоме MLI1 [13] позволяют достаточно уверенно утверждать, что наблюдаемая анеуплоидия не ограничена только соматическими клетками, т.е. представлена также и в генеративных клетках. Тем не менее их анализ и детальное изучение мейоза у *M. lignano* — одна из наиболее актуальных задач, решению которой посвящены ведущиеся в настоящее время исследования. Дополнительным фактором, подтверждающим актуальность этих исследований, является повышенная частота особей с хромосомными перестройками. Очевидно,

что, несмотря на уже пройденные ранние этапы диплоидизации генома, в мейозе имеет место довольно высокая частота конъюгации паралогичных хромосомных районов, последующий кроссинговер в которых приводит к структурным хромосомным перестройкам. Удивительно, но особи, несущие такие перестроенные хромосомы, демонстрируют нормальную морфологию и жизнеспособность. Возможно, что количественный дисбаланс части генов легче переносится на фоне недавней дубликации предкового генома. Стоит заметить, что такая структурная реорганизация хромосом создает дополнительное генетическое разнообразие, которое может приводить к потере части дублированного геномного материала, что часто наблюдается при диплоидизации генома после WGD. Возможно, возникновение хромосомных перестроек на этом этапе эволюции дублированного генома, вследствие конъюгации в мейозе паралогичных районов хромосом, является одним из механизмов, участвующих в видообразовании через “дубликацию генома и дивергентное разрешение” [43].

В настоящее время опубликованы результаты секвенирования и сборки последовательности генома *M. lignano* [14]. К сожалению, при секвенировании генома этого вида использовалась лабораторная линия с высоким процентом анеуплоидных особей. Эта особенность используемого материала и недавняя WGD, имевшая место в эволюции этого вида, могли существенно осложнить сборку драфта генома. Однако уже близки к завершению работы по секвенированию генома *M. lignano* на материале диплоидной лабораторной линии (личное сообщение Е. Березикова). Проведено секвенирование микродиссекционных ДНК-библиотек хромосом MLI1 и MLI2, районспецифичных ДНК-библиотек из хромосомы MLI1. На основании результатов секвенирования уже созданы локус-специфичные ДНК-пробы и ведутся исследования по картированию соответствующих последовательностей ДНК на метафазные хромосомы *M. lignano*. Результаты картирования позволят описать внутреннюю организацию паралогичных районов хромосом и создать молекулярно-цитогенетические маркеры для хромосом MLI3 и MLI4. Маркирование хромосом MLI3 и MLI4 позволит получить микродиссекционные ДНК-библиотеки этих хромосом, более точно определить в хромосоме MLI1 границу между районами, содержащими ДНК, гомологичную ДНК хромосом MLI3 и MLI4. Сравнение внутренней организации паралогичных районов и выявление внутри них хромосомных перестроек даст возможность проследить реорганизацию генома *M. lignano* в процессе его диплоидизации, что в совокупности с изучением мейоза этого вида позволит более детально опи-

сать первые этапы геномной эволюции после WGD.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ) (грант № 16-34-60027 мол_а_дк).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Coyne J.A., Orr H.A. Speciation. Massachusetts: Sinauer, 2004. 322 p.
2. Mayrose I., Zhan S.H., Rothfels S.J. et al. Recently formed polyploid plants diversify at lower rates // Science. 2011. V. 333. № 6047. P. 1257. doi 10.1126/science.1207205
3. Arrigo N., Barker M.S. Rarely successful polyploids and their legacy in plant genomes // Curr. Opin. Plant Biol. 2012. V. 15. № 2. P. 140–146. doi 10.1016/j.pbi.2012.03.010
4. Soltis D.E., Segovia-Salcedo M.C., Jordon-Thaden I. et al. Are polyploids really evolutionary dead-ends (again)? A critical reappraisal of Mayrose et al. // New Phytologist. 2014. V. 202. № 4. P. 1105–1117. doi 10.1111/nph.12756
5. Berthelot C., Brunet F., Chalopin D. et al. The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates // Nat. Commun. 2014. V. 5. № 3657. P. 1–10. doi 10.1038/ncomms4657
6. Pasquier J., Cabau C., Nguyen T. et al. Gene evolution and gene expression after whole genome duplication in fish: the PhyloFish database // BMC Genomics. 2016. V. 17. № 368. P. 1–10. doi 10.1186/s12864-016-2709-z
7. Blomme T., Vandepoele K., De Bodt S. et al. The gain and loss of genes during 600 million years of vertebrate evolution // Genome Biol. 2006. V. 7. № 5. R43.
8. Meyer A., Schartl M. Gene and genome duplications in vertebrates: the one-to-four (-to-eight in fish) rule and the evolution of novel gene functions // Curr. Opin. Cell Biol. 1999. V. 11. № 6. P. 699–704.
9. Ohno S. The one-to-four rule and paralogues of sex-determining genes // Cell. Mol. Life Sci. 1999. V. 55. № 6–7. P. 824–830.
10. Wolfe K.H., Armisen D., Proux-Wera E. et al. Clade- and species-specific features of genome evolution in the Saccharomycetaceae // FEMS Yeast Res. 2015. V. 15. № 5. P. 1–12. doi 10.1093/femsyr/fov035
11. Zadesenets K.S., Schärer L., Rubtsov N.B. New insights into the karyotype evolution of the free-living flatworm *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Turbellaria) // Sci. Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 1–9. doi 10.1038/s41598-017-06498-0
12. Egger B., Ishida S. Chromosome fission or duplication in *Macrostomum lignano* (Macrostomorpha, Platyhelminthes) – remarks on chromosome numbers in ‘archoophoran turbellarians’ // J. Zool. Syst. Evol. Res. 2005. V. 43. № 2. P. 127–132. doi 10.1111/j.1439-0469.2005.00300.x
13. Zadesenets K.S., Vizoso D.B., Schlatter A. et al. Evidence for karyotype polymorphism in the free-living flatworm,

- Macrostomum lignano*, a model organism for evolutionary and developmental biology // PLoS One. 2016. V. 11. № 10. e0164915. doi 10.1371/journal.pone.0164915
14. Wasik K., Gurtowski J., Zhou X. et al. Genome and transcriptome of the regeneration-competent flatworm, *Macrostomum lignano* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. № 40. P. 12462–12467. doi 10.1073/pnas.1516718112
 15. Ohno S. Evolution by Gene Duplication. London: George Allen and Unwin, 1970. 159 p.
 16. Garcia-Fernández J., Holland P.W. Archetypal organization of the amphioxus *Hox* gene cluster // Nature. 1994. V. 370. № 6490. P. 563–566.
 17. Martin A.P. Increasing genomic complexity by gene duplication and the origin of the vertebrates // Amer. Nat. 1999. V. 154. № 2. P. 111–128.
 18. Smith J.J., Keinath M.C. The sea lamprey meiotic map improves resolution of ancient vertebrate genome duplications // Genome Res. 2015. V. 25. № 8. P. 1081–1090. doi 10.1101/gr.184135.114
 19. Dehal P., Boore J.L. Two rounds of whole genome duplication in the ancestral vertebrate // PLoS Biol. 2005. V. 3. № 10. e314.
 20. Mühlhausen S., Kollmar M. Whole genome duplication events in plant evolution reconstructed and predicted using myosin motor proteins // BMC Evol. Biol. 2013. V. 13. № 202. P. 1–23. doi 10.1186/1471-2148-13-202
 21. Albalat R., Canestro C. Evolution by gene loss // Nat. Rev. Genet. 2016. V. 17. № 7. P. 379–391. doi 10.1038/nrg.2016.39
 22. Inoue J., Sato Yu., Sinclair R. et al. Rapid genome reshaping by multiple-gene loss after whole-genome duplication in teleost fish suggested by mathematical modeling // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. № 48. P. 14918–14923. doi 10.1073/pnas.1507669112
 23. Haussler D., O'Brien S.J., Ryder O.A. et al. Genome 10K: a proposal to obtain whole-genome sequence for 10000 vertebrate species // J. Hered. 2009. V. 100. № 6. P. 659–674. doi 10.1093/jhered/esp086
 24. 5K Consortium. The i5K Initiative: advancing arthropod genomics for knowledge, human health, agriculture, and the environment // J. Hered. 2013. V. 104. № 5. P. 595–600. doi 10.1093/jhered/est050
 25. GIGA Community of Scientists. The Global Invertebrate Genomics Alliance (GIGA): Developing community resources to study diverse invertebrate genomes // J. Hered. 2014. V. 105. № 1. P. 1–18. doi 10.1093/jhered/est084
 26. Задесенец К.С., Ершов Н.И., Рубцов Н.Б. Полногеномное секвенирование геномов эукариот: от секвенирования фрагментов ДНК к сборке генома // Генетика. 2017. Т. 53. № 6. С. 641–650.
 27. Rausch J.H., Morgan M.T. The effect of self-fertilization, inbreeding depression, and population size on autopolyploid establishment // Evolution. 2005. V. 59. № 9. P. 1867–1875.
 28. Spring J. Vertebrate evolution by interspecific hybridization—are we polyploid? // FEBS Lett. 1997. V. 400. № 1. P. 2–8.
 29. Pennisi E. Shaking up the tree of life // Science. 2016. V. 354. № 6314. P. 817–821. doi 10.1126/science.354.6314.817
 30. Todesco M., Pascual M.A., Owens G.L. et al. Hybridization and extinction // Evol. Appl. 2016. V. 9. № 7. P. 892–908. doi 10.1111/eva.12367
 31. Wang J., Liu Q., Luo K. et al. Cell fusion as the formation mechanism of unreduced gametes in the gynogenetic diploid hybrid fish // Sci. Rep. 2016. V. 6. № 31658. P. 1–12. doi 10.1038/srep31658
 32. Mason A.S., Chris Pires J. Unreduced gametes: meiotic mishap or evolutionary mechanism? // Trends Genet. 2015. V. 31. № 1. P. 5–10. doi 10.1016/j.tig.2014.09.011
 33. Lutes A.A., Neaves W.B., Baumann D.P. et al. Sister chromosome pairing maintains heterozygosity in parthenogenetic lizards // Nature. 2010. V. 464. № 7286. P. 283–286. doi 10.1038/nature08818
 34. Dawley R.M., Bogart J.B. Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates. Albany: New York State Museum, 1989. 302 p.
 35. Stenberg P., Saura A. Meiosis and its deviations in polyploid animals // Cytogenet. Genome Res. 2013. V. 140. № 2–4. P. 185–203. doi 10.1159/000351731
 36. Chinone A., Nodono H., Matsumoto M. Triploid planarian reproduces truly bisexually with euploid gametes produced through a different meiotic system between sex // Chromosoma. 2014. V. 123. № 3. P. 265–272. doi 10.1007/s00412-013-0449-2
 37. Mallet J. Hybrid speciation // Nature. 2007. V. 446. № 7133. P. 279–283.
 38. Mallet J., Besansky N., Hahn M.W. How reticulated are species? // Bioessays. 2016. V. 38. № 2. P. 140–149. doi 10.1002/bies.201500149
 39. Hegarty M.J., Hiscock S.J. Genomic clues to the evolutionary success of polyploid plants // Curr. Biol. 2008. V. 18. № 10. P. R435–R444. doi 10.1016/j.cub.2008.03.043
 40. Comai L. Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. № 2–3. P. 387–399.
 41. Madlung A. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools // Heredity. 2013. V. 110. № 1. P. 99–104. doi 10.1038/hdy.2012.79
 42. Selmecki A.M., Maruvka Y.E., Richmond P.A. et al. Polyploidy can drive rapid adaptation in yeast // Nature. 2015. V. 519. № 7543. P. 349–352. doi 10.1038/nature14187
 43. Lynch M., Conery J.S. The evolutionary fate and consequences of duplicate genes // Science. 2000. V. 290. № 5494. P. 1151–1155.
 44. Taylor J.S., Van de Peer Y., Meyer A. Revisiting recent challenges to the ancient fish-specific genome duplication hypothesis // Trends Genet. 2001. V. 17. № 6. P. 299–301.
 45. McGrath C.L., Gout J.-F., Johri P. et al. Differential retention and divergent resolution of duplicate genes fol-

- lowing whole-genome duplication // *Genome Res.* 2014. V. 24. № 10. P. 1665–1675. doi 10.1101/gr.173740.114
46. *Otto S.P., Whitton J.* Polyploid incidence and evolution // *Annu. Rev. Genet.* 2000. V. 34. P. 401–437.
 47. *Soltis D.E., Soltis P.S.* Molecular data and the dynamic nature of polyploidy // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1993. V. 12. № 3. P. 243–273.
 48. *De Storme N., Mason A.* Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance // *Curr. Plant Biol.* 2014. V. 1. № 1. P. 10–33.
 49. *Chester M., Leitch A.R., Soltis P.S., Soltis D.E.* Review of the application of modern cytogenetic methods (FISH/GISH) to the study of reticulation (polyploidy/hybridisation) // *Genes.* 2010. V. 1. № 2. P. 166–192. doi 10.3390/genes1020166
 50. *Hollister J.D.* Polyploidy: adaptation to the genomic environment // *New Phytol.* 2015. V. 205. № 3. P. 1034–1039.
 51. *Cifuentes M., Grandont L., Moore G. et al.* Genetic regulation of meiosis in polyploid species: new insights into an old question // *New Phytol.* 2010. V. 186. № 1. P. 29–36. doi 10.1111/j.1469-8137.2009.03084.x
 52. *Sattler M.C., Carvalho C.R., Clarindo W.R.* The polyploidy and its key role in plant breeding // *Planta.* 2016. V. 243. № 2. P. 281–296. doi 10.1007/s00425-015-2450-x
 53. *Astaurov B.L.* Experimental polyploidy in animals // *Annu. Rev. Genet.* 1969. V. 3. № 1. P. 99–126.
 54. *Kondo Y.* Developmental capacity and chromosome number in the offspring of artificially produced autotetraploids of *Rana nigromaculata* // *Zool. Sci.* 2002. V. 19. № 8. P. 877–883.
 55. *Lutes A.A., Baumann D.P., Neaves W.B., Baumann P.* Laboratory synthesis of an independently reproducing vertebrate species // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 24. P. 9910–9915. doi 10.1073/pnas.1102811108
 56. *Glover K.A., Bos J.B., Urdal K. et al.* Genetic screening of farmed Atlantic salmon escapees demonstrates that triploid fish display reduced migration to freshwater // *Biol. Invasions.* 2016. V. 18. № 5. P. 1287–1294. doi 10.1007/s10530-016-1066-9
 57. *Grandont L., Jenczewski E., Lloyd A.* Meiosis and its deviations in polyploid plants // *Cytogenet. Genome Res.* 2013. V. 140. № 2–4. P. 171–184. doi 10.1159/000351730
 58. *Stenberg P., Saura A.* Cytology of asexual animals // *Lost Sex: The Evolutionary Biology of Parthenogenesis.* Netherlands: Springer, 2009. P. 63–74.
 59. *Berger L.* Morphology of the F₁ generation of various crosses within *Rana esculenta*-complex // *Acta Zool. Cracoviensia.* 1968. V. 13. № 13. P. 301–324.
 60. *Christiansen D.G., Reyer H.U.* From clonal to sexual hybrids: genetic recombination via triploids in all-hybrid populations of water frogs // *Evolution.* 2009. V. 63. № 7. P. 1754–1768. doi 10.1111/j.1558-5646.2009.00673.x
 61. *Dedukh D., Litvinchuk S., Rosanov Ju. et al.* Optional endoreplication and selective elimination of parental genomes during oogenesis in diploid and triploid hybrid European water frogs // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 4. e0123304. doi 10.1371/journal.pone.0123304
 62. *Doležalková M., Sember A., Marec F. et al.* Is premeiotic genome elimination an exclusive mechanism for hemiclonal reproduction in hybrid males of the genus *Pelophylax*? // *BMC Genet.* 2016. V. 17. № 100. doi 10.1186/s12863-016-0408-z
 63. *Tunner H.G.* Demonstration of the hybrid origin of the common green frog *Rana esculenta* L. // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 1973. V. 11. № 1. P. 219–233.
 64. *Christiansen D.G., Fog K., Pedersen B.V. et al.* Reproduction and hybrid load in all-hybrid populations of *Rana esculenta* water frogs in Denmark // *Evolution.* 2005. V. 59. № 6. P. 1348–1361.
 65. *Borkin L.J., Korshunov A.V., Lada G.A. et al.* Mass occurrence of polyploid green frogs (*Rana esculenta* complex) in Eastern Ukraine // *Russ. J. Herpetol.* 2004. V. 11. № 3. P. 194–213.
 66. *Demircan T., Berezikov E.* The Hippo pathway regulates stem cells during homeostasis and regeneration of the flatworm *Macrostomum lignano* // *Stem Cells Dev.* 2013. V. 22. № 15. P. 2174–2185. doi 10.1089/scd.2013.0006
 67. *Janssen T., Vizoso D.B., Schulte G. et al.* The first multi-gene phylogeny of the Macrostromorpha sheds light on the evolution of sexual and asexual reproduction in basal Platyhelminthes // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2015. V. 92. № 1. P. 82–107. doi 10.1016/j.ympev.2015.06.004
 68. *Ladurner P., Schärer L., Salvenmoser W., Rieger R.M.* A new model organism among the lower Bilateria and the use of digital microscopy in taxonomy of meiobenthic Platyhelminthes: *Macrostomum lignano*, n. sp. (Rhabditophora, Macrostromorpha) // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 2005. V. 43. № 2. P. 114–126. doi 10.1111/j.1439-0469.2005.00299.x
 69. *Marie-Orleach L., Janicke T., Vizoso D. et al.* Fluorescent sperm in a transparent worm: validation of a GFP marker to study sexual selection // *BMC Evol. Biol.* 2014. V. 30. № 14. P. 148. doi 10.1186/1471-2148-14-148
 70. *Vellnow N., Marie-Orleach L., Zadesenets K.S., Schärer L.* Bigger testes increase paternity in a simultaneous hermaphrodite, indeoendently of the sperm competition level // *J. Evol. Biol.* 2018. V. 31. № 2. P. 180–196. doi 10.1111/jeb.13212
 71. *Zadesenets K.S., Ershov N.I., Berezikov E., Rubtsov N.B.* Chromosome evolution in the free-living flatworms: first evidence of intrachromosomal rearrangements in karyotype evolution of *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Macrostromida) // *Genes.* 2017. V. 8. № 11. e298. doi 10.3390/genes8110298

Whole Genome Duplication in Animal Evolution

K. S. Zadesenets^{a, *} and N. B. Rubtsov^{a, b}

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

^bNovosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia

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

In this review, data concerning whole genome duplication (WGD) events in different phylogenetic lineages are considered. Also, possible initial mechanisms of WGD and its role in animal evolution are discussed. We focus separately on problems of methodology and techniques applied to study early steps of genome evolution after WGD event, as well as findings of a perspective model organism for them. We suggest that flatworms of the genus *Macrostomum* can serve as a new model object for this kind of research. According to our data, genomes of some *Macrostomum* species (*M. lignano*, *Macrostomum* sp. 8) arose due to a recent WGD followed by karyotype reorganization. Morphological traits, life cycle, small genome size, and simple karyotype make *Macrostomum* species an ideal model organism for studies of genomic reorganization at early stages after WGD.

Keywords: whole genome duplication, genome evolution, chromosome rearrangements, microdissected DNA libraries, fluorescent *in situ* hybridization.