

УДК 575.86:577.2.04:597.555.5

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ НАЛИМА (*Lota lota* L., 1758) ВОЛЖСКО-КАМСКОГО РЕЧНОГО БАССЕЙНА ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МАРКЁРОВ

© 2020 г. Л. Э. Ялковская^{1,*}, Ю. Я. Хрунык², М. А. Крохалева¹,
член-корреспондент РАН В. Д. Богданов¹, П. А. Сибиряков¹, С. Б. Ракитин¹, А. В. Бородин¹

Поступило 17.05.2019 г.

После доработки 17.05.2019 г.

Принято к публикации 17.05.2019 г.

Впервые проведена реконструкция филогенетических связей налима (*Lota lota* L., 1758) Волжско-Камского речного бассейна. Материалом послужили последовательности гена цитохрома *b* и контрольного региона мтДНК 44 образцов из притоков Волги — р. Кама и р. Межевая Утка. В ходе исследования для обоих маркёров описаны новые гаплотипы. Результаты филогенетической реконструкции как по цитохрому *b*, так и контрольному региону мтДНК не противоречат современным представлениям о филогенетической структуре вида и указывают на принадлежность налима Волжско-Камского речного бассейна к Евразийской гаплогруппе. Согласно полученным данным, Волжско-Камский бассейн мог играть важную роль в формировании генетического разнообразия налима в Европе, а в определенные периоды служить коридором, соединяющим речные системы европейской и азиатской частей видового ареала.

Ключевые слова: митохондриальный геном, филогеография, генетическая дифференциация, пресноводная ихтиофауна, циркумполярный ареал, постледниковая реколонизация

DOI: 10.31857/S2686738920010254

Генетические исследования широко распространены на основе анализа митохондриальных маркёров успешно используются при решении вопросов внутривидовой дифференциации, систематики и филогении, а также для реконструкции эволюционной истории отдельных таксонов и биомов в целом. Налим (*Lota lota* L., 1758) — единственный пресноводный представитель семейства Gadidae. Циркумполярный ареал вида представлен реками и озерами Евразии и Северной Америки вплоть до 40° с.ш. (рис. 1). Исследования генетической структуры *L. lota* с использованием гена цитохрома *b* (сyt *b*) и контрольного региона (CR) мтДНК охватывают территории обоих континентов [1–6]. Показано существование двух крупных митохондриальных линий, соответствующих двум подвидам. Северо-Американская линия (*L. l. maculosa*) занимает юго-восточную часть ареала вида в Северной

Америке, а Евразийско-Берингийская (*L. l. lota*) — северо-западную часть Северной Америки и территорию всей Евразии, и, собственно, она имеет циркумполярный ареал (рис. 1).

Анализ генетического разнообразия и демографической истории Евразийско-Берингийской линии свидетельствует о формировании границ её современной области распространения в постледниковый период. Согласно филогенетическим реконструкциям, в пределах линии дифференцируются группы гаплотипов, распространение которых ограничено периферийными частями ареала, а их базальные гаплотипы являются производными от гаплотипов широко распространенной Евразийской группы, занимающей территорию Западной и Северной Европы, а также Западной и Восточной Сибири [1–3, 6]. Формирование Евразийской группы связывают с существованием нескольких рефугиумов. Для Европы такое значение мог иметь Дунайский бассейн [1–3]. Но, как показали наши исследования генетического разнообразия налима Обь-Тазовского бассейна [6], реконструкции эволюционной истории налима нельзя считать обоснованными без учета возможного вклада крупных речных систем центральной и восточной Евразии, данные по которым практически отсутству-

¹ Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской Академии наук, Екатеринбург, Россия

² Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

*e-mail: lida@ipae.uran.ru

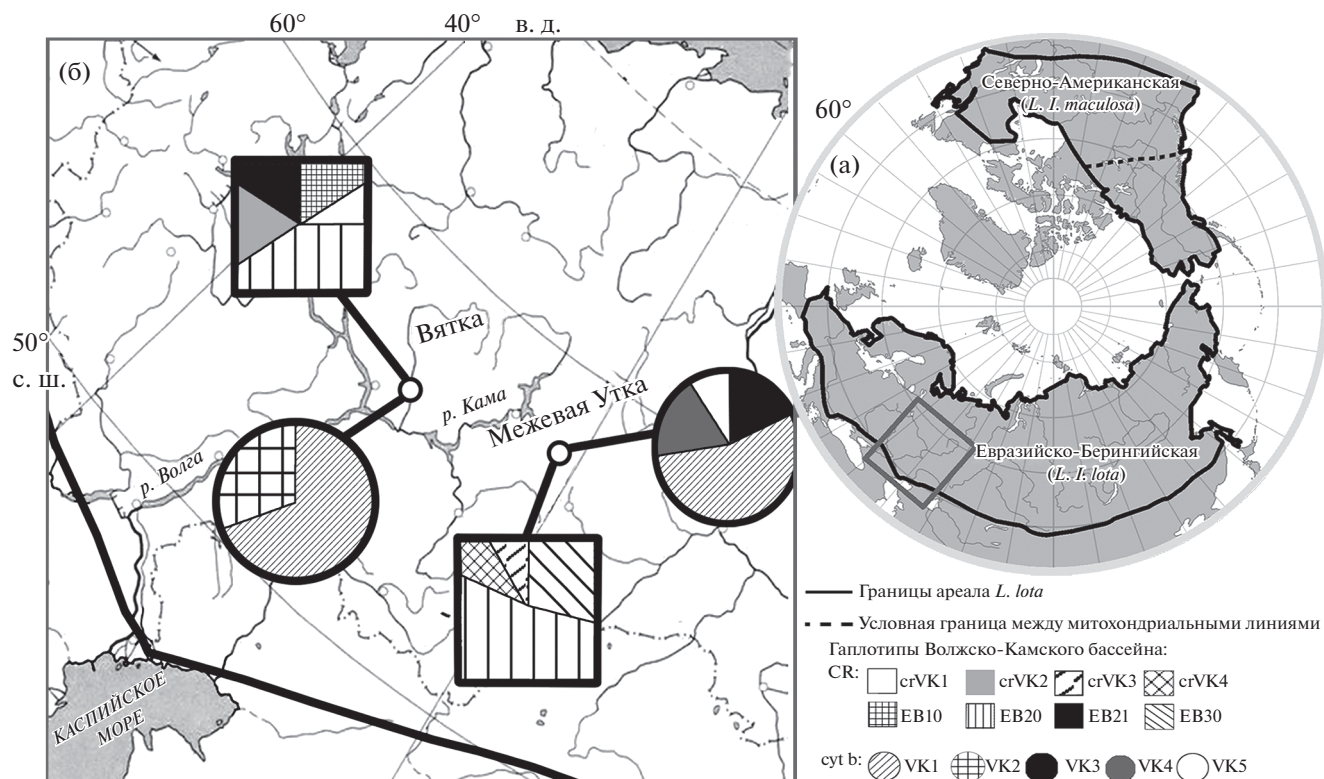


Рис. 1. Ареал *L. lota* и условная граница между митохондриальными линиями (а), места сбора образцов из Волжско-Камского речного бассейна и распределение гаплотипов *cyt b* и CR мтДНК (б).

ют. Так, в генетических исследованиях налива не представлен крупнейший в Европе Волжско-Камский речной бассейн, который впадает в бессточное (внутреннее) Каспийское море и в формировании которого участвуют как европейские, так азиатские реки. Согласно геологической истории бассейна, в его недавнем прошлом были периоды соединения как с европейскими, так и с сибирскими гидрологическими системами [7]. В этой связи нами были проведены исследования филогенетических связей налива Волжско-Камского речного бассейна на основе анализа двух митохондриальных маркеров *cyt b* и CR.

В работе использованы образцы мышечной ткани, зафиксированной в 96%-м этаноле, от 44 особей налива из притоков Волги второго и третьего порядка – р. Вятка (57°38' с.ш. 59°04' в.д.) и р. Межевая Утка (56°07' с.ш. 51°20' в.д.) соответственно (рис. 1). Выделение ДНК, амплификация (условия ПЦР одинаковы для обоих маркеров), секвенирование фрагментов мтДНК, содержащих *cyt b* и CR, обработка последовательностей, оценка генетического разнообразия и филогенетические реконструкции проведены с применением методов, подробно описанных ранее [6]. Для амплификации *cyt b* использовали праймеры L14299Gm и H14942Gm [1], CR – LProF и 12S5R [6].

Для филогенетических построений использованы данные GenBank. Для *cyt b* – 39 гаплотипов (AY226383-444 [1], KM201364 [8], KM363244 [9], KC44053, KU244689-92, KT327178 (неопубликованные данные)), большинство из которых представлены последовательностями длиной 1063 пн: фрагмент от 5'-конца – 567 пн и фрагмент от 3'-конца – 496 пн [1]. Для CR – 104 гаплотипа (AY656840-915 [2], DQ630963-1411 [3], EU873154-65 [4], KX017626-48 [6], KM201364 [8], KM363244 [9], KJ381204 [10], KC44053, EF191381-84, EF191387 (неопубликованные данные) длиной 409 п.н. от 5'-конца, что позволило включить в анализ максимальный объем данных, имеющихся в GenBank.

Полные последовательности *cyt b* (1140 пн) налива Волжско-Камского бассейна получены от 21 особи: 10 особей – р. Вятка, 11 – р. Межевая Утка. Описано пять гаплотипов (депонированы в базе данных GenBank (NCBI) под номерами MN708969–MN708973), четыре из которых являются новыми. Гаплотип VK1 выявлен у большинства особей в обеих реках (семь и шесть особей – р. Вятка и р. Межевая Утка соответственно), VK2 (три особи) обнаружен только в р. Вятка, VK3–VK5 – в р. Межевая Утка (VK3 – две особи, VK4 – две особи, VK5 – одна особь) (рис. 1).

Филогенетические реконструкции по данным *сyt b* (рис. 2) показали, что гаплотипы налима Волжско-Камского бассейна, как и ожидалось согласно представлениям о распространении митохондриальных линий, относятся к Евразийско-Берингийской линии, структура которой в целом соответствует предложенным ранее схемам [1, 5]. Гаплотипы Волжско-Камского бассейна не образуют отдельной группы и относятся к Евразийской гаплогруппе, распространенной от Швеции, Финляндии, Онежского озера до оз. Байкал и бассейна р. Лены (рис. 2).

Для 23 особей налима Волжско-Камского бассейна (12 особей – р. Вятка, 11 – р. Межевая Утка) секвенированы полные последовательности CR (804 п.н.), описано 11 гаплотипов, среди которых восемь являются новыми (депонированы в базе данных GenBank (NCBI) под номерами MN685694–MN685704). Использование при филогенетических реконструкциях только небольшого участка CR (409 пн) привело к уменьшению общего числа гаплотипов с 11 до 8: четыре гаплотипа *сrVK1*–*сrVK4* новые; а четыре гаплотипа *ЕВ10*, *ЕВ20*, *ЕВ21*, *ЕВ30* описаны ранее в пределах Евразийско-Берингийской линии [2]. Гаплотип *ЕВ20* обнаружен в обеих реках (пять и шесть особей – р. Вятка и р. Межевая Утка соответственно), *ЕВ10* (две особи), *ЕВ21* (одна особь), *сrVK1* (одна особь) и *сrVK2* (одна особь) – только в р. Вятка, а *ЕВ30* (три особи), *сrVK3* (одна особь) и *сrVK4* (одна особь) – только в р. Межевая Утка (рис. 1).

Результаты филогенетической реконструкции на основе последовательностей CR (рис. 3) согласуются с данными, полученными по *сyt b*, и не противоречат имеющимся представлениям о филогеографической структуре вида [2, 5, 6]. Обнаруженные нами новые гаплотипы (*сrVK1*–*сrVK4*) не образуют самостоятельной клады. Среди описанных ранее три гаплотипа *ЕВ20*, *ЕВ21*, *ЕВ30* принадлежат Евразийской гаплогруппе и имеют широкое распространение: *ЕВ20* – Дунайский речной бассейн, Онежское озеро и р. Кюрёнюки (Финляндия); *ЕВ21* – Дунайский речной бассейн, р. Висла, р. Обь; *ЕВ30* – Центральная Европа, Западная и Восточная Сибирь, считается одним из базальных гаплотипов для всей Евразийско-Берингийской линии [2]. Четвертый гаплотип *ЕВ10*, обнаруженный в р. Вятка, ранее описан на территории Скандинавии [2] и рассматривается как базальный для Северо-Европейской группы, в которую также оказался включён один из вятских гаплотипов *сrVK1* (рис. 3).

Относительно высокое гаплотипическое разнообразие (*сyt b* – *h* = 0.605, CR – *h* = 0.759) при низких значениях нуклеотидного разнообразия (*сyt b* – π (%) = 0.108, CR – π (%) = 0.424) налима Волжско-Камского речного бассейна указывает

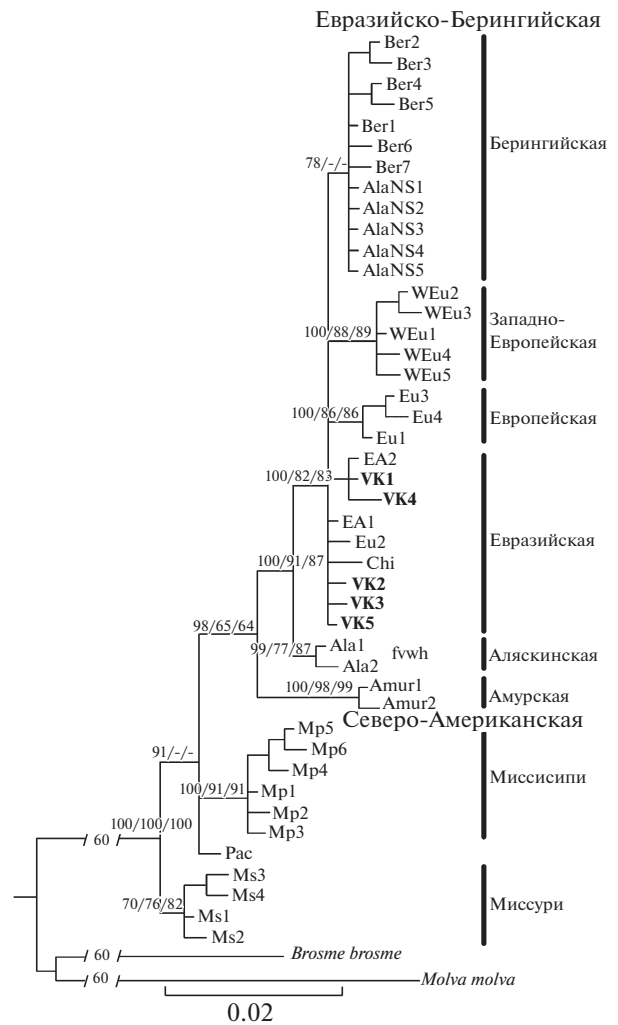


Рис. 2. Филогенетическое дерево (метод Байесова анализа (BI)) гаплотипов *сyt b* (1063 пн) *L. lota*. Шрифтом выделены гаплотипы, обнаруженные в Волжско-Камском речном бассейне. Над ветвями даны вероятности поддержки гаплогрупп (BI > 60/метод максимального правдоподобия (ML) > 50/метод ближайшего соседа (NJ) > 50), прочерком обозначена низкая поддержка при данном методе построения. В разрывах на ветвях указано сокращение их длины (%).

на его недавнее расселение в пределах современной акватории бассейна, что согласуется с представлениями о формировании генетической дифференциации Евразийско-Берингийской линии в целом.

Таким образом, анализ филогенетических связей налима Волжско-Камского речного бассейна позволяет предположить, что он, как и Дунайский бассейн, играл важную роль в формировании генетического разнообразия вида в Европе, а в определенные периоды мог служить своеобразным коридором, соединяющим речные системы европейской и азиатской частей видового ареала.

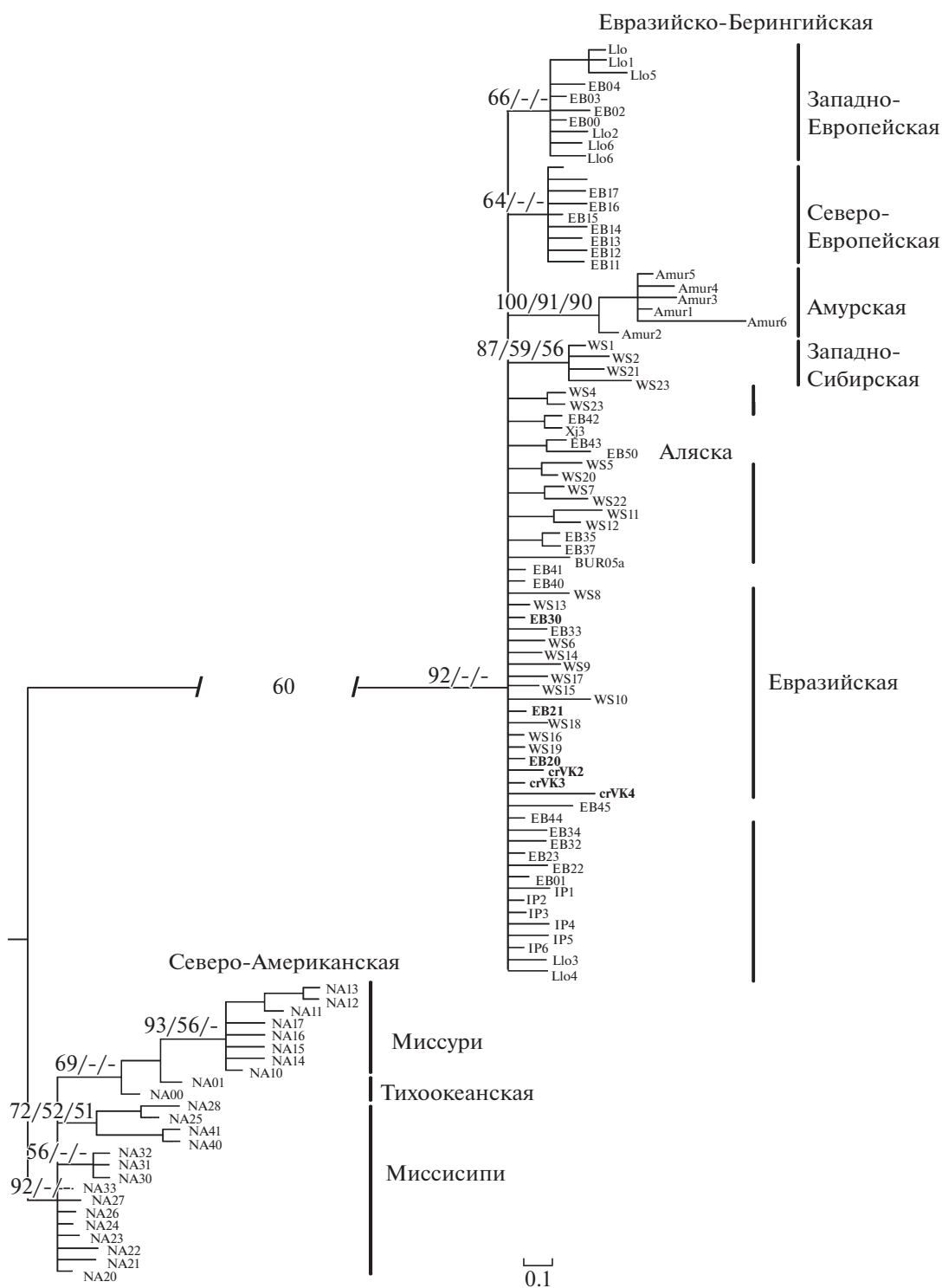


Рис. 3. Филогенетическое дерево (метод VI) гаплотипов CR (409 пн) *L. lota*. Шрифтом выделены гаплотипы, обнаруженные в Волжско-Камском речном бассейне. Над ветвями даны вероятности поддержки гаплогрупп VI > 60/ML > 50/NJ > 50, прочерком обозначена низкая поддержка при данном методе построения. В разрывах на ветвях указано сокращение их длины (%).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность коллегам за предоставленные образцы для молекулярно-генетиче-

ского анализа: А.Р. Копорикову (ИЭРиЖ УрО РАН), П.Б. Михееву (Университет Отаго), Н.Г. Петренко (ГОСНИОРХ).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (№ госрегистрации АААА-А19-119031590035-1) и при частичной финансовой поддержке Комплексной программы УрО РАН (№ 18-4-4-43).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van Houdt J.K.J., Hellemans B., Volckaert F.A.M. Phylogenetic Relationships among Palearctic and Nearctic Burbot (*Lota lota*): Pleistocene Extinctions and Recolonization // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2003. V. 29. P. 599–612.
2. Van Houdt J.K.J., De Cleyn L., Perretti A., et al. A Mitogenic View on the Evolutionary History of the Holarctic Freshwater Gadoid, Burbot (*Lota lota*) // *Molecular Ecology*. 2005. V. 14. P. 2445–2457.
3. Barluenga M., Sanetra M., Meyer A. Genetic Admixture of Burbot (Teleostei: *Lota lota*) in Lake Constance from Two European Glacial Refugia // *Molecular Ecology*. 2006. V. 15. P. 3583–3600.
4. Elmer K.R., Van Houdt J.K.J., Meyer A., et al. Population Genetic Structure of North American Burbot (*Lota lota maculosa*) across the Nearctic and at Its Contact Zone with Eurasian Burbot (*Lota lota lota*) // *Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2008. V. 65. № 11. P. 2412–2426.
5. Fang H., Zhang J., Song N., et al. Population Genetic Structure and Geographical Differentiation of Burbot (*Lota lota*) in China // *Russian J. Genetics*. 2013. V. 49. № 10. P. 1047–1056.
6. Хрунык Ю.Я., Богданов В.Д., Ялковская Л.Э. и др. Генетическое разнообразие налима (*Lota lota* L., 1758) Западной Сибири по результатам анализа полиморфизма контрольного региона мтДНК // *Генетика*. 2017. Т. 53. № 2. С. 214–222.
7. Застроженнов А.С., Шкатова В.К., Минина Е.А. и др. Карта четвертичных образований масштаба 1 : 2 500 000 территории Российской Федерации. Пояснительная записка. Минприроды России, Роснедра, ФГУП “ВСЕГЕИ”, ФГУП “ВНИИОкеангеология”, 2010. 220 с.
8. Zhang N., Song N., Gao T. The Complete Mitochondrial Genome of *Lota lota* (Gadiformes: Gadidae) // *Mitochondrial DNA*. 2016. V. 27. № 2. P. 1437–1438.
9. Lu Z., Zhang N., Song N., et al. The Complete Mitochondrial Genome of *Lota lota* (Gadiformes: Gadidae) from the Burqin River in China // *Mitochondrial DNA*. 2016. V. 27. № 3. P. 1662–1663.
10. Worthington T.A., Van Houdt J.K.J., Hull J.M., et al. Thermal Refugia and the Survival of Species in Changing Environments: New Evidence from a Nationally Extinct Freshwater Fish // *Ecology of Freshwater Fish*. 2017. V. 26. P. 415–423.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF BURBOT (*Lota lota* L., 1758) OF THE VOLGA-KAMA RIVER BASIN INFERRED FROM THE ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL DNA MARKERS

L. E. Yalkovskaya^{a, #}, Y. Y. Khrunyk^b, M. A. Krokhalova^a, Correspondent Member of the RAS V. D. Bogdanov^a, P. A. Sibiryakov^a, S. B. Rakitin^a, and A. V. Borodin^a

^a Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Science, Yekaterinburg, Russian Federation

^b Ural Federal University named after B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russian Federation

[#]e-mail: lida@ipae.uran.ru

The phylogenetic relationships of burbot (*Lota lota* L., 1758) of the Volga-Kama River basin are reconstructed for the first time. The sequences of the gene cytochrome *b* and the mtDNA control region obtained for 44 samples from the Kama River and Mezhevaya Utka River (the Volga River tributaries) are studied. New haplotypes of both markers were revealed. The results of phylogenetic reconstructions based on cytochrome *b* and control region mtDNA do not contradict the existing ideas about the phylogenetic structure of the species, and indicate inclusion of burbot from the Volga-Kama basin in Eurasian haplogroup. According to obtained data, the Volga-Kama River basin could play an important role in shaping the genetic diversity of burbot in Europe, and during certain periods it served as a corridor connecting the river systems of the European and Asian parts of the species range.

Keywords: mitochondrial genome, phylogeography, genetic differentiation, freshwater ichthyofauna, circum-polar range, postglacial recolonization