

УДК 575.2:576.3:599.742.4

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЧЕРЕПА ЛИНИЙ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*NEOGALE VISON SCHREBER, CARNIVORA, MUSTELIDAE*) ПОСЛЕ СЕЛЕКЦИИ ПО ПРИЗНАКАМ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ<sup>1</sup>

© 2025 И. А. Васильева<sup>а,\*</sup>, О. В. Трапезов<sup>б</sup>

<sup>а</sup>Институт экологии растений и животных УрО РАН, 8 Марта, 202, Екатеринбург, 620144 Россия

<sup>б</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,  
пр. акад. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090 Россия

\*e-mail: via@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 15.07.2024

После доработки 25.08.2024

Принята к публикации 09.11.2024

Сравнили встречаемость дискретных неметрических пороговых признаков (НПП) осевого черепа и нижней челюсти у линий агрессивных и ручных американских норок (*Neogale vison* Schreber, 1777), созданных на основе селекции по признакам оборонительного поведения. Клеточные неселектированные и дикие канадские норки взяты как контрольные. После выбраковки в выборках НПП с инвариантными частотами, нечеткой топологией, единичных, редких (< 5%) и встреченных с высокой частотой (> 95%) использовали три варианта набора признаков: “расширенный” (50 признаков), допускающий их связь с полом и размерами, “ограниченный” (30), исключающий такую связь, и “объединенный” (50), где для признаков, связанных с полом, взяты частоты только самцов. Оценка средних мер дивергенции (*MMD*) по частотам встречаемости фенотипов НПП во всех вариантах выявила значимые различия между линиями, а также обеими контрольными группами. В первом варианте были наиболее выражены различия между полами, а во втором и третьем вариантах — между линиями. Во всех вариантах в наибольшей степени различаются агрессивные и ручные особи, а клеточные неселектированные норки занимают промежуточное положение. Дикие канадские норки наиболее близки к клеточным неселектированным, а дивергенция между агрессивными и ручными превышает различие между клеточными и дикими. Канонический анализ главных компонент, характеризующих проявление индивидуальных фенотипических вариаций по второму ограниченному набору 30 НПП (с меньшей средовой и большей наследственной обусловленностью), выявил те же межгрупповые различия, что и на основе *MMD* во втором и третьем вариантах. Установлено, что эффект селекции по признакам оборонительного поведения за 16–17 поколений сопровождался большей дифференциацией агрессивных и ручных американских норок, чем диких и клеточных в итоге почти вековой изоляции последних на зверофермах. Величины индексов эпигенетической изменчивости (*EV*) и объема внутривидового морфопространства (*Vm*), характеризующего степень дестабилизации развития, у ручных норок значимо больше, чем у агрессивных. Результаты хорошо согласуются с теорией дестабилизирующего отбора Д.К. Беляева и косвенно указывают на высокую скорость эпигенетических изменений у экспериментальных линий американской норки, что объясняет высокий адаптивный потенциал этого инвазионного вида при его экспансии в Евразии.

**Ключевые слова:** норка, эпигенетический полиморфизм, фенетические дистанции, domestикация

**DOI:** 10.31857/S0044513425020058, **EDN:** ssnojq

Отклик на селекцию по признакам<sup>1</sup> оборонительного поведения тесно связан с возникновением типичных генетических и морфогенетических эффектов в процессе domestикации животных (Беляев,

1979; Belyaev, 1979; Трут, 1981; Трапезов, 1987; Беляев, Трут, 1989; Singh et al., 2017). В работах многих авторов показана высокая скорость морфогенетических перестроек, обнаруженная при domestикации собак, серебристо-черных лисиц, американских норок, серых крыс и других видов (Drake, Klingenberg,

<sup>1</sup> Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: <https://doi.org/10.31857/S0044513425020058>

2010; Харламова и др., 2000; Singh et al., 2017; Трут и др., 2021). У американской норки морфологические изменения проявились уже на начальной стадии эксперимента после нескольких поколений отбора по признакам оборонительного поведения (Харламова и др., 2000). Подобные быстрые отклики domesticированных видов на отбор по признакам поведения, вероятно, не могут быть обусловлены только эффектами селекции случайных мутаций генома, влияющих на морфогенез (Kukekova et al., 2018). При этом степень характерных морфогенетических перестроек, формирующихся за относительно небольшое число поколений, оказывается значительной (Singh et al., 2017).

Можно предполагать, что другим вероятным фактором быстрого возникновения селективного отклика могут быть изменения морфогенеза, которые обусловлены стресс-индуцированными эпигенетическими процессами (метилование ДНК, транспозиция мобильных элементов генома и др.), ведущая роль которых в микроэволюции все шире обсуждается в последние десятилетия (Jablonka, Raz, 2009; Burggren, 2016; Donelan et al., 2020). Подобный механизм генетических, эпигенетических и этологических перестроек, связанных с изменением их морфогенеза у экспериментальных животных при селекции по признакам оборонительного поведения, хорошо согласуется с теорией дестабилизирующего отбора, предложенной Беляевым (Беляев, 1979; Belyaev, 1979).

Ранее были выявлены морфометрические различия при сравнении линий агрессивных и ручных американских норок (Харламова и др., 2000), полученных на экспериментальной звероферме при ИЦиГ СО РАН на основе селекции по признакам оборонительного поведения. Однако остались неизученными многие аспекты, включая межлинейные эпигенетические различия и проявления эпигенетической изменчивости, маркируемые неметрическими пороговыми признаками (НПП) скелета (Grüneberg, 1963; Berry, Searle, 1963; Sjøvold, 1977; Hartman, 1980; Ulevičius et al., 2001; Wójcik et al., 2007).

Использование дискретных неметрических признаков скелета в генетических сравнениях было начато еще в середине 50-х годов XX в. английскими генетиками школы Грюнеберга (Grüneberg, 1952, 1952a, 1963; Deol, Truslove, 1957; Grewal, 1962) на линейных мышах и продолжено на природных популяциях млекопитающих (Berry, Searle, 1963; Sjøvold, 1977; Hartman, 1980; Andersen, Wiig, 1982; Ansorge, 2001). Проявившись в фенотипе, неметрические пороговые признаки (НПП) варьируют как количественные признаки и находятся под контролем генетических и эпигенетических факторов (Grüneberg, 1952b) и могут маркировать генетическую и эпигенетическую специфику линий и популяций млекопитающих (Grüneberg, 1963). Грюэл (Grewal, 1962)

на примере линии C57BL с известной генеалогией оценил скорость процесса генетической дивергенции ее сублиний по комплексу неметрических признаков. На примере человека установлена высокая наследуемость некоторых неметрических признаков черепа и зубов (Berry, Berry, 1967; Berry, 1978). Берри и Сирль (Berry, Searle, 1963) определили дискретное проявление НПП скелета как “эпигенетический полиморфизм”, отчетливо понимая эпигенетическую природу дискретности билатеральных структур и опираясь на модель эпигенетического ландшафта Уоддингтона (Waddington, 1957). На линейных мышах показано, что частоты встречаемости НПП высоко устойчивы к воздействию стрессирующих факторов среды в процессе развития (Bauchau, 1988; Васильев, Васильева, 2009). В последнее время НПП используют при косвенной оценке эпигенетической дивергенции и эпигенетической изменчивости (Wójcik et al., 2007; Ansorge et al., 2009; Васильев, Васильева, 2009; Короблёв и др., 2018, 2020).

Ранее Васильев с соавторами (2004) выявили существенные различия по комплексу НПП черепа между экспериментальными линиями агрессивных и ручных серебристо-черных лисиц. Короблёв с соавторами (2018) обнаружили географическую изменчивость НПП у инвазионных диких популяций американской норки в европейской части России и их отличие от норок звероферм. Поэтому можно было предположить, что подобные различия обнаружатся и между линиями агрессивных и ручных американских норок на экспериментальной звероферме при ИЦиГ СО РАН. В этой связи представляло интерес сравнить экспериментальные линии американской норки, сформированные при селекции (16–17 поколений), по комплексу фенотипических признаков НПП. Важно установить, повлияла ли селекция по признакам оборонительного поведения на различия в проявлении фенотипических признаков НПП у разных линий. Необходимо оценить соотношение различий по частотам фенотипических признаков НПП между линиями агрессивных и ручных норок клеточного содержания, а также контрольными клеточными неселектированными и дикими норками из Канады. Следует выяснить, есть ли различия в проявлении эпигенетической изменчивости и уровне стабильности развития билатеральных НПП у экспериментальных линий норок.

Цель работы — оценка различий по встречаемости фенотипических признаков неметрических пороговых признаков осевого черепа и нижней челюсти между экспериментальными линиями агрессивных и ручных американских норок, а также контрольными клеточными неселектированными и дикими канадскими представителями вида с учетом проявления эпигенетической изменчивости и стабильности развития билатеральных морфологических структур.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали коллекционный краинологический материал двух линий американской норки, полученных после 16–17 поколений селекции по признакам оборонительного поведения на экспериментальной звероферме при Институте цитологии и генетики СО РАН под руководством О.В. Трапезова (1987, 2012). Изучены выборки агрессивных (самцы – АМ,  $n = 31$ ; самки – АФ,  $n = 31$ ) и ручных (самцы – ТМ,  $n = 30$ ; самки – ТФ,  $n = 31$ ) особей. Для сравнения использовали неселектированных норок (самцы – NM,  $n = 34$ ; самки – NF,  $n = 36$ ), которых рассматривали в качестве условного контроля. Все животные представлены сходными по возрасту (7 мес.) сеголетками, полученными в одном и том же сезоне (ноябрь). Дополнительно изучили выборку диких самцов из природной популяции американской норки (CanM) в возрасте от 1+ до 3+ из провинции Альберта (Wood Buffalo Park, Conibear Lake, 1933 г.) в Канаде,  $n = 10$ . Материал из Канады получен музеем ИЭРЖ УрО РАН в 50-х годах XX в. при обмене коллекциями с Национальным музеем Канады и позволяет ориентировочно оценить степень изменений частот встречаемости фенов НПП у клеточных американских норок по сравнению с одной из диких канадских популяций.

Дизайн работы предполагал проведение исследования в четыре этапа: 1 – первичный поиск (скрининг) фенов неметрических признаков черепа и нижней челюсти с дальнейшей выбраковкой невалидных (с нечеткой топологией), единичных, редких, с предельно высокой частотой, инвариантных по частотам встречаемости, а также связанных друг с другом; 2 – расчет фенетических дистанций (*MMD*) по частотам неметрических признаков для трех вариантов их наборов, их многомерное неметрическое шкалирование и кластерный анализ; 3 – канонический анализ значений главных компонент, характеризующих индивидуальное проявление фенокомпозиций по ограниченному набору НПП в выборках норок; 4 – оценка индексов эпигенетической изменчивости (*EV*) по ограниченному набору билатеральных неметрических признаков, а также вычисление объемов внутригрупповых морфопространств (*Vm*), косвенно характеризующих степень дестабилизации проявления фенокомпозиций в выборках.

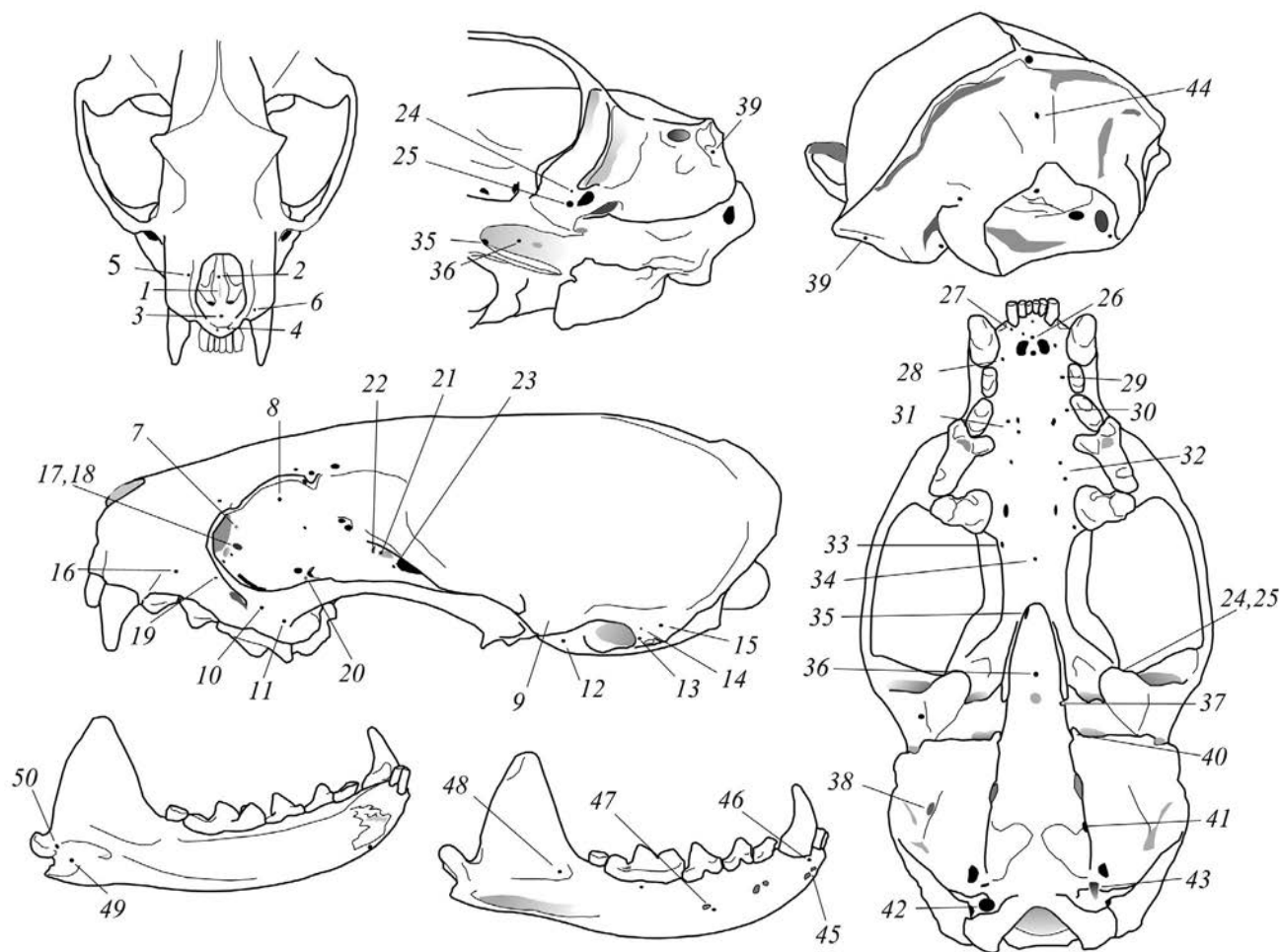
На первом этапе планировали сформировать три рабочих варианта набора НПП: “расширенный”, допускающий их значимую связь с полом и размерами; “ограниченный”, исключающий подобные признаки; а также “объединенный”, при котором для не связанных с полом признаков использованы частоты объединенных выборок самцов и самок, но для признаков, имеющих

значимую связь с полом, взяты только частоты выборок самцов. Использование признаков во втором и третьем вариантах было нацелено на снижение средовых эффектов трофики, гормонального фона и полового диморфизма по размерам и усиление доли наследственной компоненты различий.

При скрининге на осевых черепках и нижних челюстях американских норок после предварительного поиска обнаружили около 200 фенов медиальных и билатеральных неметрических пороговых признаков (дополнительные отверстия для кровеносных сосудов и нервов или их редукция, дополнительные костные элементы, редукция фрагментов кости и др.). Часть выявленных признаков совпадает с признаками, описания которых ранее привели для хищных млекопитающих другие авторы (Sjøvold, 1977; Wiig, Andersen, 1988; Глушкова, Кораблев, 1997; Ulevičius et al., 2001; Васильев и др., 2004; Ansorge et al., 2009; Монахов, 2010; Рання, Монахов, 2011). Поскольку большое число фенов затруднительно не только классифицировать, но и использовать в многомерном анализе (число признаков не должно превышать число изученных в выборке особей), было решено с некоторым запасом (с учетом предстоящей их частичной выбраковки) использовать для дальнейшего анализа 80 НПП (рис. 1; Приложение: рис. 7, табл. 5, 6). Латинские аббревиатуры фенов указаны в подписи к рис. 1, а полный перечень русскоязычных описаний и сокращенных латинских названий НПП и их состояний (фенов) – для 80 исходных признаков приведен в Приложении (см. Приложение: табл. 5, 6). Во всех случаях осуществляли дихотомизацию НПП, фиксируя наличие и отсутствие фена (порогового состояния).

Прочие признаки (например, расположенные внутри черепа и др.) исключили в основном из-за повышенной сложности обнаружения, с нечеткими критериями выделения фенов, с широкой экспрессивностью, что не позволяло строго выделить их пороговые состояния, а также с их нестабильной топологией, затрудняющей диагностику. При отборе исключали также единичные (например, единичное отсутствие зуба m2), редкие (в среднем менее 5% на признак) или проявляющиеся с высокой частотой (в среднем более 95%) признаки. Правилom аналогичных сравнений (Kryštufek, 1990; Ventura, Sans-Fuentes, 1997; Wójcik et al., 2006) также является исключение НПП с инвариантными частотами выборок (тестирование мы проводили на основе множественного критерия  $\chi^2$ ).

Повторная классификация материала выявила среди первоначально оставленных 80 признаков значимые различия между первичной и повторной оценками по частотам встречаемости для 14 НПП, обусловленные нечеткой топологией фенов. Эти



**Рис. 1.** Схема расположения неметрических признаков (№№ 1–50) на осевом черепе и нижней челюсти американской норки: 1\**m* – FiCrns (–), 2\**m* – Fcrnspo, 3*m* – Fpmnsme, 4\* – FPmdsI2, 5 – Fpmnsds, 6 – Fpmnsve, 7\* – FPlcim, 8 – FFran, 9\* – FTm (–), 10 – FMxzgan, 11 – FMxzgpo, 12\* – FPgl, 13 – FMtacla, 14 – FMtacs, 15\* – FSqla, 16\* – FMxca, 17\* – FMxor (–), 18\* – FeMxor, 19\* – Floac, 20 – FSplac, 21 – FOpac, 22 – Fspop, 23\* – FFior, 24\* – FRt (+), 25\* – FRtac, 26*m*\* – Flcmeac, 27 – FAvlgIn, 28 – FAvlgC, 29 – FAvlgPm1, 30\* – FAvlgPm2, 31\* – FMxplmt, 32\* – FPIpm3ac, 33\* – FMpo, 34*m* – FPlme, 35\* – IsPspla, 36*m* – FSpme, 37 – IsLmpt, 38\* – FeTp, 39\* – FStmac, 40\* – PrTpan, 41\* – FOctp, 42\* – FeFocnif (FFCI), 43\* – FJginap, 44*m* – FOcme, 45\* – FMticdu, 46\* – FMdcave, 47\* – FMtpodu, 48\* – FMdms, 49 – FMdaglg, 50 – FMdarlg (\* номера 30 признаков, не связанных с полом, полные названия и описания всех признаков приведены в Приложении: табл. 5).

НПП были отнесены к категории невалидных (см. Приложение: табл. 6). Другие 16 НПП имели инвариантные (“равные”) частоты, что подтверждено значением критерия  $\chi^2$  (см. Приложение: табл. 6). Оставшиеся 50 НПП (табл. 1, см. рис. 1) приняли в качестве первого расширенного варианта их набора, включающего также коррелирующие с полом и размерами признаки. Такой набор признаков давал возможность соотнести абсолютный размах половых и межлинейных различий со степенью дифференциации контрольных клеточных и диких норк. Для получения второго варианта – ограниченного набора НПП (табл. 1) – были удалены признаки, значимо связанные с полом

и размерами (в качестве характеристики размера использовали кондильобазальную длину черепа, мм). Используя тест  $\chi^2$ , выявили 20 НПП, по которым обнаружили значимые половые различия. На основе непараметрического рангового корреляционного анализа Спирмена установили 18 НПП, значимо связанных с размером черепа норк (см. Приложение: табл. 5, 6). В итоге мы оставили для второго варианта ограниченный набор из 30 признаков, проявление которых не связано ни с полом, ни с размерами (см. рис. 1, табл. 1, Приложение: табл. 5, 6). Третий вариант объединенного набора 50 НПП включал те же признаки, что и в первом варианте, но при этом по тем из них,

**Таблица 1.** Встречаемость (%) фенотипов 50 неметрических признаков черепа и нижней челюсти, использованных в разных вариантах сравнения самцов (М) и самок (F) линий агрессивных (А), неселектированных (N) и ручных (Т) клеточных американских норков и самцов дикой популяции (CanM)

№ признака	АМ <i>n</i> = 62	АF <i>n</i> = 62	NM <i>n</i> = 68	NF <i>n</i> = 72	ТМ <i>n</i> = 60	ТF <i>n</i> = 62	CanM <i>n</i> = 20
1m	0.00	0.00	2.94	2.78	20.00	12.90	0.00
2m	61.29	48.39	55.88	52.78	36.67	25.81	30.00
3m	45.16	29.03	55.88	27.78	76.67	45.16	70.00
4	53.23	41.94	30.88	29.17	28.33	32.26	25.00
5	66.13	29.03	39.71	37.50	50.00	12.90	65.00
6	91.94	69.35	75.00	70.83	78.33	29.03	85.00
7	43.55	51.61	39.71	44.44	28.33	25.81	20.00
8	54.84	67.74	33.82	59.72	11.67	38.71	60.00
9	9.68	17.74	23.53	30.56	21.67	35.48	25.00
10	54.84	37.10	50.00	25.00	58.33	29.03	60.00
11	77.42	24.19	76.47	33.33	73.33	8.06	65.00
12	61.29	64.52	51.47	37.50	38.33	22.58	50.00
13	66.13	24.19	45.59	27.78	48.33	8.06	40.00
14	79.03	51.61	57.35	56.94	83.33	29.03	65.00
15	16.13	11.29	26.47	15.28	41.67	17.74	35.00
16	66.13	61.29	45.59	50.00	53.33	12.90	75.00
17	22.58	25.81	23.53	31.94	35.00	56.45	0.00
18	38.71	54.84	50.00	36.11	6.67	12.90	35.00
19	20.97	40.32	14.71	18.06	5.00	4.84	20.00
20	3.23	9.68	5.88	6.94	20.00	22.58	25.00
21	32.26	12.90	23.53	16.67	13.33	6.45	15.00
22	25.81	48.39	42.65	51.39	35.00	66.13	40.00
23	51.61	40.32	52.94	54.17	75.00	67.74	65.00
24	56.45	67.74	57.35	52.78	53.33	58.06	75.00
25	19.35	12.90	19.12	15.28	25.00	20.97	25.00
26m	38.71	35.48	32.35	22.22	20.00	20.97	50.00
27	43.55	12.90	25.00	29.17	43.33	4.84	15.00
28	41.94	27.42	44.12	30.56	28.33	9.68	25.00
29	35.48	12.90	33.82	15.28	33.33	19.35	45.00
30	48.39	32.26	58.82	43.06	75.00	56.45	80.00
31	25.81	16.13	25.00	18.06	41.67	43.55	35.00
32	20.97	22.58	33.82	37.50	43.33	38.71	10.00
33	50.00	48.39	42.65	40.28	40.00	33.87	35.00
34m	22.58	3.23	29.41	5.56	3.33	3.23	50.00
35	83.87	75.81	88.24	93.06	98.33	91.94	60.00
36m	6.45	22.58	32.35	25.00	43.33	45.16	30.00
37	72.58	50.00	77.94	69.44	65.00	43.55	40.00
38	8.06	14.52	4.41	15.28	1.67	8.06	20.00
39	17.74	17.74	33.82	33.33	40.00	27.42	20.00
40	33.87	20.97	55.88	37.50	48.33	53.23	70.00
41	0.00	0.00	16.18	8.33	13.33	12.90	20.00
42	20.97	16.13	19.12	26.39	41.67	40.32	10.00
43	0.00	0.00	0.00	2.78	8.33	9.68	15.00
44m	40.32	16.13	38.24	16.67	30.00	6.45	20.00
45	12.90	37.10	20.59	30.56	33.33	41.94	45.00
46	37.10	19.35	35.29	25.00	15.00	6.45	25.00
47	12.90	20.97	22.06	33.33	31.67	33.87	15.00
48	75.81	77.42	80.88	90.28	55.00	58.06	85.00
49	50.00	8.06	51.47	23.61	40.00	17.74	75.00
50	48.39	12.90	51.47	16.67	63.33	8.06	85.00

Примечания. *n* – число изученных сторон тела, для медиальных (m) признаков – *n*/2.

которые были связаны с полом, учитывали только частоты выборок самцов. Признаки, используемые в трех вариантах наборов, были отнесены к категории валидных. В соответствии с существующими представлениями (Berry, Berry, 1967; Berry, 1978; Hartman, 1980; Ansorge et al., 2009), различия по признакам второго и третьего вариантов наборов при исключении влияния на их проявление пола и размеров в наибольшей мере обусловлены наследственными, а не средовыми факторами. Оценка связи встречаемости НПП друг с другом с помощью расчета ранговой непараметрической корреляции Спирмена не выявила значений коэффициентов, равных по уровню слабой связи  $r_s = 0.3$  или превышающих этот уровень, т.е. все оставшиеся признаки не дублировали или пренебрежимо слабо дублировали информацию.

Для каждой выборки самцов и самок сравнимых линий клеточных норок, а также самцов дикой канадской популяции рассчитали частоты встречаемости фенотипов НПП, по которым далее вычисляли фенетические дистанции по 50 и 30 признакам. При расчете парных фенетических дистанций между выборками, которые Грюэл (Grewal, 1962) назвал “средней мерой дивергенции” (mean measure of divergence — *MMD*), мы использовали формулу К. Смита (C.A.V. Smith) в модификации Хартмана (Hartman, 1980):

$$MMD = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \left\{ \left( \theta_{i1} - \theta_{i2} \right)^2 - \left[ \frac{1}{n_{i1} + 0.5} + \frac{1}{n_{i2} + 0.5} \right] \right\},$$

где  $\theta = 0.5 \sin^{-1} [1 - 2k / (n + 1)] + 0.5 \sin^{-1} [1 - 2k / (n + 1)]$  — преобразованная частота встречаемости фена;  $r$  — число признаков;  $k$  — частота фена;  $n_{i1}$ ,  $n_{i2}$  — число изученных сторон. В этой модификации введена поправка на вероятность случайного необнаружения признака и поэтому при расчете не используются нулевые значения частот встречаемости. Усредненные среднеквадратичные отклонения *MSD* (mean standard deviation) для оценки значимости фенетических дистанций вычисляли по формуле Сьевольда (Sjøvold, 1977):

$$MSD = \frac{1}{r} \sqrt{\sum_{i=1}^r 2 \left( \frac{1}{n_{i1}} + \frac{1}{n_{i2}} \right)^2}.$$

Для  $\alpha = 0.05$  различия *MMD* статистически значимы, если они в 1.96 больше, чем *MSD* (приблизительно при  $MMD > 2MSD$ ). Мера уникальности выборки (*MU* — measure of uniqueness) обычно оценивается как сумма дистанций *MMD* данной выборки со всеми остальными (Berry, 1963; Sjøvold, 1977; Hartman, 1980). Мы использовали другой способ оценки уникальности выборки — усредненную дистанцию данной выборки со всеми остальными

(*MMU* — mean measure of uniqueness), которая полезна при сопоставлении результатов работ с разным числом сравниваемых выборок и признаков (Васильев, 2005).

Для преодоления возможных отклонений от евклидовой метрики и визуализации центроидов выборок в морфопространстве использовали процедуру неметрического многомерного шкалирования (NMDS) матрицы межгрупповых фенетических дистанций (*MMD*). Выбор соответствующей адекватной метрики для матрицы *MMD* производили по наибольшей величине коэффициента кофенетической корреляции Ф. Дж. Рольфа (CCC — coefficient of cophenetic correlation). Ординацию выборок в морфопространстве на основе матрицы фенетических *MMD*-дистанций при неметрическом многомерном шкалировании выполнили методом минимального стресса Краскела (Kruskal, 1964). Надежность оценок и правильность числа выбранных измерений проверяли по величине стресса и линии регрессии на диаграмме Шеппарда. Минимальные дистанции между центроидами выборок в пространстве осей неметрического шкалирования строили методом дерева минимальных связей — MST (minimum spanning tree). Для оценки иерархической структуры отношений выборок использовали метод кластерного анализа UPGMA — невзвешенного парного связывания по средним значениям.

Выполнили также многомерную оценку различий выборок по индивидуальным композициям в виде проявившихся и отсутствующих фенотипов у особей, кодируемых как 1 и 0. По рекомендациям Астаурова (1974), для билатеральных вариаций проявление фенотипов на левой и правой сторонах тела особи учитывали независимо. При этом медиальные признаки кодировали дважды как случай симметричного проявления фена на обеих сторонах. По полученным матрицам индивидуального проявления композиций фенотипов из 30 НПП (ограниченный набор признаков) предварительно выполнили ординацию объектов с помощью метода главных компонент. Затем по значениям всех 30 ГК осуществили канонический анализ сравниваемых выборок (см. Васильев, 2005; Ansorge et al., 2009). При этом выбор большого числа ГК был обусловлен тем, что все признаки варьируют почти независимо и корреляция между ними обычно крайне мала. Поэтому доли дисперсий (%), приходящиеся на первую и последующие оси ГК, относительно невелики и плавно уменьшаются: 8.14, 5.79, 5.68, 5.32, 5.09..., причем на последнюю ГК 30 пришлось 0.59% общей дисперсии. По критерию Джоллифа (Jolliffe, 1986), граничная минимальная величина собственного числа — 0.1312, еще отражающая содержательную информацию, соответствовала ГК 22, причем накопленная дисперсия на этом

уровне объясняла только 88.6% общей дисперсии, т.е. редукция числа ГК была нецелесообразна.

Мера эпигенетической изменчивости ( $EV$ ) каждого неметрического признака — это разность от частоты встречаемости в 50%, взятая по модулю, а для выборки в целом она представлена как средняя величина всех отдельных признаков (Smith, 1981). В соответствии с рекомендацией Смит (Smith, 1981), показатель  $EV$  вычисляли по формуле:

$$EV = 1 - \frac{\sum_{i=1}^r |50\% - F_i|}{r \cdot 50\%},$$

где  $r$  — число НПП,  $F_i$  — частота встречаемости  $i$ -признака. Средние значения  $EV$  в каждой выборке получены на основе повторных ( $n = 10$ ) циклов бутстрэпа (bootstrap) со случайным замещением билатеральных неметрических признаков. Ряды промежуточных последовательных значений  $EV$ , сохраненные при ресэмплинге по каждой выборке, использовали при их множественном сравнении.

Также для оценки эпигенетической изменчивости и групповой нестабильности развития норки использовали показатель  $Vm$  — объем внутригруппового морфопространства, сформированного ординатами объектов группы (Vasil'ev, 2021). При этом сравнивали выборки только клеточных норок (исключив малочисленную канадскую), предварительно случайно выровненные по числу наблюдений (во всех случаях  $n = 35$ ). При численно равных выборках данный показатель отражал сопоставимые характеристики величин рассеивания ординат особей в морфопространстве. Чем выше значение  $Vm$  и в большей степени проявляется рассеивание ординат в морфопространстве, тем меньше стабильность развития (Vasil'ev, 2021). При минимальном стрессе развития показатель  $Vm$  меньше, чем в условиях повышенного стресса. Вычисление  $Vm$  как объема морфопространства внутри выпуклой оболочки — convex hull (Cornwell et al., 2006; Vasil'ev, 2021), построенной по наружным краевым координатам внутригрупповых объектов, провели по значениям первых трех канонических переменных (CV1–CV3). Для этого использовали надстройку (add-in) CalculateVolume (автор А.Г. Курсанов) для Microsoft Office Excel, написанную на базе функции convhull в MatLab. Для оценки стандартной ошибки измерения  $Vm$  ( $\pm SE$ ) также при ресэмплинге ( $n = 10$ ) применили технику бутстрэпа со случайным замещением (bootstrap with replacement) объектов в выборке. Оценку соответствия ресэмплинговых переменных  $EV$  и  $Vm$  нормальному закону распределения провели с помощью  $W$ -теста Шапиро–Уилка (Shapiro-Wilk  $W$ -test), а однородность их выборочных дисперсий оценили на основе теста Левена (Levene's test for homogeneity of variance) для средних значений.

Статистическую значимость различий при множественном сравнении выборок по индексу  $EV$  и показателю  $Vm$  оценивали отдельно для самцов и для самок с помощью  $F$ -критерия Уэлча (Welch  $F$ -test). Множественные парные сравнения  $EV$  и  $Vm$  выполнили на основе апостериорного  $Q$ -теста Тьюки–Крамера (post-hoc Tukey-Kramer's  $Q$ -test). При оценке влияния факторов “линия” ( $S$ ), “пол” ( $G$ ) и их взаимодействия ( $S \times G$ ) на величины индекса  $EV$  и показателя  $Vm$  применили метод двухфакторного дисперсионного анализа (Two-way ANOVA) с учетом размера эффекта Коэна  $\eta^2$  (Cohen, 1992). Расчеты осуществили с помощью пакетов прикладных программ PHEN 3.0 (Васильев, 1995) и PAST 4.12 (Hammer et al., 2001).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Фенетические дистанции между выборками по комплексу неметрических признаков

Результаты сравнения частот встречаемости фенотипов по 50 и по 30 НПП (см. табл. 1, Приложение: табл. 6) между выборками самцов и самок клеточных линий агрессивных, неселектированных и ручных и самцов диких американских норок представлены в виде матриц фенетических дистанций ( $MMD$ ) с учетом средних стандартных отклонений ( $MSD$ ) (табл. 2). Все фенетические дистанции — средние меры дивергенции  $MMD$ , вычисленные для первого расширенного набора 50 НПП — оказались статистически значимыми. Значимы и дистанции, вычисленные для второго ограниченного набора 30 НПП, за исключением различий между выборками самцов и самок неселектированных клеточных норок ( $p > 0.05$ ).

В расширенном наборе признаков по 50 НПП половые различия проявились в большей степени, чем межлинейные. Наибольшие фенетические различия выражены между выборками самцов и самок, причем в пределах каждого пола более всего удалены друг от друга выборки агрессивных и ручных клеточных норок. Оказалось, что значение  $MMD$  между самцами агрессивной и ручной линий превысило величину дистанций между ними и выборкой диких самцов канадской популяции. Показатель средней меры уникальности выборок ( $MMU$ ), характеризующий морфологическое своеобразие (morphological disparity), имеет наименьшие значения у самцов и самок неселектированных норок, характеризуя их центральное положение в общем морфопространстве. Наибольшее своеобразие проявилось у выборки ручных самок.

В ограниченном наборе по 30 НПП, напротив, межлинейные различия выражены более значительно, чем половые. При сравнении выборок

**Таблица 2.** Средние меры дивергенции (*MMD*) и их стандартные отклонения (*MSD*), вычисленные по комплексам 50 и 30 неметрических пороговых признаков черепа и нижней челюсти между выборками самцов (М) и самок (F) клеточных линий агрессивных (А), неселектированных (N) и ручных (Т) американских норок и самцов дикой популяции (CanM) из Канады с учетом средних мер их уникальности (*MMU*)

Выборка: линия, пол	Клеточные линии американской норки						Дикие, Канада	Средняя мера уникальности <i>MMU</i>
	Агрессивные		Неселектированные		Ручные			
	AM	AF	NM	NF	TM	TF	CanM	
Расчет по фенам 50 НПП, включая признаки, связанные с полом (вариант 1)								
AM	—	0.1493	0.0462	0.1229	0.1738	0.4318	0.1218	0.1743
AF	<i>0.0064</i>	—	0.1518	0.0390	0.2955	0.2075	0.2453	0.1814
NM	<i>0.0061</i>	<i>0.0061</i>	—	0.0699	0.0828	0.2626	0.0746	0.1146
NF	<i>0.0060</i>	<i>0.0060</i>	<i>0.0057</i>	—	0.1560	0.1288	0.1979	0.1191
TM	<i>0.0065</i>	<i>0.0065</i>	<i>0.0062</i>	<i>0.0061</i>	—	0.2126	0.1629	0.1806
TF	<i>0.0064</i>	<i>0.0064</i>	<i>0.0061</i>	<i>0.0060</i>	<i>0.0065</i>	—	0.2126	0.2689
CanM	<i>0.0130</i>	<i>0.0130</i>	<i>0.0127</i>	<i>0.0125</i>	<i>0.0131</i>	<i>0.0130</i>	—	0.1956
Расчет по фенам 30 НПП, не связанным с полом (вариант 2)								
AM	—	0.0178	0.0327	0.0541	0.1795	0.2278	0.1238	0.1059
AF	<i>0.0083</i>	—	0.0712	0.0529	0.2529	0.2461	0.1474	0.1314
NM	<i>0.0079</i>	<i>0.0079</i>	—	0.0111*	0.0975	0.1297	0.0764	0.0698
NF	<i>0.0077</i>	<i>0.0077</i>	<i>0.0073</i>	—	0.0999	0.0985	0.1255	0.0736
TM	<i>0.0084</i>	<i>0.0084</i>	<i>0.0080</i>	<i>0.0078</i>	—	0.0395	0.1675	0.1394
TF	<i>0.0083</i>	<i>0.0084</i>	<i>0.0079</i>	<i>0.0077</i>	<i>0.0084</i>	—	0.2202	0.1603
CanM	<i>0.0167</i>	<i>0.0167</i>	<i>0.0164</i>	<i>0.0162</i>	<i>0.0169</i>	<i>0.0167</i>	—	0.1435
Расчет по объединенным по полу частотам фенотипов 50 НПП: для связанных с полом признаков использованы только частоты выборок самцов (вариант 3)								
	A	N	T	CanM	<i>MMU</i>			
A	—	0.0561	0.1957	0.1290	0.1269			
N	<i>0.0045</i>	—	0.0802	0.0876	0.0746			
T	<i>0.0048</i>	<i>0.0046</i>	—	0.1719	0.1492			
CanM	<i>0.0120</i>	<i>0.0118</i>	<i>0.0121</i>	—	0.1295			

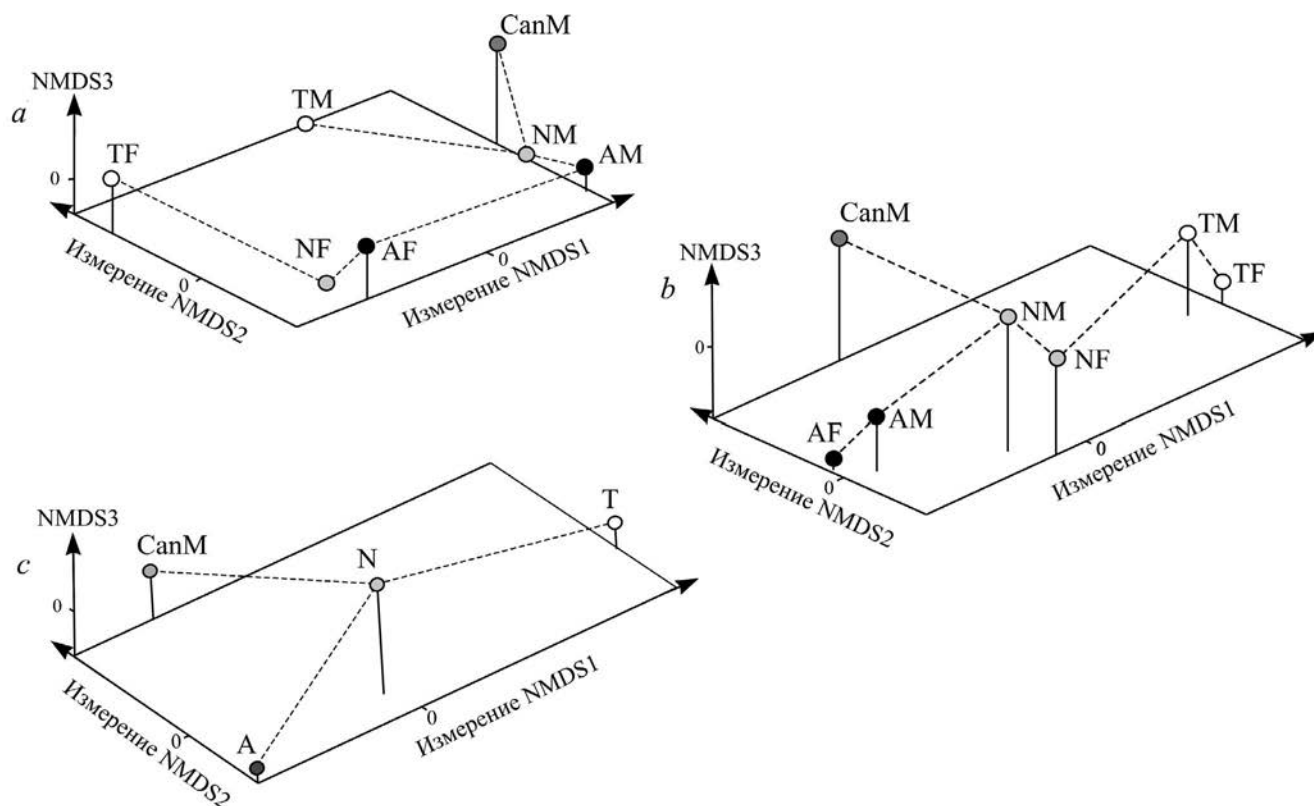
Примечания. \* Статистически незначимая средняя мера дивергенции (*MMD*); курсивом указаны значения среднеквадратических отклонений (*MSD*).

самцов и самок линий клеточных норк наибольшие дистанции обнаружены между агрессивными и ручными норками. Выборка самцов диких канадских норк в фенетическом отношении приблизительно так же удалена от самцов клеточных агрессивных и ручных норк, как они друг от друга, но сближается с выборкой неселектированных самцов. По показателю *MMU* также выявились наименьшие значения для самцов и самок неселектированных норк, отражая центральное расположение этих групп в морфопространстве. Судя по этому показателю, дикие канадские самцы несколько больше удалены от всех клеточных выборок самцов. Так же как в предыдущем случае, наиболее уклонилась от всех других в общем морфопространстве выборка ручных самок. В данном варианте расчетов различия между

выборками самцов и самок существенно уменьшились. Наименьшее значение *MMD*, выявленное между самцами и самками в линии неселектированных норк, оказалось статистически незначимым ( $p > 0.05$ ). Малы, но на минимальном уровне значимы и различия между полами у агрессивных норк. Однако остаточные половые различия между самками и самцами ручных норк выражены несколько в большей степени и оказались значимыми ( $p < 0.01$ ), что указывает на взаимодействие факторов “линия” и “пол”, которое проявилось при раздельном сравнении выборок разного пола.

Результаты неметрического многомерного 3D-шкалирования обеих матриц фенетических дистанций для всех трех вариантов сравнения НПП визуализированы на рис. 2. При расчетах методом Краскела





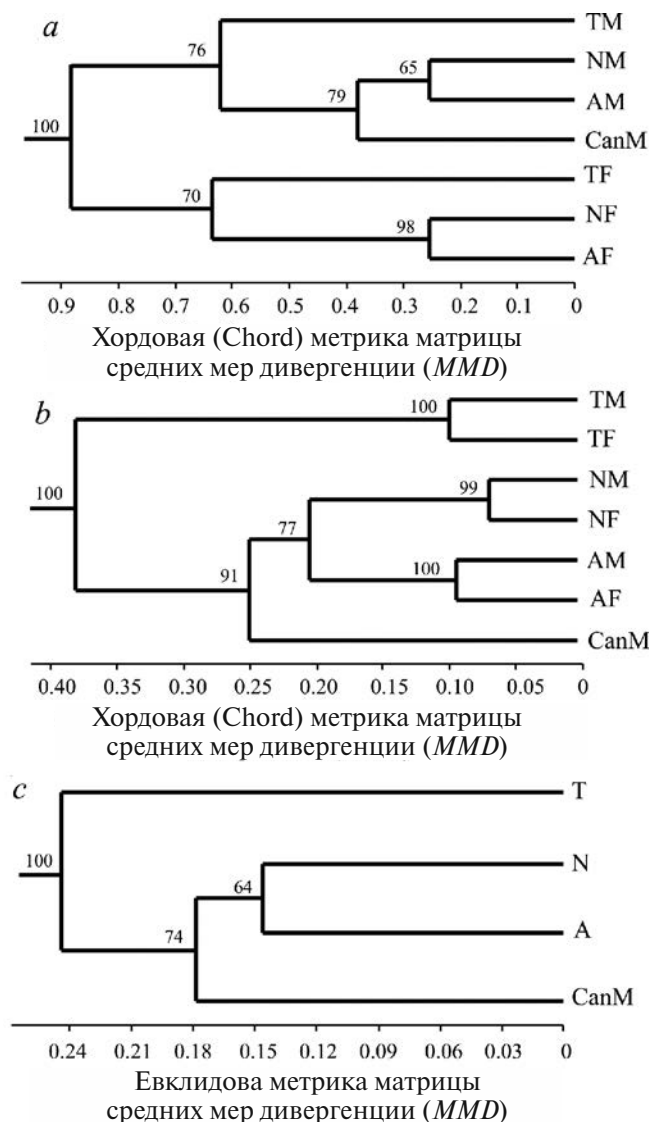
**Рис. 2.** Результаты многомерного неметрического 3D-шкалирования (NMDS) матриц фенетических дистанций – средних мер дивергенции (*MMD*) по трем вариантам наборов неметрических признаков (*a* – расширенный, *b* – ограниченный, *c* – объединенный) между выборками самцов (М) и самок (F) агрессивных (А), неселектированных (N), ручных (Т) линий и самцов диких (Can) американских норков с наложением дендрита минимальных связей (MST).

(Kruskal, 1964) величина минимального стресса для трехмерного сравнения была равна 0 (“идеальная согласованность”).

На рис. 2*a* видно, что при расширенном варианте сравнения наибольшие различия между выборками проявились вдоль первой неметрической оси (NMDS1) и связаны с полом, поскольку в области минимальных значений локализованы все выборки самок, а в области положительных – выборки самцов. Вдоль второй оси (NMDS2) проявились в основном межлинейные различия. Вдоль третьей оси (NMDS3) в наибольшей степени отразились особенности канадских диких самцов. Наложенный на график дендрит минимальных связей (MST) в виде штриховой линии отражает ближнюю связь канадских самцов с выборкой неселектированных самцов.

Во втором варианте сравнения с ограниченным набором признаков (рис. 2*b*) вдоль первой оси (NMDS1) проявились межлинейные различия. Наиболее удалены друг от друга представители линий агрессивных и ручных норков, а выборки обоих полов линии неселектированных занимают между

ними промежуточное положение. Дендрит минимальных связей (MST), с одной стороны, соединил в общем 3D-морфопространстве выборки клеточных неселектированных самцов и диких канадских самцов, а с другой – от линии неселектированных самцов оказался связан с выборкой агрессивных самцов. Через ближайшую выборку неселектированных самок дендрит протянулся к наиболее удаленным выборкам клеточных ручных норков. У всех линий наиболее близки ординаты самцов и самок, отражающие остаточные половые различия. Наибольшие межгрупповые различия между выборками агрессивных и ручных норков проявились вдоль первой оси (NMDS1), а вдоль второй (NMDS2) выражены различия между выборками клеточных норков и выборкой самцов дикой канадской популяции. Вдоль третьей оси (NMDS3) проявились небольшие остаточные различия, связанные главным образом с полом. Промежуточное положение между ручными и агрессивными норками занимают неселектированные. Построение дерева минимальных дистанций (MST) между центроидами выборок показало, что центроид самцов диких канадских норков



**Рис. 3.** Результаты кластерного анализа (UPGMA) матриц фенетических дистанций – средних мер дивергенции (*MMD*) по трем вариантам наборов неметрических признаков (*a* – расширенный, *b* – ограниченный, *c* – объединенный) между выборками самцов (М) и самок (F) агрессивных (А), неселектированных (N), ручных (Т) линий и самцов диких (CanM) американских норок.

в морфопространстве располагается ближе всего к центроиду неселектированных самцов.

В третьем объединенном варианте набора НПП с помощью неметрического многомерного шкалирования выявлена такая же в целом картина межгрупповых различий (рис. 2с), как и во втором ограниченном варианте. Примечательно, что и в данном случае наиболее велики межлинейные различия между агрессивными и ручными, а дендрит минимальных связей соединил выборки

клеточных неселектированных и канадских диких норок. Видно также, что ручные норки несколько больше дифференцированы от контрольных неселектированных, чем агрессивные.

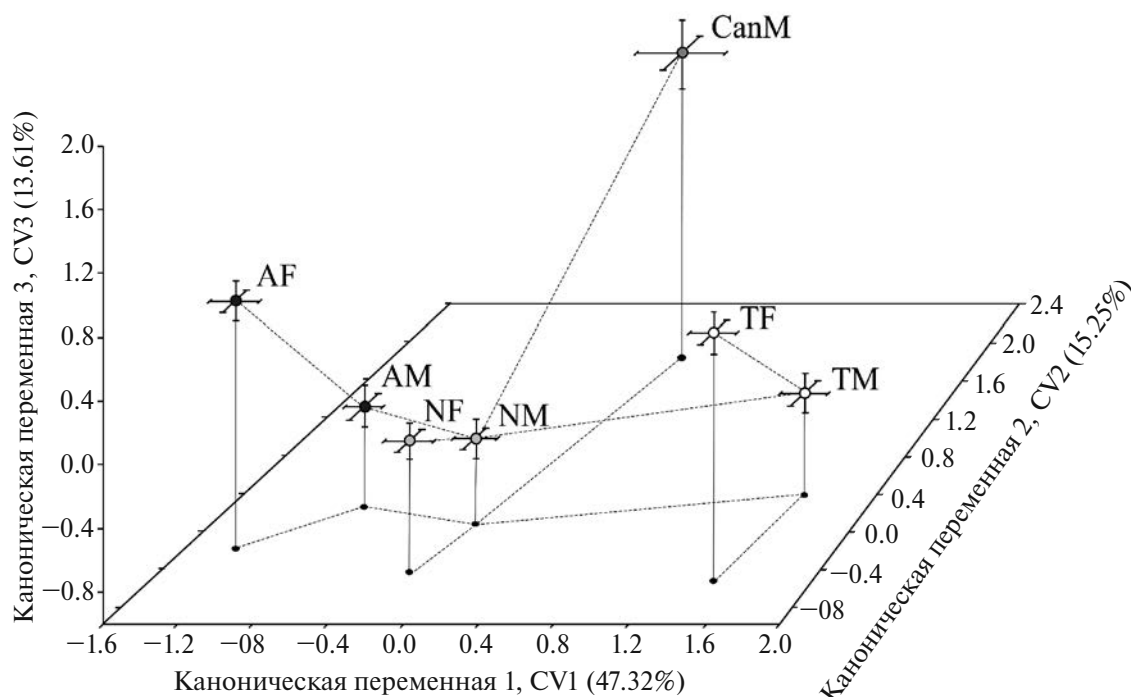
Результаты оценки иерархии отношений между сравниваемыми клеточными и дикой выборками норок получены на основе кластерных анализов (UPGMA) трех матриц средних дистанций *MMD* (табл. 2), рассчитанных по 50 и по 30 НПП для трех вариантов наборов признаков (рис. 3а–3с). Кластер, характеризующий расширенный набор признаков (3а), четко выявил два субкластера самцов и самок. В пределах субкластера самцов наиболее дифференцированной оказалась ветвь ручных самцов (ТМ), а выборка канадских диких самцов (CanM) заняла промежуточное положение между выборками ручных самцов и других клеточных агрессивных (АМ) и неселектированных (NM) самцов. Во втором субкластере среди выборок самок также наиболее дифференцированной была ветвь ручных норок (TF).

Иная иерархия отношений выборок проявилась в результате кластерного анализа матрицы фенетических дистанций *MMD*, рассчитанных по ограниченному набору НПП (рис. 3б). В итоге кластерного анализа с высокой бутстреп-поддержкой (100%) от других выборок оказался существенно дифференцирован субкластер, объединяющий самцов и самок линий ручных норок. Ветвь диких канадских самцов в качестве базальной присоединилась к субкластеру, включающему представителей неселектированных и агрессивных норок, которые в терминальной части кластера объединили выборки самцов и самок своих линий.

Практически такая же картина иерархических связей получена и при кластерном анализе объединенного набора признаков (рис. 3с). Из структуры кластера следует, что наиболее дифференцированы ручные норки, а контрольная выборка диких канадских особей заняла промежуточное положение между клеточными линиями ручных, с одной стороны, и агрессивных и неселектированных – с другой.

#### Канонический анализ ординат главных компонент индивидуальных фенокомпозиций

Результаты канонического анализа значений 30 ГК, характеризующих проявление ординат индивидуальных фенокомпозиций в сравниваемых выборках самцов и самок клеточных линий агрессивных, неселектированных, ручных норок и самцов диких особей вида из Канады представлены на рис. 4. Расчет выполнен на основе второго ограниченного набора 30 НПП. Различия вдоль всех канонических осей статистически значимы ( $p < 0.0001$ ). Из рисунка следует, что вдоль первой канонической оси, на которую пришлось 47.32%



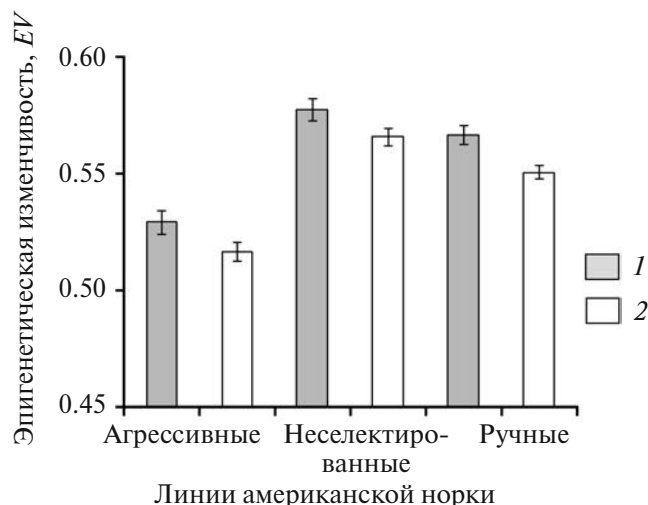
**Рис. 4.** Результаты канонического анализа значений главных компонент, характеризующих индивидуальное проявление фенокомпозиций 30 неметрических пороговых признаков у самцов (М) и самок (F) агрессивных (А), неселектированных (N), ручных (Т) линий и самцов диких (CanM) американских норок. На центроиды выборок (с учетом стандартных ошибок  $\pm SE$ ) наложен дендрит минимальных связей (MST).

межгрупповой дисперсии, проявились межлинейные различия: наиболее удалены выборки агрессивных и ручных клеточных норок, а промежуточное положение занимают неселектированные. Вдоль второй оси (15.25%) в наибольшей мере от всех клеточных удалена выборка диких канадских самцов на фоне небольших остаточных различий между полами во всех линиях. Межгрупповые различия вдоль третьей канонической переменной (13.61%) тоже связаны с полом и своеобразием канадских диких особей. Наложенный на центроиды дендрит минимальных связей (MST) выявил наибольшую близость диких канадских самцов с выборкой неселектированных самцов.

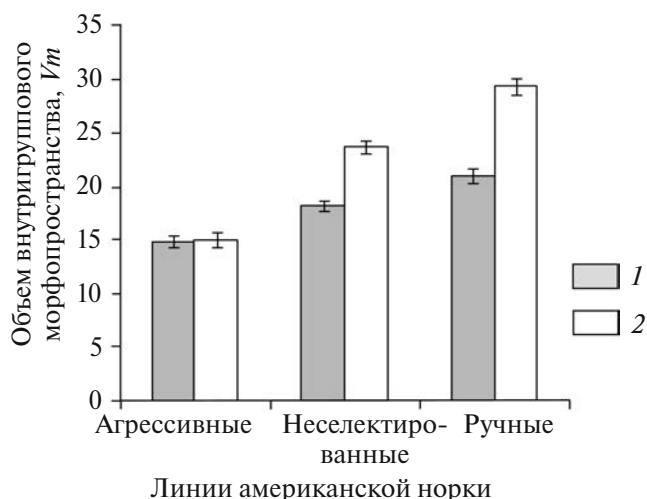
В отличие от кумулятивного сохранения некоторых остаточных проявлений половых различий после удаления признаков, связанных с полом, мы не обнаружили значимых коэффициентов непарметрической ранговой корреляции Спирмена между значениями канонических переменных, характеризующих феногенетические различия между тремя сравниваемыми линиями норок, и кондилобазальной длиной черепа особей этих линий. Величины коэффициентов корреляции Спирмена ( $R_s$ ) варьировали от  $-0.07$  до  $0.09$ , а уровни их значимости ( $p$ ) от  $0.346$  до  $0.472$ .

#### Оценка эпигенетической изменчивости по комплексу фенов неметрических признаков

Результаты оценки индексов эпигенетической изменчивости ( $EV$ ) по ограниченному комплексу фенов НПП для сравниваемых выборок представлены на рис. 5. В сравнение из 30 признаков включили только 27 билатеральных. На рисунке видно, что половые различия во всех линиях нивелированы, хотя у самцов проявилась слабая тенденция несколько больших значений  $EV$ . На основе  $W$ -теста Шапиро—Уилка подтверждено нормальное распределение  $EV$  для всех выборок (от  $W = 0.85$ ,  $p = 0.060$  до  $W = 0.95$ ,  $p = 0.680$ ). С помощью теста Левена по средним значениям подтверждена однородность выборочных дисперсий (для самцов  $p = 0.855$ , для самок  $p = 0.060$ ). Множественное сравнение средних значений  $EV$  между выборками самцов трех линий выявило значимые различия с помощью теста Уэлча:  $F = 30.02$ ; d.f. = 17,76;  $p < 0.0001$ , а также между выборками самок:  $F = 43.75$ ; d.f. = 15,21;  $p < 0.0001$ . При парных сравнениях выборок самцов в соответствии с апостериорным тестом Тьюки различия оказались статистически значимы между особями агрессивных и ручных ( $Q = 8.12$ ;  $p = 0.0001$ ), а также агрессивных и неселектированных ( $Q = 10.43$ ;  $p = 0.0001$ ), но между ручными и неселектированными были недостоверны



**Рис. 5.** Сравнение среднего индекса эпигенетической изменчивости ( $EV$ ) с учетом стандартных ошибок ( $\pm SE$ ) по 27 билатеральным неметрическим признакам черепа и нижней челюсти между выборками самцов (1) и самок (2) агрессивных, неселектированных и ручных линий американских норок.



**Рис. 6.** Сравнение средних объемов внутригрупповых морфопространств  $V_m$  выборок самцов (1) и самок (2) американских норок (с учетом стандартных ошибок  $\pm SE$  на основе ресэмплинга), вычисленных по значениям первых трех канонических переменных ( $CV1-CV3$ ). Обозначения те же, что и на рис. 5.

( $Q = 2.31$ ;  $p = 0.2483$ ). В аналогичном сравнении  $EV$  все парные различия между выборками самок были значимы (от  $p = 0.0062$  до  $p = 0.0001$ ).

Рассмотрим результаты оценки соотношения факторов “линия” (S), “пол” (G) и их взаимодействия ( $S \times G$ ) на основе двухфакторного дисперсионного анализа повторных серий значений индекса  $EV$  по случайным значениям, полученным при ресэмплинге по комплексу 27 фенотипических признаков НПП (табл. 3). Из таблицы следует, что влияние факторов “линия” и “пол” статистически значимо, но их взаимодействие пренебрежимо мало и недостоверно. Соответственно, доля дисперсии, обусловленной фактором “линия” (69.00%), кратно превышает долю дисперсии, связанной с полом, которая оказалась значительно меньше (7.41%). Размер эффекта Коэна для фактора “линия” существенно выше, чем принятый высокий уровень ( $0.75 > \eta^2 = 0.50$ ), а для фактора пол он лишь немного превысил средний уровень различий ( $0.24 > \eta^2 = 0.15$ ). В результате показано, что по 27 билатеральным неметрическим признакам выражены в основном межлинейные различия по индексу эпигенетической изменчивости  $EV$ .

Результаты другого анализа проявления эпигенетической изменчивости по величинам объемов внутригруппового морфопространства —  $V_m$ , вычисленных по значениям трех канонических переменных ( $CV1-CV3$ ) в случайно выравненных по числу наблюдений выборках клеточных линий, представлены на рис. 6. С помощью W-теста

Шапиро–Уилка подтвердили нормальное распределение ресэмплинговых значений  $V_m$  для всех выборок (от  $p = 0.067$  до  $p = 0.577$ ), а с помощью теста Левена по средним значениям установили однородность выборочных дисперсий (у самцов  $p = 0.204$ , у самок  $p = 0.130$ ). При множественном сравнении средних значений  $V_m$  между выборками самцов трех линий различия, оцененные с помощью F-теста Уэлча, были значимыми:  $F = 39.83$ ; d.f. = 17.24;  $p < 0.0001$ , так же как и между выборками самок:  $F = 103.40$ ; d.f. = 16.94;  $p < 0.0001$ . Во всех парных сравнениях различия были тоже статистически значимы (оценки критерия Q в соответствии с апостериорным тестом Тьюки варьировали от  $Q = 6.06$  до  $Q = 22.67$ , а уровни значимости от  $p = 0.0007$  до  $p = 0.0001$ ). Средние значения  $V_m$  оказались значимо меньше у агрессивных норок обоих полов, чем у ручных (у самцов:  $Q = 12.90$ ;  $p < 0.0001$ ; у самок:  $Q = 22.67$ ;  $p < 0.0001$ ). Выборки обоих полов у неселектированных норок имеют промежуточные по величине значения этого показателя: они достоверно больше, чем у агрессивных самцов ( $Q = 6.84$ ;  $p = 0.0003$ ) и самок ( $Q = 13.68$ ;  $p < 0.0001$ ), однако значимо меньше, чем у ручных самцов ( $Q = 6.06$ ;  $p = 0.0007$ ) и самок ( $Q = 8.99$ ;  $p = 0.0001$ ). Результаты двухфакторного дисперсионного анализа величин  $V_m$  по их случайным значениям, полученным при ресэмплинге (табл. 3) показали, что влияние факторов “линия” (S), “пол” (G) и их взаимодействия ( $S \times G$ ) оказалось статистически значимым ( $p < 0.0001$ ). Доля межгрупповой дисперсии, обусловленной фактором “линия”

**Таблица 3.** Результаты двухфакторных дисперсионных анализов на основе значений индексов эпигенетической изменчивости (*EV*) и показателей объемов внутригруппового морфопространства (*Vm*), полученных при ресэмплинге, между выборками самцов и самок линий агрессивных, неселектированных и ручных американских норок с учетом факторов “линия” (*S*), “пол” (*G*) и их взаимодействия (*S* × *G*)

Источник изменчивости (фактор)	Сумма квадратов (SS)	Число степеней свободы (d.f.)	Средний квадрат (MS)	F	Уровень значимости ( <i>p</i> )	Размер эффекта ( $\eta^2$ )	Доля дисперсии, %
Индекс эпигенетической изменчивости, <i>EV</i>							
Линия ( <i>S</i> )	0.02532	2	0.01266	79.54	< 0.0001	0.75	69.00
Пол ( <i>G</i> )	0.00272	1	0.00272	17.08	0.0003	0.24	7.41
<i>S</i> × <i>G</i>	0.00006	2	0.00003	0.20	0.8162	0.01	0.18
Внутригрупповая	0.00859	54	0.00016				23.42
Общая	0.03670	59					100.00
Показатель объема внутригруппового морфопространства, <i>Vm</i>							
Линия ( <i>S</i> )	1036.20	2	518.08	168.92	< 0.0001	0.86	61.19
Пол ( <i>G</i> )	319.23	1	319.23	104.09	< 0.0001	0.66	18.85
<i>S</i> × <i>G</i>	172.45	2	86.22	28.11	< 0.0001	0.51	10.18
Внутригрупповая	165.62	54	3.07				9.78
Общая	1693.50	59					100.00

(61.19%), превысила доли дисперсии, связанной с полом (18.85%) и взаимодействием факторов (10.18%). Размер эффекта Коэна для обоих факторов и их взаимодействия превышает принятый высокий уровень (соответственно, *S* – 0.86, *G* – 0.66, *S* × *G* – 0.51 >  $\eta^2 = 0.50$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным Беляева (Belyaev, 1979), дестабилизирующая форма отбора может приводить к увеличению изменчивости, а также к дестабилизации исторически сложившихся морфогенетических паттернов, перестройке и формированию новых адаптивных признаков. Такой отбор способен формировать изменения фенотипа не только в направлении действия, но и в других направлениях. Во многом эти черты наблюдались в результате селекции по признакам оборонительного поведения. При действии дестабилизирующего отбора у американских норок было обнаружено спонтанное возникновение новых нетипичных морф окраски меха (Trapezov, 1987), а также были выявлены морфометрические изменения черепа и нижней челюсти у агрессивных и ручных норок (Харламова и др., 2000). В этой связи использование фенотипических признаков для косвенной оценки вероятных эпигенетических изменений, произошедших после селекции линий американских норок по признакам оборонительного поведения, вполне оправдано как еще один подход в изучении проблемы доместикиции.

В случае варианта расширенного набора 50 НПП неудивительно, что основные фенетические различия, включая значения фенетических дистанций (MMD), итоги неметрического шкалирования и результаты кластерного анализа, проявили четкие половые различия между сравниваемыми выборками, поскольку в данном наборе присутствовали признаки, значимо коррелирующие с полом и размерами. Данный вариант сравнения позволил установить, что размах половых различий превышает межлинейные различия и в целом больше, чем различия между контрольными выборками неселектированных клеточных и диких канадских самцов. Другой важный момент заключается в том, что межлинейные различия у самцов и самок проявились параллельно: наиболее удалены друг от друга выборки линий агрессивных и ручных клеточных норок, а промежуточное положение между ними занимают неселектированные, принятые в качестве контроля.

В варианте ограниченного набора 30 НПП все использованные фены не связаны с размерами и полом животных, имеют частоты, различающиеся между выборками, а также не связаны в своем проявлении друг с другом, т.е. межгрупповые различия в большей степени обусловлены наследственными, а не средовыми факторами, что допускает генетическую и эпигенетическую интерпретацию различий.

Поскольку половой диморфизм типичен для большинства видов кунных (Abramov, Tumanov, 2003; Loy et al., 2004; Gálvez-López et al., 2021), мы

должны были исключить НПП, значимо связанные в своем проявлении с полом, чтобы выделить собственно межлинейные различия по их встречаемости. После удаления серии признаков, проявление которых значимо связано с полом, у ряда признаков все равно сохранилась некоторая остаточная слабо связанная с полом изменчивость, кумулятивно приводящая к небольшому расхождению центроидов самцов и самок в морфопространстве (см. рис. 3). Остаточные половые фенетические различия в целом невелики: незначимы между самцами и самками неселектированных ( $p > 0.05$ ), у линии агрессивных половые различия лишь немного превысили первый уровень значимости ( $p < 0.05$ ) и только в линии ручных половые различия были отчетливо выражены ( $p < 0.01$ ). В данном варианте сравнения половые различия существенно меньше, чем межлинейные. В этом случае задача состояла не в объединении выборок разного пола, а в уменьшении влияния средовых факторов за счет исключения НПП, связанных с половым диморфизмом по размерам тела. При этом неодинаковая степень половых различий у разных линий отражает взаимодействие факторов “линия” и “пол”, что важно учитывать и требует проведения ограниченного по полу анализа НПП.

В третьем варианте расчетов по объединенному набору 50 НПП соотношение межгрупповых различий практически не отличалось от полученного при расчетах, выполненных во втором варианте ограниченного набора признаков. Поэтому усиление межлинейных наследственных различий за счет резкого уменьшения вклада связанных с полом признаков показало оправданность такого подхода. Ранее аналогичное сравнение выборок самцов и самок после исключения части признаков, связанных с полом, также проводили на куных другие авторы (Ранюк, Монахов, 2011).

Сравнение частот фенов всех трех вариантов наборов НПП показало, что степень дифференциации одной из природных популяций Канады от клеточных линий, являющихся отдаленными потомками природных норок, многие поколения которых в течение века разводились в условиях неволи на зверофермах, была выражена меньше, чем между агрессивными и ручными клеточными линиями, полученными в результате селекции. При этом длительность селекции на экспериментальной звероферме была кратно меньше, чем время существования норок на зверофермах. Во всех вариантах сравнения дикие канадские норки наиболее близки по частотам фенов к клеточным неселектированным. Итоговый кластерный анализ по варианту объединенного набора НПП также подтвердил, что дикие канадские норки оказались менее дифференцированными от клеточных

норок, чем клеточные линии агрессивных и ручных между собой. Выявленные различия по комплексу НПП между клеточными норками и дикими канадскими норками хорошо согласуются с результатами Кораблёва с соавторами (2018) для диких и клеточных норок зверофермы из Тверской области. В обоих случаях клеточные и дикие норки различались по частотам НПП, что потенциально позволяет их распознать. При этом известно, что у американских норок размеры черепов особей, полученных из звероферм, крупнее, чем у особей в природе (Lynch, Hayden, 1995; Sidorovich et al., 1999). Показана возможность различить по морфометрии черепа “доместицированных” (сбежавших из звероферм) и диких американских норок (Tamlin et al., 2009). Все это указывает на высокую фенотипическую пластичность вида и по размерным, и по структурным морфологическим признакам, а также его высокий адаптационный и селекционный потенциалы.

В итоге селекции по признакам оборонительного поведения за сравнительно малое число поколений обе линии агрессивных и ручных норок существенно уклонились от “исходных” неселектированных по частотам встречаемости фенов НПП так, что в морфопространстве дивергировали от них в противоположных направлениях. Сходная картина иерархических отношений между сравниваемыми клеточными и дикими выборками норок выявлена как на основе матрицы фенетических дистанций (см. табл. 2) и ее визуализации при неметрическом многомерном шкалировании (см. рис. 3), так и при каноническом анализе (см. рис. 4) проявлений индивидуальных фенокомпозиций. Результаты разных методов анализа хорошо согласуются, а дендриты минимальных связей (MST) отражают одну и ту же структуру связей между одноименными выборками. Выборки самцов и самок линии ручных норок во всех вариантах сравнений оказались наиболее удалены в морфопространстве от других выборок. Высокая степень изменений частот НПП обнаружена именно у самок ручных норок. По ряду НПП в линии ручных норок проявились резкие изменения частот фенов (например, по признакам: 1 – FiCrns(–), 42 – FeFocnif (FFCI), 43 – FJginap), что можно интерпретировать как проявление новых свойств по сравнению с другими клеточными и дикими норками.

Результаты оценки средних индексов эпигенетической изменчивости ( $EV$ ) и объемов внутригруппового морфопространства ( $Vm$ ) указывают на возрастание эпигенетической изменчивости, нестабильности развития и степени морфоразнообразия у представителей ручных норок по сравнению с агрессивными. Все эти особенности экспериментальной линии ручных норок хорошо

согласуются с теоретическими представлениями Беляева о роли дестабилизирующего отбора (Belyaev, 1979; Беляев, Трут, 1989). Снижение изменчивости у линии агрессивных норок в результате селекции по признакам поведения может косвенно указывать на появление структурных ограничений морфогенеза. Появление подобного ограничения изменчивости может также рассматриваться как особая форма дестабилизации развития.

Можно предполагать, что фактор регулярного стресса животных на звероферме при контакте с человеком мог способствовать активации эпигенетических перестроек, связанных с морфогенетическими изменениями, которые способны трансгенерационно сохраняться в поколениях линий норок и фиксироваться в их геномах. Подобные трансгенерационные эффекты были показаны в серии исследований на других объектах (Jablonka, Raz, 2009; Skinner et al., 2014; Burggren, 2016; Bošković, Rando, 2018; Donelan et al., 2020). Ранее Бадяев с соавторами (Badyaev et al., 2005) установили, что после вырубок леса и выжигания лесного дебриса виды землероек испытали сильнейший стресс в измененных биотопах, что повысило их эмбриональную смертность, снизило численность и вызвало усиление эпигенетической изменчивости, оцененной авторами по проявлениям морфологических аномалий и нестабильности развития. Мы согласны с Бадяевым (Badyaev, 2014), что морфогенетические изменения могут быть обусловлены стресс-индуцированными эпигенетическими изменениями. Донелан с соавторами (Donelan et al., 2020) рассмотрели феномен вызванной изменением среды стресс-индуцированной трансгенерационной фенотипической пластичности, возникающей на основе быстрых эпигенетических перестроек. Ее ведущая роль проявляется в сохранении и передаче в череде поколений новых полезных адаптивных модификаций. Можно полагать, что трансгенерационное наследование возникающих эпигенетических изменений, влияющих на морфогенез, может сохранять новые сложившиеся эпигенетические пороговые механизмы, которые определяют частоты встречаемости фенов НПП у линий американской норки. Дальнейший молекулярно-генетический анализ эпигенетических профилей ДНК линий американской норки может позволить прояснить эти вопросы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе исследований косвенно показано, что при селекции норок по признакам оборонительного поведения сформировались различия в функционировании эпигенетической системы экспериментальных линий агрессивных и ручных американских норок, связанные с морфогенезом некоторых НПП. Частоты проявления фенов

неметрических признаков у агрессивных и ручных линий существенно изменились по сравнению с неселектированными, причем многие из них в противоположных направлениях. В то же время линия неселектированных норок, судя по минимальной фенетической дистанции (*MMD*), в большей степени сохранила характерные частоты неметрических признаков, которые проявлялись у диких канадских особей. Последних можно условно отнести к исходной популяции для современных клеточных норок, поголовье которых более века содержится в условиях звероферм. Достигнутые в итоге селекции по признакам оборонительного поведения межлинейные различия по частотам встречаемости фенов НПП оказались весьма велики, несмотря на относительно небольшое число поколений дестабилизирующего отбора.

Установленные нами достаточно быстрые изменения частот фенов НПП при дивергенции экспериментальных линий агрессивных и ручных норок косвенно указывают на высокую скорость эпигенетических перестроек двух экспериментальных линий американской норки. Полученные явления можно рассматривать как результаты фиксирования при селекции исходно имеющихся у вида запасных вариантов модификаций за счет вероятных стресс-индуцированных эпигенетических изменений, связанных с детерминацией определенных путей морфогенеза.

Расхождение линий и по комплексу НПП косвенно указывает на то, что ряд неметрических кранио-мандибулярных признаков также был подвержен селективным изменениям. Поэтому, вопреки представлениям о том, что НПП подвержены лишь слабому селективному давлению, они, напротив, могут испытывать сильное селективное воздействие из-за связи с другими функционально важными характеристиками. Поэтому НПП как структурные морфологические признаки могут служить хорошими маркерами связанных с селективным процессом перестроек морфогенеза, косвенно отражая при этом степень его генетических и эпигенетических изменений. Полученные результаты не только указывают на относительно высокую скорость эпигенетических перестроек экспериментальных линий американской норки, но также могут косвенно объяснить высокий адаптивный потенциал инвазионного вида — американской норки — при быстром расширении ее нового ареала в Евразии.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят А.Г. Васильева за полезные рекомендации и обсуждение результатов исследования.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственных заданий Института экологии растений и животных УрО РАН (№ 122021000091-2) и Института цитологии и генетики СО РАН (№ FWNР-2022-0023).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования выполнены на музейном коллекционном материале, исходно полученном на экспериментальной звероферме при ФИЦ ИЦИГ СО РАН с соблюдением правил, этических стандартов и протоколов проведения научных исследований с использованием экспериментальных животных, утвержденных распоряжением Президиума АН СССР от 2 апреля 1980 № 12000-496 и приказом Минвуза СССР от 13 сентября 1984 № 2, и в соответствии с Протоколом № 13 заседания Комиссии по биоэтике ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН (г. Екатеринбург) от 1 ноября 2022 г.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Астауров Б.Л., 1974. Наследственность и развитие. М.: Наука. 359 с.
- Беляев Д.К., 1979. Дестабилизирующий отбор как фактор изменчивости при доместикации животных // Природа. № 2. С. 36–45.
- Беляев Д.К., Трут Л.Н., 1989. Конвергентный характер формообразования и концепция дестабилизирующего отбора // Вавиловское наследие в современной биологии. М.: Наука. С. 155–169.
- Васильев А.Г., Трут Л.Н., Осадчук Л.В., 2004. Влияние доместикации на скорость и направление морфогенетических преобразований: возможная роль гетерохронии // Реализация морфологического разнообразия в природных популяциях млекопитающих. 2-е изд. Новосибирск: Изд-во СО РАН. С. 74–94.
- Васильев А.Г., 1995. Пакет специальных программ по фенетике “ФЕН” 3.0. Non-metrical threshold traits analysis “PHEN”. Version 3.0. Екатеринбург. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http://ipae.uran.ru/sites/default/files/PHEN%203\\_programguide.pdf](http://ipae.uran.ru/sites/default/files/PHEN%203_programguide.pdf) (Дата обновления: 06.07.2024).
- Васильев А.Г., 2005. Эпигенетические основы фенетики: на пути к популяционной мерономии. Екатеринбург: Академкнига. 640 с.
- Васильев А.Г., Васильева И.А., 2009. Гомологическая изменчивость морфологических структур и эпигенетическая дивергенция таксонов: Основы популяционной мерономии. М.: Товарищество научных изданий КМК. 511 с.
- Глушкова Ю., Кораблев П.Н., 1997. Норка европейская (*Mustela lutreola*) // Популяционная фенетика. М.: Наука. С. 209–220.
- Кораблев Н.П., Кораблев П.Н., Кораблев М.П., 2018. Микроэволюционные процессы в популяциях транслоцированных видов: евроазиатский бобр, енотовидная собака, американская норка. М.: Товарищество научных изданий КМК. 452 с.
- Кораблев П.Н., Кораблев М.П., Кораблев Н.П., Туманов И.Л., 2020. Использование разных систем признаков в фенетике популяций // Известия РАН. Серия биологическая. № 2. С. 177–185.
- Монахов В.Г., 2010. Феногеография краниального признака соболя (*Martes zibellina*) в ареале // Доклады академии наук. Т. 431. № 2. С. 274–279.
- Ранюк М.Н., Монахов В.Г., 2011. Изменчивость краниологических признаков в популяциях соболя (*Martes zibellina*), возникших в результате акклиматизации // Зоологический журнал. Т. 90. № 1. С. 82–96.
- Трапезов О.В., 1987. Селекционное преобразование оборонительной реакции на человека у американской норки // Генетика. Т. 23. № 6. С. 1120–1127.
- Трапезов О.В., 2012. Новые окрасочные мутации у американской норки (*Mustela vison*), наблюдаемые в процессе ее экспериментальной доместикации: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск: ИЦИГ СО РАН. 34 с.
- Трут Л.Н., 1981. Генетика и феногенетика доместикационного поведения // Вопросы общей генетики / Под ред. Ю.П. Алтухова. М.: Наука. С. 323–332.
- Трут Л.Н., Харламова А.В., Пилипенко А.С., Гербек Ю.Э., 2021. Эксперимент по доместикации лисиц и эволюция собак с позиции современных молекулярно-генетических и археологических данных // Генетика. Т. 57. № 7. С. 767–785.
- Харламова А.В., Фалеев В.И., Трапезов О.В., 2000. Влияние селекции по поведению на краниологические признаки американской норки (*Mustela vison*) // Генетика. Т. 36. № 6. С. 823–828.
- Abramov A.V., Tumanov I.L., 2003. Sexual dimorphism in the skull of the European mink *Mustela lutreola* from NW part of Russia // Acta Theriologica. V. 48. P. 239–246.
- Andersen T., Wiig O., 1982. Epigenetic variation in a fluctuating population lemming (*Lemmus lemmus*) in Norway // Journal of Zoology. V. 197. P. 391–404.
- Ansorge H., 2001. Assessing non-metric skeleton characters as a morphological tool // Zoology. V. 104. P. 268–277.
- Ansorge H., Ranyuk M., Kauhala K., Kowalczyk R., Stier N., 2009. Raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides*, populations in the area of origin and in colonized regions — the epigenetic variability of an immigrant // Annals of Zoologica Fennici. V. 46. P. 51–62.



- Badyaev A.V., 2014. Epigenetic resolution of the 'curse of complexity' in adaptive evolution of complex traits // *J. Physiol.* V. 592. № 11. P. 2251–2260.
- Badyaev A.V., Foresman K.R., Yang R.L., 2005. Evolution of morphological integration: developmental accommodation of stress-induced variation // *American Naturalist*. V. 166. P. 382–395.
- Bauchau V., 1988. Non-metrical variation in wild mammals: a bibliography // *Mammal. Rev.* V. 18. P. 195–200.
- Belyaev D.K., 1979. Destabilizing selection as a factor in domestication // *J. Heredity*. V. 70. № 5. P. 301–308.
- Berry A.C., 1978. Anthropological and family studies on minor variants of the dental crown // *Development, function and evolution of teeth* / P.M. Butler & K.A. Joysey (eds). London: Academic Press. P. 81–98.
- Berry A.C., Berry R.J., 1967. Epigenetic variation in the human cranium // *J. Anatomy*. V. 101. P. 361–379.
- Berry R.J., 1963. Epigenetic polymorphism in wild population of *Mus musculus* // *Genetical Research, Cambr.* V. 4. P. 193–220.
- Berry R.J., Searle A.G., 1963. Epigenetic polymorphism of the rodent skeleton // *Proc. Zool. Soc. Lond.* V. 140. P. 557–615.
- Bošković A., Rando O.J., 2018. Transgenerational epigenetic inheritance // *Ann. Rev. Genet.* V. 52. P. 21–41.
- Burggren W., 2016. Epigenetic inheritance and its role in evolutionary biology: re-evaluation and new perspectives // *Biology*. V. 5. № 24. P. 2–22.
- Cohen J., 1992. A power primer // *Psychological Bulletin*. V. 112. № 1. P. 155–159.  
<https://doi.org/10.1037/0033-2909.112.1.155>
- Cornwell W.K., Schwillk D.W., Ackerly D.A., 2006. A trait-based test for habitat filtering: convex hull volume // *Ecology*. V. 87. P. 1465–1471.
- Deol M.S., Truslove G.M., 1957. Genetical studies on the skeleton of the mouse. XX. Maternal physiology and variation in the skeleton of C57Bl mice // *J. Genet.* V. 55. P. 288–312.
- Donelan S.C., Hellmann J.K., Bell A.M., Luttbeg B., John L., Orrock J.L. et al., 2020. Transgenerational plasticity in human-altered environments // *Trends in Ecology and Evolution*. V. 35. № 2. P. 115–124.
- Drake A.G., Klingenberg C.P., 2010. Large-scale diversification of skull shape in domestic dogs: disparity and modularity // *American Naturalist*. V. 175. № 3. P. 289–301.
- Gálvez-López E., Kilbourne B., Cox P.G., 2021. Cranial shape variation in mink: Separating two highly similar species // *J. of Anatomy*. V. 240. № 2. P. 210–225.  
<https://doi.org/10.1111/joa.13554>
- Grewal M.S., 1962. The rate of genetic divergence in the C57BL strain of mice // *Genet. Res., Cambr.* V. 3. P. 226–237.
- Grüneberg H., 1952. Genetical studies on the skeleton of the mouse. IV. Quasi-continuous variations // *J. Genet.* V. 51. P. 95–114.
- Grüneberg H., 1952a. The genetics of the mouse // *Bibl. Genet.* V. 15. 650 p.
- Grüneberg H., 1963. *The Pathology of Development*. Oxford: Blackwell. 309 p.
- Hammer Q., Harper D.A.T., Ryan P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. V. 4. № 1. P. 1–9. (program)
- Hartman S.E., 1980. Geographical variation analysis of *Dipodomys ordii* using nonmetric cranial traits // *Journal of Mammalogy*. V. 61. P. 436–448.
- Jablónka E., Raz G., 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution // *Q. Rev. Biol.* V. 84. P. 131–176.
- Jolliffe I.T., 1986. *Principal Component Analysis*. New York–Berlin: Springer-Verlag. 487 p.
- Kryštufek B., 1990. Nonmetric cranial variation and divergence of European sousliks (*Citellus*) from Yugoslavia (Rodentia, Sciuridae) // *Boll. Zool.* V. 57. P. 351–355.
- Kruskal J.B., 1964. Non-metric multidimensional scaling; a numerical method // *Psychometrika*. V. 29. P. 115–129.
- Kukekova A.V., Johnson J.L., Xiang X., Feng Sh., Liu Sh., Rando H.M. et al., 2018. Red fox genome assembly identifies genomic regions associated with tame and aggressive behaviours // *Nature Ecology and Evolution*. V. 2. P. 1479–1491.  
<https://doi.org/10.1038/s41559-018-0611-6>
- Loy A., Spinosi O., Cardini R., 2004. Cranial morphology of *Martes foina* and *M. martes* (Mammalia, Carnivora, Mustelidae): the role of size and shape in sexual dimorphism and interspecific differentiation // *The Italian Journal of Zoology*. V. 71. P. 27–35.
- Lynch J.M., Hayden T.J., 1995. Genetic influences on cranial form: variation among ranch and feral American mink *Mustela vison* (Mammalia: Mustelidae) // *Biol. J. of the Linn. Soc.* V. 55. P. 293–307.
- Sidorovich V.E., Kruuk H., MacDonald D.W., 1999. Body size, and interactions between European and American mink (*Mustela lutreola* and *M. vison*) in Eastern Europe // *J. of Zoology*. V. 248. P. 521–527.
- Singh N., Albert F.W., Plyusnina I., Trut L., Pääbo S., Harvati K., 2017. Facial shape differences between rats selected for tame and aggressive behaviors // *PLoS ONE*. V. 12. № 4. P. 1–11. e0175043.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175043>
- Sjøvold T., 1977. Non-metrical divergence between skeletal populations. The theoretical foundation and biological importance of C.A.B. Smith's Mean Measure of Divergence // *Ossa*. V. 4. Suppl.1. P. 1–133.
- Skinner M.K., Gurerrero-Bosagna C., Haque M.M., Nilsson E.E. et al., 2014. Epigenetics and the evolution of Darwin's Finches // *Genome Biol. Evol.* V. 6. № 8. P. 1972–1989.

- Smith M.F., 1981. Relationships between genetic variability and niche dimensions among coexisting species of *Peromyscus* // Journal of Mammalogy. V. 62. P. 273–285.
- Tamlin A.L., Bowman J., Hackett D.F., 2009. Separating wild from domestic American mink *Neovison vison* based on skull morphometrics // Wildlife Biol. V. 15. № 3. P. 266–277.
- Ulevičius A., Sidorovich V., Lauzhe G., 2001. Specificity of non-metric parameters of American mink (*Mustela vison*) populations in relation to habitat differences in Belarus // Mammalian Biol. V. 6. P. 35–47.
- Vasil'ev A.G., 2021. The Concept of Morphoniche in Evolutionary Ecology // Russian Journal of Ecology. V. 52. № 3. P. 173–187.
- Ventura J., Sans-Fuentes M.A., 1997. Geographic variation and divergence in nonmetric cranial traits of *Arvicola* (Mammalia, Rodentia) in South-Western Europe // Zeitschrift für Säugetierkunde. V. Bd. 62. S. 99–107.
- Wójcik A.M., Polly P.D., Sikorsky M.D., Wójcik J.M., 2006. Selection in a cycling population: differential response among skeletal traits // Evolution. V. 60. № 9. P. 1925–1935.
- Wójcik J.M., Polly P.D., Wójcik A.M., Sikorski M.D., 2007. Epigenetic variation of the common shrew, *Sorex araneus*, in different habitats // Russian J. of Theriology. V. 6. № 1. P. 43–49.
- Waddington C.H., 1957. The strategy of gene. London: Allen and Unwin. 340 p.
- Wiig O., Andersen T., 1988. Non-metrical variation in the skull of Norwegian lynx // Acta Theriologica. V. 33. Fasc. 1–11. P. 3–20.

## EPIGENETIC VARIATIONS IN NON-METRIC SKULL TRAITS IN AMERICAN MINK (*NEOGALE VISON* SCHREBER, CARNIVORA, MUSTELIDAE) STRAINS AFTER SELECTING FOR DEFENSIVE BEHAVIORAL CHARACTERS

I. A. Vasil'eva<sup>1,\*</sup>, O. V. Trapezov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Science,  
8 Marta, 202, Yekaterinburg, 620144 Russia

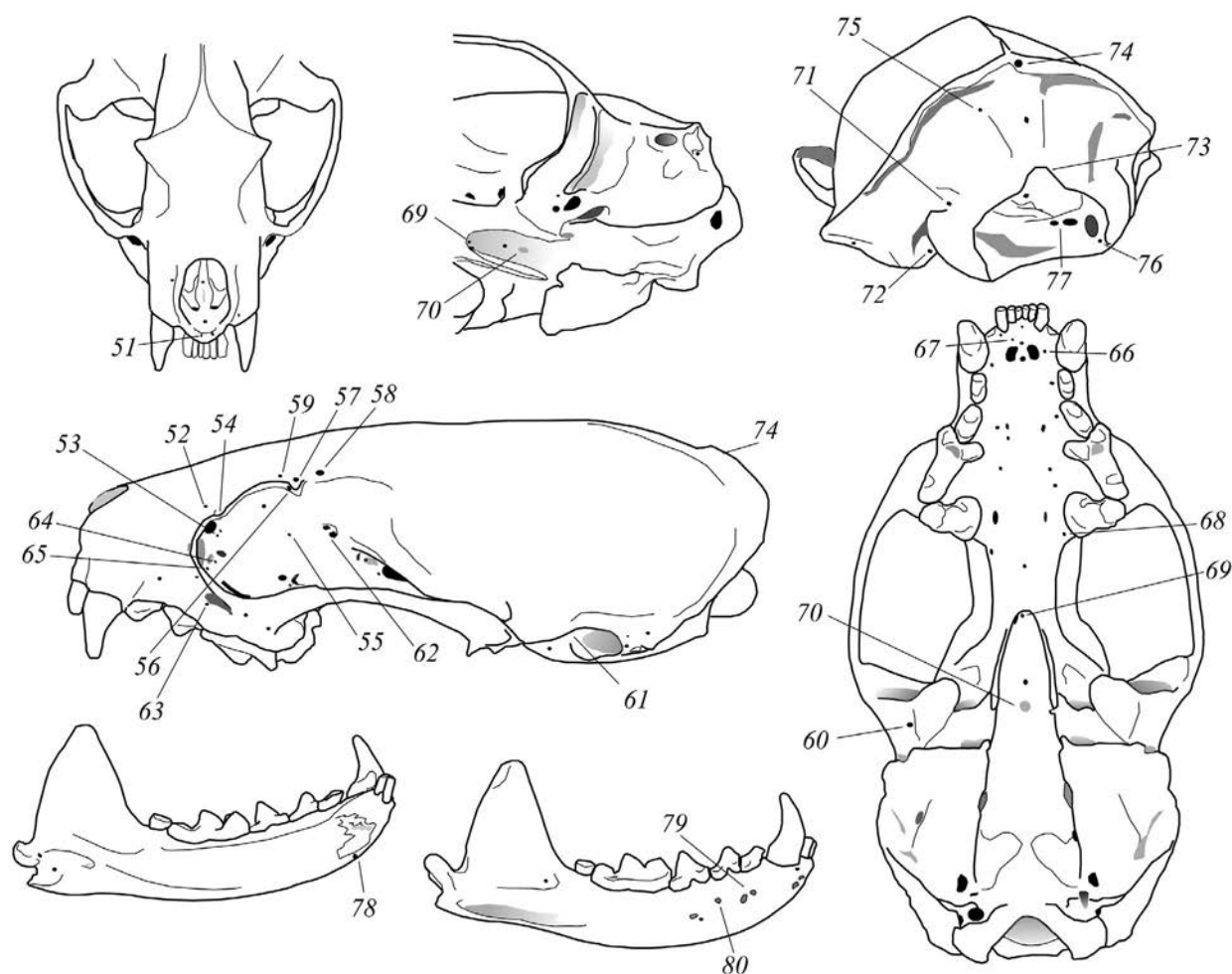
<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics Federal Research Center, Siberian Branch,  
Russian Academy of Science, akademika Lavrentieva Ave. 10, Novosibirsk, 630090 Russia

\*e-mail: via@ipae.uran.ru

The occurrence of discrete non-metric threshold traits (NTTs) of the axial skull and mandible was studied among strains of aggressive and tame American minks (*Neogale vison* Schreber, 1777), obtained after selecting for characters of defensive behavior at an experimental fur farm. Non-selected caged and wild Canadian minks were taken as control groups. After culling the NTTs with invariant frequencies, unclear topologies, single, rare (< 5%) and high-frequency (> 95%), three variants in the array of traits were used: “expanded” (50 traits), allowing for their connection with gender and size, “constrained” (30), excluding such a connection, and “combined” by gender (50), where the frequencies of males are only taken for sex-related traits. An assessment of the mean measures of divergence (MMD) based on the occurrence of NTT phenes in all variants revealed significant differences between the strains, as well as both control groups. In the first variant, the differences between the sexes were most pronounced, vs between the strains in the second and third. In all variants, aggressive and tame minks differed to the maximum degree, whereas the caged non-selected individuals occupied an intermediate position. When comparing samples, wild Canadian minks are the closest to caged non-selected minks, the divergence between aggressive and tame exceeding the difference between cage and wild. Canonical analysis of the principal components characterizing the manifestation of individual phenological compositions for a constrained separable set of 30 NTTs (with lower environmental and greater hereditary conditionality) revealed the same intergroup differences as on the basis of MMD. The effect of selection based on characters of defensive behavior for 16–17 generations was found to be accompanied by a greater differentiation of aggressive and tame American minks than wild and caged ones as a result of their almost century long isolation of the latter in fur farms. The values of the indices of epigenetic variability (*EV*) and the volume of within-group morphospace (*V<sub>m</sub>*) characterizing the degree of destabilization of development, are significantly higher in tame minks than in aggressive ones. The results are in good agreement with Belyaev's theory of destabilizing selection and indirectly indicate a high rate of epigenetic changes in experimental strains of the American mink, which explains the high adaptive potential of this invasive species during its range expansion in Eurasia.

**Keywords:** mink, epigenetic polymorphism, phenetic distances, domestication

## ПРИЛОЖЕНИЕ (SUPPLEMENT)



**Рис. 7.** Схема расположения обнаруженных, но не использованных нематрических пороговых признаков на черепе и нижней челюсти американской норки (№№ 51–80): 51\**m* – FPmdsI1, 52(*n*) – FFrIc, 53(*n*) – FPlcve, 54(*n*) – TbLcnd, 55\* – FFrob, 56\* – FSpb, 57\* – PrSobpf, 58\* – FSobpo, 59(*n*) – FSoban, 60(*n*) – FTmve, 61(*n*) – CnAumd(–), 62\* – FEtdu, 63(*n*) – FIoanac, 64(*n*) – CnIoacit, 65(*n*) – CnIoacex, 66(*n*) – FIcla, 67\* – FIcan, 68\* – FAvM1, 69\* – FPspve, 70*m*\* – FeSph, 71(*n*) – FCdlads, 72(*n*) – FCdlave, 73(*m*) – FMgtg, 74\* – FPtoc, 75(*n*) – FOclads, 76\* – FCditac, 77\* – FHgitdu, 78\* – FMdsm, 79\* – FMtdu, 80\* – FMtim (\* – номера признаков с инвариантными частотами в выборках, *m* – медиальный признак, (*n*) – номера невалидных признаков, полные названия и описание признаков приведены в Приложении, табл. 5, а причины их отклонения – в Приложении, табл. 6).

**Таблица 5.** Перечень изученных фенов нематрических пороговых признаков (НПП) осевого черепа и нижней челюсти американской норки

№	Описание фена нематрического признака	Код
1	Отсутствие медиальной щели в носовом гребешке небного отростка верхней челюсти – Fissura medialis in crista nasalis (–)	FiCrns (–)
2	Отверстие в носовом гребешке позади щели – Foramen posterior in crista nasalis	FCrnspo
3	Срединное носовое отверстие на предчелюстной кости – Foramen premaxillare nasale mediale	FPmnsme
4	Дорзальное отверстие межчелюстной кости над вторым резцом Foramen premaxillare dorsale super I2	FPmdsI2
5	Верхнее отверстие на носовом отростке предчелюстной кости (по бокам грушевидного отверстия) – Foramen premaxillare nasale dorsale	FPmnsds

Таблица 5. Продолжение.

№	Описание фена неметрического признака	Код
6	Нижнее отверстие на носовом отростке предчелюстной кости (по бокам грушевидного отверстия) – Foramen premaxillare nasale ventrale	FPmnsve
7	Отверстие в преддверии слезного канала, в его средней части – Foramen paralacrimale intermedium	FPlcim
8	Переднее лобное отверстие (до надглазничного отростка) – Foramen frontale anterius	FFran
9	Отсутствие височного отверстия – Foramen temporale (–)	FTm (–)
10	Переднее отверстие на скуловом отростке верхней челюсти – Foramen maxillaris zygomaticus anterius	FMxzgan
11	Заднее отверстие на скуловом отростке верхней челюсти – Foramen maxillaris zygomaticus posterius	FMxzgpo
12	Засуставное отверстие чешуйчатой кости впереди слухового прохода (“височный ход”) – Foramen postglenoidale	FPgl
13	Латеральное отверстие в задней наружной стенке слухового прохода – Foramen accessorium laterale in meatus acusticus	FMtacla
14	Дорзальное отверстие в наружной стенке слухового прохода – Foramen accessorium dorsale in meatus acusticus	FMtacds
15	Латеральное отверстие в чешуе височной кости над затылочным гребнем позади слухового отверстия – Foramen squamosum laterale	FSqla
16	Верхнечелюстное отверстие в клыковой ямке – Foramen maxillare in fossa canina	FMxca
17	Отсутствие отверстия на верхней челюсти в области глазницы внутри предорбитального отверстия – Foramen maxillare orbitale (–)	FMxor (–)
18	Окно на верхней челюсти в области глазницы – Fenestra maxillaris orbitalis	FeMxor
19	Дополнительное отверстие внутри предорбитального отверстия (впереди вентрального орбитально-го) – Foramen infraorbitale accessorium	FIoac
20	Дополнительное отверстие к вентральному клино-нёбному отверстию – Foramen sphenopalatinum accessorium	FSplac
21	Дополнительное отверстие внутри зрительного канала – Foramen opticum accessorium	FOPac
22	Ямка впереди зрительного канала – Fossa praeopticus	Fspop
23	Отверстие в преддверии глазничной щели (на вентральной части) – Foramen in fissura orbitalis	FFior
24	Наличие круглого отверстия – Foramen rotundum (+)	FRt (+)
25	Дополнительное дорзальное отверстие над круглым – Foramen rotundum accessorium	FRtac
26	Дополнительное среднее межрезцовое отверстие – Foramen incisivum medium accessorium	FIcmeac
27	Лингвальное альвеолярное отверстие третьего верхнего резца – Foramen alveolare linguale I3	FAvlgIn
28	Лингвальное альвеолярное отверстие клыка – Foramen alveolare linguale Canini	FAvlgC
29	Лингвальное отверстие у альвеолы первого премоляра – Foramen alveolare linguale Pm1	FAvlgPm1
30	Лингвальное отверстие у альвеолы второго премоляра – Foramen alveolare linguale Pm2	FAvlgPm2
31	Умноженные (больше двух) передненёбные (верхнечелюстные) отверстия – Foramina maxillaris palatina multiplex	FMxplmt
32	Дополнительное нёбное отверстие в секторе верхнего хищного зуба – Foramen palatinum Pm3 accessorium	FPIPm3ac
33	Постмолярное отверстие – Foramen molaris posterius	FMpo
34	Медиальное нёбное отверстие – Foramen palatinum medium	FPlme
35	Боковая вырезка предклиновидной кости – Incissura praesphenoidalis lateralis	IsPspla
36	Медиальное отверстие между крыловидными отростками основной клиновидной кости – Foramen sphaenoideum medium	FSpme
37	Вырезка пластинки крыловидного отростка – Incissura lamina pterigoidei	IsLmpt
38	Окно (а) на барабанной камере – Fenestra tympanica	FeTp
39	Дополнительное отверстие лицевого канала – Foramen stylomastoideum accessorium	FStmac
40	Отросток барабанной части височной кости в форме “сосочка” при контакте с основной клиновидной костью – Processus tympanicus anterior	PrTpan
41	Отверстие в затылочно-барабанном шве позади сонного – Foramen occipito-tympanicum	FOctp
42	Окно в нижней мышелковой ямке с вентральной стороны – Fenestra in fossae inferioris condylus occipitalis (FFCI по: Монахов, 2010)	FeFocnif (FFCI)

# ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

Таблица 5. Окончание.

№	Описание фена неметрического признака	Код
43	Внутреннее яремное отверстие открыто в нижнемышечковую ямку – Foramen jugulare internum apertum in fossa condylaris inferior	FJginap
44	Медиальное отверстие в чешуе затылочной кости – Foramen supraoccipitale medium	FOcme
45	Удвоенное резцовое подбородочное отверстие – Foramen mentale incisivum duplicatum	FMticdu
46	Дополнительное отверстие на вентральной поверхности нижней челюсти у альвеолы нижнего клыка – Foramen mandibulare alveolare caninum ventrale	FMdcave
47	Удвоенное заднее подбородочное отверстие – Foramen mentale posterius duplex	FMtpodu
48	Отверстие на массетерной площадке нижней челюсти – Foramen mandibulare massetericus	FMdms
49	Отверстие на лингвальной стороне углового отростка нижней челюсти – Foramen mandibulare angulare linguale	FMdaglg
50	Отверстие на лингвальной стороне сочленовного отростка нижней челюсти – Foramen mandibulare articulare linguale	FMdarlg
51	Дорзальное отверстие межчелюстной кости над первым резцом – Foramen intermaxillare dorsale super II	FPmdsII
52	Отверстие на лобной кости впереди слезного бугорка (переднеслезное) – Foramen frontale lacrimale	FFrlc
53	Отверстие в преддверии слезного канала в нижней части (вентральное) – Foramen praelacrimale ventrale	FPlcve
54	Редукция слезного отростка (бугорка) –Tuberculum lacrimalis reductus	TbLcrd
55	Глазничное лобное отверстие – Foramen frontale orbitale	FFrob
56	Отверстие в надглазничном отростке – Foramen supraorbitale	FSpb
57	Сквозное отверстие в надглазничном отростке – Processus supraorbitalis perforatus	PrSobpf
58	Отверстие лобной кости за надглазничным отростком – Foramen frontale posterius	FSobpo
59	Отверстие лобной кости перед надглазничным отростком – Foramen frontale antierius	FSoban
60	Вентральное височное отверстие – Foramen temporale ventrale	FTmve
61	Отсутствие медиального “канала” внутри слухового прохода – Canalis medialis in meatus acusticus (–)	CaAcmd(–)
62	Удвоенное решетчатое отверстие – Foramen ethmoideum duplicatum	FEtdu
63	Переднее дополнительное верхнечелюстное отверстие внутри предорбитального над Pm2 – Foramen infraorbitale accessorium	FIoanac
64	Внутреннее дополнительное отверстие к инфраорбитальному каналу – Canalis infraorbitalis accessorius internus	CnIoacit
65	Наружное дополнительное отверстие к инфраорбитальному каналу – Canalis infraorbitalis accessorius externus	CnIoacex
66	Дополнительное боковое резцовое отверстие – Foramen incisivum laterale	FIcla
67	Дополнительное переднее межрезцовое отверстие – Foramen incisivum antierius	FIcon
68	Альвеолярное отверстие у первого верхнего моляра – Foramen alveolare M1	FAvM1
69	Отверстие переднеклиновидной кости под нёбом – Foramen praesphenoidale ventrale	FPspve
70	Медиальное окно между крыловидными отростками основной клиновидной кости – Fenestra sphenoidalis	FeSph
71	Дорзальное боковое отверстие в верхней мышечковой ямке – Foramen condylare laterale dorsale	FCdlads
72	Вентральное боковое мышечковое отверстие – Foramen condylare laterale ventrale	FCdlave
73	Треугольная форма большого затылочного отверстия – Foramen magnum habet figuram triangularem	FMgtg
74	Билатеральное отверстие в затылочном предбугорье – Foramen in protuberantia occipitalis	FPtoc
75	Латеральное дорзальное отверстие в чешуе затылочной кости – Foramen dorsale laterale in squama os occipitalis	FOclads
76	Отверстие, дополнительное к внутреннему мышечковому (вентрально-латеральное) – Foramen condyloideum internum accessorium	FCditac
77	Удвоенное внутреннее подъязычное отверстие – Foramen hypoglossum internum duplex	FHgitdu
78	Симфизиальное отверстие нижней челюсти – Foramen mandibulare symphysiale	FMdsm
79	Основное (переднее) подбородочное отверстие удвоено – Foramen mentale duplex	FMtdu
80	Наличие промежуточного подбородочного отверстия – Foramen mentale intermedium	FMtim

Примечание. ac – accessorius (–um), an – anterior (–ius), ap – apertus (–a, –um), ds – dorsalis (–e), du – duplex, ex – externus (–a, –um), im – intermedius (–um), in – internus (–a, –um), la – lateralis (–e), lg – lingualis (–e), me – medialis (–e), mt – multiplex, ns – nasalis (–e), or – orbitalis (–e), pf – perforatus, po – posterior (–ius), rd – reductus, tr – triangularis, ve – ventralis (–e).

**Таблица 6.** Приложение. Перечень валидных и исключенных неметрических признаков осевого черепа и нижней челюсти американской норки и причины их выбраковки

№	Код признака	Валидность признаков	Значимая корреляция		Инвариантные частоты ( $\chi^2 < 12.6$ , $p > 0.05$ )
			с размерами	с полом	
1	FiCrns (—)	1, 2, 3			
2	FCrns <sub>po</sub>	1, 2, 3			
3	F <sub>P</sub> mns <sub>me</sub>	1, 3	*	*	
4	F <sub>P</sub> m <sub>ds</sub> l2	1, 2, 3			
5	F <sub>P</sub> mns <sub>ds</sub>	1, 3	*	*	
6	F <sub>P</sub> mns <sub>ve</sub>	1, 3	*	*	
7	FPlcim	1, 2, 3			
8	FFran	1, 3	*	*	
9	FTm (—)	1, 2, 3			
10	FMxzgan	1, 3	*	*	
11	FMxzgpo	1, 3	*	*	
12	FPgl	1, 2, 3			
13	FMtacla	1, 3	*	*	
14	FMtacds	1, 3	*	*	
15	FSqla	1, 2, 3			
16	FMxca	1, 2, 3			
17	FMxor (—)	1, 2, 3			
18	FeMxor	1, 2, 3			
19	Floac	1, 2, 3			
20	FSplac	1, 3	*		
21	FOpac	1, 3	*	*	
22	Fspop	1, 3	*	*	
23	FFior	1, 2, 3			
24	FRt (+)	1, 2, 3			
25	FRtac	1, 2, 3			
26	FIcmeac	1, 2, 3			
27	FAvgIn	1, 3	*	*	
28	FAvgC	1, 3	*	*	
29	FAvgPm1	1, 3	*	*	
30	FAvgPm2	1, 2, 3			
31	FMxplmt	1, 2, 3			
32	FPI <sub>Pm3ac</sub>	1, 2, 3			
33	FMpo	1, 2, 3			
34	FPlme	1, 3	*	*	
35	IsPspla	1, 2, 3			
36	FSpme	1, 3	*		
37	IsLmpt	1, 3	*	*	
38	FeTp	1, 2, 3			
39	FStmac	1, 2, 3			
40	PrTpan	1, 2, 3			
41	FOctp	1, 2, 3			
42	FeFocnif (FFCI)	1, 2, 3			
43	FJginap	1, 2, 3			
44	FOcme	1, 3	*	*	
45	FMticdu	1, 2, 3			
46	FMdcave	1, 2, 3			

# ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

Таблица 6. Окончание.

№	Код признака	Валидность признаков	Значимая корреляция		Инвариантные частоты ( $\chi^2 < 12.6$ , $p > 0.05$ )
			с размерами	с полом	
47	FMtpodu	1, 2, 3			
48	FMdms	1, 2, 3			
49	FMdaglg	1, 3	*	*	
50	FMdarlg	1, 3	*	*	
51	FPmdsl1	0			*
52	FFrlc	n	*	*	
53	FPlcve	n		*	
54	TbLcrd	n	*	*	
55	FFrob	0			*
56	FSpb	0	*		*
57	PrSobpf	0	*	*	*
58	FSobpo	0			*
59	FSoban	n	*	*	
60	FTmve	n	*	*	
61	CaAcmd(—)	n	*	*	
62	FEtdu	0			*
63	FIoanac	n	*	*	
64	CnIoacit	n	*	*	
65	CnIoacex	n		*	
66	FIcla	n	*	*	
67	FIcan	0			*
68	FAvM1	0		*	*
69	FPspve	0	*		*
70	FeSph	0	*		*
71	FCdlads	n		*	
72	FCdlave	n	*	*	
73	FMgtg	n		*	
74	FPtoc	0	*		*
75	FOclads	n	*	*	
76	FCditac	0		*	*
77	FHgitdu	0	*		*
78	FMdsm	0		*	*
79	FMtdu	0	*		*
80	FMtim	0	*		*

Примечания. 1, 2, 3 – валидные признаки: 1 – расширенный набор из 50 НПП, частично связанных с полом и размерами, 2 – ограниченный набор из 30 НПП, не связанных с полом и размерами, 3 – объединенный набор из 50 НПП, где по признакам, связанным с полом, включены только частоты признаков самцов. Исключенные признаки: 0 – с инвариантными частотами в выборках, n – невалидные, с нечеткой топологией, приводящей к значимым смещениям частот встречаемости при повторной классификации.