

Сливинска Каролина

научный сотрудник

Алехнович Анатолий Васильевич

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник

Никифоров Михаил Ефимович

д-р биол. наук, заведующий лабораторией

ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»

г. Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ ШИРОКОПАЛОГО РАКА (*ASTACUS ASTACUS*) И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПОДХОДОВ К СОХРАНЕНИЮ ВИДА В БЕЛАРУСИ

Аннотация: авторы отмечают, что широкопалый рак (*Astacus astacus*) – исчезающий вид пресноводной фауны Европы. В работе представлены результаты генетического анализа белорусских популяций *A. astacus*. Выявлена филогеографическая структура: популяции относятся к двум эволюционным линиям, соответствующим бассейнам Балтийского и Черного морей. Установлено, что бассейн р. Неман является центром генетического разнообразия для всего Балтийского региона. Анализ показал высокую степень генетической дифференциации исследованных популяций и низкое внутривидовое разнообразие, сопровождающееся дефицитом гетерозиготности, что свидетельствует о генетической эрозии. На основе полученных данных предложена иерархическая система сохранения с выделением двух эволюционно значимых единиц и нескольких управленческих единиц в пределах речных бассейнов.

Ключевые слова: генетическая структура, разнообразие, эволюционно значимые единицы, реинтродукция, сохранение биоразнообразия.

Сохранение биологического разнообразия на популяционно-генетическом уровне является фундаментальной задачей современной природоохранной биологии. Генетическое разнообразие определяет адаптивный потенциал вида и его

устойчивость к изменениям среды. Широкопалый рак (*Astacus astacus*) – один из наиболее уязвимых видов европейской пресноводной фауны, чья численность сокращается под воздействием антропогенных факторов, инвазий чужеродных видов и эпизоотий рачьей чумы [1; 8]. В Беларуси *A. astacus* исторически был широко распространен, однако к настоящему времени сохранился лишь в немногочисленных изолированных местообитаниях. Фрагментация популяций, усугубляемая экспансией инвазивного полосатого рака (*Faxonius limosus*) в бассейне Немана, делает невозможным естественное восстановление вида [1]. В этих условиях единственным эффективным способом предотвращения его исчезновения становятся активные меры управления: создание резервных популяций и реинтродукция.

Эффективность транслокаций напрямую зависит от учета генетической структуры вида. Игнорирование филогеографической подразделенности может привести к смешению эволюционно различных линий и аутбридинговой депрессии [2; 3]. В связи с этим целью настоящей работы являлась комплексная оценка генетического разнообразия и структуры популяций *A. astacus* на территории Беларуси для разработки научно обоснованных подходов к его сохранению.

Материалы и методы. Образцы тканей отобраны у 236 особей *A. astacus* из 26 локаций, охватывающих основные речные бассейны Беларуси: Неман, Западная Двина и Днепр. Для микросателлитного анализа отобраны 8 популяций с численностью выборки не менее 7 особей. ДНК выделяли с использованием набора Genomic DNA Animal and Fungi DNA Preparation Kit. Для анализа митохондриальной ДНК (мтДНК) амплифицировали фрагменты генов 16S рДНК и COI. Секвенирование проводили на анализаторах ABI 3500 и Beckman Coulter GenomeLab GeXP. Филогенетический анализ выполнен в программах MEGA X, DnaSP v6 и PopART. Для ядерного генотипирования использовали 19 микросателлитных локусов [4]. Амплификацию проводили в мультиплексных ПЦР, определение длин фрагментов – на анализаторе Beckman Coulter GenomeLab GeXP. Обработку данных осуществляли с использованием программ TANDEM, MicroChecker, GenAlEx, FSTAT, GENEPOP, INEST и NeEstimator. Оценку

демографической истории проводили в программе Bottleneck. Генетическую структуру анализировали методами AMOVA (Arlequin), байесовской кластеризации (STRUCTURE) и дискриминантного анализа главных компонент (DAPC в R).

Результаты и их обсуждение. Анализ митохондриальной ДНК. Анализ мтДНК выявил принадлежность белорусских популяций к двум эволюционным линиям. Распределение линий имеет четкую географическую приуроченность к бассейнам морей. Популяции бассейна Балтийского моря (Западная Двина и Неман) относятся к Линии 1. Однако в бассейне Немана обнаружены также гаплотипы Линии 2, что нетипично для данного региона. Гаплотипическое разнообразие (H_d) в Немане составило 0,337 – это максимальное значение среди всех исследованных популяций Балтийского водосбора [8]. Из семи выявленных гаплотипов пять являются новыми. Полученные данные позволяют рассматривать бассейн Немана как рефугиум разнообразия вида в бассейне Балтийского моря.

Популяции бассейна Черного моря (Днепр) представлены исключительно Линией 2, однако демонстрируют крайне низкое гаплотипическое разнообразие ($H_d=0,083$), что характерно для периферических частей ареала и обусловлено длительной изоляцией.

Микросателлитный анализ. Уровень генетического разнообразия оказался невысоким (средняя наблюдаемая гетерозиготность $H_o = 0,131$, средняя ожидаемая $H_e = 0,168$). Почти во всех популяциях наблюдался дефицит гетерозигот и положительные значения коэффициента инбридинга FIS (0,045–0,527), что свидетельствует о близкородственном скрещивании и генетической эрозии [4].

Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что основная доля изменчивости (62,81%) приходится на различия между тремя главными речными бассейнами, 11,45% – на различия между популяциями внутри бассейнов и лишь 25,74% – на внутривидовое разнообразие. Глобальный индекс дифференциации F_{ST} составил 0,695 – одно из наиболее высоких значений для данного вида в Европе [5]. Выявлена сильная корреляция между генетическими и

географическими дистанциями (тест Мантеля, $r = 0,613$), что указывает на изоляцию расстоянием.

Байесовский анализ структуры разделил выборки на два основных кластера, соответствующих бассейнам Балтийского и Черного морей, с последующей субструктуризацией на уровне речных бассейнов (Западная Двина, Неман и два субкластера в Днепре).

Выявлены статистически значимые различия между речными и озерными популяциями: речные характеризовались более высокими показателями аллельного богатства и гетерозиготности ($p < 0,05$). Это согласуется с представлениями о том, что связность речных систем способствует поддержанию более высокого генетического разнообразия [6]. Данный вывод критически важен для Беларуси, где большинство сохранившихся группировок приурочены к озерам – наиболее уязвимому типу местообитаний.

В соответствии с критериями Moritz [7], на территории Беларуси выделяются две эволюционно значимые единицы (ESU): балтийская ESU (бассейны Немана и Западной Двины) и черноморская ESU (бассейн Днепра). Управление этими единицами должно осуществляться независимо. Внутри ESU выделяются управленческие единицы (MU) на уровне отдельных речных бассейнов. Любые транслокации должны проводиться строго в пределах MU. Категорически не рекомендуется смешение особей из разных ESU и MU во избежание аутбридинговой депрессии и потери локальных адаптаций [3].

Заключение. Проведенное исследование позволило впервые охарактеризовать генетическую структуру белорусских популяций *A. astacus* и выявить уникальный центр генетического разнообразия вида в бассейне Немана. Установлено, что современное состояние большинства популяций характеризуется низким генетическим разнообразием, высоким уровнем инбридинга и глубокой дифференциацией на уровне речных бассейнов. Полученные данные служат научной основой для разработки стратегии сохранения вида, базирующейся на выделении эволюционно значимых единиц и строгом соблюдении бассейнового принципа при проведении транслокаций.

Список литературы

1. Алехнович А.В. Современное распространение речных раков в водоемах бассейна реки Неман на территории Беларуси / А.В. Алехнович, Д.В. Молотков, К. Сливинска // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. – 2020. – Т. 65. №2. – С. 182–190.
2. Dannewitz J. Colonization history and human translocations explain the population genetic structure of the noble crayfish in Fennoscandia / J. Dannewitz, S. Palm, L. Edsman // *Aquat. Conserv.* – 2021. – Vol. 31. No. 8. – P. 1970–1982. DOI 10.1002/aqc.3632. EDN JSDHYO
3. Edmands S. Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation / S. Edmands // *Molecular Ecology.* – 2007. – Vol. 16. No. 3. – P. 463–475.
4. Development and characterization of novel tetranucleotide microsatellite markers in the noble crayfish / R. Gross, K. Kõiv, L. Pukk [et al.] // *Aquaculture.* – 2017. – Vol. 472. – P. 50–56.
5. Microsatellite markers reveal geographic structuring among noble crayfish populations in Europe / R. Gross, S. Palm, K. Kõiv [et al.] // *Conservation Genetics.* – 2013. – Vol. 14. No. 4. – P. 809–821. DOI 10.1007/s10592-013-0476-9. EDN RPNPCR
6. Marten A. Habitat type predicts genetic population differentiation in freshwater invertebrates / A. Marten, M. Brandle, R. Brandl // *Molecular Ecology.* – 2006. – Vol. 15. No. 10. – P. 2643–2651.
7. Moritz C. Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation / C. Moritz // *Trends in Ecology & Evolution.* – 1994. – Vol. 9. No. 10. – P. 373–375.
8. Phylogeography of noble crayfish reveals multiple refugia / A. Schrimpf, K. Theissingner, J. Dahlem [et al.] // *Freshwater Biology.* – 2014. – Vol. 59. No. 4. – P. 761–776. DOI 10.1111/fwb.12302. EDN SPGVJP