

УДК 575.85

**ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗРЫВНОЙ  
МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИВЕРГЕНЦИИ ПУЧКА ВИДОВ КРУПНЫХ  
АФРИКАНСКИХ УСАЧЕЙ р. *LABEOBARBUS* (CYPRINIDAE; TELEOSTEI)  
оз. ТАНА, ЭФИОПИЯ**

© 2015 г. Ф. Н. Шкиль<sup>\*,\*\*</sup>, О. Е. Лазебный<sup>\*\*</sup>, Д. В. Капитанова<sup>\*,\*\*</sup>,  
Белай Абдисса<sup>\*\*\*</sup>, В. Б. Борисов<sup>\*,\*\*</sup>, С. В. Смирнов<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН  
Москва, Ленинский пр., 33

<sup>\*\*</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН  
Москва, ул. Вавилова, 26

<sup>\*\*\*</sup>Бахир-Дарский исследовательский центр рыбного хозяйства и аквакультуры, Бахир-Дар  
Эфиопия (Bahir-Dar fishery and other aquatic live research center, Bahir-Dar, Ethiopia)

E-mail: fedorshkil@gmail.com

Поступила в редакцию 05.11.2014 г.

Окончательный вариант получен 11.05.2015 г.

Механизмы взрывной морфологической дивергенции, зачастую сопровождающей симпатрическое видообразование костистых рыб, были исследованы на примере пучка видов крупных Африканских усачей р. *Labeobarbus* (Cyprinidae; Teleostei) оз. Тана (Эфиопия). Сравнительно-морфологический анализ, проведенный методами геометрической морфометрии, выявил значимые различия в форме головы у исследованных видов усачей. Сравнительный анализ развития черепа усачей показал наличие межвидовых различий во временных параметрах краниогенеза. Сопоставление полученных данных позволило предположить, что обнаруженные различия во временных характеристиках краниогенеза являются гетерохрониями, ответственными за формирование различий в дефинитивной форме головы усачей. Данная гипотеза была верифицирована экспериментально путем изменений временных характеристик краниогенеза предполагаемого предкового вида *L. intermedius*, вызываемых изменением уровня тиреоидных гормонов. В итоге было показано, что онтогенетическим механизмом взрывной морфологической дивергенции танского пучка видов усачей являются гетерохронии. Полученные результаты и существующие литературные данные позволяют предположить, что одной из причин обнаруженных гетерохроний является изменчивость активности гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси.

*Ключевые слова:* пучок видов, морфологическая дивергенция, симпатрическая эволюция, гетерохронии, тиреоидные гормоны, *Labeobarbus*, Cyprinidae.

DOI: 10.7868/S0475145015050080

**ВВЕДЕНИЕ**

Пучки видов (species flocks) – группы симпатрических форм (видов, морфотипов, экотипов, рас), имеющих монофилетическое происхождение и ограниченный ареал (Greenwood, 1984), широко распространены среди позвоночных и беспозвоночных животных. Для многих пучков характерны крайне быстрые темпы адаптивной радиации, морфологической дивергенции и видообразования. Более того, феномен ускоренных эволюционных преобразований настолько распространен, что некоторые исследователи считают необходимым внести в определение пучка видов такой критерий как “быстрая эволюция”

(Ribbink, 1984) или “взрывное видообразование” (Sullivan et al., 2002).

Среди позвоночных животных пучки видов наиболее широко представлены у костистых рыб (Teleostei) (Голубцов, 2010). Наиболее известные среди них – пучки цихловых рыб (Cichlidae) Великих Африканских озер (Salzburger et al., 2002; Meyer, 2005) и костнощечных рыб (Cottoidei) озера Байкал (Sideleva, 1994; Kontula et al., 2003), насчитывающие соответственно несколько сотен и десятков эндемичных симпатрических форм. Озерные пучки видов рыб, их эволюционная сущность и механизмы возникновения – предмет многочисленных экологических, эволюционных и ге-

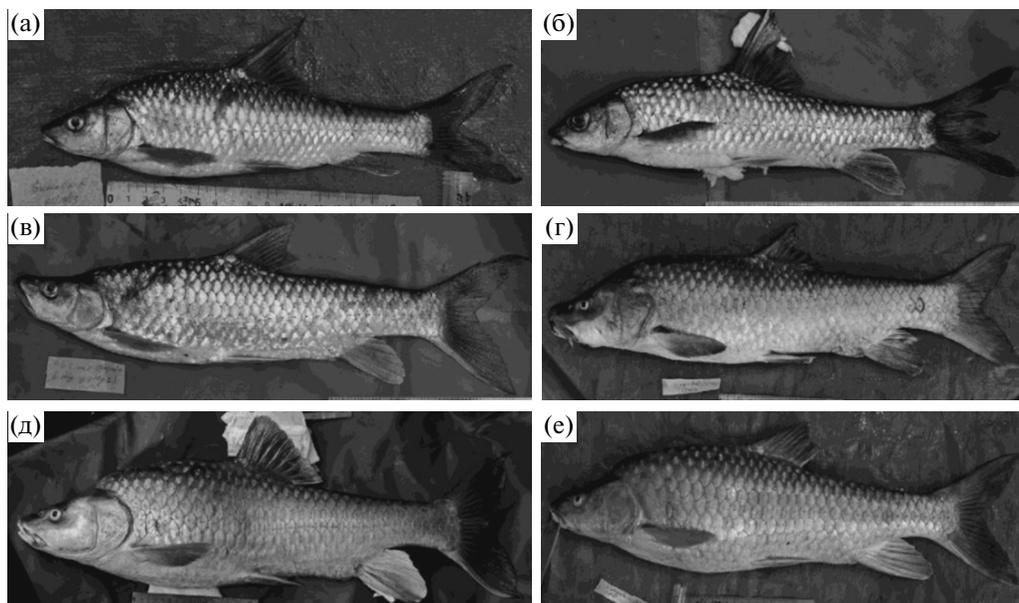


Рис. 1. Внешняя морфология исследуемых видов усачей: а – *L. intermedius*; б – *L. brevicephalus*; в – *L. megastoma*; г – *L. crassibarbis*; д – *L. truttiformis*; е – *L. platydorsus*.

нетических исследований. Тем не менее, многое в феномене “пучки видов” остается неясным, в том числе – механизм ускоренной дивергенции, сопутствующей их формированию.

Традиционно считается, что симпатрическое видообразование и дивергенция связаны со значительными изменениями генома – в том числе, полиплоидизацией, фрагментацией и слияниями хромосом, а также гибридизацией и т.д. (Яблоков, Юсуфов, 1976). Однако в формировании пучков видов, очевидно, задействованы иные механизмы, поскольку зачастую значительный уровень морфологического разнообразия наблюдается на фоне незначительной дивергенции геномов (Turgeon et al., 1999; Осин, 2002; Сиделева, 2010).

С целью выяснения этих механизмов был исследован крупнейший в семействе карповых рыб (Cyprinidae) пучок видов крупных гексаплоидных Африканских усачей рода *Labeobarbus* (= *Barbus*), обитающих в озере Тана (Эфиопия). Согласно литературным данным, возраст данного пучка видов не превышает 15000 лет (De Graaf et al., 2010), что указывает на взрывной характер его формирования. В состав пучка входят: широко распространенный в водоемах Восточной Африки *L. intermedius*, предположительно, предковый для танских усачей вид, и 14 (15) эндемичных для озера Тана видов/форм (Nagelkerke, Sibbing, 1998; Nagelkerke, Sibbing, 2000; De Graaf et al., 2008). Виды, входящие в него, различаются морфологией (а также экологией и размерами), при этом постзиготической изоляции (Держинский и др., 2007) и выраженных генетических различий между ними (Berrebi, Valushok, 1998; De Graaf et al., 2010) обнаружено

не было. Последнее обстоятельство указывает на ускоренную относительно генетической морфологическую дивергенцию. Благодаря этим особенностям, танский пучок видов, в литературе часто называемый “природной лабораторией” (Sibbing et al., 1998), представляет собой идеальную модель для изучения механизмов взрывного симпатрического видообразования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами настоящего исследования стали шесть видов танских крупных Африканских гексаплоидных усачей р. *Labeobarbus* (Cyprinidae; Teleostei), различающихся как по экологическим, так и морфологическим признакам (рис. 1): предпологаемый предковый всеядный вид – *L. intermedius*; мелкий планктонофаг – *L. brevicephalus*; крупный рыбадный вид – *L. megastoma*; крупный детритофаг – *L. crassibarbis*; крупный рыбадный вид – *L. truttiformis*; и крупный рыбадный вид – *L. platydorsus* (рис. 1) (Nagelkerke, Sibbing, 2000; De Graaf et al., 2008).

Для выяснения механизмов стремительной морфологической дивергенции танских усачей был применены следующие методы:

### Сравнительно-морфологический анализ

Выборки взрослых особей были взяты во время нереста в притоках оз. Тана: р. Арно, р. Риб, р. Гумара. Видовая принадлежность усачей определялась на основании определительных таблиц, предложенных в работах Л. Нагелькерке и Ф. Сиббинга (Nagelkerke, Sibbing, 1998; 2000). В дальней-



Рис. 2. Метки и полуметки, используемые для сравнения морфологии усачей.

шем видовая принадлежность усачей уточнялась по совокупности качественных и количественных признаков различных краниальных окостенений (Мина и др., 2011). Сравнение морфологии взрослых особей усачей проводилось по цифровым фотографиям методами геометрической морфометрии. Для сравнения использовались 24 метки, расположенные на голове и теле (рис. 2), 12 из которых являются гомологичными, остальные являются полуметками по И.Я. Павлинову и Н.Г. Микешиной (2002). Метки расставлялись с использованием программы tpsDig2, сравнение усачей проводилось в программе tpsRelw. Для придания “скольжения” (sliding) полуметкам и снятия с них энергии напряжения (binding energy) (Gunz, Mitteroecker, 2013) использовался программный пакет tpsUtil. Вышеперечисленные программные пакеты были загружены с интернет-сайта: <http://life.bio.sunysb.edu/ee/rohlf/software.html>. Всего было обработано 108 особей исследуемых видов: *L. intermedius* – 20 особей; *L. brevicephalus* – 26 особей; *L. megastoma* – 24 особи; *L. crassibarbis* – 18 особей; *L. truttiformis* – 10 особей; *L. platydorsus* – 10 особей.

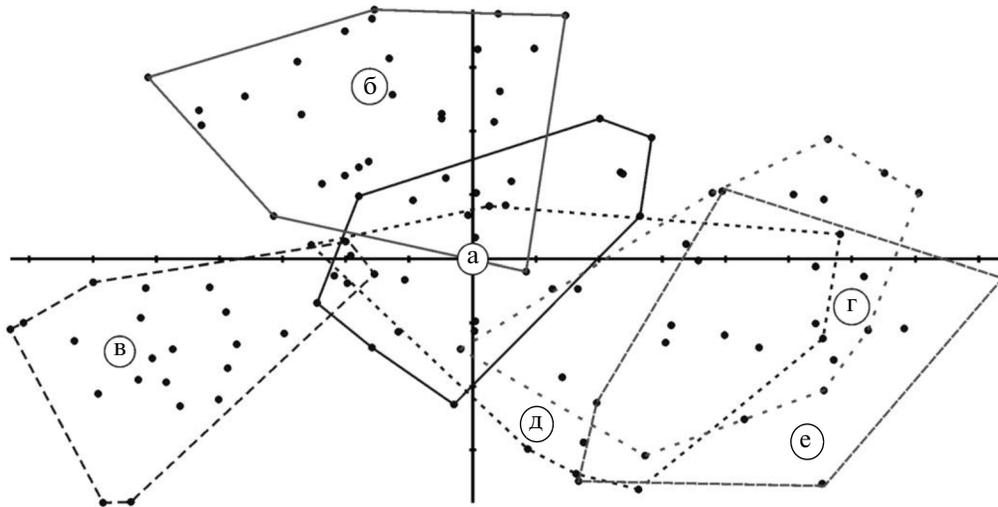
Оси относительной деформации (ООД) являются, по сути, главными компонентами, в которые с определенным весом входят исходные признаки –  $x$  и  $y$  координаты меток и полуметок, поэтому ООД могут рассматриваться как новые признаки (Zelditch et al., 2004). Значения, соответствующие используемым ООД, были подвергнуты однофакторному дисперсионному анализу с последующим *post hoc* анализом. В качестве фиксированного фактора использовалась принадлежность к одному из исследуемых видов усачей, соответственно, было шесть градаций фактора. Для проведения *post hoc* анализа был использован критерий Тьюки. Все вычисления проводились в пакете статистических программ Statistica 6.0 (Statsoft, США).

### Сравнительный анализ краниогенеза

Краниогенез был исследован на онтогенетических сериях (от момента вылупления до формирования полного набора краниальных окостенений) шести видов усачей. Половые продукты были получены от производителей, выловленных во время нереста в притоках оз. Тана. Оплодотворение осуществлялось сухим методом. Оплодотворенная икра перемещалась в аквариумы, где личинки и молодь усачей выращивались в течение двух-трех месяцев при одинаковых условиях, описанных ранее (Шкиль и др., 2010). Фиксация личинок и молоди для последующего сравнительно-морфологического анализа краниогенеза осуществлялась ежедневно, по 5–7 особей каждого вида, в 10% формалине. Окраска и просветление препаратов проводились бескислотным методом (Walker, Kimmel, 2007). Обработка препаратов осуществлялась с использованием стереомикроскопов Olympus SZX 7, Leica MS5.

### Индукцированные изменения временных характеристик краниогенеза *L. intermedius*

Изменение темпов краниогенеза *L. intermedius* достигалось путем изменения в организме личинок уровня тиреоидных гормонов (ТГ), важнейших регуляторов онтогенеза костистых рыб (Janz, 2000). Ранее неоднократно было показано, что повышенный уровень ТГ приводит к более раннему началу и/или ускорению темпов протекания многих онтогенетических процессов, а дефицит ТГ – к их более позднему началу и/или замедлению (Yamano et al., 1991; Brown, 1997; de Jesus et al., 1998; Hseu et al., 2002; Okada et al., 2005; Einarsdotir et al., 2006; Blanton, Specker, 2007; Shkil et al., 2012). В ходе экспериментов икра, полученная от одной пары производителей *L. intermedius*, была разделена на три группы, выращиваемые в аквариумах при разных гормональных режимах: 1) контрольная



**Рис. 3.** Распределение 108 особей больших Африканских усачей в пространстве I (ось абсцисс) и II (ось ординат) осей относительной деформации. Условные обозначения: а – *L. intermedius*; б – *L. brevicephalus*; в – *L. megastoma*; г – *L. crassibarbis*; д – *L. truttiformis*; е – *L. platydorsus*.

группа; 2) группа с укоренным краниогенезом, содержащаяся при повышенном уровне ТГ (при концентрации 1 нг/мл трийодтиронина ( $T_3$ ) в аквариумной воде); и 3) группа с замедленным краниогенезом, содержащаяся в 0.04% водном растворе тиомочевины, являющейся гойтрогеном – химическим агентом, подавляющим активность синтеза собственных ТГ. Остальные условия содержания были одинаковыми. Подробно методика проведения эксперимента была описана в предыдущих работах нашей группы (Шкиль и др., 2010; Smirnov et al., 2012). В возрасте полутора-двух лет молодь была сфотографирована. Сравнение формы головы рыб, выращенных в разных гормональных режимах, проводилось методами геометрической морфометрии по 8 меткам, описывающим только геометрию головы (номера меток: 1, 2–4, 13–16): из которых 5 являются гомологичными и 3 – полуметками (рис. 2). Для сравнения были использованы: 10 особей *L. intermedius*, выращенных в нормальных условиях; 11 особей, выращенных в условиях повышенного уровня ТГ; 9 особей, содержащихся в растворе тиомочевины. Кроме того, было проведено сравнение формы головы *L. intermedius*, выращенных в нормальных условиях и в растворе тиомочевины, с формой головы молоди *L. megastoma* (9 особей, возраст 2 года), выращенной в нормальных условиях. Обработка материала проводилась так же, как и при сравнении формы взрослых усачей.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

*Сравнительно-морфологический анализ*

Особенности внешней морфологии используются в качестве основных диагностических при-

знаков при определении видовой принадлежности танских усачей. Особое значение при этом придается таким признакам как форма головы и тела (Nagelkerke, Sibbing, 2000). В настоящий момент активно развивается новый подход к описанию и сравнению формы – геометрическая морфометрия (Mitteroecker, Gunz, 2009; <http://life.bio.sunysb.edu/morph>). В основе данного подхода лежит математическое представление формы (геометрии) реального морфологического объекта, инвариантное относительно его размеров, ориентации и положения в физическом пространстве (Bookstein, 1991; Павлинов, Микешина, 2002; Zelditch et al., 2004; Klingenberg, 2010). Перспективность данного подхода для оценки морфологического разнообразия танских усачей была продемонстрирована ранее (Reig et al., 1998). Именно поэтому методы геометрической морфометрии были использованы при сравнительно-морфологическом анализе взрослых усачей, взятых из природных популяций.

В результате установлено, что наиболее информативными для описания различий в морфологии исследуемых особей являются I и II оси относительной деформации (ООД), описывающие 72.32% изменчивости исследуемых признаков. Анализ диаграммы распределения усачей в пространстве I и II ООД показал, что рыбы, относящиеся к *L. intermedius*, располагаются в центральной зоне (рис. 3). Рыбы, определяемые как *L. megastoma* и *L. brevicephalus*, образуют на диаграмме две хорошо различимые группы. Три оставшихся вида усачей: *L. truttiformis*, *L. crassibarbis* и *L. platydorsus* объединяются в один кластер, в котором зоны, занимаемые каждой группой, значительно перекрываются между собой. При этом основной

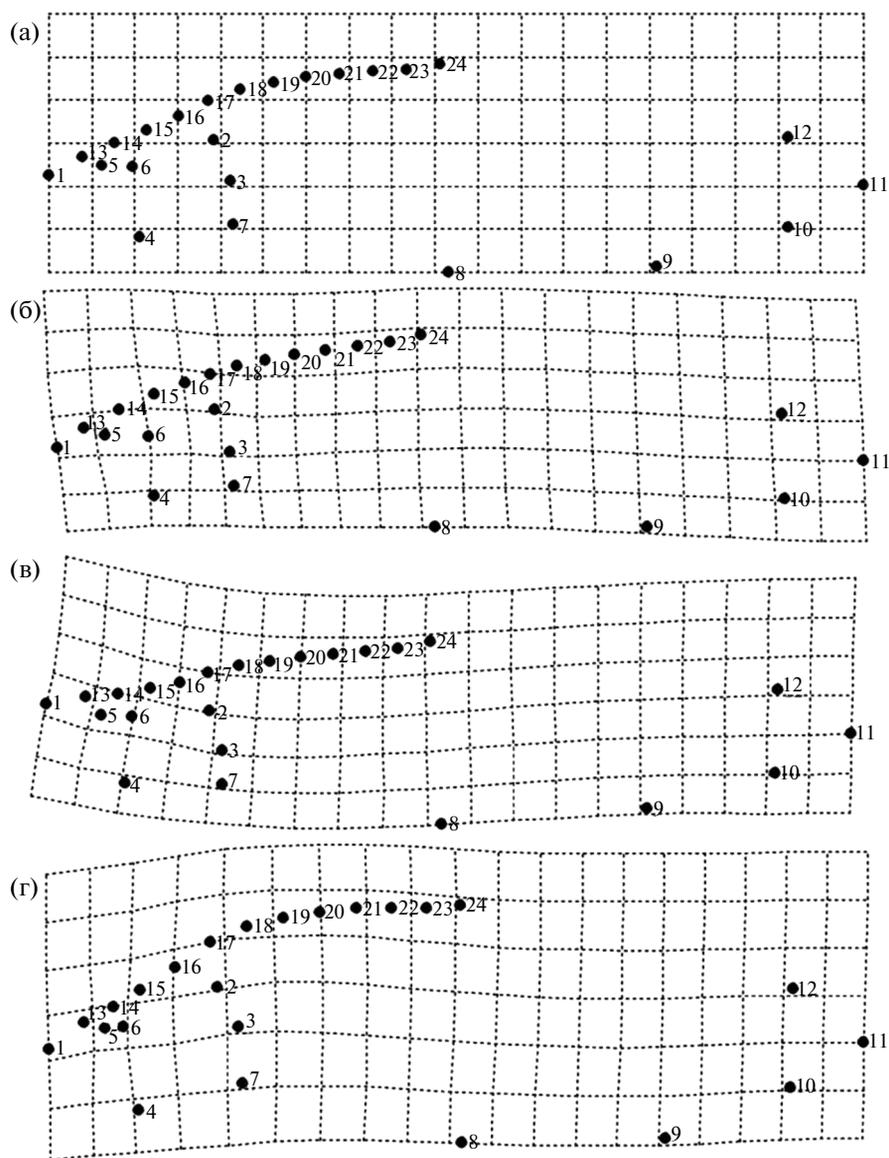


Рис. 4. Деформации трансформационной решетки. а, б, в и г – точки в пространстве I и II ООД, обозначенные кружком на рис. 2.

вклад в распределение особей в пространстве I и II ООД вносят признаки формы головы, что хорошо демонстрируют деформации трансформационной решетки по И.Я. Павлинову и Н.Г. Микешинной (2002) (рис. 4).

Значения I и II ООД были использованы для проведения однофакторного дисперсионного анализа (табл. 1). В результате, были обнаружены значимые различия между сравниваемыми группами усачей ( $p \leq 0.001$ ) для обеих ООД.

Для определения структуры отличий исследованных видов усачей друг от друга, был проведен анализ попарных отличий по исследуемой форме (геометрии объектов, определяемой 24 метками) с учетом множественности сравнений (*post hoc*

анализ) (табл. 2). Результаты данного анализа показали, что по I ООД практически все виды значимо отличаются друг от друга за исключением двух пар: *L. intermedius*–*L. truttiformis* и *L. crassibarbis*–*L. platydorsus*. По средним значениям II ООД *L. intermedius* не отличается от *L. crassibarbis*, последний – от *L. platydorsus* и *L. megastoma*, которые, в свою очередь, образуют с *L. truttiformis* группу сходных по значениям II ООД видов.

#### Сравнительный анализ краниогенеза

Принимая во внимание, что геометрия головы формируется в ходе развития черепа (краниогенеза), был проведен сравнительный анализ онто-

**Таблица 1.** Результаты однофакторного дисперсионного анализа с независимым фактором “Вид” и зависимыми переменными – значениями I и II осей относительной деформации (рис. 3)

I ось относительной деформации, RW1					
	D.F.	SS	MS	F	<i>p</i>
Вид	5	0.1174	0.0235	74.0546	≪0.0001
Еггор	102	0.0324	0.0003		
II ось относительной деформации, RW2					
	D.F.	SS	MS	F	<i>p</i>
Вид	5	0.0248	0.0049	33.0186	≪0.0001
Еггор	102	0.0153	0.00015		

D.F. – число степеней свободы, SS – сумма квадратов, MS – средний квадрат, F – критерий Фишера, *p* – оценка вероятности, Еггор – остаточная изменчивость.

**Таблица 2.** Результаты *post hoc* анализа средних значений I и II осей относительной деформации (рис. 3) с помощью критерия Тьюки (Tukey Honestly Significant Difference test); в ячейках таблицы итоговые значения вероятности с поправкой на множественные сравнения

I ось относительной деформации						
Вид	<i>L. intermedius</i>	<i>L. crassibarbis</i>	<i>L. brevicephalus</i>	<i>L. platydorsus</i>	<i>L. megastoma</i>	<i>L. truttiformis</i>
<i>L. intermedius</i>		0.0001	0.0222	0.0001	0.0001	0.4389
<i>L. crassibarbis</i>	0.0001		0.0001	0.9981	0.0001	0.0006
<i>L. brevicephalus</i>	0.0222	0.0001		0.0001	0.0001	0.0004
<i>L. platydorsus</i>	0.0001	0.9981	0.0001		0.0001	0.0009
<i>L. megastoma</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		0.0001
<i>L. truttiformis</i>	0.4389	0.0006	0.0004	0.0009	0.0001	
II ось относительной деформации						
Вид	<i>L. intermedius</i>	<i>L. crassibarbis</i>	<i>L. brevicephalus</i>	<i>L. platydorsus</i>	<i>L. megastoma</i>	<i>L. truttiformis</i>
<i>L. intermedius</i>		0.6629	0.0001	0.0039	0.0004	0.0007
<i>L. crassibarbis</i>	0.6629		0.0001	0.1496	0.0621	0.0414
<i>L. brevicephalus</i>	0.0001	0.0001		0.0001	0.0001	0.0001
<i>L. platydorsus</i>	0.0039	0.1496	0.0001		0.9999	0.9973
<i>L. megastoma</i>	0.0004	0.0621	0.0001	0.9999		0.9702
<i>L. truttiformis</i>	0.0007	0.0414	0.0001	0.9973	0.9702	

генеза остеокраниума усачей. В результате установлено, что последовательность появления костей в формирующемся черепе исследуемых видов значимо не различается. В то же время, были обнаружены различия во временном рисунке раннего краниогенеза (рис. 5). Краниогенез предполагаемого предкового вида *L. intermedius* можно разделить на несколько периодов, различающихся по динамике увеличения числа окостенений: 1) первый пик остеогенеза – период активного образования новых окостенений (3–9 дпо, день после оплодотворения); 2) стазис – период когда, несмотря на рост черепа, новые кости не образуются (10–16 дпо); 3) второй пик остеогенеза – следу-

ющий за стазисом период активного образования новых костей (17–23 дпо); и, наконец, 4) период постепенного увеличения числа окостенений в черепе, продолжающийся до достижения их дефинитивного числа (75 дпо) (Borisov et al., 2012).

Краниогенез *L. megastoma* можно подразделить на те же периоды, что и краниогенез *L. intermedius*. Однако у данного вида период стазиса наступает позднее (12 дпо), чем у *L. intermedius* и является более продолжительным (рис. 5). Остеокраниум у *L. truttiformis*, *L. crassibarbis*, *L. platydorsus* и *L. brevicephalus* развивается без периода стазиса. При этом динамика появления костей черепа сходна у первых трех видов и отлична у *L. brevicephalus*

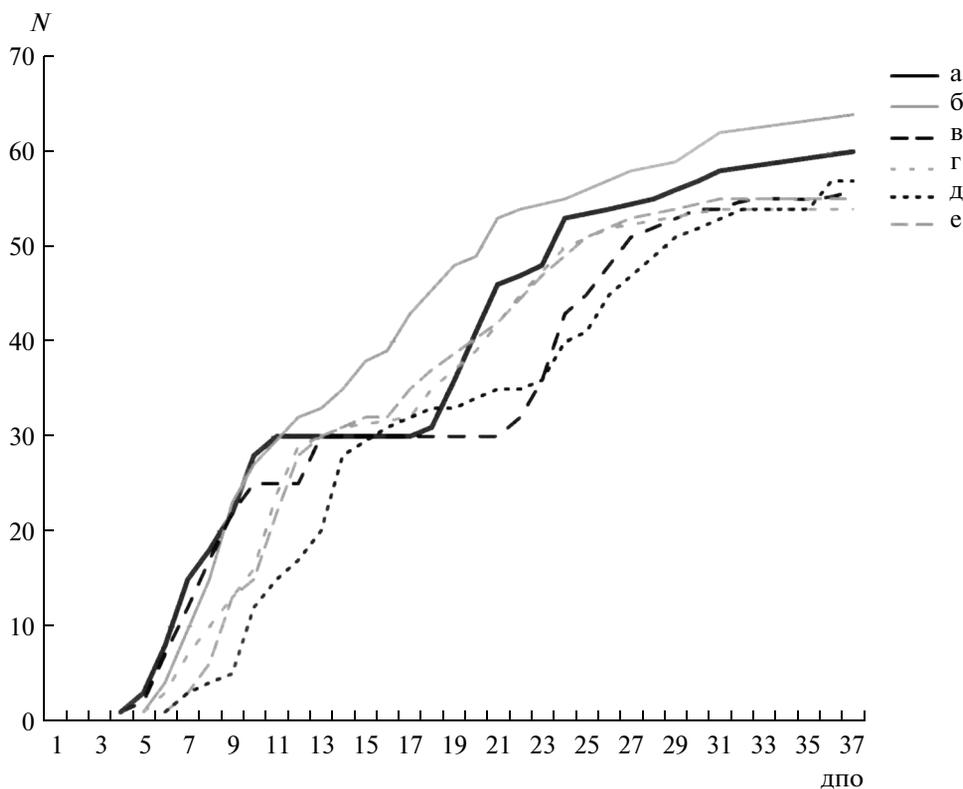


Рис. 5. Динамика краниогенеза исследуемых видов усачей: а — *L. intermedius*; б — *L. brevicephalus*; в — *L. megastoma*; г — *L. crassibarbis*; д — *L. truttiformis*; е — *L. platydorsus*. N — число костей, дпо — дни после оплодотворения.

(рис. 5). Таким образом, у исследуемых видов обнаружена межвидовая изменчивость временных характеристик краниогенеза.

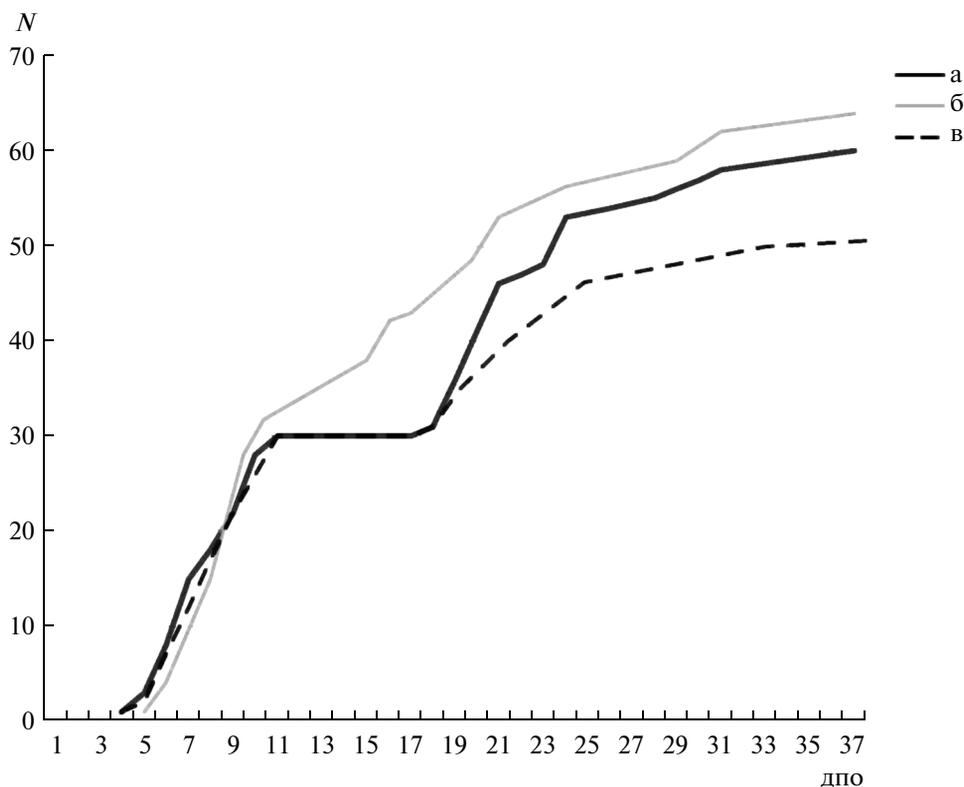
#### Индукцированные изменения временных характеристик краниогенеза *L. intermedius*

Для того чтобы определить, являются ли обнаруженные различия во временных характеристиках раннего краниогенеза исследуемых видов причиной наблюдаемых различий в дефинитивной морфологии их головы, были проведены эксперименты по искусственному изменению сроков и темпов краниогенеза предполагаемого предкового вида *L. intermedius* путем изменения уровня ТГ. В результате установлено, что содержание *L. intermedius* при повышенном уровне ТГ приводит к исчезновению периода стазиса и ускорению краниогенеза, в то время как дефицит ТГ вызывает замедление второго пика остеогенеза и последующего развития черепа (Smirnov et al., 2012) (рис. 6).

Искусственно индуцированные изменения темпов формирования остеокраниума отразились и на дефинитивной морфологии рыб (рис. 7, 8). Сравнение формы головы молоди *L. intermedius*, выращенной в различных гормональных режимах, методами геометрической морфометрии по-

казало, что в пространстве I и II ООД особи разделяются на три группы: 1) рыбы, выращенные в нормальных условиях (контрольная группа); 2) рыбы, выращенные при повышенном уровне ТГ; 3) рыбы, выращенные при дефиците ТГ, вызванном подавлением активности синтеза собственных ТГ за счет добавления в воду гойтрогена. Деформации трансформационной решетки наглядно демонстрируют различия в форме головы данных групп (рис. 9). Результаты однофакторного дисперсионного анализа показали, что группы особей, выращенных в различных гормональных режимах, значимо различаются по средним значениям I и II ООД ( $p \leq 0.001$ ) (табл. 3).

Сравнение формы головы в трех выборках молоди усачей (возраст 2 года): сибсов *L. intermedius*, выращенных в нормальных условиях и в условиях дефицита ТГ, и *L. megastoma*, выращенных в нормальных условиях, выявило значимые различия по II ООД между всеми выборками. Кроме того, были обнаружены значимые различия между сибсами *L. intermedius*, выращенными в контрольной группе и при дефиците ТГ, по IV ООД (рис. 10, табл. 4). Локализация выборок на диаграмме распределения особей в пространстве II и IV ООД свидетельствует, что по ряду признаков некоторые особи *L. intermedius*, выращенные в условиях дефицита ТГ, морфологически более близки к



**Рис. 6.** Динамика краниогенеза сибсов *L. intermedius*, выращиваемых в разных гормональных режимах: а – нормальное развитие; б – развитие при повышенном уровне ТГ; в – развитие при дефиците ТГ. N – число костей, дпо – дни после оплодотворения.

*L. megastoma*, чем к своим сибсам, выращенным в нормальных условиях.

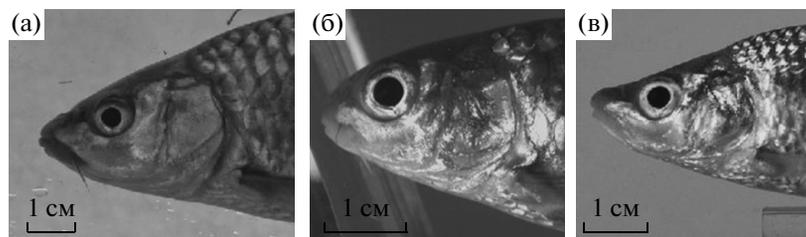
**ОБСУЖДЕНИЕ**

Сравнительно-морфологический анализ взрослых усачей показал, что на диаграмме распределения особей в пространстве I и II ООД группа особей предполагаемого предкового вида, *L. intermedius*, занимает центральную позицию (рис. 3). Это является свидетельством того, что конфигурация меток, описывающих морфологию данного вида, наиболее близка к консенсусной конфигурации рассматриваемых видов (рис. 4а), т.е. *L. intermedius* имеет наиболее “усредненную” морфологию. Особи других видов усачей в пространстве I и II ООД объединяются в группы, морфология которых существенно отличается от консенсусной. В итоге, можно выделить четыре морфологические группы: 1) группа *L. intermedius*; 2) группа *L. megastoma*; 3) группа *L. brevicephalus*; и 4) кластер, объединяющий группы *L. truttiformis*, *L. crassibarbis* и *L. platydorsus* (рис. 3).

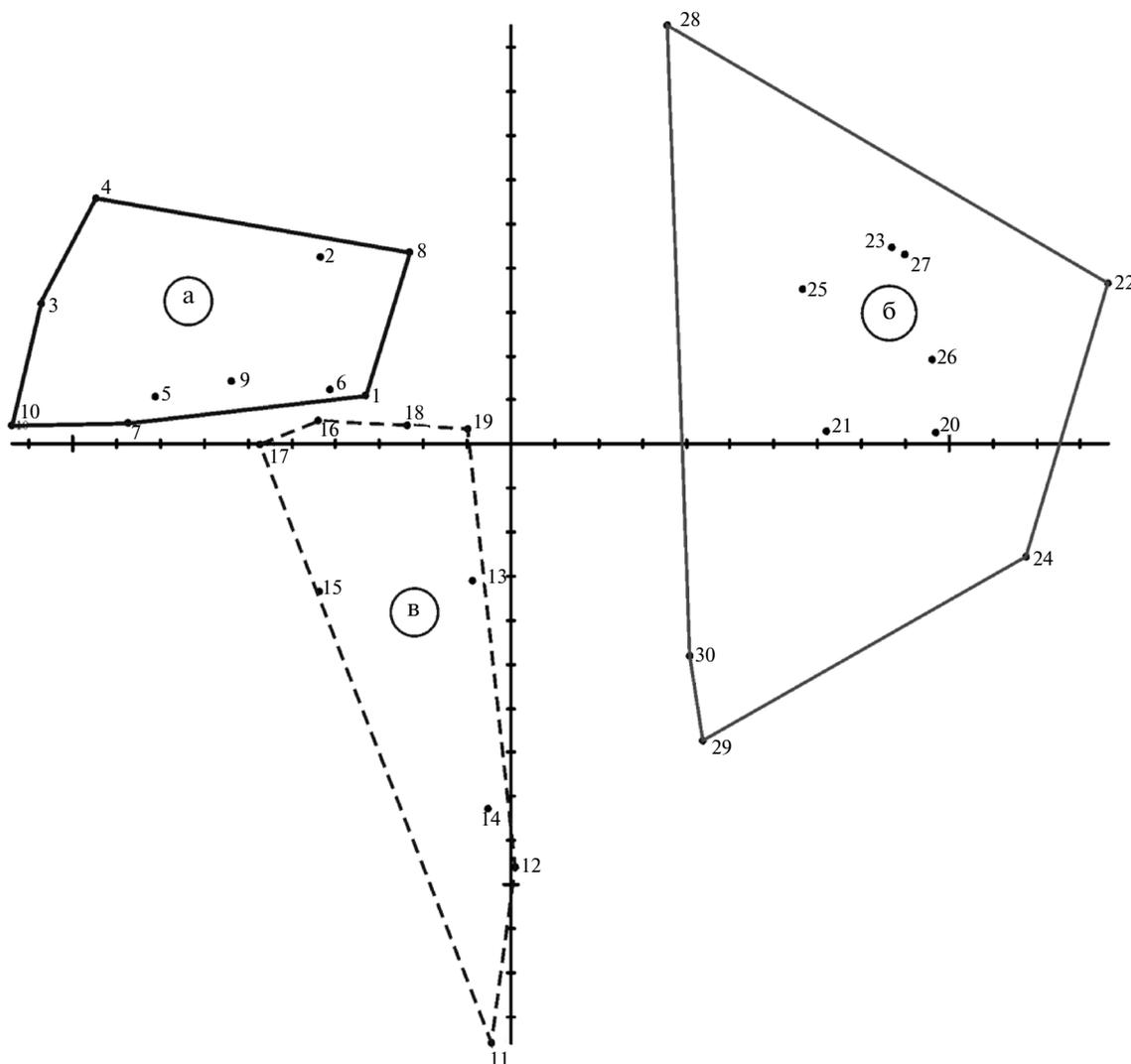
Деформации трансформационной решетки наглядно демонстрируют, что основные морфологические различия этих групп связаны с различиями в форме головы (рис. 4), которые определяются особенностями краниогенеза. В ходе

сравнительного анализа у исследуемых видов были обнаружены различия во временных характеристиках развития черепа (рис. 5). Можно выделить четыре варианта краниогенеза: 1) “предковый” – свойственный предполагаемому предковому виду *L. intermedius*; 2) замедленный относительно “предкового”, свойственный *L. megastoma*; 3) ускоренный относительно “предкового”, характерный для *L. brevicephalus*; и 4) сочетающий периоды, как ускорения, так и замедления относительно “предкового”, наблюдаемый у *L. truttiformis*, *L. crassibarbis* и *L. platydorsus*.

Совпадение обнаруженных вариантов временных характеристик краниогенеза с вышеперечисленными морфологическими группами усачей вряд ли является случайным. Скорее, оно указывает на вероятное участие изменений темпов и сроков краниогенеза в формировании морфологических различий между исследуемыми видами усачей. Данное предположение подтверждается экспериментально. Искусственно вызванное замедление краниогенеза *L. intermedius* (рис. 6) приводит к изменению формы черепа (рис. 7, 9) и формированию морфологии головы, сходной с морфологией головы некоторых хищных видов усачей (рис. 1, 4, 10). Искусственно вызванное ускорение краниогенеза *L. intermedius* (рис. 6),



**Рис. 7.** Морфология головы 2-летних сибсов *L. intermedius*, выращенных в разных гормональных режимах: а – нормальное развитие; б – развитие при повышенном уровне ТГ; в – развитие при дефиците ТГ.



**Рис. 8.** Распределение особей *L. intermedius*, выращенных в разных гормональных режимах, в пространстве I (ось абсцисс) и II (ось ординат) осей относительной деформации. а – контрольная группа, б – группа, выращенная в условиях повышенного уровня ТГ, в – группа, выращенная в условиях дефицита ТГ.

приводит к “укорачиванию” головы (рис. 7, 9), т.е. формированию признака, являющегося одним из ключевых диагностических признаков *L. breviphalus* (рис. 1, 4).

Таким образом, экспериментальными методами получено подтверждение, что изменения временных параметров краниогенеза усачей приводят к формированию различий в их дефинитив-

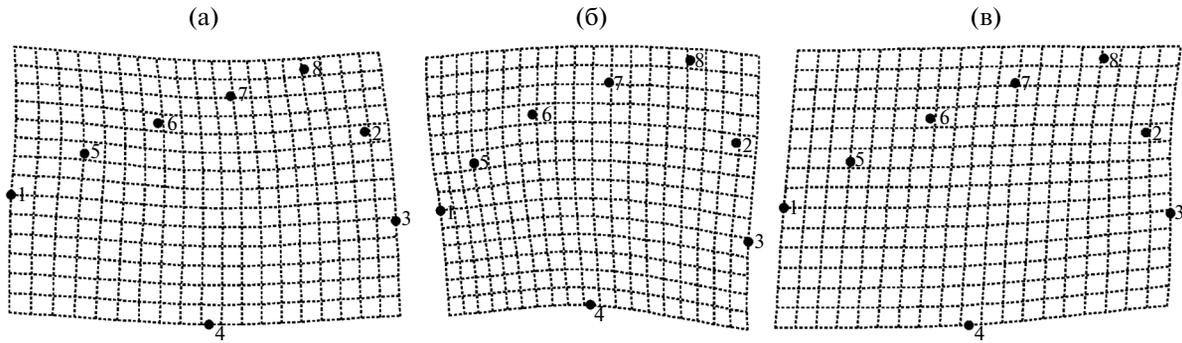


Рис. 9. Деформации трансформационной решетки. а, б, и в – точки в пространстве I и II ООД, обозначенные кружком на рис. 9.

ной морфологии. Соответственно, данные изменения темпов и сроков онтогенетических событий являются гетерохрониями (Шмальгаузен, 1938; de Beer, 1940; Gould, 1977; Alberch, Alberch, 1981; Рэфф, Кофман, 1986; McNamara, 2012). Ранее роль гетерохроний в симпатрическом видообразовании и эволюции пучков видов костистых рыб рассматривалась рядом авторов. Так, гетерохронии считаются одним из основных механизмов дивергенции симпатрических форм и формирования пучков видов цикловых (de Jong et al., 2009; Parsons, Albertson, 2009; Parsons et al., 2014), лососевых (Skulason et al., 1989; Алексеев, 1994; Turgeon et al., 1999; Осинов, 2002; West-Eberhard, 2003; Пичугин, 2009), колюшковых рыб (West-Eberhard, 2003). Участие гетерохроний предполагалось и в морфологической диверсификации танских усачей (Mina et al., 2001).

В большинстве вышеперечисленных случаев дивергенция близкородственных форм сопровождается адаптивной радиацией и изменением не только морфологических, но и множества других характеристик, приводящих к изменению биологии и экологии форм. Стремительное, с эволюционной точки зрения, формирование

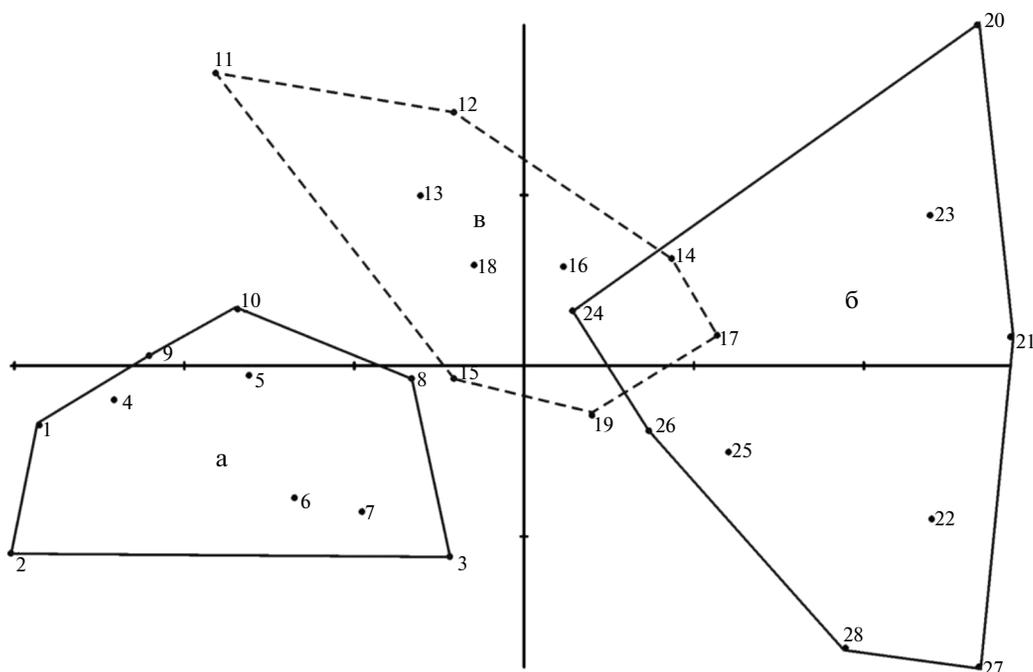
столь значимых фенотипических различий при отсутствии существенных генетических перестроек (Berrebi, Valushok, 1998; Turgeon et al., 1999; Осинов, 2002; Сиделева, 2010; de Graaf et al., 2010) может быть вызвано изменением активности одного или нескольких регуляторных факторов, обладающих плейотропным эффектом. Одними из наиболее вероятных кандидатов на роль таких сигнальных факторов являются гормоны (Finch, Rose, 1995).

Гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная ось (ГГТО) более других эндокринных осей претендует на ведущую роль в стремительном симпатрическом видообразовании костистых рыб. Особенности строения и функционирования ГГТО позволяют транслировать сигналы, поступающие из внешней среды, в гуморальные факторы (ТГ), регулирующие экспрессию множества генов-мишеней, и обеспечивать тем самым реакцию генома на изменения внешней среды. При этом плейотропный эффект, оказываемый ТГ на онтогенез и жизнедеятельность костистых рыб, трудно переопределить (Janz, 2000). В частности, ТГ определяют темпы и сроки протекания многих онтогенетических процессов (Yamano et al., 1991; Brown, 1997;

Таблица 3. Результаты однофакторного дисперсионного анализа с независимым фактором “Группа” и зависимыми переменными – значениями I и II осей относительной деформации (рис. 8)

I ось относительной деформации, RW1					
	D.F.	SS	MS	F	p
Группа	2	0.1226	0.0613	70.6376	≤0.0001
Error	27	0.0234	0.0009		
II ось относительной деформации, RW2					
	D.F.	SS	MS	F	p
Группа	2	0.0219	0.0109	6.3788	0.0054
Error	27	0.0465	0.0017		

D.F. – число степеней свободы, SS – сумма квадратов, MS – средний квадрат, F – критерий Фишера, p – оценка вероятности, Error – остаточная изменчивость.



**Рис. 10.** Распределение молоди усачей в пространстве II (ось абсцисс) и IV (ось ординат) осей относительной деформации: а – *L. intermedius*, выращенные в нормальных условиях, б – *L. intermedius*, выращенные в условиях дефицита ТГ, в – *L. megastoma*, выращенные в нормальных условиях.

de Jesus et al., 1998; Hseu et al., 2002; Okada et al., 2005; Einarsdottir et al., 2006; Blanton, Specker, 2007).

Экспериментально показано, что изменения уровня ТГ приводят к изменению временных характеристик онтогенеза, что зачастую отражается на дефинитивной морфологии рыб, т.е. вызывают

**Таблица 4.** Результаты *post hoc* анализа средних значений II и IV осей относительной деформации (рис. 10) с помощью критерия Тьюки (Tukey Honestly Significant Difference test); в ячейках таблицы итоговые значения вероятности с поправкой на множественные сравнения

II ось относительной деформации			
группа	а	б	в
а		0.0058	0.0001
б	0.0058		0.0006
в	0.0001	0.0006	
IV ось относительной деформации			
группа	а	б	в
а		0.0326	0.8745
б	0.0326		0.1022
в	0.8745	0.1022	

а – *L. intermedius*, выращенные в нормальных условиях, б – *L. intermedius*, выращенные в условиях дефицита ТГ, в – *L. megastoma*, выращенные в нормальных условиях.

гетерохронии (Shkil et al., 2012). В последние годы накапливаются факты, указывающие на то, что подобный механизм морфологической диверсификации реализуется у костистых рыб и в естественных условиях. Так, индивидуальные различия в уровне ТГ у личинок камбалы *Paralichthys olivaceus* обуславливают их внутривидовую морфологическую изменчивость (Okada et al., 2005). Межвидовые различия во времени начала функционирования щитовидной железы способствуют межвидовой морфологической дивергенции у бычков (Gobiidae) (Harada et al., 2003). Причем, в обоих случаях различия в активности ГГТО сопровождаются не только многочисленными различиями в морфологии разных систем и органов, но и различиями в экологии данных видов.

Кроме того, получены данные, указывающие на участие ГГТО в адаптивной радиации. Так, были обнаружены генетически детерминированные различия в активности ГГТО между морскими и пресноводными формами трехиглой колюшки (Kitano et al., 2010; Laudet, 2010). При этом наблюдаемые между экологическими формами морфологические различия связаны с полиморфизмом гена *Eda*, определяющего функционирование *Eda*-каскада (ectodysplasin pathway) (Colosimo et al., 2005). Экспериментальными методами было показано, что данный каскад участвует в развитии ряда скелетных структур костистых рыб (Harris et al., 2008). Примечательно, что морфологические последствия изменений функциониро-

вания данного каскада схожи с морфологическими последствиями, наблюдаемыми у карповых рыб, при изменении уровня ТГ (Shkil et al., 2012). Вероятно, сходство морфологических последствий объясняется тем, что ген *Eda* является геном-мишенью ТГ-зависимого *Wnt*-каскада (*Wnt* pathway) (Miller et al., 2001; Durmowicz et al., 2002; Mullholland et al., 2005; Wang et al., 2007), и его активность, таким образом, может контролировать ГГТО.

Кроме того, ТГ-зависимость генов *Wnt* и *bmp 4* (Ishizuya-Oka et al., 2006; Lassoova et al., 2009) позволяет предположить, что гетерохронная экспрессия данных генов, являющаяся одним из механизмов адаптивной радиации и формирования морфологического разнообразия симпатрических форм Африканских цихлид (Albertson et al., 2005; Parsons, Albertson, 2009; Parsons et al., 2014), связаны с изменениями активности ГГТО. В пользу данной гипотезы свидетельствует сходство онтогенетических эффектов, вызванных изменениями сроков и уровня экспрессии данных генов, и их морфологических последствий у Африканских цихлид с онтогенетическими эффектами и морфологическими последствиями, вызванными изменениями уровня ТГ у танских усачей. В обоих случаях происходит изменение временных характеристик краниогенеза (изменение сроков и темпов формирования окостенений), приводящее к изменениям дефинитивной формы отдельных костей черепа и головы в целом.

Таким образом, существующий массив данных свидетельствует, что одним из механизмов взрывного симпатрического видообразования, наблюдаемого в пучках видов костистых рыб, являются гетерохронии. При этом с большой долей вероятности можно предположить, что одной из причин возникновения данных гетерохроний является изменчивость активности ГГТО, позволяющая быстрыми темпами достигать значительного морфологического разнообразия на фоне незначительных генетических изменений.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы искренне признательны Координатору Совместной российско-эфиопской биологической экспедиции (JERBE IV) А.А. Даркову за всестороннюю помощь и поддержку, оказанные в ходе настоящих исследований. Авторы благодарны Д.В. Анисифорову и Е.Г. Белкиной за ценные замечания и предложения, высказанные при написании настоящей работы, сотрудникам Bahir-Dar fishery and other aquatic research center (ARARI) (Эфиопия) за помощь в организации и проведении исследований, а также анонимным рецензентам за ценные замечания, высказанные в ходе подготовки статьи к публикации. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 12-04-31923,

13-04-00031, 14-04-00590 и Программы Президиума РАН “Живая природа”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев С.С. Формирование морфологических различий между острорылым и тупорылым ленком (род *Brachymystax*, Salmonidae) в онтогенезе и роль гетерохроний в их дивергенции // Вопр. ихтиол. 1994. Т. 34. С. 1–16.
- Голубцов А.С. “Пучки видов” рыб в реках и озерах: симпатрическая дивергенция в фаунистически обедненных рыбных сообществах как особый модус эволюции // Актуальные проблемы современной ихтиологии (к 100-летию Г.В. Никольского) / Под ред. Павлова Д.С., Дгебуадзе Ю.Ю., Шатуновского М.И. М., Т-во научных изданий КМК, 2010. С. 96–123.
- Дзержинский К.Ф., Шкиль Ф.Н., Белай Абдусса и др. Нерест “крупных усачей” (*Barbus intermedius* complex) в реке Дукалит бассейна озера Тана (Эфиопия) и репродуктивные отношения между некоторыми формами, описанными как виды // Вопр. ихтиол. 2007. Т. 47. С. 676–683.
- Мина М.В., Мироновский А.Н., Капитанова Д.В. Фенетические отношения и вероятные пути морфологической диверсификации Африканских усачей комплекса *Barbus intermedius* из озера Тана (Эфиопия) // Вопр. ихтиол. 2011. Т. 51. № 2. С. 149–163.
- Осинов А.Г. Арктический голец *Salvelinus alpinus* Забайкалья и Таймыра: генетическая дифференциация и происхождение // Вопр. ихтиол. 2002. Т. 42. № 2. С. 149–160.
- Павлинов И.Я., Микешина Н.Г. Принципы и методы геометрической морфометрии // Журн. общ. биол. 2002. Т. 63. № 6. С. 473–493.
- Пичугин М.Ю. Развитие элементов скелета у молоди карликовой и мелкой симпатрических форм *Salvelinus alpinus* комплекс из озера Даватчан (Забайкалье) // Вопр. ихтиол. 2009. Т. 49. С. 763–780.
- Рэфф Р., Кофман Т. Эмбрионы, гены и эволюция. М., Мир, 1986. 404 с.
- Сиделева В.Г. Паттерны озерного видообразования и сопряженная морфологическая и молекулярная дивергенция эндемичных рыб Байкала. // Актуальные проблемы современной ихтиологии (к 100-летию Г.В. Никольского) / Под ред. Павлова Д.С., Дгебуадзе Ю.Ю., Шатуновского М.И. М., Т-во научных изданий КМК, 2010. С. 124–147.
- Шкиль Ф.Н., Борисов В.Б., Абдусса Б. и др. Роль гормона щитовидной железы в онтогенезе и морфологической диверсификации *Barbus intermedius sensu* Vanister, 1973 озера Тана, Эфиопия // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 6. С. 438–450.
- Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М., Л., Изд-во АН СССР, 1938. 144 с.
- Яблоков А.В., Юсуфов А.Г. Эволюционное учение. Учеб. пособие для студентов ун-тов. М., Высшая школа, 1976. 331 с.
- Alberch P., Alberch J. Heterochronic mechanisms of morphological diversification and evolutionary change in the neotropical salamander, *Bolitoglossa occidentalis* (Amphibia: Plethodontidae) // J. Morphol. 1981. V. 167. P. 249–264.

- Albertson R.C., Strelman J.T., Kocher T.D. et al. Integration and evolution of the cichlid mandible: molecular basis of alternate feeding strategies // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 16287–16292.
- Berrebi P., Valiushok D. Genetic divergence among morphotypes of Lake Tana (Ethiopia) barbs // Biol. J. Linn. Soc. 1998. V. 64. P. 369–384.
- Blanton M.L., Specker J.L. The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in fish and its role in fish development and reproduction // Crit. Rev. Toxicol. 2007. V. 37. P. 97–115.
- Bookstein F. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. Cambridge (UK), New York, Cambridge Univ. Press, 1991. 198 p.
- Borisov V.B., Shkil F.N., Abdissa B. et al. Development of the cranium in the large African hexaploid barb *Labeobarbus* (= *Barbus intermedius*) (Cyprinidae; Teleostei) // J. Ichthyol. 2012. V. 52. № 11. P. 838–860.
- Brown D.D. The role of thyroid hormone in zebrafish and axolotl development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 13011–13016.
- Colosimo P.F., Hosemann K.E., Balabhadra S. et al. Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of ectodysplasin alleles // Science. 2005. V. 307. P. 1928–1933.
- de Beer G. Embryos and ancestors. Oxford, Clarendon Press, 1940. 197 p.
- de Graaf M., Eshete Dejen, Osse J.W.M. et al. Adaptive radiation of Lake Tana's (Ethiopia) *Labeobarbus* species flock (Pisces, Cyprinidae) // Mar. Freshwater Res. 2008. V. 59. P. 391–407.
- de Graaf M., Megens H.-J., Samallo J. et al. Preliminary insight into the age and origin of the *Labeobarbus* fish species flock from Lake Tana (Ethiopia) using the mtDNA cytochrome b gene // Mol. Phylogen. Evol. 2010. V. 54. P. 336–343.
- de Jesus E.G.T., Toledo J.D., Simpas M.S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae // Gen. Comp. Endocrinol. 1998. V. 112. P. 10–16.
- de Jong I.M.L., Colbert M.W., Witte F. et al. Polymorphism in developmental timing: intraspecific heterochrony in a Lake Victoria cichlid // Evol. Dev. 2009. V. 11. P. 625–635.
- Durmowicz M.C., Cui C.Y., Schlessinger D. The EDA gene is target of, but does not regulate Wnt-signaling // Gene. 2002. V. 285. P. 203–211.
- Einarsdottir I.E., Silva N., Power D.M. et al. Thyroid and pituitary gland development from hatching through metamorphosis of a teleost flatfish, the Atlantic halibut // Anat. Embryol. 2006. V. 211. P. 47–60.
- Gould S.J. Ontogeny and phylogeny. Cambridge, Harvard Univ. Press, 1977. 501 p.
- Greenwood P.H. What is a species flock? // Evolution of fish species flocks. Orono, Univ. of Maine Press, 1984. P. 13–20.
- Gunz P., Mitteroecker P. Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces // Hystrix. 2013. V. 24. № 1. P. 103–109.
- Harada Y., Harada S., Kinoshita I. et al. Thyroid gland development in a neotenic goby (Ice goby, *Leucopsarion petersii*) and a common goby (Ukigori, *Gymnogobius urotaenia*) during early life stages // Zoological Science. 2003. V. 20. № 7. P. 883–888.
- Harris M.P., Rohner N., Schwarz H. et al. Zebrafish *eda* and *edar* mutants reveal conserved and ancestral roles of ectodysplasin signaling in vertebrates // PLoS Genet. 2008. V. 4. № 10. e1000206.
- Hseu J.-R., Chang H.-F., Ting Y.-Y. Inducing effects of hormones in metamorphosis-arrested grouper larvae // J. Fish. Soc. Taiwan. 2002. V. 29. P. 79–83.
- Ishizuya-Oka A., Hasebe T., Shimizu K. et al. Shh/BMP-4 signaling pathway is essential for intestinal epithelial development during *Xenopus* larval-to-adult remodeling // Dev. Dyn. 2006. V. 235. P. 3240–3249.
- Janz D.M. Endocrine system. In: Ostrand G.K. (ed.). The laboratory fish. London, Academic Press, 2000. P. 189–217.
- Kitano J., Lema S.C., Luckenbach J.A. et al. Adaptive divergence in the thyroid hormone signaling pathway in the stickleback radiation // Curr. Biol. 2010. V. 20. № 23. P. 2124–2130.
- Klingenberg C.P. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches // Nature Reviews. 2010. V. 11. P. 623–635.
- Kontula T., Kirilchik S.V., Väinölä R. Endemic diversification of the monophyletic cottoid fish species flock in Lake Baikal explored with mtDNA sequencing // Mol. Phylogen. Evol. 2003. V. 27. P. 143–155.
- Lassova L., Niu Z., Golden E.B. et al. Thyroid hormone treatment of cultured chondrocytes mimics in vivo stimulation of collagen X mRNA by increasing BMP 4 expression // J. Cell. Physiol. 2009. V. 219. P. 595–605.
- McNamara K.J. Heterochrony: the evolution of development // Evo. Edu. Outreach. 2012. V. 5. P. 203–218.
- Meyer A. Cichlid species flocks of the past and present // Heredity. 2005. V. 95. P. 419–420.
- Miller L.D., Park K.S., Guo Q.M. et al. Silencing of Wnt signaling and activation of multiple metabolic pathways in response to thyroid hormone-stimulated cell proliferation // Mol. Cell Biol. 2001. V. 21. P. 6626–6639.
- Mina M.V., Mironovsky A.N., Golani D. Consequences and modes of morphological diversification of East African and Eurasian barbins (genera *Barbus*, *Varicorhinus* and *Capoeta*) with particular reference to *Barbus intermedius* complex // Env. Biol. Fish. 2001. V. 61. P. 241–252.
- Mitteroecker P., Gunz P. Advances in geometric morphometrics // Evol. Biol. 2009. V. 36. P. 235–247.
- Mulholland D., Dedhar S., Coetzee G. et al. Interaction of nuclear receptors with the *Wnt/β-catenin/Tcf* signaling axis: Wnt – you like to know? // Endocr. Rev. 2005. V. 26. № 7. P. 898–915.
- Nagelkerke L.A.J., Sibbing F.A. The '*Barbus intermedius*' species flock of lake Tana (Ethiopia). I. The ecological and evolutionary significance of morphological diversity // Ital. J. Zool. 1998. V. 65. P. 3–7.
- Nagelkerke L.A.J., Sibbing F.A. The large barbs (*Barbus* spp., Cyprinidae, Teleostei) of Lake Tana (Ethiopia), with a description of a new species, *Barbus osseensis* // Netherl. J. Zool. 2000. V. 50. P. 179–214.
- Okada N., Morita T., Tanaka M. et al. Thyroid hormone deficiency in abnormal larvae of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* // Fish. Sci. 2005. V. 71. P. 107–114.

- Parsons K.J., Albertson R.C. Roles for *Bmp4* and *CaM1* in shaping the jaw: evo-devo and beyond // *Annu. Rev. Genet.* 2009. V. 43. P. 369–388.
- Parsons K.J., Taylor A.T., Powder K.E. et al. *Wnt* signalling underlies the evolution of new phenotypes and craniofacial variability in Lake Malawi cichlids // *Nature communications.* 2014. 5:3629. DOI: 10.1038/ncomms4629.
- Reig S., Doadrio I., Mironovsky A.N. Geometric analysis of size and shape variation in barbel from Lake Tana (Ethiopia) // *Folia Zool.* 1998. V. 47 (Suppl. 1). P. 35–51.
- Ribbink A.J. Is the species flock concept tenable? In: Echelle A.A., Kornfield I. (eds.). *Evolution of fish species flocks.* Maine, Orono Press, 1984. P. 21–25.
- Sullivan J.P., Lavoue S., Hopkins C.D. Discovery and phylogenetic analysis of a riverine species flock of African electric fishes (Mormyridae: Teleostei) // *Evolution.* 2002. V. 56. № 3. P. 597–616.
- Salzburger W., Meyer A., Baric S. et al. Phylogeny of the Lake Tanganyika cichlid species flock and its relationship to the Central and East African haplochromine cichlid fish faunas // *Syst. Biol.* 2002. V. 51. № 1. P. 113–135.
- Shkil F.N., Kapitanova D.V., Borisov V.B. et al. Thyroid hormone in skeletal development of cyprinids: effects and morphological consequences // *J. Appl. Ichthyol.* 2012. V. 28. P. 398–405.
- Sibbing F.A., Nagelkerke L.A.J., Stet R.J.M. et al. Speciation of endemic Lake Tana barbs (Cyprinidae, Ethiopia) driven by trophic resource partitioning; a molecular and ecomorphological approach // *Aquatic Ecology.* 1998. V. 32. P. 217–227.
- Sideleva V.G. Speciation of endemic Cottoidei in Lake Baikal // *Advances in Limnology.* 1994. V. 44. P. 441–450.
- Skulason S., Noakes D.L.G., Snorrason S.S. Ontogeny of trophic morphology in four sympatric morphs of arctic charr *Salvelinus alpinus* in Thingvallavatn, Iceland // *Biol. J. Linn. Soc.* 1989. V. 38. P. 281–301.
- Smirnov S.V., Kapitanova D.V., Borisov V.B. et al. Lake Tana large barbs diversity: developmental and hormonal bases // *J. Ichthyol.* 2012. V. 52. № 11. P. 861–880.
- Turgeon J., Estoup A., Bernatchez L. Species flock in the North American lakes: molecular ecology of Lake Nipigon ciscoes (Teleostei: Coregonidae: *Coregonus*) // *Evolution.* 1999. V. 53. P. 1857–1871.
- Walker M.B., Kimmel C.B. A two-color acid-free cartilage and bone stain for zebrafish larvae // *Biotech. Histochem.* 2007. V. 82. P. 23–28.
- Wang L., Shao Y.Y., Ballock R.T. Thyroid hormone interacts with the *Wnt/β-catenin* signaling pathway in the terminal differentiation of growth plate chondrocytes // *J. Bone Mineral Res.* 2007. V. 22. № 12. P. 1988–1995.
- West-Eberhard M.J. *Developmental plasticity and evolution.* Oxford, Oxford Univ. Press, 2003. 794 p.
- Yamano K., Tagawa M., de Jesus E.G. et al. Changes in whole body concentrations of thyroid hormones and cortisol in metamorphosing conger eel // *J. Comp. Physiol.* 1991. V. 161. № 4. P. 371–375.
- Zelditch M.L., Lundrigan B.L., Garland T. Developmental regulation of skull morphology. I. Ontogenetic dynamics of variance // *Evol. Dev.* 2004. V. 6. P. 194–206.

## Ontogenetic Mechanisms of Explosive Morphological Divergence in the Lake Tana (Ethiopia) Species Flock of Large African Barbs (*Labeobarbus*; Cyprinidae; Teleostei)

F. N. Shkil<sup>a,b</sup>, O. E. Lazebny<sup>b</sup>, D. V. Kapitanova<sup>a,b</sup>, Belay Abdissa<sup>c</sup>, V. B. Borisov<sup>a,b</sup>, and S. V. Smirnov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, 33 Leninskii prospect, Moscow

<sup>b</sup> Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS, 26 Vavilova ul., Moscow

<sup>c</sup> Bahir-Dar Fishery and Other Aquatic Life Research Center, ARARI, Bahir-Dar, Ethiopia  
e-mail: fedorshkil@gmail.com

Received November 5, 2014; the final version, May 11, 2015

Species flock of Lake Tana (Ethiopia) large African barbs (*Labeobarbus*; Cyprinidae; Teleostei) was studied as a model system for investigating ontogenetic mechanisms of the explosive morphological divergence often accompanying sympatric speciation in bony fishes. Comparative morphological analysis carried out with the use of geometric morphometric techniques revealed quantitative differences in the head shapes of species under study. Comparative analysis of skull development revealed significant interspecies differences in the temporal characteristics of craniogenesis in these species. These two lines of evidence suggest that heterochronies in craniogenesis underlie divergence in the head shapes of adult Tana barbs. This prediction was verified via experimental changes of temporal characteristics of craniogenesis in *L. intermedius*, a putative ancestor for the Lake Tana species flock. For this aim, timing and rate of skull development were changed by artificial manipulation of thyroid hormone levels. In sum, it was shown that it is heterochronies that underlie an explosive morphological divergence of the Lake Tana barbs species flock. Our findings together with those reported in the literature suggest variability in the activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis to contribute to these heterochronies.

**Keywords:** species flock, morphological divergence, heterochronies, thyroid hormones, geometric morphometry, *Labeobarbus*, Cyprinidae