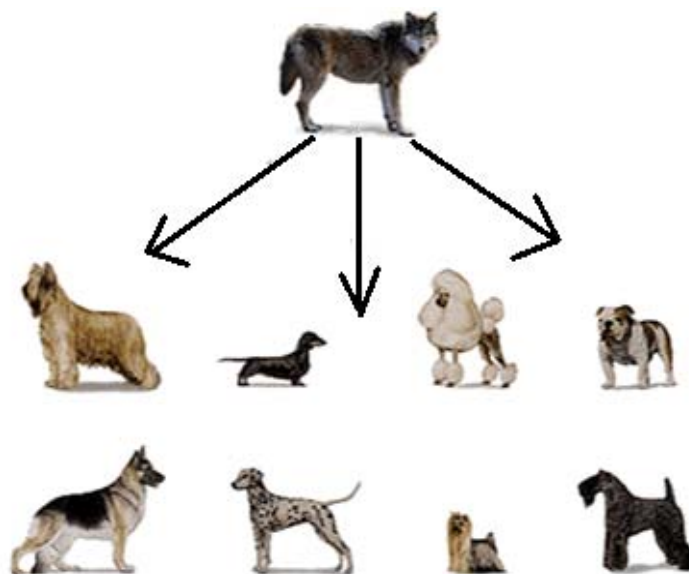


**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА
УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ФАКУЛЬТЕТ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА І ПЕРЕРОБКИ
ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА, СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТА
БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Кафедра генетики, годівлі тварин та біотехнології

ФІЛОГЕНЕТИКА ХУТРОВИХ ЗВІРІВ, КРОЛІВ, СОБАК
Методичні рекомендації
для виконання лабораторно-практичних занять
студентами денної форми навчання
спеціальності 8.09010207 «Промислове звірівництво»



**Миколаїв
2014**

УДК 575.86:636.7/.9
ББК 28.62+46.7
Ф 54

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету ТВПШТСБ Миколаївського національного аграрного університету від 25 листопада 2014 р., протокол № 4.

Укладач:

І. А. Галушко - кандидат с.-г. наук, доцент, доцент кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету

Рецензенти:

О. Ю. Чумаченко – кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри медико-біологічних основ фізичного виховання Миколаївського національного університету ім. В. О. Сухомлинського;

О. Ю. Сметана – кандидат с.-г. наук, доцент кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету

ЗМІСТ

Вступ		4
Лабораторна робота №1	Сучасні методи побудови філогенетичних дерев	6
Лабораторна робота №2	Синапоморфія і симплезіоморфія	17
Лабораторна робота №3	Фактологія кладогенетики	20
Лабораторна робота №4	Палеонтологія	24
Лабораторна робота №5	Загальна класифікація методів філогенетики	32
Лабораторна робота №6	Загальна схема кладогенетичного дослідження	41
Лабораторна робота №7	Комп'ютерне моделювання	48
Лабораторна робота №8	Еволюційні зміни амінокислотної послідовності	51
Список використаної літератури		61

ВСТУП

Ключовою ідеєю природознавства нині стає глобальний *еволюціонізм*. Еволюційна ідея формує світогляд більшості біологів, зобов'язуючи вводити історичний чинник в число причин багатогранності біоти. Ця обставина робить історичні реконструкції одним з пріоритетних напрямів біологічних досліджень, а філогенетику, яка займається цими реконструкціями, - однією з ключових біологічних дисциплін.

Еволюційна біологія в останні десятиліття зіткнулася з тим же дуже специфічним феноменом, що і у кінці XIX ст. Назва йому - "філогенетичний бум". У наукових виданнях відповідної спеціалізації множитья число статей, в назві або анотації яких стоїть слово "філогенез". Терміни "філогенетика", "кладистика", "молекулярна філогенетика" належить найбільш згадуваним.

В першу чергу слід підкреслити відродження інтересу до макроеволюційних досліджень. Причина в тому, що пояснювальні можливості так званої синтетичної теорії еволюції, що намагається усю історію звести до локальних популяційних процесів, виявилися дуже обмеженими. Стало очевидним, що існуючу різноманітність живих організмів неможливо зрозуміти без звернення до їх історичного минулого. Це саме по собі зумовило зростання уваги до філогенезу і філогенетичних реконструкцій.

Це дозволило включити в арсенал філогенетики кількісні методи: одні з них були запозичені із статистики, інші розроблялися самими кладистами. Незабаром з'явилися і досить потужні персональні комп'ютери, що істотно полегшили застосування цих методів.

Нарешті, освоєння нової молекулярно-генетичної фактології дозволило порівнювати так по-різному влаштовані організми, як прокаріоти так вищі еукаріоти, не лише по загальному рівню організації, але і по окремих морфоструктурам - біополімерам. Тим самим були створені передумови для реалізації ідеалу філогенетики - побудови загального "**Дерева життя**".

Філогенетика як особлива наукова дисципліна - розділ еволюційної біології, що займається реконструкцією історії формування біоти. Запорука її успіху, як і взагалі в науці, не стільки у все більшому накопиченні нових фактів, оскільки у вирішенні основної пізнавальної проблеми : як - і чому так, а не інакше, - ці факти належить досліджувати і інтерпретувати, щоб в різноманітності організмів побачити шукані сліди їх історії.

Основна **задача** дисципліни вивчити *походження і родинні зв'язки, познайомитися з різноманітністю* хутрових звірів, кролів, собак.

Філогенетика, або філогенетична систематика - область біологічної систематики, яка займається ідентифікацією та проясненням еволюційних взаємин серед різних видів життя на Землі, як сучасних, так і вимерлих. Еволюційна теорія стверджує, що схожість серед індивідуумів або видів часто вказує на спільне походження або *загального предка*. Тому взаємини, встановлені філогенетичною систематикою, часто описують еволюційну історію видів і їх філогенез, історичні взаємини між ветвями організмів або їх частин, наприклад, їх генів. Філогенетична таксономія, що є відгалуженням, але не логічним продовженням філогенетичної систематики, займається класифікацією груп організмів згідно ступеня їх еволюційних відносин.

Засновником систематики, галузі науки, яка займається класифікацією живих організмів і взаємовідносинами між компонентами живого, вважається *Карл Лінней*. Однак тільки наприкінці 1950-х років німецький ентомолог *Віллі Хенніг* висловив ідею, що систематика повинна відображати відому еволюційну історію так близько, як тільки можливо. Так був заснований підхід до систематики, який він назвав філогенетичною систематикою. Протівники Хенніга зневажливо називали його послідовників «кладістами», через акценту на визнання тільки монофілетичних груп або скарб. Однак, кладісти швидко прийняли цю назву як корисний термін, і кладистичний підхід почав переважати систематики. Протилежністю філогенетичної систематики є фенетика.

Лабораторна робота № 1

Сучасні методи побудови філогенетичних дерев

Мета роботи: Освоїти сучасні методи побудови філогенетичних дерев

Систематика описує взаємовідносини серед таксонів і покликана допомогти нам зрозуміти історію всіх живих організмів. Але історія не є чимось, що ми можемо побачити, вона сталася один раз і залишила тільки непрямі показники фактичних подій. Вчені використовують ці показники, щоб побудувати гіпотези, або моделі, історії життя. У філогенетиці найбільш зручний шлях візуального представлення еволюційних взаємин серед груп організмів здійснюється за допомогою *графіків*, які називаються **філогенетичними деревами**.

Приклад філогенетичного дерева

- *Вузол*: представляє таксономічну одиницю. Він може бути або існуючої групою або предком.
- *Гілка*: визначає взаємовідношення між таксонами в термінах нащадків і предків.
- *Топологія*: правило за яким розгалужується дерево.
- *Довжина гілки*: представляє число змін, які відбулися між таксонами.
- *Корінь*: загальний предок всіх розглянутих організмів.
- *Масштаб відстані*: масштаб, який відображає число відмінностей між організмами або послідовностями геному.
- *Скарбу*: група двох або більше таксонів або послідовностей ДНК, яка включає як свого загального предка, так і всіх його нащадків.
- *Оперативна таксономічна одиниця (OTE, OTU)*: рівень деталізації, обраний дослідником для даної роботи, наприклад індивідууми, популяції, види, пологи або лінії бактерій.

У філогенетиці "рослинна" метафора служить способом представлення родинних стосунків між групами організмів: найчастіше для цього використовується дерево. При становленні філогенетики воно, з одного боку,

було запозичене з систематики, куди, у свою чергу, було впроваджено схоластами. З іншого боку, на таку форму представлення названих стосунків філогенетику спонукало генеалогічне дерево, здавна використовуване в Європі для позначення родовідних схем.

У схоластиці деревовидна схема була розроблена для схематичного представлення логічної родовидової схеми класифікації. Це так зване "дерево Порфірія", назване по імені неоплатоніка Порфірія, що жив в IV ст. н.е. (Мал. 9).

Однією з версій цього дерева, популярною серед систематиків Нового часу, було таке представлення ієрархічної класифікації, в якому логічний перехід від вищого рівня ієрархії до наступного, нижчого, показувався фігурними дужками. Такі схеми уперше з'явилися, мабуть, в XVII ст. і проіснувало до кінця XIX ст..

Іншим способом вичленення угруповань, також висхідним до XVII ст., було з'єднання таксонов лініями, що знову-таки давало подібність дерева. Але це вже не просто логічні зв'язки, як у попередньому випадку, а демонстрація натурфілософського розуміння "спорідненості" організмів.

Конкретна форма графічного представлення "рослинної" метафори залежить від моделі філогенезу, що приймається, і тому може бути різною.

У кладогенетиці в її основу покладений принцип монофілії, що припускає походження різних груп організмів від загального предка. Відповідно, метафорою служить галузиться філогенетичне дерево (чи дерево), що "росте" з єдиного кореня. Воно зображує філогенез і одночасно структуру філогенетичних зв'язків в цілому, а в гілці дерева відповідають філогенезам окремих підгруп у складі досліджуваної.

Існують різні форми зображення філогенетичного дерева залежно від того, який зміст в цю метафору закладається (втім, і від художніх смаків дослідника), - від "нарративного" до строго стилізованого. Перший варіант, висхідний до Геккелю, популярний в класичній філогенетиці. Сам Геккель нерідко зображував філогенетичні дерева в цілком барочному стилі. При

цьому ствол дерева вказував генеральний напрям філогенетичного розвитку від нижчих форм до вищих, тобто це був деякий аналог "сходів досконалості". Гілки, що відходять від ствола, відповідають окремим філетичним лініям, вказують послідовність виникнення груп організмів і їх генеалогію.

Пізніше Геккель і його послідовники від цієї химерності відмовилися, зробивши при цьому дерева більше інформативними. Дерева стали "вписуватися" в геохронологічну шкалу, що дозволив вказувати час походження і тривалість існування груп. Ширина гілок стала вказувати таксономічну різноманітність груп на різних етапах їх існування. Можна показувати також і характер відмінностей: для цього перераховують ознаки, по яких розходяться групи.

Для збагачення дерева додатковою інформацією його іноді "накладають" на карту. Якщо додані відомості палеонтологічного характеру, виходить схематична картина історії розселення групи.

У кладогенетичній інтерпретації філогенетичне дерево містить інформацію лише про генеалогічні зв'язки між організмами. Першим таким деревом була зображена в "Походженні видів." гіпотетична схема генеалогічних ланцюжків видів: в ній є присутньою тимчасова шкала вказані предки і їх нащадки. Дуже схемними були генеалогічні схеми, популярні на початку ХХ ст. і що багато в чому передбачили стилізоване представлення філогенетичних схем в другій його половині.

При спільному розгляді кладо- і сегогенетичних складових філогенезу на подібного роду схемах вказується міра дивергенції груп, нерідко також тимчасова складова, отримуємо кладограму. Таке найбільш формалізоване представлення філогенетичного дерева стало в другій половині ХХ ст. свого роду символом кладистичної школи систематики і філогенетики. Якщо на кладограмі, подібно до класичного дерева, вказують ознаки, що об'єднують членів цієї монофілетичної групи, тоді це синапоморфограма. Слід відразу ж звернути увагу на відмінність філограми і кладограми від фенограми. По її

структурі можна судити тільки про схожість, не інтерпретовану філогенетически. Такого роду дерева нерідко використовуються в генофілетиці.

У анагенетиці, що не надає особливого значення принципу монофілії, філогенез інтерпретується як сукупність паралельних ліній розвитку, тому формою його представлення служить "кущ" або "трав'яне поле". У нім окремі філетичні лінії або сходяться біля самої основи, або зовсім не сходяться. Яскравий представник цього напрямку філогенетики Л.С. Берг уподібнював розвиток філетичних ліній пшеничному полю, в якому кожне стебло походить від свого сім'я (Берг 1977). Особливої згадки заслуговує деревовидна схема представлення історичного розвитку, кладогенетичну, що вказує, і анагенетичну складові філогенезу. Це відома теоретична схема А.Н. Северцова, що показує зміну рівня організації тварин по ходу їх еволюції.

Метод (у вузькому розумінні) - це щось на зразок технічного інструменту, що дозволяє на основі фактичних даних розробити філогенетичну гіпотезу, в якій для цієї частки випадку втілена загальна еволюційна модель. Формальним представленням названої гіпотези служить філогенетичне дерево. Таким чином, методи філогенетики - це методи побудови названих дерев.

Якісні і кількісні методи

Взагалі кажучи, всякий порівняльний аналіз в тій чи іншій мірі є "кількісним", якщо припускає групування порівнюваних об'єктів по мірі (= "кількості") схожості. Проте, має сенс розрізняти якісні і кількісні методи філогенетичних реконструкцій, що розуміються в строгішому сенсі.

Якісні методи не припускають ні кількісної (що має чисельне вираження) оцінки схожості, ні використання кількісних методів побудови дерев. Відповідно, вони не піддаються чітко формалізації і алгоритмізації.

Одна з головних причин останнього - неодмінна присутність інтуїції дослідника в пізнавальній ситуації. Це означає, що реконструйований філогенез "навантажений" особовим знанням: шлях досягнення

"філогенетичної істини" залишилася долею "мудреців". З точки зору прибічників інтуїтивізму, це є гідністю: саме талант дослідника є запорукою якісного результату. З точки зору прибічників формальних підходів, такий результат не можна вважати науковим, оскільки він не відтворює згідно з деякими фіксованими правилами.

Гідність якісних методів - уважний змістовний аналіз як початкових даних, так і усієї процедури філогенетичної реконструкції.

Кількісні методи спираються на оцінку схожості, що має чисельне вираження, або на строго алгоритмизовані методи побудови дерев, що включають кількісну оцінку оптимальності останніх. Такі методи в сучасній філогенетиці переважають. Вони високо формалізовані і тому відтворюються у формі чітко фіксованих алгоритмів; практично усі реалізовані в комп'ютерних програмах. Деякі з них запозичуються з фенетики (дистантні методи) або із статистики (найбільша правдоподібність), інші розробляються у рамках самої нумеричної філетики (парсимонія).

Особливістю методології кількісних підходів є те, що більшість з них в якості основного параметра філогенезу розглядають не спорідненість як таку, а "кількість" філогенетичних (еволюційних) змін.

Кількісні методи філогенетичних реконструкцій не "відмінюють" еволюційні моделі зовсім, а лише формалізують і спрощують їх. Це породжує специфічні проблеми, способи рішення яких доки далекі від ясності. Так, адекватна оцінка філогенетичної єдності на основі кількісних заходів схожості стає проблематичною через проблему неаддитивності - відсутності лінійного зв'язку між схожістю і генеалогічною спорідненістю.

Більшість кількісних методів передбачають можливість диференціального кількісного зважування ознак або їх фрагментів. У другому випадку це означає приписування різної вірогідності різним переходам від однієї модальності ознаки до іншої. Можливо також ітеративне послідовне зважування.

До числа безперечних достоїнств кількісних методів слід віднести можливості: чіткої формалізації завдань і способів їх рішення; аналізу великих масивів даних і маніпулювання характеристиками ознак; довільного варіювання еволюційними сценаріями і порівняння результатів, отриманих на їх основі. Ще одна їх чеснота - забезпечення "прозорості" процедури філогенетичних реконструкцій.

Між якісними і кількісними методами філогенетичних реконструкцій немає різкої межі. Існують підходи, в яких в тій або іншій формі представлені обидві "протилежності".

Так, "класичний" (у версії В. Генніга) клади стичний аналіз, з якого розпочалася сучасна філогенетика, не використовує строгої кількісної техніки, але ґрунтований на численні суми синапоморфій, що датують монофілетичні групи. З іншого боку, деякі комп'ютерні програми по побудові філогенетичних дерев можуть працювати в інтерактивному режимі, допускаючи "втручання" інтуїції дослідника в пошук оптимального рішення.

Критерії оптимальності дерев

Мета філогенетичної реконструкції - отримання такого дерева, яке служило б найкращою оцінкою істинного філогенезу в контексті загальної еволюційної моделі і з врахуванням початкових даних. Цю оцінку можна визначити як оптимальність філогенетичного дерева. Показником, що дозволяє досліджувати оптимальність дерева (у тільки що вказаному сенсі), служить той або інший критерій оптимальності.

У сучасних кількісних методах такі критерії являються також по перевазі кількісними. Вони залежать від методу - тобто від тієї базової методології цієї дослідницької програми, у рамках якої цей метод функціонує.

Дистантні методи

Дистантні методи ґрунтовані на аналізі матриць дистанцій, а не самих ознак, за що і дістали свою назву. Ці дистанції можуть бути як вичисленими, так і отриманими в результаті "непрямих" експериментів.

Простим є алгоритм, який означає будівництво дерева фактично за прямою схемою, що припускає апріорне визначення полярності ознак. Спочатку визначається термінальна група, відповідно предковій або найбільш архаїчній формі: вона задає основу дерева. Потім вибирається наступна група, найбільш схожа з попередньою, - і так далі: дерево поступово нарощується "від низу до верху". Цей алгоритм для невеликих масивів даних допускає побудову дерева "вручну", він був одним з перших в кладистиці.

До групи дистантанційних методів входять фенетичні алгоритми кластеризації, з яких найбільш популярні процедурні методи незваженого попарного порівняння (UPGMA) і найближчого сусіда. Перший з них тактує єдине неаддитивне орієнтоване дерево за один захід. Другий метод призводить до побудови адитивного неорієнтованого дерева, що оптимізується за допомогою методу найменших квадратів (з чого видно, що він тактує приближені рішення).

Дистантні методи нерідко використовуються для побудови "молекулярних" дерев: саме з них розпочиналася молекулярна філогенетика.

До недавнього часу з чисто "технічних" причин дистантні методи переважали в нумерической філетике. Нині із-за всякого роду методологічних і методичних проблем вони вважаються морально застарілими і не такі популярні, як методи парсимонії і найбільшої правдоподібності.

Вони зберігають свою актуальність лише в тих випадках, коли початкові дані представлені результатами "непрямих" експериментів по генетичній сумісності або обробка дуже великої таксон-признакової матриці іншими методами займає надто багато часу.

Методи сумісності

Згідно з принципом сумісності, сучасні алгоритми філогенетичного аналізу спрямовані на пошуки таких рішень, які підтримуються більшістю ознак. Останнє означає, що вони повинні давати взаємно несуперечливу оцінку філогенетичної гіпотези, тобто бути взаємно сумісними як свідчення в її користь. У цьому сенсі аналіз сумісності - це одна з версій методів парсимонії.

У вузькому сенсі методи сумісності на відміну від далі даних алгоритмів, використовують апріорну оцінку сумісності ознак як відправний пункт реконструкції кладогенеза. Ця оцінка приймається як вагова функція: в реконструкцію включаються тільки взаємно сумісні ознаки, яким привласнюється максимальна вага.

Ознаки, що увійшли до найбільшої по об'єму кліки, називаються первинними. По них визначається ієрархія синапоморфних груп з доступним для цього набору ознак дозволом. Виходить первинна кладограма (прокладограма), яка найчастіше містить політомії.

Гідністю цього методу можна вважати контекстний характер процедури зважування ознак згідно їх сумісності. Дійсно, на кожному черговому кроці побудови кладограми ознаки аналізуються ("зважуються") строго у рамках кожної з імовірно монофілетичних груп, виділених на попередніх кроках. Це схоже з пошуком "локально економних" рішень в методах парсимонії, що виключає "парадокс Рольфа".

Методи парсимонії

Методологія сучасної філогенетики багато в чому визначається принципом економії (парсимонії), що відноситься до розряду фундаментальних. Він включає вимогу мінімізації: а) на "вході" реконструкції – об'єму початкових допущень про загальних властивостях еволюційного процесу (методологічна парсимонія) і б) на "виході" - числа подій у філогенезі, що реконструює, організми (кладистична парсимонія), що

привели до досліджуваної різноманітності. Відповідно, метою кладистичного аналізу, з точки зору названого принципу, являється розробка економних гіпотез, які відповідають обом вказаним вимогам.

Для досягнення цієї мети розробляються методи кладистичного аналізу, які так і називаються, - методи парсимонії. Вони спрямовані на побудову філогенетичного дерева, на якому мінімізовано число гомоплазій: за визначенням, воно відповідає найбільш економній гіпотезі.

При пошуку такого дерева параметром, що оптимізується, служить його загальна довжина: дерево оптимальне, якщо його довжина найменша для цього набору термінальних груп і ознак з виділеними модальностями.

Слід підкреслити, що методи парсимонії найбільш ефективні при допущенні рівності вірогідності (швидкостей) зміни ознак уздовж усіх гілок дерева. Якщо ця умова не виконується, вони можуть давати зміщеної оцінки філогенезу.

Методи найбільшої правдоподібності

У рамках гіпотетико-дедуктивної схеми аргументації найбільш спроможні підходи, які припускають явне введення апріорних еволюційних моделей в початкові умови філогенетичної реконструкції. Цій вимозі відповідають статистичні методи найбільшої правдоподібності.

Ці методи, що відносяться до групи признакових евристичних, спрямовані на пошуки такого дерева, на якому зміни ознак найбільш правдоподібні (звідси назва) з точки зору еволюційної моделі, параметри якої задаються на апріорній основі. Це радикально відрізняє методи цієї групи від методів парсимонії. У останніх мінімізується кількість апріорних допущень про еволюцію, з чим пов'язана вимога мінімізації числа виявлених філогенетичних подій

Дані методи чутливіші до змін довжини гілок дерева, ніж до послідовності галуження. Це означає, що вони не гарантують отримання

дерева з найкращою топологією, тому їх слід доповнювати бутстреп-аналізом.

Результатом застосування методів найбільшої правдоподібності є філограма, на якій вказані довжини гілок. Як і у разі методів парсимонії, дерево спочатку реконструюється як неорієнтоване. Положення кореня при використанні рівноважних моделей значення не має: ієрархія дерева входить до числа "надмірних" параметрів. При його вкоріненні, як і в методах парсимонії, може використовуватися зовнішня група. При використанні рівноважних моделей цей метод - єдино придатний.

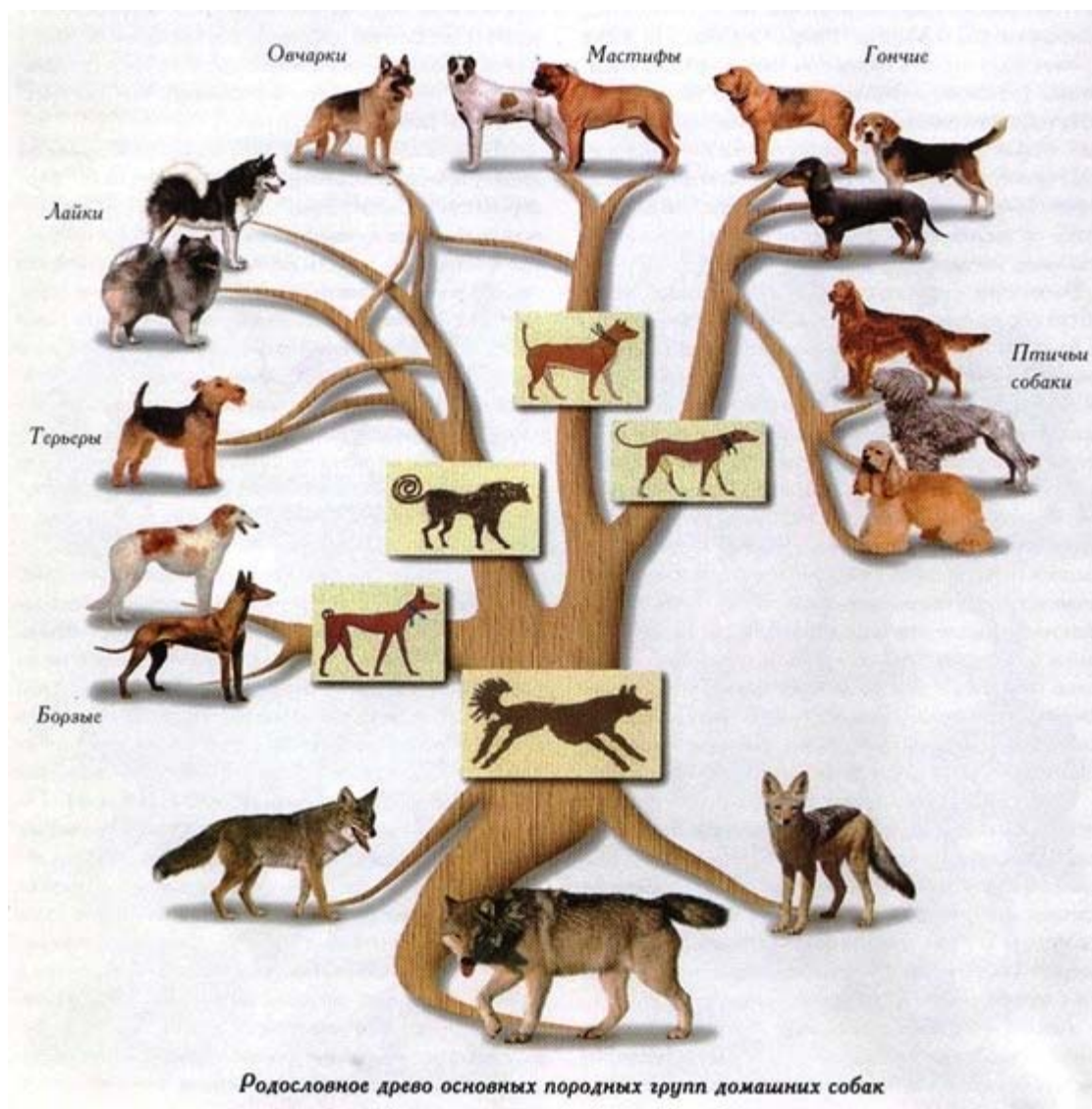


Рис. 1. Родове дерево основних породних груп домашніх собак

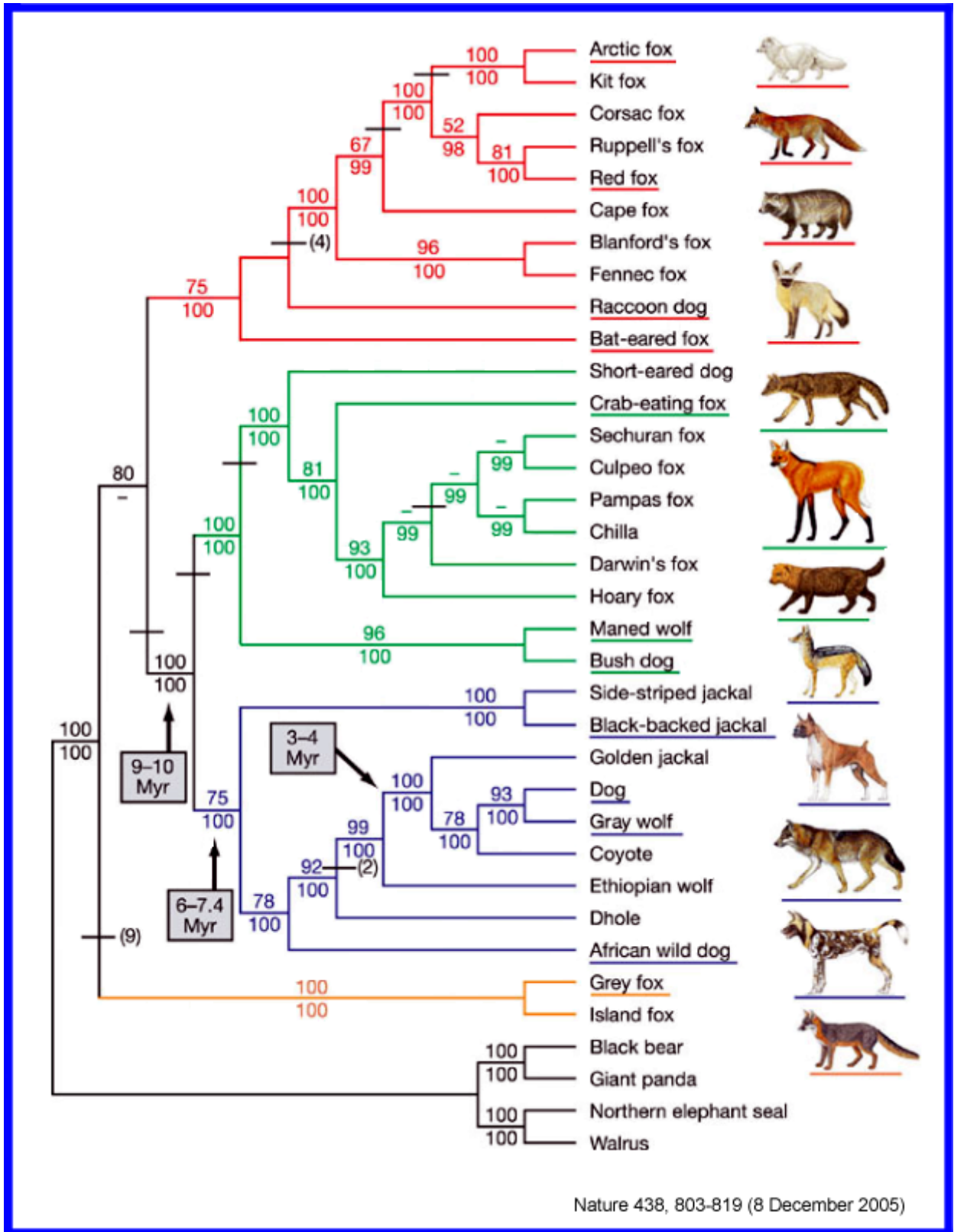


Рис.2 Родинні зв'язки собак

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Навести приклади філогенетичних дерев для хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Для чого потрібні філогенетичні дерева?
2. Основні складові філогенетичного дерева?
3. Які бувають види філогенетичних дерев?
4. Які програми беруть участь в побудові філогенетичних дерев для хутрових звірів, кролів, собак ?
5. Які якісні і кількісні методи філогенетичних реконструкцій існують?

Лабораторна робота №2

Синапоморфія і симплезіоморфія

Мета роботи: Ознайомитися з основними категоріями схожості груп організмів

У сучасній філогенетиці розрізняють дві основні категорії схожості груп організмів - **синапоморфію** (синапоморфну схожість) і **симплезіоморфію** (симплезіоморфну схожість). У основі їх розпізнавання лежить ділення модальностей ознак із заданою полярністю на, відповідно, апоморфії і плезіоморфії.

Дві названі категорії схожості вносять різний вклад у виявлення кладогенетичного сигналу. Синапоморфія значима, оскільки дозволяє розпізнавати голофілетичні групи; симплезіоморфія не дозволяє цього робити і тому незначима (Hennig, 1966; Wiley, 1981; Павлинов, 1990). Це відбито в принципі синапоморфії. Як вказано в попередньому розділі, така їх

оцінка є особливого роду диференціальне зважування схожості. Групи, які виявляються по кожній з цих категорій схожості, відповідно називаються *синапоморфними* і *симплезіоморфними*. Згідно базової еволюційної моделі, що приймається в кладогенетиці, перші є приватною інтерпретацією (в термінах схожості) кладистической групи і, відповідно, відображені в ієрархії кладогенетичного патерну. На відміну від цього симплезіоморфні групи не являються кладистично спроможними і тому не мають якої-небудь відповідності у вказаній ієрархії.

Оскільки ділення модальностей на апоморфії і плезіоморфії в кожній цій трансформаційній серії відносно, то і виділення двох даних категорій схожості і груп, що відповідають їм, також відносно. Наприклад, маємо трансформаційну серію з полярністю $T(a) > T(b) > T(c)$ і три групи організмів, що характеризуються цими модальностями: А, (а) В (в) і З (с). Очевидно, група В синапоморфна відносно А і симплезіоморфна відносно С.

Синапоморфна схожість тісно пов'язана з концепцією гомології; іноді їх ототожнюють (Nelson, 1994). Проте це навряд чи коректно: гомологія - це не схожість між організмами, а щось на зразок "спорідненості структур". Виходячи з постульованої взаємноподібності кладо- і сегогенезів, точнішою видається наступне трактування.

У загальному випадку синапоморфія є засобом виявлення гомології в її філогенетичній інтерпретації, тобто в такій, в якій є присутнім посилення на історію. Враховуючи подвійний характер гомології, що таким чином розуміється, синапоморфія також ділиться на дві категорії: вона може бути істинною або неправдивою. Перша означає схожість по апоморфії, виниклої у найближчого предка цієї групи: це, очевидно, відповідає гомогенії. Неправдива синапоморфія - ця схожість в результаті паралельної еволюції або реверсії, відповідає гомоплазії. Іноді виділяється базова, або синапоморфія, що має на увазі: вона відповідає класичній концепції латентної гомології.

Очевидно, це уточнення залежить від конкретної філогенетичної гіпотези. Якщо дві групи, схожі по апоморфії, є сестринськими, їх синапоморфія - істинна. Якщо вони відносяться до різних кладистичних груп, їх синапоморфія - неправдива.

Симплезіоморфна схожість також є гомологічною, але не має такої однозначної інтерпретації, як у попередньому випадку. У одних випадках воно еквівалентне "предковому" схожості, в інших - ця гомопластична схожість між близькими організмами, що виникла в результаті паралельної еволюції (тобто еквівалентно неправдивою синапоморфії). Таким чином, симплезіоморфія - ця гомологічна схожість, яку не можна рахувати гомогенією: це просто "не-гомогенія".

Спосіб вирішення питання про те, чи являється схожість синапо- або симплезіоморфним, залежить від прийнятої схеми філогенетичного аналізу, тобто від того, чи визначається полярність ознак до (пряма схема) або після (непряма схема) кладистической реконструкції. У першому випадку названі категорії схожості встановлюються до проведення кладистического аналізу, що служить умовою його коректності. У другому випадку вони встановлюються апостеріорно в контексті отриманої кладистической гіпотези. Розпізнавання істинної або неправдивої природи синапоморфій за визначенням можливо тільки апостеріорно.

З вищезгаданої взаємноподібності кладо- і сегогенезов виходить, що структура подібних стосунків, в якій ідентифіковані синапо- і симплезіоморфії, організована ієрархічно: її означають як ієрархію синапоморфій. Є формальним представленням служить дерево, що означає (на відміну від кладограмми) як *синапоморфограмма*.

Однією з ключових властивостей цієї ієрархії є збування числа синапоморфій від груп нижчого рангу до вищих: воно мінімальне біля основи синапоморфограмми, яка відповідає досліджуваній групі в цілому. Ця властивість ієрархії синапоморфій відбита в принципі кладистической необмежанності; воно ж служить обґрунтуванням методу зовнішньої групи.

У окрему категорію виділяється аутапоморфія - наявність у термінальної групи унікальної апоморфії. Відповідно, аутплезіоморфією можна рахувати наявність у термінальної групи унікальної плезіоморфії. Ці категорії схожості не визначають жодної голофілетичної групи і тому в кладистичних реконструкціях, строго кажучи, можуть не враховуватися. В той же час, при перекладі кладистичної гіпотези у філогенетичну кількість аутапоморфій може характеризувати рівень просунутості відповідної групи.

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Записати терміни які позначені курсивом.

Контрольні питання:

1. Що таке синапоморфія і симплезіоморфія?
2. Що таке аутапоморфія і апоморфія?
3. Що таке аутплезіоморфія?
4. Що таке гомологія?

Лабораторна робота № 3

Фактологія кладогенетики

Мета роботи: Ознайомитися з фактологією кладогенетики

Філогенетика, як всяка природничонаукова дисципліна, є емпіричною: у своїх дослідження вона виходить з фактів, що відносяться до досліджуваної нею частини об'єктивної реальності.

Завданням філогенетики є реконструкція самого філогенезу, а також (у меншій мірі) умов його протікання. Відповідно, цікавлять відомості і про перший, і про другі. Основною епістемологічною (а тому і

методологічною) проблемою в даному випадку є неодноразово згадувана теза про те, що філогенез безпосередньо неспостережуваний і в експерименті невідтворний. Це вірно і відносно умов протікання філогенезу, що відносяться до дуже віддаванному минулому. Звідси - фундаментальна проблема визначення того, що таке емпіричний (фактологічний) базис філогенетики.

Для філогенетики емпіричну реальність складають дві категорії даних. Одна з них - *різноманітність організмів*, за результатами аналізу якого висувуються гіпотези про їх спорідненість і про історію, що породила їх. Друга - *послідовність геологічних порід*, в яких організми поховані. Ця друга категорія даних у філогенетиці не має самостійного значення: вона осмислена в тій мірі, в якій дозволяє визначити час існування організмів, що характеризуються тими або іншими ознаками.

Таким чином, фактологічний базис філогенетики складає головним чином сукупність властивостей організмів, що дозволяють оцінити схожість і відмінності між а) різними організмами, б) стадіями розвитку і в) частинами одного організму. Інші категорії даних цікаві в тій мірі, в якій вони можуть внести вклад в аналіз цієї схожості і відмінностей, в їх "впорядкування" деяким філогенетически осмисленим способом.

Джерело цієї свідомості - *філогенетичний сигнал*, тобто інформація про історію формування філогенетичного патерну. Емпірично він дан у формі ієрархічно організованої структури подібних стосунків між організмами. Завдання полягає в тому, щоб виявити цю структуру тим або іншим придатним способом. Усі ці способи по суті є різними операціями порівняння, які "вичленяють" в загальному різноманітті окремі філогенетически осмислені факти. За формою вони можуть бути розділені на дві основні категорії.

Одну з них складає власне порівняння, що проводиться самим дослідником. Він є свого роду "посередником" між порівнюваними організмами, його присутність неусувно впливає на результати порівняння.

Цей спосіб виявлення схожості абсолютно переважає у філогенетичних дослідженнях. Інша форма порівняння - "непрямі" експерименти за оцінкою генетичної сумісності організмів. В даному випадку останні як би "порівнюють" себе самі, присутність дослідника проявляється лише в тому, що він задає той істотний параметр, по якому проводиться це "порівняння".

У справжній главі розглянуті основні категорії даних, використовуваних у філогенетичних реконструкціях, - порівняно-морфологічні, палеонтологічні, ембріологічні, деякі інші, а також експериментальні дані. Як і в інших розділах книги, в кожному випадку основна увага приділена не практичним, а методологічним аспектам включення тієї або іншої категорії даних у філогенетичні дослідження. Порушать також питання про способи консервації початкових даних у формі музейних колекцій.

Необхідно підкреслити, що різні категорії даних несуть різний філогенетичний сигнал, який може затухати в одних ситуаціях і бути чітко проявленим в інших. Тому як не існує універсальних методів, так, мабуть, не існує категорій даних і тим більше окремих морфоструктур, які дозволили б проводити філогенетичні реконструкції на єдиній фактологічній основі в розрахунку і на отримання однаково осмислених результатів для будь-якого фрагмента філогенетичного патерну. Кожна з них дозволяє вирішувати більш менш локальні завдання, а невиправдане розширення сфери застосування може призводити до невірних рішень, даючи сильно смещенные оцінки філогенезу.

Проблема коректного визначення сфер додатка тих або інших категорій даних і морфоструктур - одна з серйозних у філогенетиці. Вона вирішується двояким чином. Використання апріорних критеріїв зважування дозволяє шукати єє можливі загальні рішення, заздалегідь приписуючи тим або іншим категоріям даних пріоритет на підставі різного роду міркувань. Так, прибічники екоморфологічного підходу віддають пріоритет функціонально інтерпретованим порівняно-морфологічним даним, генетики - молекулярно-

генетичним даним, палеонтологи наполягають на безумовній необхідності залучення викопних матеріалів.

З іншого боку, ця ж проблема досліджується на емпіричній основі за допомогою методу "проб і помилок". Найчастіше виходить так, що якимсь категоріям даних (морфоструктурам) спочатку приписується велике значення, а потім з'ясовується, що воно перебільшене. В цьому випадку значеність оцінки багато в чому залежить від "чинника часу" і об'єма накопичених даних : чим останніх більше, тим, очевидно, обоснованнее може бути рішення.

Тому, зокрема, для макроморфологічних структур такого роду судження більше осмислені, ніж для молекулярних, просто внаслідок того, що класична морфологія має довгу історію.

З попереднього видно, що проблематика фактології філогенетичних досліджень тісно пов'язана з двома іншими загальними методологічними проблемами. Одна з них - проблема зважування - розглянута вище, інша - проблема комбінування даних - розглядається в справжній главі.

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Визначте роль кладогенетики під час філогенетичних досліджень хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Що таке філогенетичний сигнал?
2. Які категорії філогенетики існують?
3. Що таке кладогенетика?

Лабораторна робота № 4

Палеонтологія

Мета роботи: Ознайомитися з внеском палеонтологічних даних у розвиток філогенетики

Палеонтологічні дані мають у філогенетиці виняткове значення: будучи "прив'язаними" до визначення геологічним породам, вони дають можливість визначати хронологічну послідовність появи організмів, а тим самим - і *філогенетичних подій*. Очевидно, порівняно-морфологічні дані (як вони визначені в попередньому розділі) самі по собі це зробити не дозволяють. Цій категорії даних особливе значення надаються в класичній філогенетиці: вони входять в якості рівноцінної складової в класичну філогенетичну "тріаду": порівняльна анатомія ембріологія палеонтологія. Схоже відношення до палеонтології - у філістике, що цілком зрозуміло: розробляють в основному фахівці з викопних організмів.

Хоча прибічники еволюційної теорії, з посиланням на Ч. Дарвіна, видають палеонтологічні дані за "безперечні свідчення еволюції", насправді це не зовсім так. Палеонтологія зародилася до появи розвиненої еволюційної концепції і немало видатних палеонтологів XIX ст. було антиеволюціоністами. Серед них понад усе відомі, мабуть, Ж. Кювье і Л. Агасси з їх вченням про множинність актів божественного творіння.

З цього видно, що палеонтологічні дані допускають різні трактування їх походження - і еволюційну, і креаціоністську. Строго кажучи, такого роду дані у своїй основі є порівняно-морфологічними. Тому для них справедлива велика частина проблем, розглянутих стосовно головним чином до морфології сучасних організмів. Разом з цим палеонтологічна фактологія має специфіку, що визначає як достоїнства, так і особливу проблематику (Schoch, 1986; Меннер, Макридин, 1988). Ця специфіка полягає, передусім, в тому, що

досліджувані палеонтологами матеріали є копалинами вони поховані в визначених геологічних породах різного віку, який можна тим або іншим способом визначити. Отже, палеонтологічні дані цінні не стільки самі по собі (хоча вони, зрозуміло, розширюють уявлення про біологічну різноманітність), скільки із-за інформації про час існування організмів.

Саме це і визначає специфіку і особливий сенс палеонтологічних даних. Вони дозволяють включати у філогенетичні реконструкції відносний або абсолютний час, "прив'язуючи" існування вимерлих організмів до конкретного періоду в історії Землі.

Сукупність датованих викопних матеріалів складає так званий палеонтологічний літопис. Кожен "локальний" фрагмент літопису утворюється із залишків організмів, що приурочених до наступних один за іншим шарів (стратам) осадових порід і утворюють єдину стратиграфічну послідовність.

З точки зору класичної філогенетики цінність палеонтологічного літопису полягає ще і в тому, що вона дозволяє досліджувати анагенетичну що становить еволюції як тимчасову послідовність появи організмів з тими або іншими морфологічними особливостями.

Так, саме помічена Кюв'є закономірність - підвищення рівня організації вимерлих організмів в напрямі від древніших до пізніших - стала одним з наріжних каменів класичної філогенетики, дозволивши їй дати історичну інтерпретацію "сходам вдосконалення".

Загальною основою для включення палеонтологічних даних у філогенетичні реконструкції класичного толку служить палеонтологічна презумпція, що стверджує, що для групи близькоспоріднених організмів у рамках однієї стратиграфічної послідовності більше ранні форми є предками пізніших, при інших рівних і якщо не доведене зворотнє (Расніцин, 2002, зі змінами).

Виходячи з цього, тимчасові послідовності використовуються у філогенетичних реконструкціях при визначенні а) відношення "предок - нащадок" і б) полярності ознак.

У першому випадку аналізуються стосунки між конкретними групами організмів на основі (хронографічного) методу. Він найчастіше застосовний для аналізу локальних *палеофаун/флор*, склад яких обмежений спорідненими групами (зазвичай невисокого рангу), і має на увазі наступну загальну процедуру. Спочатку задається чітка стратиграфічна адресація порівнюваних вибірок. Потім для кожного тимчасового зрізу проводиться класифікація груп на підставі загальної схожості, виходить щось ніби фенограми. Після цього оцінюється схожість угруповань, що відносяться до найближчих страт, визначаються відповідні зв'язки між ними. При цьому з двох груп, найбільш схожих між собою, та, яка датується більше раннім віком, приймається як предкової. Це тактує результуюче філогенетичне дерево, в якому відбиті як отримана структура подібних стосунків, так і положення досліджуваних організмів в палеонтологічному літописі .

Стратофенетичними за своєю суттю являється підхід, який лежить в основі використання послідовних рядів викопних форм для встановлення гомології структур згідно з критерієм перехідних форм.

При роботі з окремими морфоструктурами, строго кажучи, визначення відношення **"предок - нащадок"** між конкретними організмами не передбачається: оцінюється відношення **"початкове - похідне"** між варіантами будови цієї морфоструктури. При цьому палеонтологічна презентація дає однойменний критерій визначення полярності ознак.

В даному випадку стратиграфічна послідовність залишків організмів з визначеними станами аналізованої морфоструктури переводиться в послідовність модальностей відповідної ознаки: з хронокліни виходить морфокліна.

Можливість реалізації цих загальних схем аналізу залежить від цілого ряду проблем двоякого роду. Одні з них пов'язані з неточністю "записів" в палеонтологічному літописі, інші - з неповнотою викопних залишків. При цьому, чим до більше віддаванній епохам відносяться палеонтологічні дані, тим менше ця можливість із-за накопичення проблем.

Неточність палеонтологічного літопису виникає з наступних головних причин:- недостатня суворість тимчасових датувань окремих складностей. Окрім погрішностей самих датувань, при роботі із стратиграфічними послідовностями доводиться брати до уваги їх локальні порушення під впливом геологічних процесів ("перевідкладення");

- неповнота літопису, що означає існування "пропусків" в якому-небудь фрагменті стратиграфічної послідовності. З одного боку, в ній існують розриви, що не дозволяють з достатньою визначеністю співвідносити один з одним організми з різних складностей. З іншого боку, перша і остання (відоме) поява залишків організмів в цьому літописі не обов'язково співпадає з часом виникнення відповідної групи. Так, однопрохідні ссавці, що напевно відносяться до базальної радіації цього класу (юра, 200-250 млн. років назад), відомі лише починаючи з середньої крейди (100 млн.) - нерівномірність літопису, пов'язана з тим, що для різних організмів і в різних природних зонах вірогідність накопичення викопних залишків дуже різна. Вона вище для тварин і рослин, що мають (у тій або іншій формі) твёрдий скелет, і в тих регіонах, де кліматичні умови роблять розпад тканин організму не занадто швидким, а геологічні умови забезпечують активне накопичення осадових порід. Особливу проблему складає кореляція стратиграфічних послідовностей, що відносяться до різних регіонів, яка використовується в стратофенетике для синхронізації датувань палеогеологій. У процедурі, яку розробляє біостратиграфія, зазвичай використовуються самі палеонтологічні дані: при цьому мається (ще одна "палеонтологічна презумпція") на увазі синхронність існування алохтонних організмів, що відносяться до одного таксона - виду, роду, сімейства.

Очевидно, у рамках філогенетичного підходу це вимагає філогенетичної схеми, що досить пропрацювала, для даних таксонів. Це вводить стратофенетику в досить складну ітеративну процедуру взаємного "узгодження" філогенетичних реконструкцій і біостратиграфічних кореляцій для одних і тих же груп організмів.

Неповнота викопних залишків пов'язана з тим, що не усі частини і тканини організмів однаково успішно переходять у викопний стан. Цей перехід пов'язаний з фосиціалізацією залишків - заміщенням органічних речовин біологічних тканин мінеральними речовинами геологічних порід. При цьому, як зазначено вище, для щільних тканин вірогідність фосилізації вища, ніж м'яких: перші зберігаються у вигляді скам'янілостей (фосілій) або відбитків на осадових породах, другі розкладаються і майже не зберігаються.

До неповноти даної категорії даних слід віднести і виключно рідкісну можливість вивчення онтогенетичних перетворень морфоструктур.

Крім того, доводиться брати до уваги значну велику фрагментованість викопних залишків в порівнянні з сучасними. Із-за швидкого розпаду м'яких тканин, що сполучають між собою щільні утворення, останні при похованні легко розпадаються. В результаті організм виявляється представленим у вигляді незв'язаних між собою окремих фрагментів - наприклад, зубів і окремих елементів скелета у хребетних тварин, відбитків листя і фруктифікацій у рослин.

Тому частенько неможливо однозначно вирішити, відносяться залишки до одного або до різних організмів, більше того - одного або різних близьких видів гомологію морфологічних схожих частин копалин і сучасних організмів: ослаблено значення критерію положення.

Проблему фрагментування частково вирішує метод структурних типів, ґрунтований на принципі типологічних екстраполяцій. Він дозволяє, виходячи із загальних уявлень про те, як може (чи повинен) бути "влаштований" той або інший організм, об'єднувати розрізнені залишки в єдине ціле - тобто реконструювати не конкретний організм, а деякий його структурний тип. Це відповідає архітектонічному аспекту дослідження, загальні принципи якого розробляє конструктивна морфологія.

Небезпека тут в тому, що в цей тип можна включити елементи, між собою з тих або інших причин непоєднані. На це звертав особливу увагу **Ж. Кюв'є**: на підставі вивчення сучасних хребетних тварин він розробив

принцип кореляції частин, що встановлює певну відповідність між різними частинами їх тіла і органами і накладає заборони на деякі їх поєднання. Як зараз очевидно, ці відповідності мають імовірнісний характер, тобто виконуються не завжди.

Очевидно, визначення структурного типу буде тим правдоподібніше, чим достовірніше покладені в його основу уявлення про копалину, що реконструюється, організмі як цілому. Із зрозумілих причин ця умова виконується акуратніше, якщо цей організм може бути співвідносним з близькими до нього нині існуючими. Це примушує палеонтологів вводити у свої дослідження принцип актуалізму (С.В. Мейен), додатковий принципу історизму: він стверджує, що для розуміння морфології викопних організмів вони мають бути співвіднесені з сучасними. Воно вказує на деяку "несамостійність" палеонтологічних даних як джерела відомостей про філогенез тієї або іншої групи організмів.

Ця обставина вносить специфічну історичну необмежанність в можливості філогенетичної інтерпретації цих даних: у міру збільшення тимчасової дистанції між формами знижується надійність їх безпосереднього співвідношення як проявів одного і того ж структурного типу. С.В. Мейен (1984) позначив це (у дещо інших термінах) як позитивну кореляцію між різницею у віці і морфологічною специфікою організмів : чим більше різниці, тим більше і специфіка.

Отже, чим далі в палеонтологічному літописі рознесені залишки порівнюваних організмів, тим з меншою надійністю в їх схожості можна виявити філогенетичний сигнал.

Неповнота палеонтологічних даних в порівнянні з неонтологічними (сучасними) нерідко робить їх пряме зіставлення дуже проблематичним. Якщо віддання перевазі над віддається першими, доводиться жертвувати багатьма ознаками, доступними при роботі лише з сучасними організмами. У протилежному випадку доводиться вирішувати задачу спільного аналізу представників досліджуваної групи з різним набором ознак.

В силу підсумовування ознак одна з проблем тут - чисельне переважанням "рецентних" ознак над "фосильними", внаслідок чого гіпотези, ґрунтовані на неонтологічному матеріалі, можуть істотно відрізнятися від тих, які висуваються на підставі палеонтологічних даних.

Один з прикладів - новітня спроба обґрунтування монофілії групи *Homeotherma* (птахи ссавці) посиланням на фізіологічні ознаки: при формальному кількісному аналізі вони "поглинули" свідчення палеонтології про приналежність птахів до рептилійної кладі архозавров (Gardiner, 1982).

Очевидно, такого роду завдання в загальному випадку вирішуються з урахуванням співвідношення доступних для аналізу сучасних і викопних форм. Якщо переважають перші, філогенетичну реконструкцію слід засновувати на їх порівнянні, "вписуючи" у філогенетичне дерево викопні форми і при необхідності коригуючи його. Якщо переважають другі, ця реконструкція має бути орієнтована головним чином на палеонтологічні дані, а сучасні форми враховуються в міру можливості.

Зважаючи на усі проблеми, пов'язані із співвідношенням викопних форм з сучасними, в "новій" філогенетиці геохронологічні датування не вважаються обов'язковою категорією даних при порівнянні викопних форм різного віку як між собою, так і з рецентними представниками. Відповідно, палеонтології надається другорядне значення.

Ідеологічну підставу цього забезпечує кладистика: концепція сестринських груп виключає з розгляду абсолютний час, без чого аналіз даних з урахуванням їх геохронологічних датувань втрачає сенс. Тому в кладистическом аналізі усім сучасним і викопним формам привласнюється загальний статус термінальних груп.

Виключення тимчасових датувань з числа початкових умов філогенетичних реконструкцій дозволяє використати їх на апостеріорній основі для оцінки спроможності кладистической гіпотези. Для цього розробляється підхід, що дістав назву стратокладистика: його завданням є оцінка міри збігу двох послідовностей - гіпотезуємих кладистичних подій (=

вузлів галуження кладограмми) і появи фосилій в палеонтологічному літописі.

Спочатку цей підхід був запропонований як свого роду аналог вищезгаданої стратофенетики, тобто припускав включення стратиграфічних даних у філогенетичні реконструкції із залученням методів кладистики. Нині він використовується в іншому сенсі: ці дані включаються в аналіз після отримання клади стичної гіпотези. Це дозволяє а) тестувати названу гіпотезу добре відомою палеонтологією або б) виявляти можливі пропуски в самому палеонтологічному літописі, якщо вона істотно бідна даними: наприклад, якщо для древньої групи число викопних форм багато менше, ніж сучасних. Генофілетика вирішує проблему непорівнянності сучасних і викопних форм цілком прагматично. Стверджується, що якщо молекулярні дані для викопних організмів найчастіше недоступні, ці організми не слід включати у філогенетичні реконструкції. Проте цей заклик різко обмежує можливості філогенетичних досліджень.

Дійсно, сучасна таксономічна різноманітність, як вже відмічено в розділі складає лише біля 1 загального його об'єму, породженого біологічною еволюцією упродовж декількох мільярдів років історії життя на Землі. Таким чином, обмеження філогенетичних реконструкцій тільки сучасними формами робить принципово неможливим побудова єдиного "Дерева життя" для усіх організмів, коли або що існували на планеті.

Крім того, без палеонтологічних даних принципово неможливо зв'язувати встановлені послідовності філогенетичних подій з абсолютною тимчасовою шкалою. З усього цього видно, що без звернення до палеонтології всяка філогенетична реконструкція залишатиметься істотно неповною.

Завдання1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Навести приклади палеонтологічних знахідок хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Що вивчає наука палеонтологія?
2. Що таке генофілетика?
3. Який внесок палеонтології у розвитку філогенетики?

Лабораторна робота № 5

Загальна класифікація методів філогенетики

Мета роботи: Ознайомитися основними методами філогенетики

Класифікації методів, як і всякі класифікації, дозволяють упорядкувати їх різноманітність для того, щоб виявити як загальні, так і специфічні для різних методів проблеми методологічного характеру.

Підстави для розробки такого роду класифікацій можуть бути досить різними. Наприклад, за вихідну позицію можна брати не техніку філогенетичних реконструкцій, а характер початкових даних. На цій підставі Л.П. Татаринів (1976), наприклад, розділяє методи філогенетики на **генотипічні, фенотипічні і екстрасоматичні.**

З точки зору методології, методи філогенетичних досліджень представляється розумним ділити передусім на **загальні і приватні.**

Загальні методи визначають основні принципи аналізу даних і їх філогенетичної інтерпретації. Фундаментальною проблемою є неодноразово підкреслення спостереження і невідтворюваність об'єктів дослідження - ні процесу філогенезу, ні філогенетичних груп. У своїм розпорядженні філогенетик має лише в тому або іншому вигляді представлені окремі екземпляри або (набагато частіше) їх залишки. Він їх описує або піддає

деяким експериментам і потім порівнює між собою результати опису і експериментування, роблячи на підставі порівнянь укладення про можливі шляхи філогенезу.

Відповідно, філогенетика спирається на наступні загальні методи:

- *описовий метод* обґрунтовує коректні умови аналізу фактичних даних, раніше усього виділення ознак;
- *експериментальний метод* має у філогенетиці свою специфіку, пов'язану з невідтворюваністю філогенезу. Тому для цієї дисципліни актуальний метод не прямого, а непрямого експерименту по виявленню генетичної сумісності організмів;
- *порівняно-історичний метод*, що обґрунтовує коректні умови філогенетичної інтерпретації результатів опису і експериментування.

За допомогою приватних методів проводяться конкретні філогенетичні дослідження. За характером вживаних алгоритмів вони можуть бути *якісними* або *кількісними*. У сучасній філогенетиці найбільш популярні другі: розвивається ціла "індустрія" по виробництву кількісних алгоритмів і комп'ютерних програм, що реалізують їх. По тому, на якому етапі філогенетичної реконструкції застосовуються приватні методи, їх можна розділяти на:

- *методи аналізу початкових даних, в першу чергу їх первинна обробка. До їх числа відносяться, наприклад, методи анатомічного препарування, секвенування нуклеотидних послідовностей. Сюди ж можна віднести тільки що згадані експериментальні методи;*
- *методи аналізу ознак, передусім їх вичленення, філогенетична інтерпретація;*
- *методи виявлення груп організмів на підставі оцінки їх схожості/відмінності;*
- *методи розробки філогенетичних схем на основі результатів порівнянь і експериментів, які можуть бути зведені до побудови філогенетичних дерев. По суті це відповідає етапу висунення гіпотези про філогенез;*

- *методи тестування філогенетичної гіпотези.*

Методологічні проблеми, що розглядаються в кожній з цих груп методів, досить специфічні, якщо специфічні вирішувані на кожному етапі завдання. Так, для методів другої групи основні проблеми - обґрунтування критеріїв гомології і визначення полярності ознак.

При виявленні груп організмів вирішуються дві ключові проблеми - розробки філогенетичних заможних алгоритмів оцінки схожості і інтерпретація останнього в термінах спорідненості.

На наступному етапі ключову методологічну проблему складає обґрунтування філогенетичних заможних алгоритмів побудови дерев.

В той же час, усі ці проблеми, що відносяться до різних груп методів, взаємозалежні, оскільки від конкретних результатів, отриманих на кожному етапі, залежить коректність результатів наступного етапу. Так, невірна гомологізація ознак несе за собою невірну оцінку спорідненості між організмами на підставі аналізу їх схожості. Отже, методологічні проблеми філогенетичних реконструкцій повинні вирішуватися в загальному контексті.

Наприклад, обґрунтування методів (принципів, критеріїв) гомологізації має бути погоджене з обґрунтуванням методів (принципів) переходу від схожості до спорідненості. Однією з можливих форм такого узгодження є розробка, виходячи із загальних підстав (у такій якості виступає базова модель кладогенеза, концепцій генеалогічної спорідненості, гомогенії і синапоморфії).

Порівняно-історичний метод

Всяке дослідження, предметною областю якого є деяка різноманітність об'єктів, розпочинається з порівняння цих об'єктів між собою. На його основі складаються уявлення про структуру їх різноманітності, виявляються їх загальні і специфічні властивості і розробляється класифікація цих об'єктів. Ключовим елементом порівняння є встановлення стосунків гомології і

аналогії між властивостями, по яких розпізнаються і виділяються групи порівнюваних об'єктів.

Отримана тим або іншим способом класифікація стає свого роду описовою моделлю різноманітності, що вивчається, яка потім розглядається в контексті тих або інших причинно-наслідкових стосунків. Ці стосунки складаються в каузальну модель, що містить вказівку на причини виникнення цієї структури різноманітності.

Операція порівняння складає зміст порівняльного методу, що розуміється в найширшому сенсі, - тобто як методології. З формальної точки зору він має очевидний пріоритет перед будь-якими іншими методами дослідження (хіба що окрім описового). Проте це не означає його незалежності від початкових умов.

Дійсно, всяке дослідження здійснюється у рамках деякої дослідницької програми, яка задають аспект розгляду. Він зобов'язує звертати увагу на властивості об'єктів, істотні з точки зору теми дослідження, і ігнорувати інші властивості. Таким чином, змістовно осмисленим результатом операції порівняння (тим самим і саму цю операцію) робить аспект розгляду, який в даному випадку тотожного аспекту порівняння.

У рамках еволюційної парадигми названий аспект включає загальні уявлення про історичні причини, що породили досліджувану різноманітність. Це дозволяє підкреслити фундаментальність для історичних дисциплін загального підходу, що називається порівняно-історичним методом; у філогенетиці він дістав назву порівняно-філогенетичного (Funk, Brooks, 1990).

Його двоїстість означає, що історична аргументація "вбудована" в порівняльну як спосіб формування аспекту порівняння : жодна з них не пріоритетна, але обоє рівноцінні, виконуючи рівнозначні функції в ітеративній процедурі порівняно-історичного аналізу. Загальний сенс історичної складової методу - у введенні "стріли часу", задаючої деяку переважну точку відрахунку в "прочитанні" морфологічної різноманітності.

Її реалізує, наприклад, філогенетичний контекст, в якому розглядається досліджувана група : з його допомогою фіксується початкова кладистическое подія для цієї групи . Вказівка на історію привносить специфічний акцент до розуміння і того, що таке гомологія: вона початково отримує філогенетичну інтерпретацію.

У ході реконструкція філогенезу деякої групи організмів шукаються відповіді на наступні питання (по Мейєну, 1984, зі змінами) : - "що"?: необхідно визначити сам об'єкт дослідження і його "місце" йому подібних. У філогенетиці мова йде про розпізнавання групи організмів, заданої визначеним філогенетичним контекстом; - "який"?: необхідно визначити властивості цієї групи, які підлягають дослідженню. Такі а) структура різноманітності, інтерпретована як філогенетичний патерн, і б) деяка сукупність ознак, що дозволяють виявити цю структуру; - "коли"?: необхідно визначити тимчасову послідовність виникнення названих властивостей об'єкту. У даному випадку така філогенетична історія (= філогенез), що розкладається на дві складові - кладогенетичну і сегогенетичну.

Порівняння розглядається як операційна основа для вироблення суджень про різноманітність проявів об'єкту дослідження: це порівняльна частина загального порівняно-історичного методу. В ході порівняння шукаються відповіді на питання "що"? і "який"?, в даному випадку керівним служить принцип типологічних екстраполяцій (Мейєн, 1984).

Згідно з цим принципом, в досліджуваній різноманітності організмів виявляється деяка структура: воно "класифікується". При цьому на підставі одиничних спостережень над окремими організмами виводяться судження про властивості їх груп (звідси - екстраполяції). Очевидно, ці судження являються в тій чи іншій мірі приближеними, особливо якщо торкаються груп високого рангу - квіткових рослин, хребетних тварин і тому подібне

Вони деталізуються у міру накопичення даних і зведення рівня досліджень від вищих до нижчих: загальні риси пологів одного сімейства виявляються більше чітко, ніж загонів одного класу.

По сенсу з названим принципом перекликається метод структурних типів (Татаринов, 1976), згідно з яким при аналізі родинних стосунків між групами організмів до уваги беруться їх "типові" (істотні, архетипічні) властивості.

Одним з аспектів порядку, що виявляється, є ряди перетворень морфоструктур - рефрени. У чисто порівняльному аспекті вони є логічно можливими перетвореннями. З точки зору філогенетики вони мають бути флогенетичні інтерпретовані. Це означає, що рефрени розглядаються як можливі шляхи історичного перетворення морфоструктур, серед яких мають бути виявлені дійсно реалізовані, тобто сегогенези.

Саму можливість такої інтерпретації забезпечує принцип історизму, що реалізовує історичний стиль мислення і становить історичну компоненту порівняно-історичного методу. Він зобов'язує різноманітність організмів інтерпретувати як наслідок їх історії, вводячи результати їх порівняння в історичний контекст. Останній означає, що ряди перетворень морфоструктур (морфокліни) мають бути інтерпретовані як тимчасові (хронокліни), елементи кожного з яких пов'язані причинно-наслідковими стосунками: попередній елемент є однією з причин подальшого.

Історична частина методу відповідальна за пошуки відповіді на питання "коли"?. Можливість відповіді на нього забезпечує принцип процесуальних реконструкцій, який служить сполучною ланкою між принципами екстраполяцій і історизму. У його основі лежить усвідомлення двох важливих обставин : а) історична послідовність як така неспостережувана і б) замість неї нам дані "тимчасові зрізи", які ми сполучаємо в деякий ряд і інтерпретуємо його як послідовність подій одного процесу - тобто як часовий ряд. При вивченні індивідуального розвитку цей ряд - послідовність стадій онтогенезу; при вивченні історії - послідовність стадій філогенезу. Французький мислитель А.Бергсон такого роду реконструкцію уподібнив склеюванню кінематографічної стрічки з окремих кадрів, що дало привід назвати цей принцип його ім'ям - принцип Бергсона

(Мейен, 1984). Він майже в "чистому виді" реалізований в так званому стратофенетическом методі філогенетичних реконструкцій; іноді його називають хронографічним.

З точки зору гіпотетико-дедуктивної схеми аргументації, акти порівняння виявляються змістовно осмисленими (і тому філогенетично спроможними) в визначеному історичному контексті. Так, в структурі різноманітності можна виділити кладогенетическую складову лише у тому випадку, якщо апріорі визначена концепція кладогенеза. В даному випадку керівним є принцип філогенетичної відповідності.

У рамках порівняно-історичного методу, що реалізовується у філогенетиці, можна виділити три загальні підходи, що припускають різний характер осмислення даних і, відповідно, різні процедури їх аналізу.

Типологічний аналіз спрямований на виявлення груп організмів, що характеризуються визначеними істотними (з тієї або іншої точки зору) ознаками. У типології ці ознаки характеризують архетипи груп, що виділяються, інші ж складають їх стилі (Любарский, 1996). Відповідно, схожість трактується як неаддивное, якщо різні ознаки дають в нього різний вклад. Відсилання виключно до архітипу робить типологічний аналіз строго порівняльним.

У класичній філогенетиці істотні ознаки відбивають деякі адаптивні сутності цих груп : їх пошук робить типологічний аналіз еволюційно інтерпретованим. У відомому сенсі класична філогенетика є "філогенетичною типологією".

Фенетический аналіз ґрунтований на ідеї загальної схожості, вклад в який різних ознак рівноцінний: вони не діляться на істотні і несуттєві. Тому загальна схожість, якою оперує фенетика, є аддитивною. Остання обставина дозволяє реалізувати фенетический метод у формі кількісних алгоритмів. Що розуміється в широкому сенсі, цей метод є одним з основних в молекулярній філогенетиці, де результати порівняння організмів інтерпретуються на основі формули "загальна схожість = спорідненість".

Останнє, проте, не гарантує коректного "вбудовування" історичної складової в порівняльний метод: умови для цього розробляються у рамках кладистического аналізу.

Кладистичний аналіз є досить формалізованим підходом, ключова особливість якого - специфічне зважування схожості (принцип синапоморфії), сумісне і з типологічною, і з фенетическою інтерпретаціями ознак. Як частину філогенетики, він спочатку є історично інтерпретованим, оскільки принципи, що розробляються в його рамках, і методи явним чином виводяться з деякої еволюційної моделі (Wiley, 1981; Павлінов, 1990).

Тому цей підхід повною мірою можна вважати порівняно-історичним. Його ключові методологічні позиції використовуються у більшості сучасних філогенетичних реконструкцій, вони складають основу "нової" філогенетики.

У загальній схемі порівняно-історичного аналізу особливе місце займає використовуваний у філогенетиці метод непрямого експерименту. В даному випадку порівнюються між собою не організми (чи їх залишки) як такі, а результати оцінки їх взаємної генетичної сумісності.

Одна з найважливіших особливостей як порівняльного, так і порівняно-історичного аналізу - його ітеративний характер. Він реалізований в методі послідовних наближень, "Розчленування" процедури дослідження, що означає, на послідовні кроки ітерації. На кожному кроці встановлюються характеристики лише якогось однієї з властивостей (аспектів) досліджуваного різноманіття, інші ж фіксуються як деяка "даність", причому на кожному подальшому кроці ці властивості (аспекти) міняються місцями. Завдяки цьому виявляється можливим зі все більшою обґрунтованістю і суворістю розпізнавати шукані властивості в досліджуваній різноманітності організмів, уточнювати їх характеристики.

Прикладом може служити історичний розвиток загального розуміння філогенезу і способів його представлення. Спочатку він мислився як лінійний однонаправлений процес (номогенез як інтерпретація "сходів вдосконалення". Накопичення порівняльних даних і детальніший їх аналіз

привели до дивергентної моделі філогенетичного розвитку. На її основі були уточнені уявлення про гомологію (введені поняття гомогенії і гомоплазії), що дозволило зробити строгішим поняття монофілії (розділені голо- і парафілія).

У зв'язку з цим була уточнена модель філогенезу як кладогенезу, що спричинило перебудову уявлень про структуру різноманітності. Нині кладогенетика знаходиться на тому кроці ітерації, коли загальні уявлення про філогенез і принципи його дослідження вважаються досить сталими: вони служать основою для виявлення ієрархії кладистических груп як ключового елемента названого патерну.

Очевидно, на наступному кроці ітерації порівняно-історичного аналізу різноманіття живих організмів у міру виявлення цієї ієрархії уточнюватиметься модель філогенезу. Метод послідовних наближень має досить загальне значення. Він дозволяє вважати неспроможним нерідко протиставлення тих або інших альтернативних аспектів розгляду - порівняльного і історичного, структурного і функціонального і тому подібне. Насправді повинно йтися про уміння правильно визначати співвідношення між ними, щоб коректно вибудовувати порівняно-історичне дослідження.

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Навести приклади які методи філогенетики використовувалися для вивчення хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. В чому заключається порівняльний метод?
2. В чому заключається порівняльно-історичний метод?
3. Особливості кладистичного аналізу.
4. Основні методи філогенетики.

Лабораторна робота №6

Загальна схема кладогенетичного дослідження

Формально кажучи, філогенетична реконструкція є деякою пошуковою процедурою, основне завдання якої полягає в тому, щоб дати для невідомого параметра - *філогенезу* - найкращою (оптимальну, мінімально зміщеною) оцінкою - *філогенетичне дерево* - на основі обмеженої інформації про нього, закладену в ознаки.

Загальна схема філогенетичної реконструкції припускає, що у більшості випадків судження про історію виводяться з аналізу спорідненості, а судження про спорідненість - з аналізу схожості, а судження про спорідненість - з аналізу схожості, яке оцінюється за результатами аналізу ознак. Це дозволяє представити загальну схему таким чином: ознаки > схожість > спорідненість > історія.

З неї видно, що найчастіше основою для розробки гіпотези про *кладогенез* завжди служать гіпотези про *семогенез* (за винятком методів "експериментальної" філогенетики. Ці останні можуть бути задані у більш менш сильній формі, що і визнає різноманітність підходів у рамках вказаної схеми.

Початкові умови

Філогенетична реконструкція здійснюється у рамках визначеної пізнавальної ситуації. Одним з ключових елементів є система початкових допущень про те, що підлягає *реконструкції*. Вони задають початкові умови реконструкції, що проводиться, визначаючи змістовний *контекст*. Останній включає декілька компонент.

Еволюційний *контекст* задається базовою еволюційною моделлю. Зміст останнього визначається тим, які допущення онтологічного і епістемологічного толку, що приймаються в явній або неявній формі

дослідником. Від цього залежить характер інтерпретації ознак, вибір конкретної базової схеми і реалізовуючих методів дослідження. Так, *квази-детермінована* модель робить осмисленими апіорні допущення про характер еволюції хоч би деяких морфоструктур. Це дозволяє представляти їх у формі кладистических ознак з визначеною полярністю і тактують можливість звертатися до прямої схеми кладистичного аналізу. На відміну від цього, стохастична модель, що не накладає ніяких обмежень на еволюцію морфоструктур, не дозволяє розпочинати реконструкцію з визначення полярності ознак. Тому кладистичний аналіз у рамках цієї моделі проводиться за непрямою схемою.

Філогенетичний контекст задається визначенням об'єкту дослідження - деякої групи організмів, відносно якої приймаються допущення (презумпції) про те, що:

- а) уся досліджувана група є *монофілетичною*. Мається на увазі, що для поліфелітичних груп розробка гіпотези про кладогенез не представляє змістовного інтересу (це обмеження не актуально у рамках *анагенетики*;
- б) елементарні одиниці порівняння (термінальні групи), що становлять досліджувану групу, також є *монофілетичними*. Так, безглуздо реконструювати кладогенез для групи, в якій в якості одиниць порівняння фігурують життєві форми (це обмеження не актуальне для сегогенетичних досліджень;
- в) найближчі родинні зв'язки досліджуваної групи визначені коректно. Зокрема, це означає правильний вибір зовнішньої групи, від чого багато в чому залежать результати кладистичного аналізу що проводиться за непрямою схемою.

З цього видно, що до числа початкових умов цього дослідження входять результати попередніх реконструкцій, в яких показаний монофілетичний статус усієї досліджуваної групи і термінальних груп в її складі. Вони так чи інакше впливають на формування філогенетичного контексту реконструкції, що проводиться, а тим самим частково і на її результати.

Мерономічний контекст визначається набором критеріїв, на підставі яких вибираються морфоструктури (у широкому сенсі), встановлюється їх гомологія, вичленяють ознаки.

У число початкових умов входить також **вибірка**, з якою реально має справу дослідник. З методологічної точки зору можна розглядати як модель досліджуваного фрагмента філогенетичного патерну. Очевидно, від адекватності цієї "моделі" (репрезентативності вибірки) багато в чому залежить точність філогенетичної реконструкції, що розробляється на основі.

Формування вибірки

Всяке дослідження у філогенетиці базується на *аналізі вибірки* - деякій сукупності елементарних одиниць порівняння (далі неділимих груп організмів) і ознак, що характеризують їх.

Як відмічено в попередньому розділі, вибірку можна трактувати як модель досліджуваного фрагмента *філогенетичного патерну*. Адекватність вибірки цього фрагменту забезпечується повнотою, що має два аспекти, - **таксономічний** і **мерономічний**. Це означає, що вибірка має бути повна відносно як груп організмів, так і ознак, що характеризують їх. Чим менш повна вибірка, тим більше зміщена може бути оцінка філогенезу. Це зазвичай позначається як помилка вибірки.

В кладогенетиці умову повноти посилюється вимогою, щоб досліджувана група була **монофілетичною**. При цьому мається на увазі, що для парафілетичної групи кладистичний аналіз проводити не цілком коректно: можна вважати, що зростає вірогідність отримання зміщення оцінки кладогенеза.

У ідеалі, у вибірці досліджувана монофілетична група має бути представлена в повному об'ємі. Очевидно, ця вимога в загальному випадку нереалістично: для переважної більшості надвидових груп їх повний склад невідомий, так що будь-яка вибірка, що представляє їх, свідомо *неповна*. Це

робить всяку досліджувану групу свідомо парафілетичною, а помилку вибірки - свідомо неминучою.

Група може вважатися монофілетичною, а вибірка повної, якщо в неї в якості елементарних одиниць порівняння включені усі відомі представники цієї групи, приурочені до цього тимчасового інтервалу. Додаткового уточнення, що також відповідає умові конструктивності, вимагає (використовуючи термінологію систематики) ранг термінальних груп. У загальному випадку він ніяк не фіксований і визначається виходячи з рангу досліджуваної групи в цілому. Так, якщо реконструюється філогенез для класу, елементарними одиницями можуть бути **загони або сімейства**.

Проблема повноти вибірки відносно ознак - одна з найбільш важливих у **філогенетиці**. Суть її в тому, що число ознак, якими може бути охарактеризований будь-який організм, нескінченно велике; найчастіше оперують нікчемною долею цього числа. Тому саме поняття повноти відносно вибірки ознак, очевидно, не цілком конструктивно: точним можна рахувати поняття **достатності**. Вибірка характеризується **складом, об'ємом і структурою**. *Склад вибірки* - це конкретний перелік термінальних груп і їх ознак; *об'єм* - їх загальне число. *Структура* вибірки задається "знизу" і "згори". У першому випадку мається на увазі співвідношення рангів термінальних груп (вони не обов'язково мають бути однаковими), в другому - співвідношення між досліджуваною і зовнішньою групами. Для першої реконструюється філогенез, друга служить одним із засобів цієї реконструкції.

У математичній статистиці адекватним представленням генеральної сукупності вважається випадкова вибірка: саме це дозволяє вважати, що її аналіз тактує не зміщену оцінку досліджуваних параметрів генеральної сукупності. Для філогенетики ця умова навряд чи коректно. Як таксони, так і особливо ознаки включаються у вибірку на свідомо невипадковій основі, причом між вибором тих і інших є визначений зв'язок. *Умови вибору* задаються контекстом тієї дослідницької програми, в якій проводиться

дослідження, і вимогами цієї школи. Так, палеонтолог більше уваги приділяє викопним групам, а неонтолог - сучасним. Для прибічника морфофункціонального напрямку найцікавіші організми, в яких понад усе втілена "адаптивна суть" групи, до якої вони відносяться. У генофілетиці вибір об'єктів визначається їх доступністю для узяття проб ДНК : найчастіше такими виявляються тварини і рослини, що мають яке-небудь значення для людини.

Включення тих або інших ознак у вибірку залежить багато в чому від того, яка схема *аргументації* покладена в основу філогенетичної реконструкції.

Індуктивна схема вимагає включення в аналіз як можна більшого числа початкових даних, що сполучаються в єдиній філогенетичній гіпотезі. На цій підставі вважається доцільним включення в реконструкцію усієї доступної на момент проведення інформації. Цим обґрунтовується збільшення числа ознак: чим їх більше використано, тим надійніше вважається реконструкція філогенезу.

Ця загалом фенетична ідея особливо активно підтримується більшістю прибічників генофілетики; виключення робиться, мабуть, лише для занадто лабільних послідовностей, які не включаються в аналіз.

Гіпотетико-дедуктивна схема стверджує, що такий підхід робить філогенетичну гіпотезу слабо тестованою. Для підвищення тестування ця гіпотеза має бути "економною", тобто базуватися на мінімальному числі початкових допущень. Відносно ознак це означає, що у філогенетичну реконструкцію слід включати такі ознаки, які не переобтяжені апріорними допущеннями про характер еволюції відповідних морфоструктур.

У рамках тільки що названої схеми ознаки, що включаються у вибірку, мають бути взаємно незалежні: інакше вони вважаються простими "тавтологіями", а не різними свідченнями про кладогенез. Виконання цієї умови складає важливу методологічну проблему: причина в тому, що повна незалежність ознак теоретично неможлива. З одного боку, якщо ознаки

співвідносяться з якими-небудь морфоструктурами, вони в тому або іншому ступені залежні в силу цілісності організму (яка, втім, іноді перебільшується).

З іншого боку, якщо ознаки співвідносяться з сегогенезами, то вони залежні в тій мірі, в якій сегогенези взаємоподібні. При цьому слід підкреслити, що саме взаємоподібність сегогенезів тактує основа вважати, що філогенез реконструюємо: це допущення лежить в основі критерію сумісності ознак як однієї з умов їх вибору для філогенетичної реконструкції.

При виборі ознак доводиться приймати в розрахунок і такі "низькі матерії", як фінансові і тимчасові витрати на отримання відповідних даних. Все це актуально в першу чергу для молекулярно-генетичних структур; але і отримання відомостей по палеонтології і ембріології організмів також буває дуже скрутне і тому витратний.

Можливість включення в одну вибірку ознак, що відносяться до різних категорій даних, складає окрему проблему. Взагалі кажучи, це не заборонено, але методологічно сама проблема досліджена недостатньо. Сучасні комп'ютерні програми роблять можливим маніпулювання складом і об'ємом вибірки; деякі методи включають маніпулювання в якості обов'язкового елемента (наприклад, **бутстреп**). Включаючи в аналіз і виключаючи з нього ті або інші групи і ознаки, можна досліджувати стійкість як філогенетичного дерева в цілому, так і окремих його фрагментів. У нумеричні філетиці стійкість інтерпретується як один з критеріїв надійності, обґрунтованості філогенетичної реконструкції.

Формальним представленням досліджуваної вибірки початкових даних, що робить, придатною для кількісного аналізу, являється *таксон-признакова* матриця; вона ж - **матриця** даних. *Рядки* в ній відповідають термінальним групам, *стовпці* - ознакам, осередку - модальності цієї ознаки для цієї термінальної групи. У методах, що використовують еволюційні моделі ознак, ця матриця доповнена *матрицею вірогідності*, відповідних поступаючим еволюційним трендам.

Аналіз ознак

Цей етап філогенетичної реконструкції - один з найбільш відповідальних: від нього багато в чому залежить кінцевий результат. Причина досить очевидна: якщо про спорідненість ми судимо по схожості, а схожість оцінюємо на підставі аналізу спільності властивостей, відображених в ознаках, то саме в останніх закладена значна частина тієї початкової інформації, яка за допомогою тих або інших маніпуляцій "перетворюється" на філогенетичну гіпотезу.

Аналіз ознак передбачає рішення низки ключових запитань, що стосуються способу представлення різноманітності тій або іншій морфоструктури в ознаці з його модальностями.

Ключовим моментом є формування *признакового дерева*. Сюди відносяться наступні основні етапи. Визначення модальностей ознак ґрунтується виходячи як з характеру самих даних, так і з методології дослідження. Так, при описі первинної структури ДНК ознака, що відповідає визначеному сайту, може бути тільки бімодальним, відповідним заміщенням підстав А-Т і Г-Ц. У морфології, якщо ознака відповідає, наприклад, кінцівки хребетного, модальності відповідають варіантам будови, так що їх число може бути досить великим.

У першому випадку ознакам приписуються значення вагової функції до проведення реконструкції на підставі критеріїв. У інших випадках ознаки зважуються в ході реконструкції для підвищення визначеності результатів. Якщо у різних ознак виділено різне число модальностей, то щоб уникнути "непрямого" зважування ознаки стандартизують.

Побудова признакового дерева завершується його перекладом в цифрову або буквену форму. Після цього ознаки вводяться у вищезгадану таксон-признакову матрицю.

Більшість комп'ютерних програм допускають наявність "пропусків" в цій матриці, які можуть бути двоякого роду. Одні з них означають відсутність відомостей про структуру для цієї термінальної групи, інші - відсутність самої структури. Наприклад, у однієї комахи можуть бути невідомі деталі жилкування крила через те, що пошкоджений екземпляр; у іншої комахи просто не може бути жилкування крила, тому що воно безкриле. Формальне розпізнавання двох цих ситуацій доки складає серйозну проблему в дослідженнях, орієнтованих на макроморфологічні дані. У генофілетиці аналогом є вирівнювання фрагментів нуклеотидних послідовностей з відсутніми підставами (делеціями).

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Написати яка вибірка повинна бути при дослідженні хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Які початкові умови створюються для проведення кладистичного аналізу?
2. Як сформувати вибірку?
3. Як проводити аналіз ознак?

Лабораторна робота № 7

Комп'ютерне моделювання

Мета роботи: Ознайомитися з основними програмами комп'ютерного моделювання філогенезів.

Неможливість прямого спостереження реальних філогенезів і експериментування з ними частково компенсується їх комп'ютерним

моделюванням, ґрунтованому на розробці моделей симуляцій. В даному випадку мається на увазі робота комп'ютерних програм, які породжують ланцюжки подій, що галузяться, імітують процес філогенезу. Результати цього "процесу" - віртуальні дерева і структура різноманітності, які по тих або інших параметрам можна порівнювати з реальними, тобто з отриманими на підставі аналізу конкретних даних.

Закони породження цих ланцюжків утворюють сукупність параметрів моделі. Їх можна варіювати, досліджуючи залежність результатів від тих або інших окремих значень параметрів. Так, можна "запускати" філогенез як марківський процес або ставити кожен подію у більш менш сильну залежність від передуючих

Крім того, можна задавати параметри, що відповідають зовнішньому середовищу, моделюючи відбір різної міри жорсткості, поява або зникнення адаптивних зон і тому подібне.

За допомогою такого роду моделей можна вирішувати наступні завдання, що мають відношення до предмета філогенетики. Передусім, можна генерувати деяку кількість випадкових дерев і за допомогою аналізу їх форми визначати щось на зразок довірчого інтервалу для імовірнісної оцінки довжин гілок реальних дерев.

Основні комп'ютерні програми

Кількісні методи кладистического аналізу (у широкому сенсі) реалізовані в комп'ютерних програмах, яких нині налічується більше сотні. Одні з них - передусім **PAUP**, **PHYLIP** - широкого спектру дії, інші призначені для вирішення вузького класу завдань : такі головним чином численні програми для молекулярної філогенетики. Багато хто з цих програм знаходиться у вільному доступі в інтернеті. У справжньому розділі коротко охарактеризовані найбільш значні і популярні програмні продукти (перераховані в алфавітному порядку).

C.A.F.C.A. призначена для аналізу якісних морфологічних ознак, реалізує метод сумісності.

COMPONENT призначена головним чином для порівняння дерев, побудованих в інших програмах. Дозволяє проводити кладо-географічний аналіз, досліджувати коэволюцію хазяїв і паразитів.

Hennig86 - невелика, досить швидка, призначена для аналізу якісних ознак, реалізує метод парсимонии, дозволяє зважувати ознаки, забезпечена мінімальними можливостями редагування дерев. На її основі зроблена програма, призначена головним чином для роботи з великими масивами генетичних даних.

MaCA1 призначена головним чином для аналізу дерев, які будуються в інших програмах : дозволяє маніпулювати ними, показує на екрані трансформації ознак при заданій топології дерева.

MECA2 призначена для побудови дерев на підставі молекулярних даних, реалізує методи парсимонии, а також дистантні.

MOLPHY призначена для побудови дерев на підставі молекулярних даних, реалізує метод найбільшої правдоподібності.

PAUP - потужний програмний пакет, призначений для аналізу якісних морфологічних і генетичних ознак, реалізує методи дистантныє, парсимонии і найбільшої правдоподібності. Допускає варіювання початкових моделей (співвідношення параллелизмів і реверсій), маніпуляції з ознаками (поляризація, зважування), проводить бутстреп-аналіз. Выдає результати аналізу розподілу ознак на обчислюваних деревах. **PHYLP** є набором з майже 30 окремих програм з широкими можливостями. Дозволяє працювати з якісними, генетичними і частотними ознаками, реалізує усі охарактеризовані вище методи, включаючи бутстреп.

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Надати інформацію які програми використовуються при філогенетичних дослідженнях хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Для чого використовується комп'ютерне моделювання при дослідженні філогенезів
2. В яких програмах реалізовані кількісні методи кладистичного аналізу?

Лабораторна робота № 8

Еволюційні зміни амінокислотної послідовності

Мета роботи: Вивчення темпів еволюційних змін амінокислотної послідовності

До винаходу швидких методів секвенування ДНК більшість досліджень молекулярної еволюції проводилися з використанням **амінокислотних послідовностей**. Незважаючи на те, що визначення амінокислотних послідовностей займало багато часу, і іноді було помилковим, деякі важливі принципи молекулярної еволюції такі, як еволюція шляхом дуплікації генів і гіпотеза молекулярних годин, були сформульовані при їх вивченні. В даний час визначити послідовність ДНК набагато легше, ніж послідовність білка, тому амінокислотні послідовності отримують з нуклеотидних послідовностей, використовуючи таблиці генетичного коду. Однак **амінокислотні послідовності** все ще корисні в еволюційних дослідженнях: вони більш консервативні і дають корисну інформацію про довгострокову еволюції генів і видів. Вони також незамінні для вирівнювання білок кодуєть навчаючи послідовностей ДНК. Більше того, математична модель еволюційної зміни амінокислотних послідовностей значно простіше такої

послідовностей ДНК. З цих причин дослідження еволюційних змін слід починати з вивчення амінокислотних послідовностей.

Основним параметром для вивчення еволюції амінокислотних послідовностей є **еволюційна дистанція** між ними, визначається за допомогою різних математичних та статистичних методів. Еволюційні дистанції використовуються для побудови **філогенетичних дерев** (дендрограм) і визначення часів дивергенції. це можливо лише завдяки існуванню чіткого паралелізму між часом дивергенції і ступенем амінокислотних відмінностей за умови постійства швидкостей еволюції білків у різних філогенетичних лініях. Всі методи обчислення еволюційних дистанцій між амінокислотними послідовностями можна розділити на три групи:

1. *Методи приблизної оцінки еволюційних дистанцій (кількість амінокислотних відмінностей, p-дистанція).*
2. *Методи коригувати оцінки еволюційних дистанцій (Пу-Ассонов-корегована дистанція, дистанція з поправкою Кімури, гамма-дистанція, дистанція Гришина, оригінальна EIM-дистанція (дис-танціями, розрахована на підставі моделі рівних вставок - Equal Input Model), EIM-дистанція з урахуванням параметра a).*
3. *Методи, засновані на матрицях замін амінокислот (Дейхофф і Джонса-Тейлора-Торнтонна).*

Методи приблизної оцінки еволюційних дистанцій

Число спостережуваних амінокислотних відмінностей. вивчення еволюційних змін білків і поліпептидів починається з порівняння і вирівнювання двох або більше амінокислотних послідовностей організмів . Після проведення вирівнювання еволюційні відмінності можна визначити декількома способами. Найпростішим з них є підрахунок числа спостережуваних амінокислотних відмінностей (nd) між двома послідовностями. Однак для використання цього показника необхідно, щоб порівнювані послідовності склалися з однакової кількості амінокислотних

залишків (n), що спостерігається досить рідко. На практиці амінокислотні послідовності часто включають з (інверсії і делеції), що особливо характерно для множинних вирівнювань. Так аналіз еволюції амінокислотних послідовностей по кількості спостережуваних амінокислотних відмінностей можливий лише за однакової довжини послідовностей. В інших випадках цей показник є лише проміжною величиною для подальших обчислювань. Більш точним способом визначення відмінностей послідовностей є обчислення частки (пропорції) різних амінокислот між двома послідовностями (part of differences, p , P_d , p -distance, p -дистанція). За допомогою цієї величини можна порівнювати відмінності послідовностей навіть якщо n сильно варіює.

Вона визначається за формулою:

$$p = nd / n.$$

Якщо заміни у всіх амінокислотних сайтах відбуваються з однаковою ймовірністю, то nd слід біноміальної розподілу. варіанса p ($V(p)$) визначається за формулою:

$$V(p) = p(1 - p) / n.$$

Слід зазначити, що p -дистанція не передбачає корекції для множинних замін в певному сайті і відмінностей сайтів по швидкості еволюції. P -дистанція не є строго пропорційною часу дивергенції таксономічних груп організмів (t) і тому використовується як приблизний метод оцінки еволюційних відмінностей порівнюваних амінокислотних послідовностей.

Методи коригування оцінки еволюційних дистанцій

II Пуассон-корегована дистанція. Для більш точного визначення числа замін слід використовувати корекцію Пуассона. Позначимо швидкість амінокислотних замін в рік в певному сайті як r і для спрощення припустимо, що r у всіх сайтах однакова. Це припущення виконується не завжди, але як буде показано далі, викликана ним помилка мала при малих значеннях p . Нехай rt – це середнє число амінокислотних замін на сайт за період часу t , а вірогідність (P) виникнення кількості k амінокислотних замін в сайт i ($k = 0, 1, 2, 3, \dots$) слід розподілу Пуассона. тоді

$$P(k; t) = e^{-rt} (rt)^k / k!$$

Отже, ймовірність відсутності амінокислотних замін в сайті визначається як

$$P(0; t) = e^{-rt}$$

очікувана кількість консервативних (незмінених) амінокислотних сайтів. На практиці амінокислотна предкова послідовність часто невідома, що робить непридатною формулу

Число амінокислотних замін оцінюється при порівнянні двох гомологічних послідовностей, які дивергірували t років тому. Так як ймовірність відсутності заміни в амінокислотному сайті послідовності визначається як e^{-rt} , то ймовірність, що ні в одному з гомологічних сайтів двох послідовностей не відбудеться заміни (q) дорівнює:

$$q = (e^{-rt})^2 = e^{-2rt}.$$

Величина q , розрахована за формулою є приблизною, оскільки не враховуються зворотні і паралельні мутації (однакові мутації, що відбуваються в гомологічних амінокислотних сайтах в двох різних еволюційних лініях). Однак ефекти цих мутацій надзвичайно малі при високих значеннях p ($p > 0,3$). Використовуючи формулу одержуємо, що загальне число амінокислотних замін на сайт для двох послідовностей ($d = 2rt$) визначається як:

$$d = -\ln(1 - p).$$

Величина d , визначена за формулою, називається Пуассон-коригувати дистанцією (Poisson correction distance, PC-distance, PC-дистанцією). Її варіанса ($V(d)$) можна розрахувати за формулою:

$$V(d) = p(1-p) / n.$$

Слід зазначити, що обчислення PC-дистанції засноване на передположеннях про рівну швидкості замін в різних сайтах і про рівні частоти амінокислот. В молекулярної еволюції важливо знати швидкість амінокислотних замін. Якщо з інших джерел відомо час дивергенції двох

послідовник-ностей один від одного, то швидкість замін амінокислот визначається як:

$$r = d / 2t.$$

Слід сказати, що d переважно ділять на $2t$, а не на t , пояснюється це тим, що t - це число років минули після еволюційної дивергенції двох ланцюгів від загального для них предкового ланцюга, а множник 2 в знаменнику відповідає двом гілкам подразумеваемого філогенетичного дерева. В якості одиниці швидкості еволюції білків М. Кімура запропонував використовувати величину 10^{-9} на амінокислотний сайт в рік, назвавши її Полингом (По).

Варіанса r обчислюється за формулою:

$$V(r) = V(d) / (2t)^2.$$

Якщо значення r отримано в попередніх дослідженнях, то час диконвергенції можна розрахувати як]:

$$t = d / 2r,$$

а варіанса t ($V(t)$):

$$V(t) = V(d) / (2r)^2.$$

Дистанція Кімури. Еволюційна дистанція Кімури (K_{aa} , d_K) являє собою ще один варіант корекції p -дистанції. Її обчислення проводиться за емпіричною формулою, отриманої шляхом перетворення співвідношення:

$$d_K = - \ln(1 - p - 1/5p^2)$$

Стандартна помилка d_K (σ_{dK}) розраховується за формулою:

$$\sigma_{dK} = \frac{1}{2} \ln \frac{1-p}{1-p-1/5p^2}$$

$$\sigma = (7.13).$$

Модель рівних вставок для гомогенної і гетерогенної картин заміщень. Частоти різних амінокислот сильно варіюють, тому отримані вище

описаними методами значення дистанцій НЕ являють ся точними. Для обліку цієї варіації слід використовувати модель рівних вставок (equal input model, EI-model, EI-модель, EIM). В оригінальному варіанті ця модель заснована на припущеннях про гомогенність замін і про рівні їх швидкостях по різних сайтах. Еволюційна дистанція, обчислена на підставі EI-моделі, називається EIM-дистанцією (dEIM) і визначається як:

$$dEIM = -b \log (1 - p / b),$$

де $b = 1 - \sum_i g_i^2$,

g_i = частота амінокислоти i , а варіанса dEIM ($V(dEIM)$)

розраховується як:

$$V(dEIM) = b^2 p (1 - p) / [(b - p) 2n].$$

Якщо ж картина заміщень є гетерогенною, то дистанція ви-числяється за формулою Тамуров-Кумара:

$$dEIM = -b \log (1 - p / c),$$

де $b = 1 - \sum_i g_i^2$, $c = 1 - \sum_i \sum_j g_{ij}^2$, g_i = частота амінокислоти i для послідовності 1, g_{2i} = частота амінокислоти i для послідовності 2, g_i = середня частота амінокислоти i для пари послідовностей. ва-ріанса dG / EIM розраховується методом бутстреп.

Гамма-дистанція і дистанція Гришина. Всі розглянуті вище методи визначення еволюційних дистанцій засновані на припущення про рівну швидкість замін в різних амінокислотних сайтах. На практиці це припущення часто виявляється некоректним через низьку швидкість замін у функціонально важливих сайтах. У 1971 р Азл і Корбін показали, що кількість амінокислотних замін на сайт має велику варіансу, ніж джена пуассонівська варіанта. Якщо швидкість амінокислотних замін на сайт варіює відповідно до гамма розподілом, то спостережуване число замін на сайт слід відемному біномінальної розподілу. Таким чином, швидкість замін в сайтах варіює відповідно до гамма розподілом:

$$f(r) = (ba / \Gamma(a)) e^{-br} r^{a-1},$$

де $a = r^2 / V(r)$, $b = r / V(r)$, $\Gamma(a) = \int_0^\infty e^{-tta-1} dt$.

Вид розподілу $f(r)$ визначається значенням a , яке називається гамма параметром, а b - скелінг-фактором. Гамма розподіл являється дуже гнучким і приймає різний вигляд залежно від параметра a . Коли $a = \infty$, то r однаково для всіх сайтів. При $a = 1$, r слід експоненціальному розподілу, сильно варіюючи від сайту до сайту. Якщо $a < 1$, то розподіл r стає більш асиметричним, а суттєва частка сайтів має значення близьке до нуля і практично незмінне r . При використанні аналізу парсімонії Азл і Корбін встановили, що $a = 2$ для послідовностей цитохрому c хребетних і, следовательно, значення r значно варіює. Жанг і Гу визначили значення a для 51 ядерного і 13 мітохондріальних білків різних видів хребетних і показали, що вони варіюють в широких межах (0,2 - 3,5). Коли варіація r слід гамма розподілу, можна визначити до- личество амінокислотних замін на сайт. Для цього обчислюють ймовірність ідентичних залишків у сайтах порівнюваних послідовностей за час t за формулою. Значення q для всіх сайтів розраховується за формулою:

$$q = \int_0^\infty r f(r) dr = (a / (a + 2rt)) a.$$

Якщо загальна кількість амінокислотних замін на сайт (гамма-дистанція, dG) одно $2rt$, а q дається як $1 - p$, то гамма дистанція і її варіанса ($V(dG)$) рівні:

$$dG = a [(1 - p) - 1 / a - 1],$$

$$V(dG) = p [(1 - p) - (1 + 2 / a) - 1] / n.$$

Вплив варіації r велике при $p > 0,2$ і $a < 0,65$; отже, гамма дистанцію не слід використовувати при $p < 0,2$. На практиці швидкість замін змінюється не тільки по амінокислотним сайтам, але й у відповідності з парою амінокислот. Так аргінін і лізин являються позитивно зарядженими амінокислотами і тому вони заме-няються один на одного в процесі еволюції частіше, ніж на

інші амінокис-лоти. Н. Гришин врахував цей фактор поряд з варіацією r і запропонував наступну формулу для розрахунку еволюційної дистанції (dR):

$$q = (\ln(1 + 2dR)) / 2dR.$$

Тут dR визначається шляхом рішення рівняння при відомій величині q . Одним із способів вирішення цього рівняння є метод Ньютона повторів. Однак взаємовідношення між dR і q також так розраховується формулою

при $a = 0,65$. Дійсно, Кумар і Ней показали, що при $dR \leq 3,0$ дистанція Гришина обчислюється за формулою:

$$dR = 0,65 [(1 - p) - 1 / 0,65 - 1].$$

У 1997 р Фенг використовував дистанцію Гришина для визначення часу дивергенції між еубактеріями і еукаріотами, в той час як в 1996 р Гогартен використовував гамма дистанцію за $a = 0,7$. відомо, що дистанція Гришина практично ідентична гамма-дистанції при $a = 0,7$, тому немає нічого дивного в тому, що обидва дослідники напівчили подібні результати (3-4 млрд. років тому). Однак значення a для групи послідовностей може сильно відрізнятись, тому важливо точно його визначити, що можливо за допомогою методу Гу-Жанга. Облік a -параметра в моделі рівних вставок. Модель рівних вставок може враховувати варіацію швидкості заміни в різних сайтах в відповідності з гамма-розподілом. Тоді еволюційна дистанція для гомогенної картини зміщена по моделі рівних вставок з урахуванням параметра a (dG / EIM) обчислюється за формулою:

$$dG / EIM = ba [(1 - p / b) - 1 / a - 1],$$

де $b = 1 - \sum g_i$

g_i = частота амінокислоти i , а варіанса $dEIM$ ($V(dG / EIM)$)

розраховується як :

$$V(dG / EIM) = p(1 - p) / [(1 - p / b) - 2(1 + 1 / a) n].$$

Якщо ж картина заміщень є гетерогенною, то дистанція ви- числяється за формулою Тамуров-Кумара:

$$dG / EIM = ba [(1 - p / c) - 1 / a - 1],$$

де $b = 1 - \sum i g_i^2$, $c = 1 - \sum_i \sum_j g_{ij}^2$, g_i = частота амінокислоти i для послідовності 1, g_{2i} = частота амінокислоти i для послідовності 2, g_i = середня частота амінокислоти i для пари послідовностей. варіанса dG / EIM розраховується методом бутстреп.

Методи засновані на матрицях замін амінокислот

Метод Дейхофф. Емпіричні дослідження амінокислотних замін дозволили встановити, що частіше відбуваються заміни на подібні за фізико-хімічними властивостями амінокислоти (такі як полярність і обсяг бокового радикала). Іншими словами, більшість амінокислотних замін не являють випадковими, а зворотні і паралельні заміни частіше зустрічаються для східних амінокислот. Такі амінокислоти, як гліцин, цистеїн і триптофан замінюються рідко, тому різні швидкості замін в різних амінокислотних сайтах викличуть неточності в значеннях РС-дистанцій.

Для урахування цього чинника Дейхофф в 1978 р запропонувала інший метод обчислення еволюційних дистанцій, в якому використовується матриця замін амінокислот для відносно короткого періоду часу, а взаємозв'язку між часткою ідентичних амінокислот і числом амінокислотних замін обчислюється емпірично, виходячи з даних про гемоглобін, цитохрому с і фібрінопептіда. Спочатку створюється еволюційне дерево для близькоспоріднених амінокислотних послідовностей, а потім розраховуються відносні частоти замін різних амінокислот. На підставі цих даних створюється емпірична матриця заміщень 20 амінокислот. Елемент m_{ij} цієї матриці заміщень означає ймовірність, з якою амінокислота в ряду i замінюється на амінокислоту в стовпці j за одиницю часу еволюції. За одиницю часу в матриці прийнято середній час, за який відбувається одна заміна амінокислоти в 100 сайтах. Дейхофф запропонувала вимірювати кількість замін амінокислот в РАМ (point accepted mutations, точкові зафіксовані мутації, 1 РАМ - 1 заміна амінокислоти / 100 сайтів). Тому матриця замін амінокислот Дейхофф часто називається РАМ-матрицею, на підставі якої Дейхофф запропонувала свою одиницю швидкості еволюції

білка - число Рамов, що накопичилося за 100 млн. років. За допомогою матриці (M) Дейхофф можна передбачати еволюційні зміни амінокислот за будь-який період часу, якщо відома початкова амінокислотна послідовність. Позначимо рядовий вектор відносних частот 20 амінокислот поліпептиду в момент часу t_0 як g_0 . Тоді частоти амінокислот за час t або для t Рамов визначаються за формулою:

$$g_t = g_0 M^t,$$

де $M^t = M^t$. Елемент $m_t(ij)$ матриці M^t означає ймовірність того, що амінокислота в ряду i з моменту часу 0 заміниться на амінокислоту в стовпці j за час t , а $m_t(ii)$ відповідає ймовірності незмінності амінокислот за проміжок часу t . Ці ймовірності можна використовувати для зіставлення частки раз-особистих амінокислот між гомологічними послідовностями (p) і числом амінокислотних замін на сайт (dD , дистанція Дейхофф), запропонував, що частоти амінокислот однакові і залишаються незмінними в процесі еволюції. Тоді p обчислюється як:

$$p = 1 - \sum_i g_i m^{2t}(ii),$$

де g_i - це частота i -амінокислоти в послідовності при дослідженні. Використання $m^{2t}(ii)$ замість $m_t(ii)$ пов'язано з тим, що ми розглядаємо 2 послідовності, які дивергірували t тимчасових одиниць назад. Так як $dD = 0,01 \times t = 0,01$ Рам і $m^{2t}(ii)$ може бути отримане з M^{2t} , то p може бути подібним з dD . На практиці частоти амінокислот g розрізняються у різних білків, тому Дейхофф запропонувала використовувати середні частоти амінокислот для багатьох різних білків. При такому підході не враховується специфічність кожного білка, але це робить метод придатним для багатьох білків. Більш того, якщо врахувати, що багаті білки мають достатньо подібні частоти амінокислот, то цей метод прийнятний для обчислення числа амінокислотних замін. Використовуючи цей метод, Дейхофф установила взаємозв'язок між p і dD . Слід зауважити, що різниця між значеннями d і dD поступово збільшується при наростанні p , а значення dG при $a = 2,25$ дуже близькі до

значень dD майже при всіх значеннях p . Тому dD можна розраховувати за формулою з $a = 2,25$.

Метод Джонса-Тейлора-Торнтона. Хоча матриця Дейхофф використовується досі, в 1992 р Джонс, Тейлор і Торнтон створили нову матрицю (Jones-Taylor-Thornton matrix, JTT-matrix), засновану на більшій кількості замінів в більшій кількості білків. Були також застосовані спроби створення окремих матриць для мітохондріальних білків хребетних. Теоретично, різні білки мають різні матриці заміщень, тому доцільно створити матриці заміщень для кожної групи білків, якщо з'явиться більше даних по їх амінокислотним послідовностям. Проте на даний момент для вимірювання еволюційної дистанції між парою послідовностей легше визначити параметр a й гамма дистанцію. Для матриці Джонса-Тейлора-Торнтона однойменна дистанція ($dJTT$) і p приблизно співвідносяться за формулою з $a = 2,4$. Матриці амінокислотних замінів також використовуються для реконструкції філогенетичних дерев методом максимальної схожості і визначення амінокислотних послідовностей предкової білків.

Завдання 1. Використовуючи спеціальну та довідкову літературу, підготуйте доповідь по вивченій темі із супроводом у вигляді презентації Power Point за індивідуальним завданням.

Завдання 2. Навести приклади дистанцій для хутрових звірів, кролів, собак.

Контрольні питання:

1. Які методи коригування оцінки еволюційних дистанцій існують?
2. Які види дистанцій існують?
3. Які методи засновані на матрицях замінів амінокислот?

Список використаної літератури

1. Алексеев А. С. Глобальные биотические кризисы и массовые вымирания в фанерозойской истории / А. С. Алексеев. – М. : изд-во МГУ, 1989. – 518 с.
2. Антипенко Л. Г. Проблема неполноты теории и её гносеологическое значение /Л. Г. Антипенко. – М. : Наука, 1986. –224 с.
3. Антонов А. С. Геномика и геносистематика / А. С. Антонов // Генетика. – 2002. –№ 6. – С. 75-87.
4. Банникова А. А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих / А. А. Банникова // Журнал общей биологии. –2004. – № 3. – С. 28-35.
5. Воробьева Э. И. Морфологические исследования в палеонтологии / Э. И. Воробьева // Современная палеонтология. – 1978. – № 1. – С. 90-123.
6. Дарвин Ч. Происхождение видов путем естественного отбора / Ч. Дарвин. – СПб. : Наука, 1991. – 540 с.
7. Ильин В. В. Философия науки / В. В. Ильин. – М. : изд-во МГУ, 2003. – 360 с.
8. Любищев А. А. Проблемы, формы, системы и эволюции организмов / А. А. Любищев. – М. : Наука, 1982. – 277 с.
9. Павлинов И. Я. Методы кладистики / И. Я. Павлинов. – М. : изд-во МГУ, 1989. – 119 с.
10. Павлинов И. Я. Кладистический анализ / И. Я. Павлинов. – М. : изд-во МГУ, 1990. –160 с.

11. Павлинов И. Я. К проблеме аксиоматического обоснования эволюционной кладистики / И. Я. Павлинов // Журнал общей биологии. – 1998. – № 6. – С. 58-60.
12. Павлинов И. Я. Основания «новой» филогенетики / И. Я. Павлинов // Журнал общей биологии. – 2004. – № 4. – С. 33-36.
13. Павлинов И. Я. Количественный анализ влияния начальных условий на результаты филогенетических реконструкций / И. Я. Павлинов // Журнал общей биологии. – 1993. – № 2. – С. 14-16.
14. Раутиан А. С. Палеонтология как источник сведений о закономерностях и факторах эволюции / А.С. Раутиан // Современная палеонтология. – 1988. – № 5. – С. 18.
15. Северцов А. С. Основы теории эволюции / А. С. Северцов. – М. : изд-во МГУ, 1987. – 320 с.
16. Татаринов Л. П. Кладистический анализ и филогенетика / Л. П. Татаринов // Палеонтология. – 1984. – № 3. – С. 3-16.

Навчальне видання

Філогенетика хутрових звірів, кролів, собак

Методичні рекомендації

Укладач: **Галушко** Ірина Анатоліївна

Формат 60x84 1/16 Ум. друк. арк. 4,0

Тираж 15 прим. Зам. №301

Надруковано у видавничому відділі

Миколаївського національного аграрного університету

54020 м. Миколаїв, вул. Паризької комуни, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.