

¹Сендек Д.С., ²Бочкарев Н.А., ³Савосин Д.С., ¹Барабанова М.В., ¹Михельсон С.В., ³Ильмаст Н.В.

¹Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства, Санкт-Петербург, sendek@mail.ru

²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск.

³Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

В водоемах Фенноскандии обыкновенный сиг *Coregonus lavaretus* L. представлен многочисленными морфологическими и экологическими формами, которые в крупных озерах нередко обитают симпатрично. Внутривидовая систематика сигов водоемов Северо-Запада России была достаточно подробно проработана Л.С. Бергом (1948) и И.Ф. Правдиным (1954), и на основании сравнительного анализа морфологических и экологических признаков многие из форм в то время получили свое латинское наименование уровня подвида. Однако, с точки зрения практических задач управления рыбными ресурсами, громоздкая внутривидовая систематика сигов была не всегда удобна, поэтому альтернативой ей явилась систематическая схема Ю.С. Решетникова (1980), согласно которой все наблюдаемое разнообразие морф сига есть продукт адаптивной радиации одного вида к гетерогенным условиям водоемов с ограниченным числом выделяемых подвидов. В частности, пользуясь систематикой Ю.С. Решетникова следует констатировать, что во внутренних водоемах Карелии обитает три подвида сига, различаемых по числу жаберных тычинок на первой жаберной дуге – мало-, средне- и многотычинковые. Безусловно, данный подход стабилизирует систему и значительно упрощает решение прикладных рыбохозяйственных вопросов, однако в контексте знаний последнего времени об эволюции вида в Европе он должен рассматриваться как компромиссный. Результаты генетических исследований, опирающиеся на данные палеолимнологических реконструкций, показали, что происхождение современных популяций сига на Северо-Западе России связано с реколонизацией водоемов независимыми филогенетическими линиями вида из нескольких приледниковых убежищ (Sendek, 2004; Сендек и др., 2005; Ильмаст и др., 2016). В условиях длительной изоляции в географических рефугиумах данные линии приобрели специфические наследуемые качества (не очевидно связанные с количеством тычинок), которые могут быть отслежены в чистом или загибризованном виде у современных форм/популяций. На основании изучения генетических особенностей природных популяций, относящихся к различным экологическим формам, может быть получена естественная картина филогеографических отношений сигов в многочисленных водоемах Северо-Запада России, что должно стать важным инструментом для разработки внутривидовой систематики сигов Фенноскандии, основанной на современном уровне знаний.

Настоящая работа посвящена изучению филогенетических связей симпатрических форм/популяций обыкновенного сига одного из крупнейших озер Карелии – Пяозера (бассейн реки Ковда) (Рис. 1).

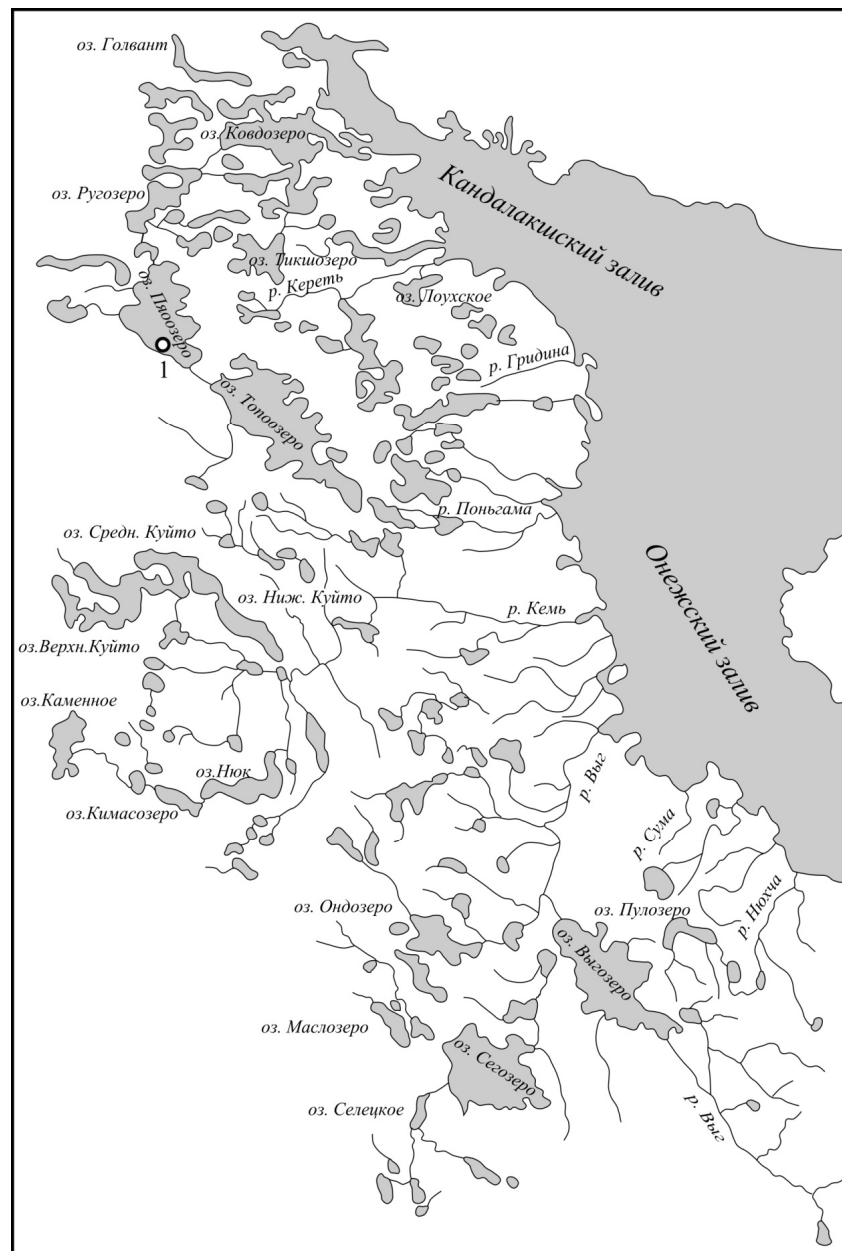


Рисунок 1. Район проведения работ в бассейне Белого моря (По: И.Ф. Правдин, 1954). 1 - место сбора материала

Материал был собран в сентябре-октябре 2017 г. с использованием жаберных сетей, установленных на разных участках и разных глубинах озера (юго-восточный плес; р-н о-ва Майя). Морфологический анализ выполняли на основе цифровых изображений согласно описанной ранее методике (Бочкарев и др., 2013). Сразу после отлова рыбу с расправленными плавниками выкладывали на пенополиуретановый коврик и делали несколько снимков с помощью цифрового фотоаппарата Nikon 6500 с объективом AF-S Nikkor и фокусным расстоянием 18–105 мм. Затем рыбу взвешивали, проводили сбор чешуи, подсчет числа жаберных тычинок на первой жаберной дуге и прободенных чешуй в боковой линии. Измерение рыб по цифровым изображениям проводили согласно стандартной схеме И.Ф. Правдина (Правдин, 1949) в программе Axio Vision 3.1 (Carl Zeiss Vision GmbH). Выборки разных форм сигов были проанализированы методом главных компонент по 30 пластическим признакам (Клекка, 1989). Для удаления размерной изменчивости применили процедуру нормирования коэффициентом, полученным при делении суммы всех признаков на среднюю геометрическую (Mosimann, 1970; Darroch, 1985). При обработке цифрового материала пользовались статистическим пакетом Past (Hammer et al, 2001). Общую геномную ДНК выделяли из фиксированной 96% этанолом печени сигов фенольно-хлороформным методом (Sambrook et al., 1989). В результате амплификации фрагмента гена ND1 мтДНК были получены последовательности длиной в 1091 нуклеотидных оснований (Ильмаст и др., 2016). Дополнительно к собственному материалу, привлекали гаплотипы из NCBI (Kohlmann et al 2007; Jacobsen et al 2012; Ильмаст и др., 2016) Для оценки генеалогических связей между гаплотипами предполагаемых форм/видов сигов была построена медианная сеть в программе Network v.4.5 с помощью алгоритма медианного связывания (Median-Joining) (Bandelt et al., 1999). Методом электрофореза в полиакриламидном геле было изучено 30 локусов, контролирующих 13 ферментных систем. Активность белковых локусов исследовалась в препаратах, приготовленных из мышечной и печеночной тканей рыб. Биохимические исследования проб проводились в соответствии с методами, изложенными ранее (Sendek, 2002; Sendek et al., 2013). Статистическая обработка результатов выполнялась с использованием компьютерной программы BIOSYS-2 (Black, 1997) по генетическим параметрам, соответствующим использованным в ранней работе (Sendek et al., 2013).

В результате проведенных исследований было выяснено, что в озере достаточно многочисленны три морфологически дистантные формы сигов, хотя всего в данном водоеме ранее насчитывали шесть (Мельянцеv, 1939) или, по последним данным (Широков и др., 2016), пять симпатрических форм. Выборки сигов различались по внешней форме и меристическим признакам. Определение форм/подвидов проводили согласно описаниям И.Ф. Правдина (1958). Наиболее многочисленная выборка (n=49) относится к подвиду *C. lavaretus lavaretoides n. derjugini* Pravdin (по И. Ф. Правдину: Sp.br-29, II-90-102; по нашим данным: Sp.br-29.51±0.48, II-91.59±0.48). Дерюгинский сиг принадлежит к озерно-речной экологической группе сигов Пяозера. Вторая выборка (n=12) относится к подвиду *C. lavaretus pidschian n. pidschianoides subn. lacus* Pravdin (по И.Ф. Правдину: Sp.br-24.55, II-96; по нашим данным: Sp.br-24.08±0.76, II-90.25±0.97). Данный пыжьяновидный сиг – «рантасига» - считается типичным озерным сигом, который для нереста не поднимается в реки. Местообитание дерюгинского и пыжьяновидного озерного сигов в Пяозере было приурочено главным образом к прибрежным участкам, поимки этих рыб случались в диапазоне глубин 2-15 м. Третья выборка (n=21) сигов из наших сборов имеет следующие показатели диагностических признаков (Sp.br-22.85±0.37, II-86.71±0.68). Нужно отметить, что сигов с подобными характеристиками И.Ф. Правдин для Пяозера не отмечал. Наиболее полно сиги из данной выборки соответствуют описанию «морского» беломорского проходного сига *C. lavaretus pidschian n. pidschianoides* Pravdin (по И.Ф. Правдину для 25 экз. сига Белого моря: Sp.br-24, II-92.6), известного для карельского побережья Белого моря, откуда он входил для нереста во многие реки. Однако, поскольку в наших сборах данные сиги

были отловлены с глубин около 40 м, мы склонны рассматривать их как глубоководную форму озерного сига, известную под местным названием «латтанени» (Широков и др., 2016).

Исследование трех выборок методом главных компонент по 30 пластическим признакам показало, что сиг Дерюгина и глубоководный сиг хорошо различаются друг от друга по 1 ГК. Выборка сига, принадлежащая к озерной пыжьяновидной форме, перекрывается с названными выше выборками по 1 ГК, но имеет некоторые различия с ними по 2 ГК (Рис. 2).

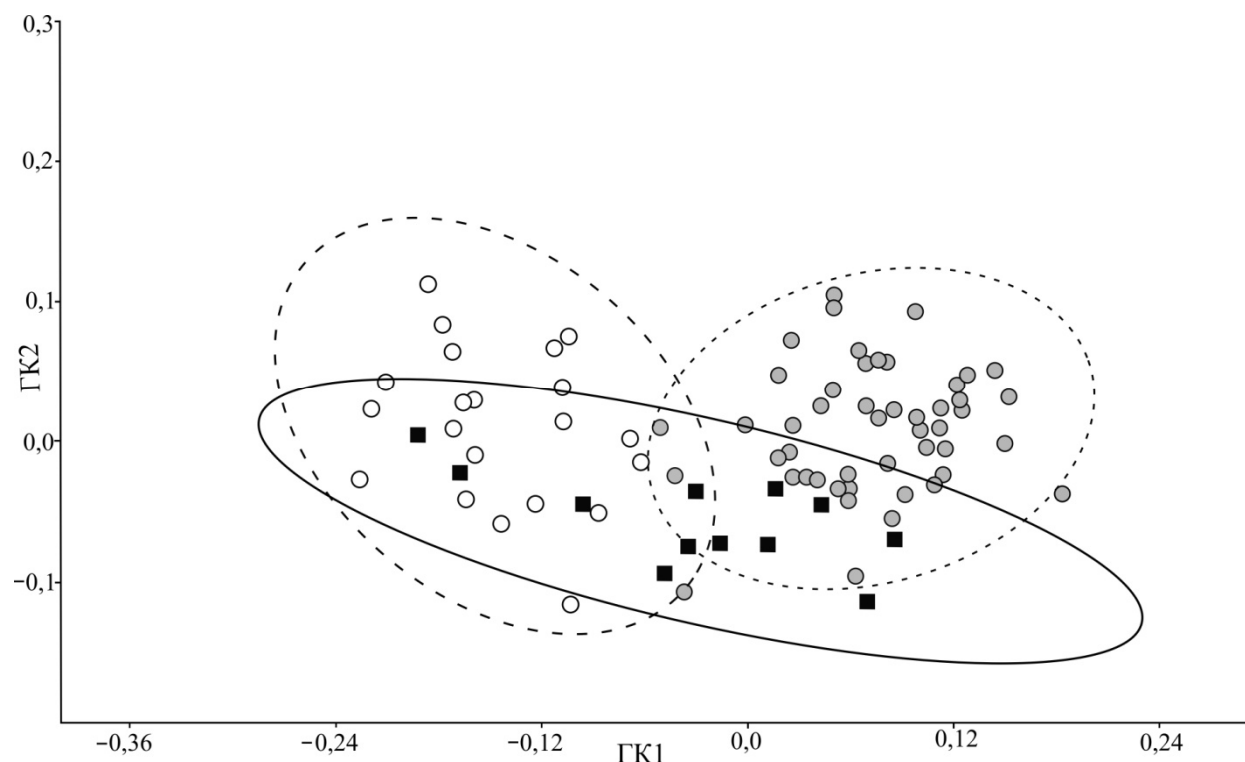


Рисунок 2. Положение исследованных выборок в поле главных компонент по 30 пластическим признакам
Обозначения: серые кружки – Дерюгинский сиг; белые кружки – глубоководный сиг, черные квадраты – озерный пыжьяновидный сиг

Медианная сеть, построенная по результатам секвенирования гена ND1 мтДНК у 14 экземпляров дерюгинского сига, 12 экземпляров пыжьяновидного озерного сига и 16 экземпляров глубоководного сига, выявляет отчетливое доминирование нескольких центральных гаплотипов, а также большое количество минорных гаплотипов, которые отстоят от мажорного на один, редко на два мутационных шага (Рис. 3).

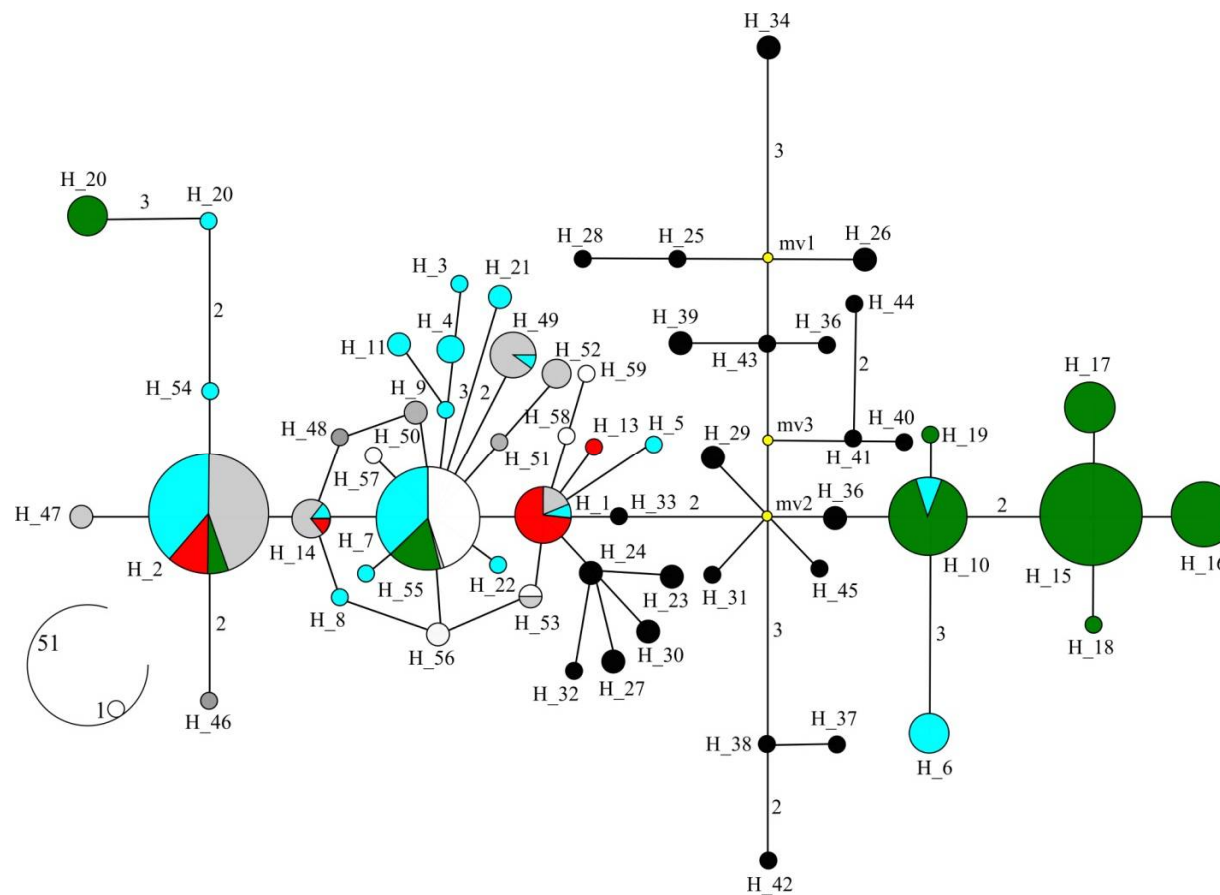


Рисунок 3. Медианные сети гаплотипов для сигов *C. lavaretus sensu lato*. Размер узла (кольца 1, 51) пропорционален частоте встречаемости гаплотипа. Маленькие желтые точки обозначают не обнаруженные или вымершие гаплотипы.

Цифры над связями отражают число замен.

Обозначения цветом популяций (районов): серый – оз. Пяозеро; белый – р. Варзуга, Мегорские озера, оз. Б. Восточное (все – бассейн Белого моря), р. Уса (бассейн р. Печоры); красный – оз. Каменное (бассейн р. Кемь); темно-зеленый – западная Балтика; голубой – восточная Балтика (Финский залив) и оз. Ладожское; черный р. Анабар (Сибирь)

Преобладание центрального гаплотипа предполагает, что он, с высокой вероятностью, является предковым. Отчетливая «звездообразная» структура сети характерна для популяций, прошедших в недавнем прошлом через «бутылочное горлышко» с быстрой последующей экспансией, о чем свидетельствует высокая степень фиксации редких вариантов. Пяозерские сиги представлены во всех крупных звездообразных структурах, кроме структур из водоемов бассейна западной Балтики (H_10, H_15, H_16) и Сибири (mv2). Центральный гаплотип первой звездообразной

структуры (H_1) объединяет в себе сигов из оз. Каменного, Балтийских сигов и Пяозерских озерных пыжьяновидных сигов. Данный гаплотип через две мутации находит родство с гаплотипами сигов из Сибири (р. Анабар). В центральном гаплотипе второй звездообразной структуре (H_2) также присутствуют пязерские сии, среди которых 9 относится к дерюгинскому сигу, 9 – к пыжьяновидному озерному и 4 - к глубоководному. В ранее выполненных исследованиях линия сигов, представленная тем же центральным гаплотипом, была выявлена в выборках сигов из бассейнов Балтийского и Белого морей - Финского залива и оз. Каменного (бассейн р. Кемь) (Ильмаст и др., 2016). В третьей звездообразной структуре (H_7) гаплотипы озерного Пяозерского сига были обнаружены в минорном виде. Данная филогенетическая линия сигов удаленно связана с гаплотипами сигов из Центральной Европы, которые с наибольшей частотой были представлены в Альпийских озерах.

Результаты анализа выделенных группировок сига Пяозера по 30 изоферментным локусам показали, что выборки практически не отличались друг от друга ни по индексам генетического разнообразия, ни по частотам аллелей полиморфных локусов. Генетические различия между тремя группами сигов по аллозимным маркерам обнаружены не были, $D_N=0.000$ (Nei, 1978). При сравнении сигов Пяозера с другими популяциями вида из бассейна Белого моря оказались, что они находятся в близком родстве с сигами из близлежащих водоемов Карелии, исследованными ранее, - оз. Кереть, оз. Пулонгское, оз. Лоухское (Рис. 4). В свою очередь, для сигов из вышеназванных озер было показано их сложное эволюционное становление в результате гибридизации тех филогенетических линий сига, которые происходят в первую очередь из регионов Балтики и европейского Приуралья (Сендек и др., 2005).

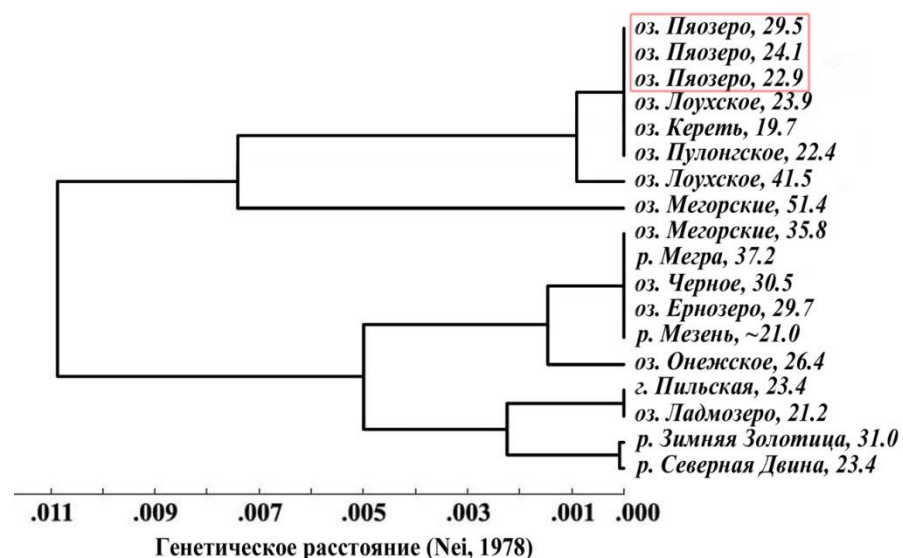


Рисунок 4. Дендрограмма генетических расстояний популяций сига бассейна Белого моря (цифрами после названий обозначены средние значения количества жаберных тычинок)

Таким образом, предварительное исследование сегов оз. Пяозеро показало, что, по крайней мере, три формы/подвида симпатрических сегов, хорошо дифференцируемых морфологически, в настоящее время имеют высокую численность в данном водоеме. Высокая перемешанность гаплотипов в выделенных морфо-экологических группировках сига в целом соответствует обнаруженной ранее гетерогенности гаплотипов в оз. Каменном бассейна р. Кемь. По данным анализа гена мтДНК установлено, что две основные филогенетические линии сегов, от которых берут свое начало сего оз. Пяозеро, имеют Европейское происхождение, третья тесно связана с сегоами из Сибирских водоемов. О сильной гибридизации прародительских филогенетических линий сегов в рецентных формах сига Пяозера свидетельствуют также данные анализа генетической изменчивости аллозимных локусов. На примере оз. Пяозеро можно сделать предварительный вывод об обусловленности большого числа экологических форм сегов в крупных водоемах Фенноскандии значительной перемешанностью и гибридизацией филогенетических линий вида в результате их активного расселения в постледниковый период. Очевидно, что для распространения сделанного заключения на другие формы/подвиды сига из водоемов Карелии необходимо максимально полно проанализировать морфологическую и генетическую изменчивость вида на более широком географическом пространстве - в бассейне Белого моря и в прилегающих к нему районах.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01708 и № [17-04-01259](#).

Литература

- Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Ч. 1. М.-Л.: изд-во АН СССР, 1948. 466 с.
- Бочкарев Н.А., Зуйкова Е.И., Политов Д.В. Дополнительные возможности сбора и регистрации морфологических данных у рыб. «Биология, биотехника разведения и состояние запасов сеговых рыб» мат-лы междунар. конф. под ред. А.И. Литвиненко и Ю.С. Решетникова. Тюмень: ФГУП «Госрыбцентр», 2013. С. 32–36.
- Ильмаст Н.В., Сендек Д.С., Титов С.Ф., Абрамов С.А., Зуйкова Е.И., Бочкарев Н.А. К вопросу о дифференциации экологических форм/подвидов сига *Coregonus lavaretus* озера Каменное. Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2016. №4 (157). С. 42–53.
- Клекка У.Р. Дискриминантный анализ. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. С. 78–137.
- Мельянцева В.Г. Рыболовство на Пяозере. Рыбное хозяйство Карелии. 1939. V. С. 150–151.
- Правдин И.Ф. Промысловые водоёмы и рыбы Карело-Финской ССР. Петрозаводск: Госиздат КФСР, 1949. 88 с.
- Правдин И.Ф. Сего водоемов Карело-Финской ССР. М.-Л.: АН СССР, 1954. 324 с.
- Решетников Ю.С. Экология и систематика сеговых рыб. М.: Наука, 1980. 301 с.
- Сендек Д.С., Новоселов А.П., Студенов И.И., Гуричев П.А. Филогенетические связи популяций обыкновенного сига (*Coregonus lavaretus* L.) из водоемов бассейна Белого моря. Лососевидные рыбы Восточной Фенноскандии. Петрозаводск, 2005. С. 135–147.
- Широков В.А., Черепанова Н.С., Георгиев А.П. Сеговые рыбы Топо-Пяозерского водохранилища (Республика Карелия). Современные научные исследования и инновации. 2016. № 7 [Электронный ресурс]. URL: <http://web.snauka.ru/issues/2016/07/69200>
- Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. boil. and Evol. 1999. 16. P. 37–48.

- Black W.C. BIOSYS-2. A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. IY: Colorado State University, Department of Microbiology; 1997.
- Darroch J.N.* Canonical and principal components of shape. *J.N. Darroch, J.E. Mosimann. Biometrika.* 1985. 72 (2). P. 241–252.
- Hammer O, Harper D.A.T., Ryan P.D.* Past: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica.* 2001. 4 (1). 9 p.
- Jacobsen M.W., Hansen M.M., Orlando L., Bekkevold D., Bernatchez L., Willerslev E., Gilbert M.T.* Mitogenome sequencing reveals shallow evolutionary histories and recent divergence time between morphologically and ecologically distinct European whitefish (*Coregonus* spp.)// *Mol. Ecol.* 2012. 21 (11), 2727-2742.
- Kohlmann K., Kempter J., Kersten P., Sadowski J.* Haplotype variability at the mitochondrial ND-1 gene region of *Coregonus lavaretus* from Polish lakes. *Adv. Limnol.* 2007. 60. P. 47-57.
- Mosimann J.E.* Size allometry: Size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *J.E. Mosimann. J. Am. Stat. Ass.* 1970. 65. P. 930–945.
- Nei M.* Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics.* 1978. 89. P. 583-590.
- Sambrook J, Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular cloning: a laboratory manual. NY Cold Spring: Harbor Laboratory Press. 1989. 2344 p.
- Sendek D.S.* Electrophoretic studies of Coregonid fishes from across Russia. *Advances in Limnology.* 2002; 57: 35-55.
- Sendek D.S.* The origin of sympatric forms of European whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) in Lake Ladoga based on comparative genetic analysis of populations in North-West Russia. *Ann. Zool. Fennici.* 2004. 41. P. 25-39.
- Sendek, D.S., Ivanov, E.V., Khodulov, V.V., Novoselov A.P., Matkovsky A.K., Ljutikov A.A.* Genetic differentiation of coregonids populations in Subarctic areas. *Advances in Limnology.* 2013. 64. 223-246. DOI: 10/1127/1612-166X2013/0064-0014.