

© Е.А. Боровикова¹,
В.И. Романов², Ю.С. Никулина²

¹ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова» РАН, Ярославская обл.;
²Национальный исследовательский Томский государственный университет

Анализ особенностей морфологии и полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК) ряпушки (*Coregonus* sp.) оз. Собачье (плато Путорана) показал значительную близость этой популяции ряпушке европейских водоемов — *Coregonus albula* (Linnaeus). Полученные данные позволяют обсуждать ряд гипотез о происхождении собачинской ряпушки и ее филогенетических взаимоотношениях с ряпушкой Европы и Сибири.

✿ **Ключевые слова:** ряпушка; плато Путорана; особенности морфологии; митохондриальная ДНК; филогеография; филогения.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЯПУШКИ (*COREGONIDAE: COREGONUS* SP.) ОЗЕРА СОБАЧЬЕ (ПЛАТО ПУТОРАНА)

ВВЕДЕНИЕ

Исследования биологии ряпушки бассейна р. Пясины имеют давнюю историю и довольно многочисленны. В литературе приводятся сведения о численности, меристических и пластических признаках, возрастном составе, соотношении полов, сроках нереста и других особенностях ее популяций почти всех крупных водоемов Норило-Пясинской озерно-речной системы: озер Кета, Глубокое, Лама, Арылах, Первое Пуринское и р. Пясины [1–5].

Ряпушка оз. Собачье (бас. р. Пясины) также была охвачена подобными исследованиями. Здесь следует отметить работы О.Л. Ольшанской, которая считала собачинскую ряпушку самой крупной среди ряпушек, населяющих Норильские озера, и относила ее вместе с популяцией озера Глубокое к отдельному подвиду *Coregonus sardinella norilensis* Olshanskaya [3, 6]. Ряпушку р. Пясины Ольшанская выделяла в отдельный инфраподвид — *C. sardinella* infraspecies *pjasinae*: озерные ряпушки и ряпушка из р. Пясины обнаруживали различия и по пластическим, и по меристическим признакам [3, 4].

Интересным представляется такой факт: большинство ихтиологов *a priori* полагают, что если ряпушка обитает в азиатской части Субарктики, то она обязательно относится к виду *Coregonus sardinella* Valenciennes — сибирская ряпушка. Действительно, традиционно считается, что ареал сибирской ряпушки приурочен к водоемам Сибири и с ареалом еще одного евразийского вида — европейской ряпушки *C. albula* (Linnaeus) — перекрывается лишь в районе р. Печора [7]. Вероятно, поэтому ни в одной из работ, посвященных ряпушке Норильских озер, не проводился анализ числа позвонков — основного признака, используемого для видовой идентификации сибирской и европейской ряпушек.

В то же время, несмотря на довольно четкую приуроченность европейской и сибирской ряпушек к определенным географическим регионам, был период, когда статус их как отдельных видов подвергался сомнению. Поводом для дискуссий послужило отсутствие хиатуса между ними по диагностическим морфологическим признакам [8–10]. Так, даже в случае такого «хорошего» видоспецифического признака, как число позвонков, четкая дифференциация между *C. albula* и *C. sardinella* отсутствует: к первому виду относятся ряпушки с 54–59 (чаще 55–56) позвонками, а ко второму — с 57–64 (часто в среднем имеют более 60 позвонков) [7]. Кроме того, как правило, данный критерий удовлетворительно показывает принадлежность конкретной популяции ряпушки к тому или иному виду лишь по результатам анализа статистически достоверных выборок на основе оценки средних величин.

Согласно данным молекулярно-генетических исследований носители распространенных в европейских водоемах гаплотипов митохондриальной ДНК (мтДНК) обнаружены далеко за пределами ареала европейской ряпушки (западная часть п-ва Ямал). С другой стороны, аллели локуса креатинфосфокиназы, типичные для сибирских популяций, так же как и «сибирские» гаплотипы мтДНК, обнаружены в водоемах европейской территории России [11, 12].

Поступила в редакцию 29.08.2016
Принята к публикации 10.10.2016

Наши исследования популяции ряпушки оз. Соба- чье дополняют материалы ранее опубликованных ра- бот: в частности, проанализирован половой диморфизм собачинской ряпушки, восполнен пробел, касающийся числа позвонков [13]. Поскольку ряпушка оз. Соба- чье согласно проведенному морфологическому анализу по диагностическим признакам (малое число позвонков, некоторые пластические признаки) оказалась ближе европейской ряпушке [13], основной целью настоящей работы стало изучить особенности ее генетического полиморфизма и филогеографии, прояснить вопросы филогенетических взаимоотношений с сибирской и ев- ропейской ряпушками, сопоставить результаты ви- дового диагноза на основе анализа морфологических признаков, с одной стороны, и генетических особен- ностей — с другой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сбор материала ряпушки оз. Соба- чье осуществлялся в 2014 г. с 17 июля по 20 августа в районе кордона заповедника «Путоранский». Объем выборки составил 60 особей. Исследование морфологических признаков проведено согласно методическим рекомендациям рабо- ты [14]. При статистической обработке данных исполь- зовалось руководство Г.Ф. Лакина [15].

Для анализа полиморфизма фрагментов мтДНК ис- пользовали пробы ткани (белая мышца, жировой плав- ник), фиксированные 96 % этанолом (1 : 5). Тотальную клеточную ДНК выделяли с использованием наборов реагентов *DIAtom™DNA Prep100* (ООО «Лаборатория Изоген») или ДНК–Экстран-2 (ЗАО «Синтол»). Об- щем выборки составлял 27 особей; в дальнейшем, однако, не все экземпляры были взяты в анализ ввиду низкого качества выделенной ДНК.

Первоначально с полученных образцов клеточной ДНК синтезировали так называемый ND1-фрагмент мтДНК длиной примерно 2050 пар нуклеотидов (п. н.), включающий ген субъединицы I NADH-дегидроге- назного комплекса. Синтез фрагмента (амплифика- цию) проводили с применением праймеров LGL381 и LGL563 [16, 17] в 25 мкл буфера для амплифика- ции (НПО «СибЭнзим»). Смесь содержала также 100–300 нг ДНК; по 0,4 пмоль каждого из двух прайме- ров; по 200 нмоль каждого из четырех дезоксирибонук- леотидов и 0,5–1 единиц активности (ед. а.) *Taq*-ДНК полимеразы. Сверху для предотвращения испарения в ходе ПЦР на смесь наслаивали минеральное масло. Программа амплификации ND1-фрагмента включа- ла этап первоначальной денатурации ДНК: +95 °С — 5 мин; 32 цикла синтеза фрагмента: +95 °С — 1 мин, +53 °С — 50 с, +72 °С — 1 мин 15 с; заключительный этап достройки концов: +72 °С — 5 мин.

Поскольку возможности определить последователь- ность нуклеотидов для всех образцов выборки не было,

первоначально полученный ND1-фрагмент обрабаты- вали эндонуклеазой рестрикции *RsaI* с целью выявления носителей гаплотипов E и S, которые маркируют разные филогенетические линии ряпушки. Первый гаплотип широко распространен в европейских водоемах; встре- чается он и в Сибири, хотя и значительно реже. Второй вариант типичен для восточносибирских популяций ря- пушки (бас. рек Колыма, Индигирка) [11, 17].

Реакцию рестрикции с *RsaI* проводили в 10 мкл бу- фера, рекомендованного фирмой-производителем (Theg- moScientific). Смесь содержала 3 мкл ПЦР-продукта ND1-фрагмента и 0,5 ед. а. фермента. Длины рестрикт- ных фрагментов после расщепления ПЦР-продукта ана- лизировали в 1,7 % агарозном геле; для электрофореза использовали трис-ЭДТА-боратную буферную систе- му [18].

На основе результатов скрининга с *RsaI* отбирали пробы для дальнейшего секвенирования: в анализ были взяты особи с гаплотипом E, лишь одна особь характе- ризовалась вариантом S. В общей сложности опреде- ление нуклеотидной последовательности проводилось для девяти экземпляров ряпушки, причем для пяти из них определены последовательности двух фрагментов мтДНК: ND1 и участка гена первой субъединицы цито- хром с-оксидазы (COI).

Состав и объем амплификационной смеси при под- готовке образцов для секвенирования обеих участ- ков мтДНК был одинаковым за исключением количе- ства праймеров. ПЦР проводилась в 20 мкл буфера для амплификации (концентрация $MgCl_2$ 15–20 мМ) (НПО «СибЭнзим»); смесь содержала 100–300 нг то- тальной клеточной ДНК; по 200 нмоль каждого из четы- рех дезоксирибонуклеотидов; 0,5–1 ед. а. *Taq*-ДНК по- лимеразы. Сверху для предотвращения испарения в ходе ПЦР на смесь наслаивали минеральное масло.

Для определения нуклеотидной последовательности ND1-фрагмента он был разделен на четыре перекры- вающихся участка длиной примерно по 500 п. н. каж- дый. При постановке ПЦР использовали четыре пары праймеров согласно работе [19], реакционная смесь содержала по 0,5 пмоль каждого праймера. Программа амплификации состояла из следующих этапов: перво- начальная денатурация ДНК: +94 °С — 2 мин; 32 цикла синтеза фрагмента: +94 °С — 30 с, +52 °С — 30 с, +72 °С — 50 с; заключительный этап достройки концов: +72 °С — 5 мин [19, с модификацией].

Синтез фрагмента гена первой субъединицы цито- хром с-оксидазы, проводили с использованием праймеров Fish-F1 и Fish-R1 [20]. Количество праймеров в реак- ционной смеси объемом 20 мкл было равно 0,25 пмоль каждого. Программа амплификации включала эта- пы: денатурацию ДНК при +95 °С — 1 мин; 32 цикла синтеза фрагмента: +95 °С — 1 мин, +54 °С — 40 с и +72 °С — 40 с; заключительная достройка концов фрагмента: +72 °С — 10 мин [20, с модификацией].

Секвенирование проводили на автоматическом анализаторе 3500 ABI (8 капилляров) согласно рекомендациям производителя на базе ИБВВ РАН. Протяженность ND1-фрагмента, нуклеотидная последовательность для которого была определена, варьировала у разных образцов от 1749 до 1970 п. н.; длина секвенированного участка COI составила около 600–650 п. н. Все последовательности депонированы в базу данных GenBank (NCBI) под номерами KU760906, KU760907, KU760909–KU760914.

Чтение и анализ полиморфизма нуклеотидных последовательностей проводили в программах MEGA6 [21] и DnaSP v.5 [22]. Для построения медианных сетей гаплотипов использовали программу Network 5.0.0.0 [23]. Поиск сайтов рестрикции *RsaI* в последовательностях ND1-фрагмента ряпушки р. Курейка (бас. р. Енисей; номера NCBI JN629025–JN629029) осуществляли с использованием онлайн-программы [24, 10.04.2016]. В ходе анализа полученных данных, кроме описанных нами гаплотипов ряпушки оз. Собаچه, использованы последовательности из NCBI: *C. albula* водоемы Польши (DQ399869, KT426542–KT426556), водоемы Германии (DQ399870, KM286532, KM286534, KM286535, KM286537, KM286539, KM286540–KM286542, KM286544, KM286545, KM286548, KM286552–KM286554, KM286556, KM286559–KM286561, KM286563, KM286566, KM286568–KM286570, KM286573, KM286574, KM286576, KM286578, KM286581, KM286583, KM286585, KM286588, KM286590, KM286591, KM286605, KM286611, KM286613, KM286616), озера Швеции (KJ128463, KJ128464), озера европейской части России (JX960877, KT254047, KT254048, KT254057); *C. fontanae* (KM286597); *C. lucinensis* (KM286607); *C. sardinella* водоемы Северной Америки (EU202653, EU523982, EU523983, EU523985, EU523986), водоемы Сибири

(JN629025–JN629029, KT267305). Видовые названия приводятся согласно аннотации в NCBI.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности морфологии ряпушки оз. Собаچه. Из всех других популяций Норило-Пясинской системы собачинская ряпушка, наряду с ряпушкой озера Кета, наиболее изолирована от полупроходной пясинской ряпушки: в период осенней преднерестовой миграции пясинская ряпушка проходит на нерестилища, расположенные в крупных притоках и в самой реке, вплоть до р. Рыбной, которая в районе водопада Китабо-Орон становится для нее непроходимой. Поэтому нами принято сравнение меристических признаков ряпушек оз. Собаچه и р. Пясины; в случае пясинской ряпушки использованы данные О.Л. Ольшанской [3] (табл. 1).

Проведенный анализ выявил достоверные различия между сравниваемыми популяциями по пяти признакам из семи. У собачинской ряпушки оказалось достоверно меньшим число чешуи в боковой линии и число ветвистых лучей в спинном и анальном плавниках: в среднем она имеет здесь примерно на один луч меньше. Данные показатели могут быть использованы для диагноза сибирской и европейской ряпушек, так как число ветвистых лучей в этих плавниках у ряпушек Сибири в среднем почти на один луч превышает соответствующий показатель для популяций европейского вида [25].

Поскольку в работе О.Л. Ольшанской [3] данные о числе позвонков ряпушки р. Пясины не приводятся, для сравнения использованы собственные данные, полученные в ходе анализа выборки из Пясинского залива [26]. Как и в случае числа лучей в плавниках, собачинская ряпушка характеризуется достоверно меньшим числом позвонков: по средним величинам этого показателя рассматриваемые популяции ряпушки отличаются друг от друга

Таблица 1

Меристические признаки ряпушек оз. Собаچه и р. Пясины
Meristic features of ciscoes from Lake Sobachye and the River Pyasina

Признаки	Оз. Собаچه (60 экз.)			Различие		Р. Пясины (100 экз.) (согласно [3])		
	\bar{x}	$\pm m$	$\pm \delta$	t_{st}	CD	\bar{x}	$\pm m$	$\pm \delta$
<i>D ветв.</i>	8,67	0,07	0,57	10,33	0,81	9,65	0,06	0,64
<i>P</i>	13,73	0,09	0,73	0,66	0,05	13,65	0,08	0,75
<i>V</i>	10,23	0,06	0,46	0,51	0,04	10,19	0,05	0,52
<i>A ветв.</i>	11,62	0,11	0,87	8,47	0,87	12,78	0,08	0,84
<i>L.l.</i>	79,48	0,38	2,94	5,89	0,47	83,13	0,49	4,90
<i>Sp.br.</i>	48,83	0,23	1,77	11,19	0,91	45,51	0,19	1,88
<i>Vl.</i>	56,45	0,14	1,10	17,71	2,34	<i>61,63</i>	<i>0,26</i>	<i>1,12</i>

Число ветвистых лучей в плавниках: *D ветв.* — спинном; *P* — грудном; *V* — брюшном; *A ветв.* — анальном. *L.l.* — число чешуи в боковой линии; *Sp. br.* — число жаберных тычинок; *Vl.* — число позвонков. \bar{x} — среднее значение признака; $\pm m$ — ошибка средней; $\pm \delta$ — дисперсия; CD — коэффициент различия. Жирным шрифтом выделены показатели критерия Стьюдента (t_{st}) на уровне значимости ($p \leq 0,001$). В случае пясинской ряпушки курсивом выделены собственные данные

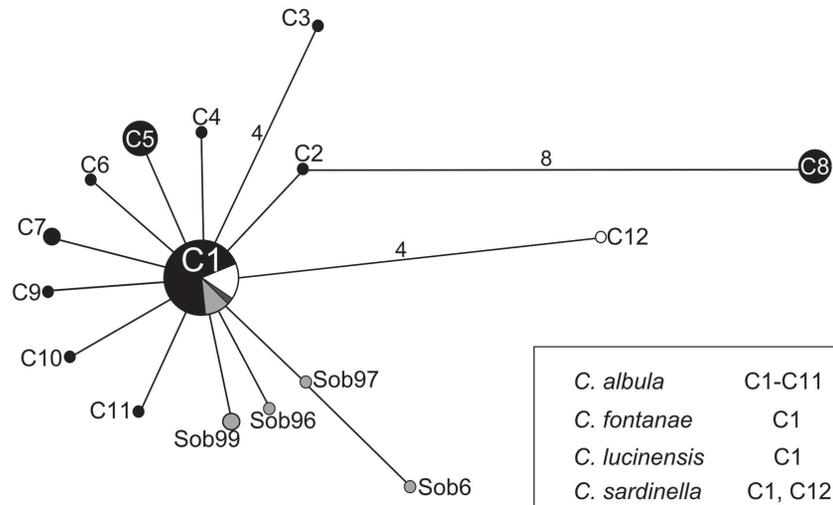


Рис. 1. Варианты последовательности COI ряпушки оз. Собаچه на медианной сети гаплотипов ряпушек водоемов Европы, Сибири и Северной Америки. Сеть построена с использованием информации о 63 последовательностях, в том числе из базы данных NCBI. В анализ взят общий для всех последовательностей участок длиной 526 п. н. Цветом обозначены: черный — водоемы Европы; темно-серый — Сибири; белый — Северной Америки; светло-серый — популяция ряпушки оз. Собаچه. Диаметр круга соответствует частоте гаплотипа. В случаях когда число нуклеотидных замен, различающих два гаплотипа, больше одного, их число указано рядом с отрезками, соединяющими гаплотипы. Видовые названия даны согласно аннотации в NCBI

Fig. 1. COI sequences of the cisco from Lake Sobachye in median network of ciscoes haplotypes from European, Siberian, and North American water bodies. Network was done with data about 63 ciscoes sequences some of which were taken from NCBI. For analysis the common fragment was used (526 base pair long). Color designates: black — European water bodies; dark gray — Siberian water bodies; white — North American water bodies; bright gray — the cisco from Lake Sobachye. The diameters of the circles correspond to the frequency of the given variant. If number of nucleotide substitution is more than one their number are indicated near the segments between haplotypes. Species names correspond to NCBI sequence annotations

более чем на пять позвонков, что значительно превышает уровень подвидового различия (CD) по Э. Майеру (см. табл. 1). Кроме того, пясинская ряпушка имеет достоверно меньшее число жаберных тычинок; согласно нашим данным, среднее число жаберных тычинок ряпушки Пясинского залива составило 47,13 [26], что выше значений этого признака, приводимых О.Л. Ольшанской [3].

Особенности полиморфизма фрагментов митохондриальной ДНК ряпушки оз. Собаچه. Девять проанализированных последовательностей COI ряпушки оз. Собаچه оказались отнесены к пяти гаплотипам — C1, Sob6, Sob96, Sob97, Sob99, первый из которых характерен для ряпушек из водоемов Европы, Сибири и Северной Америки (рис. 1). Следует отметить, что гаплотип C1 у ряпушки озера Собаچه является наиболее частым: носителями его оказались четыре (44,4 %) из девяти взятых в анализ особей. Остальные четыре уникальных, отмеченных только в данной популяции, гаплотипа отличались от варианта C1 одной-двумя нуклеотидными заменами (p -дистанция 0,2–0,3 %). В целом дифференциация гаплотипов COI ряпушки оз. Собаچه невелика: значения p -дистанции варьируют от 0,0 до 0,5 %, в среднем — 0,2 %. Основные показатели внутрипопуляционного полиморфизма данного фрагмента мтДНК приведены в таблице 2.

Кроме полиморфизма внутри исследуемой популяции оценивали уровень дивергенции ее с ряпушкой других водоемов. Оказалось, что даже наибольшие различия между последовательностями COI оз. Собаچه и последовательностями, взятыми в анализ из NCBI, не превышают максимальной дифференциации вариантов COI ряпушки водоемов Европы. Так, максимальное число различий между гаплотипами COI европейской ряпушки достигает 13 синонимичных нуклеотидных замен (варианты C3 и C8; p -дистанция 2,6 %). Число замен между гаплотипом ряпушки оз. Собаچه Sob6 и вариантом C8 равно 11 (p -дистанция 2,2 %), причем все замены, как и в первом случае, синонимичны. Депонированных последовательностей COI сибирской ряпушки в базе данных NCBI значительно меньше, чем европейской; большая часть из них соответствует распространенному гаплотипу C1 (см. рис. 1).

Для ND1-фрагмента ряпушки оз. Собаچه описано четыре гаплотипа (Sob2, Sob3, Sob93, Sob97), один из которых (Sob93) был выявлен у двух особей из пяти, взятых в анализ. Гаплотипы ND1 исследованной популяции ряпушки образуют отдельную ветвь медианной сети (рис. 2). Следует отметить, что все пять особей, последовательность ND1-фрагмента для которых была определена, явились носителями гаплотипа E по сайтам *RsaI*.

Таблица 2

Основные показатели внутривидового полиморфизма мтДНК ряпушки оз. Собачье
The basic parameters of intrapopulation mtDNA polymorphism of the cisco from Lake Sobachye

Водоем	Длина анализируемого фрагмента, п. н.	N	h	S	H _d	π
оз. Собачье	635	9	5	4 (2)	0,81	0,00192
ND1						
оз. Собачье	1706	5	4	6 (2)	0,90	0,00164
р. Курейка*	1708	5	5	12 (2)	—	0,00304

*Информация о полиморфизме последовательностей ND1-фрагмента ряпушки р. Курейка приведена для сравнения (номера NCBI — JN629025–JN629029). N — число проанализированных последовательностей; h — число гаплотипов; S — число полиморфных сайтов, в скобках указано число парсимоничных сайтов из них; H_d — гаплотипическое разнообразие; π — нуклеотидное разнообразие. Длина анализируемого фрагмента определялась качеством полученных сиквенсов и выровнена по самой короткой последовательности

В целом же среди особей, взятых в анализ первоначально, лишь у одной был выявлен «сибирский» гаплотип S. К сожалению, получить качественный сиквенс ND1-фрагмента этого экземпляра не удалось. Интересно, что согласно результатам анализа последовательности COI для этой особи характерен уникальный

гаплотип Sob96, отличающийся от распространенного в популяции С1 варианта одной несинонимичной нуклеотидной заменой (см. рис. 1).

p-Дистанция между наиболее частым гаплотипом N1, характерным для ряпушки европейских водоемов, и вариантами ND1-фрагмента ряпушки оз. Собачье

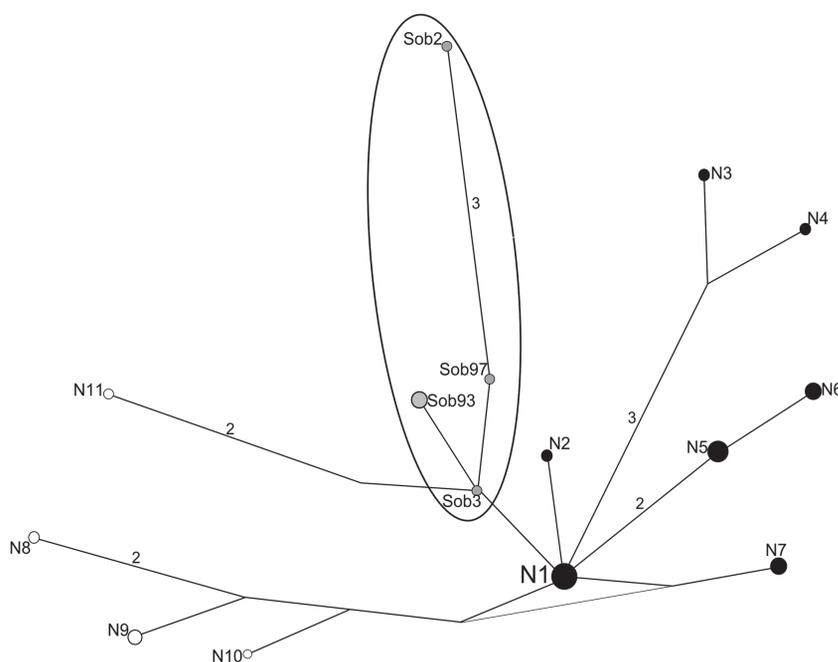


Рис. 2. Варианты последовательности ND1-фрагмента ряпушки оз. Собачье на медианной сети гаплотипов ряпушек водоемов Европы и Сибири. Сеть построена с использованием информации о 27 последовательностях, в том числе из базы данных NCBI. В анализ взят общий для всех последовательностей участок длиной 897 п. н. Серый цвет соответствует популяции ряпушки оз. Собачье, черный — ряпушке Европы, *C. albulа*; белый — *C. sardinella* Сибири. Диаметр круга соответствует частоте гаплотипа. В случаях когда число нуклеотидных замен, различающих два гаплотипа, больше одного, их число указано рядом с отрезками, соединяющими гаплотипы. Эллипс выделяет линию гаплотипов ряпушки оз. Собачье

Fig. 2. ND1-fragment sequences of the cisco from Lake Sobachye in median network of haplotypes of ciscoes from European and Siberian water bodies. Network was done with data about 27 ciscoes sequences some of which were taken from NCBI. For analysis the common fragment was used (897 base pair long). Color designates: bright gray — the cisco from Lake Sobachye; black — European water bodies; white — Siberian water bodies. The diameters of the circles correspond to the frequency of the given variant. If number of nucleotide substitutions is more than one their number are indicated near the segments between haplotypes. Ellipse denotes phylogenetic line of the cisco from Lake Sobachye

варьировала от 1,1 до 5,6 % (среднее значение 4,5 %). С гаплотипами же сибирской ряпушки из р. Курейка (N8–N11) различия последовательностей собачинской ряпушки оказались значительнее — от трех до десяти пар нуклеотидов (p -дистанция 3,4–11,2 %, в среднем — 5,8 %). При этом значения p -дистанции между гаплотипами ND1 внутри популяции рассматриваемого озера изменялись от 1,1 до 5,6 %; средняя оценка этого показателя равна 3,0 %.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ внутри- и межпопуляционного полиморфизма последовательностей ND1- и COI-фрагментов мтДНК свидетельствует о филогенетической близости собачинской ряпушки ряпушке европейских водоемов. Так, в случае фрагмента COI, который используется для идентификации видов в рамках программы «Штрихкодирование жизни» (*Barcode of Life*), ряпушку оз. Собачье и водоемов Европы сближает наличие общего гаплотипа C1 (см. рис. 1). Средние значения показателя дифференциации (p -дистанции) второго анализируемого участка, ND1-фрагмента, оказались меньше между последовательностями собачинской ряпушки и гаплотипами ряпушки водоемов Европы (озера Польши), чем гаплотипами ряпушки р. Курейка (бас. р. Енисей): 4,5 и 5,8 % соответственно.

Интересно, что рассчитанные с использованием информации базы данных NCBI средние показатели внутривидовой дифференциации для *C. albula* составили для COI 0,5 и 1,2 % для ND1-фрагмента; в случае *C. sardinella* — 0,2 и 0,6 % соответственно. Уровень дивергенции между *C. albula* и *C. sardinella* равен для COI — 0,4 %; для ND1 — 1,0 %. В то же время оценки дифференциации между европейской ряпушкой и такими «хорошими» видами, как сиг *C. lavaretus* (Linnaeus), арктический омуль *C. autumnalis* (Pallas), чир *C. nasus* (Pallas) и другие в среднем составили для COI около 2,0 %, а для ND1 — 4,0 %.

Приведенные данные позволяют высказать ряд предположений относительно происхождения популяции ряпушки оз. Собачье: вероятно, большая часть ее происходит от филогенетической линии европейских ряпушек. Возможность расселения ряпушки из водоемов Европы на восток в период по крайней мере последнего оледенения обсуждается в работах [11, 27].

В то же время проникали в водоем и представители других (одной или нескольких) филогенетических линий. Так, поскольку согласно результатам ПЦР-ПДРФ-анализа ND1-фрагмента с рестриктазой *RsaI* в оз. Собачье была обнаружена особь — носитель гаплотипа S, можно предполагать существование потока вселенцев с востока Сибири (бас. рек Колыма и Индигирка), где этот гаплотип встречается чаще всего [17]. При продвижении на запад частота гаплотипа S в популяциях ряпушки

снижается [11]. Следует отметить, что по результатам виртуального анализа полиморфизма ND1-фрагмента по сайтам *RsaI* для ряпушки р. Курейка также оказался характерен гаплотип E.

Обособленность отдельной ветви гаплотипов ND1-фрагмента собачинской ряпушки на медианной сети может быть связана с формированием специфичного внутрипопуляционного полиморфизма в условиях изоляции. Многие популяции ряпушки Европы также характеризуются наличием типичных только для них уникальных гаплотипов на фоне одного-двух широко распространенных [11].

С частичной или полной изоляцией собачинской популяции может быть связан и низкий уровень внутрипопуляционного полиморфизма последовательностей ND1-фрагмента по сравнению с ряпушкой р. Курейка (см. табл. 2). Небольшие по численности изолированные популяции оказываются более чувствительными к действию случайных генетико-автоматических процессов (дрейф генов) [28].

В то же время, согласно результатам анализа полиморфизма участка гена COI, приведенные выше рассуждения о причинах формирования особенностей генетической структуры популяции ряпушки оз. Собачье могут показаться не совсем верными. Так, принимая во внимание полиморфизм COI, популяции ряпушки разных водоемов, удаленных друг от друга географически, с разной экологией, филогенетически кажутся ближе друг другу, чем если рассматривать результаты анализа полиморфизма ND1-фрагмента. Действительно, один и тот же вариант последовательности COI (C1) оказался типичен как для европейских озерных популяций ряпушки, так и для полупроходной ряпушки Сибири (море Лаптевых, Тикси); этот же вариант распространен и у *C. sardinella* озер Северной Америки.

Объяснением указанных выше фактов, как и различий в структуре сетей гаплотипов COI и ND1, может быть разная скорость накопления мутаций в последовательностях разных маркерных фрагментов. Так, анализ результатов секвенирования митохондриального генома сиговых показал, что наибольшая скорость эволюции характерна для генов НАДН-дегидрогеназного комплекса (*ND*), цитохрома *b* (*cyt b*) и контрольной области. Гены цитохром оксидазы (*COX*) и тРНК имеют скорость эволюции в 2–3 раза меньше, чем *ND*-гены; еще медленнее накапливают замены рибосомальные гены и гены АТФ [29].

Полученные с использованием молекулярно-генетических методов анализа результаты согласуются с данными об особенностях морфологии ряпушки рассматриваемого водоема: меньшее число позвонков собачинской ряпушки сближает ее с ряпушкой Европы [13]. Отметим, что ранее популяции относительно малопозвонковых ряпушек были отмечены и в других водоемах Таймыра [26, 30]. В то же время в бассейне р. Пясины

присутствует и полупроходная форма с большим числом позвонков, что характерно для типичной сибирской ряпушки [13].

Таким образом, согласно результатам анализа полиморфизма мтДНК ряпушка оз. Соба́чье более близка в своем происхождении филогенетической линии европейской ряпушки. Вместе с тем на особенности генетического разнообразия ее популяции оказали влияние такие факторы, как контакт с представителями восточносибирской филогенетической линии ряпушки и длительное существование в условиях частичной или полной изоляции.

Благодарности. Авторы благодарят сотрудников Объединенной дирекции заповедников Таймыра за предоставленную возможность проведения исследований на территориях заповедников «Путоранский» и «Большой Арктический» и помощь в сборе материала; Л.А. Глушенко, сотрудницу ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет» — за помощь в сборе образцов ряпушки оз. Соба́чье для последующего генетического анализа. Работа проведена при финансовой поддержке гранта РНФ № 16-14-10001.

Конфликт интересов: не заявлен.

ЛИТЕРАТУРА

- Остроумов Н.А. Рыбы и рыбный промысел р. Пясины // Труды Полярной комиссии. — 1937. — Вып. 30. — С. 3–115. [Ostroumov NA. Ryby i rybnyy promysel r. Pyasiny. *Trudy Polyarnoy komissii*. 1937; (30):3-115. (In Russ).]
- Ольшанская О.Л. Ряпушка бассейна реки Пясины // Труды Сибирского отделения ГосНИОРХ. — 1964. — Т. 8. — С. 157–159. [Ol'shanskaya OL. Ryapushka basseyna reki Pyasiny. *Trudy Sibirskogo otdeleniya GosNIORKh*. 1964;8:157-159. (In Russ).]
- Ольшанская О.Л. Ряпушка системы реки Пясины // Труды Красноярского отделения СибНИИРХ. — 1967. — Т. 9. — С. 94–213. [Ol'shanskaya OL. Ryapushka sistemy reki Pyasiny. *Trudy Krasnoyarskogo otdeleniya SibNIIRKh*. 1967; 9:94-213. (In Russ).]
- Максимов С.В., Савваитова К.А., Пичугин М.Ю. Сибирская ряпушка *Coregonus sardinella* из водоемов Норило-Пясинской водной системы // Вопросы ихтиологии. — 1995. — Т. 35. — Вып. 4. — С. 445–454. [Maksimov SV, Savvaitova KA, Pichugin MYu. Sibirskaya ryapushka *Coregonus sardinella* iz vodoemov Norilo-Pyasinskoy vodnoy sistemy. *Voprosy ikhtiologii*. 1995; 35(4):445-454. (In Russ).]
- Павлов Д.С., Савваитова К.А., Груздева М.А., и др. Разнообразие рыб Таймыра. — М.: Наука, 1999. — 207 с. [Pavlov DS, Savvaitova KA, Gruzdeva MA, et al. The diversity of fishes from Taimyr Peninsula. Moscow: Nauka; 1999. 207 p. (In Russ).]
- Ольшанская О.Л. Обзор ихтиофауны бассейна реки Пясины // Вопросы ихтиологии. — 1965. — Т. 5. — Вып. 2. — С. 262–278. [Ol'shanskaya OL. Obzor ikhtiofauny basseyna reki Pyasiny. *Voprosy ikhtiologii*. 1965;5(2):262-278. (In Russ).]
- Решетников Ю.С., Попова О.А., Соколов Л.И., и др. Атлас пресноводных рыб России. В 2 т. Т. 1. / Под ред. Ю.С. Решетникова. — М.: Наука, 2002. — 379 с. [Reshetnikov YuS, Popova OA, Sokolov LI, et al. Atlas of Russian freshwater fishes. In Two Volumes. Vol. 1. YuS. Reshetnikov, editor. Moscow: Nauka; 2002. 379 p. (In Russ).]
- Дрягин П.А., Пирожников П.Л., Покровский В.В. Полиморфизм сиговых рыб (*Coregoninae*) и его биологическое и рыбохозяйственное значение // Вопросы ихтиологии. — 1969. — Т. 9. — Вып. 1. — С. 14–25. [Dryagin PA, Pirozhnikov PL, Pokrovskiy VV. Polimorfizm sigovykh ryb (*Coregoninae*) i ego biologicheskoe i rybokhozyaystvennoe znachenie. *Voprosy ikhtiologii*. 1969;9(1):14-25. (In Russ).]
- Пирожников П.Л., Дрягин П.А., Покровский В.В. О таксономическом ранге и филогении сиговых (*Coregonidae*, *Pisces*) // Известия ГосНИОРХ. — 1975. — Т. 104. — С. 5–17. [Pirozhnikov PL, Dryagin PA, Pokrovskiy VV. O taksonomicheskom range i filogenii sigovykh (*Coregonidae*, *Pisces*). *Izvestiya GosNIORKh*. 1975;104:5-17. (In Russ).]
- Решетников Ю.С. Экология и систематика сиговых рыб. — М.: Наука, 1980. — 300 с. [Reshetnikov YuS. Ekologiya i sistematika sigovykh ryb. Moscow: Nauka; 1980. 300 p. (In Russ).]
- Боровикова Е.А. Филогеография ряпушек *Coregonus albula* (L.) и *C. sardinella* Valenciennes Европейского Севера России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: 11-й формат, 2009. — 24 с. [Borovikova EA. Phylogeography of the ciscoes *Coregonus albula* (L.) and *C. sardinella* Valenciennes in European North of Russia. [dissertation]. Moscow: 11th Format; 2009. 24 p. (In Russian with English abstract).]
- Боровикова Е.А., Махров А.А. Обнаружение гаплотипа митохондриальной ДНК, характерного для сибирской ряпушки *Coregonus sardinella* (Valenciennes, 1848), в популяции европейской ряпушки *C. albula* (Linnaeus, 1758) Водлозера (бассейн Балтийского моря) // Известия РАН. Серия биологическая. — 2009. — № 1. — С. 95–99. [Borovikova EA, Makhrov AA. Detection of the mitochondrial DNA haplotype characteristic of the least cisco (*Coregonus sardinella*, Valenciennes, 1848) in the vendace (*C. albula*, Linnaeus, 1758) population of Vodlozero (the Baltic Sea Basin). *Biology Bulletin*. 2009;36(1):80-83. doi: 10.1134/S1062359009010129.
- Романов В.И., Заделёнов В.А., Никулина Ю.С., Поляева К.В. Морфология и паразитология ряпушки озера Соба́чьего (плато Путорана) // Вест-

- ник НГАУ. — 2016. — Т. 38. — № 1. — С. 69–77. [Romanov VI, Zadenov VA, Nikulina YuS, Polyayeva KV. Morphology and parasitology of the Sobachye Lake *Coregonus albula* L. (Plateau Putorana). *Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University*. 2016;38(1):69-77. (In Russian with English abstract).]
14. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. — М.: Пищевая промышленность, 1966. — 376 с. [Pravdin IF. *Rukovodstvo po izucheniuyu ryb*. Moscow: Pishchevaya promyshlennost'; 1966. 376 p. (In Russ).]
15. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биологических специальностей вузов. — М.: Высшая школа, 1980. — 293 с. [Lakin GF. *Biometriya: Uchebnoe posobie dlya biologicheskikh spetsial'nostey vuzov*. Moscow: Vysshaya shkola; 1980. 293 p. (In Russ).]
16. Cronin MA, Spearman WJ, Wilmot RL, et al. Mitochondrial DNA variation in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products. *Can J Fish Aquat Sci*. 1993;50:708-715. doi:10.1139/f93-081.
17. Politov DV, Gordon NYu, Afanasiev KI, et al. Identification of palearctic coregonid fish species using mtDNA and allozyme genetic markers. *J Fish Biol*. 2000; 57 (Suppl.A):51-71. doi: 10.1111/j.1095-8649.2000.tb02244.x.
18. Green MR, Sambrook J. Molecular cloning: A laboratory manual. In Three Volumes. Vol. 1. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2012. 628 p.
19. Bochkarev NA, Zuykova EI, Katokhin AV. Morphology and mitochondrial DNA variation of the Siberian whitefish *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmelin) in the upstream water bodies of the Ob and Yenisei Rivers. *Evol Ecol*. 2011;25(3):557-572. doi: 10.1007/s10682-010-9437-7.
20. Ward RD, Zemlak TS, Innes BH, et al. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos Trans R Soc Lond. B Biol Sci*. 2005;360(1462):1847-1857. doi: 10.1098/rstb.2005.1716.
21. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol*. 2013;30:2725-2729. doi:10.1093/molbev/mst197.
22. Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1451-1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187.
23. Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol*. 1999;16(1):37-48.
24. Restriction Mapper version 3. Cited 10.04.2016. URL: <http://restrictionmapper.org/index.html/>.
25. Коновалов А.Ф., Болотова Н.Л. Морфологические особенности гибридных популяций ряпушки в водоемах на водоразделе Белого, Каспийского и Балтийского морей // Вестник АГТУ. Серия «Рыбное хозяйство». — 2014. — № 1. — С. 7–17. [Konovalov AF, Bolotova NL. Morphological peculiarities of hybrid populations of vendace in the reservoirs of watershed White, Caspian and Baltic Seas. *Bulletin of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2014;1:7-17. (In Russian with English abstract).]
26. Романов В.И. Ихтиофауна плато Путорана / Фауна позвоночных животных плато Путорана. Общ. ред. А.А. Романов. — М.: Наука, 2004. — С. 29–89. [Romanov VI. *Piscifauna of the Putorana Plateau*. In: AA. Romanov, editor. *Vertebrate fauna of the Putorana Plateau*. Moscow: Nauka; 2004:29-89. (In Russian with English abstract).]
27. Borovikova EA, Alekseeva YaI, Schreider MJ, et al. Morphology and genetics of the ciscoes (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae: Coregoninae: *Coregonus*) from the Solovetsky Archipelago (White Sea) as a key to determination of the taxonomic position of the ciscoes in Northeastern Europe. *Acta Ichthyol Pisc*. 2013;43(3):183-194. doi: 10.3750/AIP2013.43.3.02.
28. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. — М.: ИКЦ Академкнига, 2003. — 431 с. [Altukhov YuP. *Intraspecific Genetic Diversity. Monitoring, conservation and management*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. 438 p. doi:10.1007/3-540-30963-2].
29. Jacobsen MW, da Fonseca RR, Bernatchez L, Hansen MM. Comparative analysis of complete mitochondrial genomes suggests that relaxed purifying selection is driving high nonsynonymous evolutionary rate of the NADH2 gene in whitefish (*Coregonus* spp.). *Mol Phylogenet Evol*. 2016;95:161-170. doi: 10.1016/j.ympev.2015.11.008.
30. Романов В.И. Морфо-экологическая характеристика ряпушки из озера Томмот (бассейн р. Хатанги) и некоторые дискуссионные вопросы систематики евразийских ряпушек // Сибирский экологический журнал. — 2000. — № 3. — С. 293–304. [Romanov VI. Morphoecological characteristics of *Coregonus* from the Lake Tommot (River Khatanga basin) and some disputable questions of European *Coregonus* systematics. *Sibirskiy Ekologicheskii Zhurnal*. 2000;(3):293-304. (In Russian with English abstract).]

MORPHOLOGICAL AND GENETIC FEATURES OF CISCO (COREGONIDAE: COREGONUS SP.) FROM LAKE SOBACHYE (PUTORANA PLATEAU)

E.A. Borovikova, V.I. Romanov, J.S. Nikulina

For citation: *Ecological genetics*. 2016;14(3):47-55

✿ **SUMMARY: Background.** Recently was revealed that cisco from Lake Sobachye (Putorana Plateau) is more similar to *Coregonus albula* Linnaeus than *C. sardinella* Valenciennes according to number of vertebrae [13]. The aim of this work was to investigate molecular gene-

tic features of this population. **Materials and methods.** For morphological analysis were used 60 specimens of cisco from Lake Sobachye. For nine specimens molecular genetic analysis was performed. The sequences of two fragments of the mitochondrial DNA (ND1 and COI) were defined. **Results.** The cisco of the Lake Sobachye significantly differed from riverine cisco of this region by meristic features (namely from cisco of the River Pyasina). Sequencing results showed the mini-

mal divergence of the ND1 and COI sequences of the cisco from Lake Sobachye and vendace. **Conclusion.** Morphological analysis and analysis of the mitochondrial DNA polymorphism of cisco from Lake Sobachye revealed close relationship of this population to *C. albulus*.

✿ **KEYWORDS:** cisco; Putorana Plateau; features of morphology; mitochondrial DNA; phylogenetic; phylogeography.

✿ Информация об авторах

Елена Александровна Боровикова — научный сотрудник, лаборатория экологии рыб. ФГБУН «Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина». E-mail: elena.ibiw@gmail.com.

Владимир Иванович Романов — д-р биол. наук, заведующий кафедрой «Ихтиологии и гидробиологии». Национальный исследовательский Томский государственный университет. E-mail: icht.nrtsu@yandex.ru.

Юлия Сергеевна Никулина — ассистент, кафедра «Ихтиологии и гидробиологии». Национальный исследовательский Томский государственный университет. E-mail: JuliaNikulina0506@gmail.com.

✿ Information about the authors

Elena A. Borovikova — researcher, Laboratory of Fish Ecology. I.D. Papanin Institute for biology of inland waters, Russian Academy of Sciences. E-mail: elena.ibiw@gmail.com.

Vladimir I. Romanov — ScD, professor Head of Department. Department of the Ichthyology and Hydrobiology. National Research Tomsk State University. E-mail: icht.nrtsu@yandex.ru.

Julia S. Nikulina — assistant. Department of the Ichthyology and Hydrobiology. National Research Tomsk State University. E-mail: JuliaNikulina0506@gmail.com.