

**Научные исследования и использование
современных технологий**

**СОВРЕМЕННЫЕ ГИДРОАКУСТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ИССЛЕДОВАНИЯ
РЫБНОГО НАСЕЛЕНИЯ ОЗЕРА ПЛЕЩЕЕВО**

Э.С. Борисенко*, М.И. Малин **

*Институт проблем экологии и эволюции РАН – ИПЭЭ, Москва

**Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Аннотация. В зависимости от биологии изучаемых объектов и гидрологических условий водоема целесообразно дифференцированное применение различных гидроакустических комплексов. Так, для изучения распределения туводных рыб следует выполнять гидроакустические съемки с моторных плавсредств, а для исследования миграций рыб необходимо долговременное гидроакустическое сканирование со стационарных (или буйковых) платформ. По результатам компьютерного анализа полученного гидроакустического материала формируется заключение о численности, линейных размерах, местоположении обнаруженных рыб, составе скоплений и закономерностях их локальных перемещений.

Ключевые слова: гидроакустические методы, распределение рыб, горизонтальное и вертикальное зондирование.

**MODERN HYDROACOUSTIC EQUIPMENT RESEARCH
FISH POPULATIONS IN LAKE PLESHCHEYEVO**

E.S. Borisenko*, M.I. Malin **

*Institute of ecology and evolution Russian Academy of Sciences –

Institute of ecology and evolution, Moscow

** Institute of internal water biology I. D. Papanin RAS

Annotation. Depending on the biology of the studied objects and hydrological conditions of the reservoir, it is advisable to use different hydroacoustic complexes. So, to study the distribution of uvodnik fish should be performed hydroacoustic shooting from motor boats, and for the study of migrations fish need long-term hydroacoustic scanning from stationary (or buoy) platforms. According to the results of computer analysis of the obtained hydroacoustic material, the conclusion about the number, linear dimensions is formed, the location of the detected fish, the composition of clusters and patterns of their local movements.

Keywords: hydroacoustic methods, fish distribution, horizontal and vertical sounding.

Введение

Распределение рыб представляет собой континуальный процесс разномасштабного перемещения их скоплений, стай, особей. Это явление относится к числу фундаментальных биологических категорий. Соответственно, понимание закономерностей этого процесса необходимо для реализации практических мероприятий по сохранению и рациональному использованию биоресурсов водных экосистем. Особенности распределения отражают характер среды обитания рыб, обуславливают успешность их откорма, выживания и воспроизводства. Описание распределения рыб должно выполняться в форме многоплановой пространственно-временной схемы с учетом продолжительности, периодичности и дистанций перемещения рыб, суточной и сезонной динамики их биотопического предпочтения.

Закономерно, что биологические изыскания, в том числе для природоохранных целей, должны осуществляться с учетом динамичности распределения рыб, и, следовательно, носить пролонгированный характер, на основе биологической цикличности явления. Следует подчеркнуть, что результаты одномоментного подсчета числа рыб на акватории и фиксации их местоположения не могут рассматриваться в качестве надежной биологической

основы решений по их охране. Необходимо проведение систематического сбора ихтиологического материала в разные сезоны года и времени суток, что определяет вовлечение существенных материальных ресурсов.

До середины прошлого века исследования распределения рыб в реках и озерах выполнялись, главным образом, путем обловов акваторий различными снастями и приспособлениями. Вместе с тем, известно, что проблема селективности орудий лова, трудоемкость их применения, невозможность оперативного получения результатов существенно ограничивает результативность рыболовного метода. Современной альтернативой рыболовного метода при изучении распределения рыб является применение гидроакустических средств. Гидроакустическая аппаратура специально предназначенная для исследований на мелководных внутренних водоемах, позволяет надежно и оперативно определять: численность, размерный состав, биомассу и характер размещения рыбного населения в реках и озерах, выявлять режим перемещений производителей и молоди рыб. Гидроакустические исследования осуществляются дистанционно в интактном для гидробионтов и водных биотопов режиме.

Аппаратура и методика

За период наблюдений с 2012 по 2017 г. нами обнаружены 13 видов аборигенных рыб оз. Плещеево. Самое многочисленное в рыбном сообществе озера – сем. Карповые (Cyprinidae). Сюда входят язь *Leuciscus idus*, плотва *Rutilus rutilus*, уклейка *Alburnus alburnus*, лещ *Abramis brama*, густера *Blicca bjoerkna*, линь *Tinca tinca* и золотой карась *Carassius carassius*. Также здесь обитают представитель сем. Сиговых (Coregonidae) – европейская ряпушка *Coregonus albula*; и сем. Окуневых (Percidae) – речной окунь *Perca fluviatilis* и ерш обыкновенный *Gymnocephalus cernuus*; сем. Вьюновые европейская щиповка *Cobitis taenia*. сем. Тресковых (Gadidae) – налим *Lota lota*; сем. Щуковых (Esocidae) – щука европейская *Esox lucius*. Основная масса рыб сосредоточена в прибрежной зоне озера с глубинами 0-8 м.

Переславская ряпушка является охраняемым объектом, ценным представителем ихтиофауны озера, вследствие чего исследования ее популяции традиционно носят более детальный характер. Особенности пространственного распределения ряпушки в озере, а также присущие ей ярко выраженные суточные вертикальные миграции не позволяют вести изучение ее популяции в едином методическом ключе с исследованиями других видов рыб озера.

Гидроакустические съемки выполняли в соответствии с современными методиками и рекомендациями (Simmonds, MacLennan, 2005; Parker-Stetter et al., 2009) при помощи научного эхолота «Simrad EY-500» (Simrad, Норвегия) и научно-исследовательского комплекса «Аскор» (Промгидроакустика, Россия) работающих в вертикальном режиме зондирования акватории озера. В режиме горизонтального зондирования водных слоев озера использовались многолучевой высокочастотный гидролокатор «Панкор» (Промгидроакустика, Россия) и идентификационный двухчастотный сонар «DIDSON» (SMC, США). Для изучения пространственных миграций рыб использовался многолучевой комплекс «Неткор» (Промгидроакустика, Россия). В табл. 1 приведены основные технические характеристики научно-исследовательской гидроакустической аппаратуры и ее назначение.

Научный эхолот «Simrad EY-500» являлся базовым, в гидроакустических исследованиях рыбного населения оз. Плещеево. Он оснащен антенной ES120-7C с расщепленным лучом, рабочая частота 120 кГц, диаграмма направленности – 7°. Эхолот сопряжен с собственным навигационным приемником GPS и управляется ноутбуком

Антенна эхолота крепилась к правому борту моторной лодки в средней его части, где влияние возможного волнения меньше сказывается на качестве получаемых записей. Заглубление антенны составляло 0.4 м от поверхности воды, что учитывалось во время

Назначение и основные технические характеристики гидроакустической научно-исследовательской гидроакустической аппаратуры

Название аппаратуры	Режим работы, предмет изучения;	Тип водоема	Технические характеристики				
			Частота излучения, [кГц]	Тип антенны, диаграмма направленности	Длительность импульса [мс]	Дистанция регистрации одиночной рыбы	Мощность излучения [Вт]
<i>EY500</i> (Simrad, Норвегия)	Вертикальное зондирование: пространственное распределение рыб на акватории, их численность и размерный состав.	Лотические и лимнические водоемы с глубинами более 5м	120	Расщепленный луч (ES120-7C) – 7°	0,1 – 1.0	До 210м	60 и 300
<i>АСКОР</i> (Пром гидроакустика Россия)	Вертикальное зондирование: распределение рыб на акватории, их численность и размерный состав; таксономический анализ на уровне семейств.	Лотические и лимнические водоемы с глубинами более 5м	50 и 200	Двулучевая 45,6° и 14,2°	0.2 – 0.8	До 100м	300
<i>ПАНКОР</i> (Пром гидроакустика Россия)	Горизонтальное зондирование: распределение рыб на акватории, их численность и размерный состав..	Лотические и лимнические водоемы с глубинами от 0. 5м	455	Многолучевая, 6 лучей по 10° Сектор сканирования 60°	0.1 – 0.6	До 20м	40 и 80
<i>НЕТКОР</i> (Пром гидроакустика Россия)	Стационарное горизонтальное зондирование. Миграции рыб в водотоках, лотических водоемах.	Водотоки (реки, протоки, аналы) глубинами более от 0,5м	455	Многолучевая, 6 лучей по 10° Сектор сканирования 70°	0.1 – 0.6	До 20м	40 и 80
<i>DIDSON</i> (SMC, США)	Стационарное горизонтальное зондирование. Миграции рыб в водотоках, лотических водоемах и через рыбоходы. Идентификация подводных объектов.	Водотоки (реки, протоки, каналы и т.д.), с глубинами от 0,5м, мелководные водоемы	700 и 1200	Мультилучевая 48 луч 0.5° x 12° Сектор сканирования 29°	0.23 – 1.84; 0.07 – 0.54	До 20м	30

последующего анализа. Лодка во время съемки двигалась с постоянной скоростью около 1.7 м/с. На протяжении всего периода исследований режим работы аппаратуры не изменялся: энергия излучаемого сигнала 60 Вт, длительность импульса 0.1 с, максимальная частота следования импульсов.

С помощью этого комплекса, начиная с 2012 г. по 2017 г., выполнялись эхометрические съемки рыбного населения озера в разные сезоны – весна, лето, осень, в светлое и темное время суток. Кроме того в 2014 г. были выполнены батиметрические съемки озера и получены графические представления цифровой модели рельефа дна оз.Плещеево, в том числе в формате 3D. В результате выполненных съемок были получены материалы по пространственному распределению ряпушки в озере в разные сезоны и время суток, прослежена динамика ее численности за эти годы и размерный состав рыб. В процессе анализа гидроакустического материала применялось уравнение силы цели европейской ряпушки (Mehner, 2006):

$$TS = 25.5 \lg TL - 70.9 \quad [1]$$

где: TS – величина силы цели, дБ; TL – длина всей рыбы, см.

Плотность распределения ряпушки определяли методом эхоинтегрирования, длина интервала интегрирования равна 200 м. Общая численность популяции рассчитывали методом площадей по формуле:

$$N = D \times S \quad [2]$$

где: N – общая численность, экз.; D – средняя плотность распределения рыб в скоплениях, экз./м²; S – площадь скопления, м².

Исходя из особенностей поведения переславской ряпушки, определение ее численности популяции, проводилось по результатам гидроакустических съемок в темное время суток. В светлое время суток ряпушка образует плотные стаи и регистрируются как донные скопления, обработка которых существенно затрудняется. Так в начале лета 2013 г, в ночное время ряпушка равномерно распределяется по всей глубоководной части озера в пределах изобаты 13 м. Средняя плотность ее распределения составляла 0.28 экз./м² и не превышала 0.46 экз./м². Общая численность переславской ряпушки составила более 3.5 млн экз. В течение года пространственное распределение ряпушки и средние плотности ее скоплений изменяются, что хорошо показывают результаты проведенных гидроакустических исследований.

В настоящее время одной из наиболее эффективных гидроакустической систем для работы на внутренних водоемах с глубинами от 3 до 250 м является научно-исследовательский комплекс «Аскор». Он состоит из 2-х частотного (50 и 200 кГц), 2-х лучевого научного эхолота; 14-и разрядного аналого-цифрового преобразователя с программируемой частотой выборки от 20 до 400 кГц; ноутбука и спутникового навигатора. Программное обеспечение системы, как и у научного эхолота «Simrad EY-500», состоит из двух частей: программа сбора информации, используемая непосредственно на съемках и программа камеральной обработки полученных данных. Программа сбора информации, обеспечивает полную обработку эхосигналов в реальном времени. Размеры одиночных рыб определяются с помощью прямого модифицированного двухчастотного метода «двойного луча», реализуемого двумя соосными антеннами 50 и 200 кГц с диаграммами направленности 45.6° и 14.2° соответственно. Маршрут движения плавсредства отображается на электронной карте. Все оцифрованные эхосигналы, а также координаты их приема записываются на жесткий накопитель.

Камеральная часть программы обеспечивает возможность «покадрового» анализа данных гидроакустической съемки. В результате обработки составляются планшеты размещения рыб на площади водного зеркала и по глубинам; рассчитываются гистограммы размерного ряда рыб; осуществляется условная селекция распределения пелагических и донных рыб; дается количественная оценка численности и биомассы рыб на обследуемой акватории. Кроме того, в этом комплексе реализована программа дистанционная

идентификация видов рыб гидроакустическим методом и в необходимых случаях предусмотрена процедура формирования 3D модели распределения рыб относительно рельефа дна. Идентификация видов рыб на уровне семейств, основана на анализе статистического распределении амплитуд эхосигналов, форме их огибающей и индикатрис обратного рассеяния звука плавательными пузырями рыб, которые существенно отличаются для рыб разных семейств (Borisenkoe et.all, 2006) В аппаратуре «Аскор» удалось реализовать эту возможность для дистанционного определения принадлежности рыб к фоновым для внутренних водоемов семействам – Cyprinidae, Percidae, Coregonidae. На рис.1. приведена эхограмма записи скоплений рыб в озере Плещеево и результаты таксономического анализа состава рыб на уровне семейств, в слоях воды от 2 м до 13 м и от 13 м до дна. Как показал анализ, в придонных горизонтах доминировала ряпушка, а от поверхности и до глубины 13 м преимущественно карповые и окуневые рыбы.

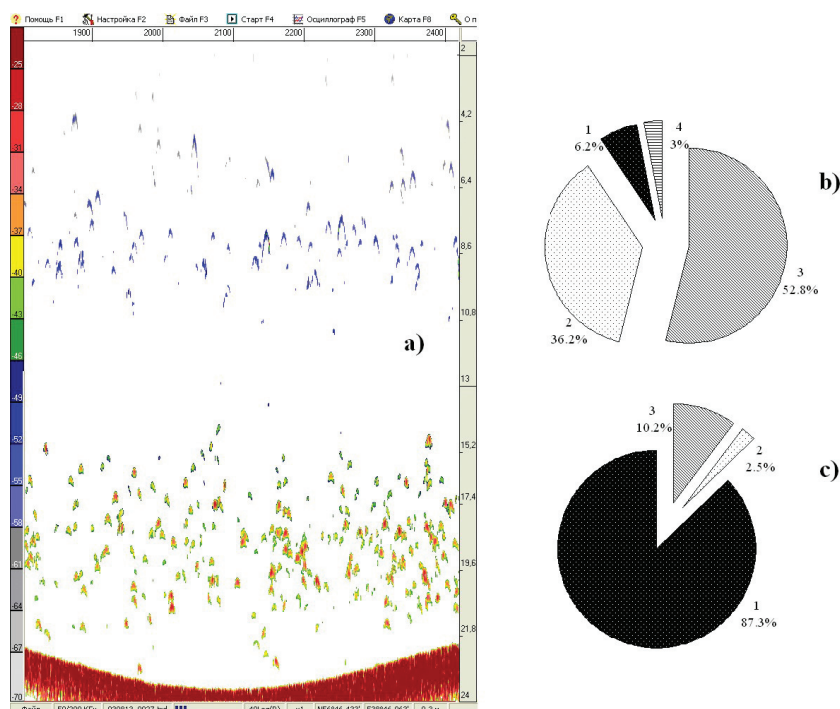


Рис.1. Эхограмма записи скоплений рыб научно-исследовательским комплексом «АСКОР» (а) и таксономический состав рыб на уровне семейств в оз. Плещеево в слоях воды: (b) – от 2 м до 13 м; c) – от 13 м до дна (1 – сиговые (ряпушка); 2 – окуневые; 3 – карповые и 4 – прочие)

Для детального изучения поведения переславской ряпушки использовали мультисондировочный идентификационный сонар «DIDSON», который позволил наблюдать передвижения ряпушки в светлое время суток в непосредственной близости от дна. Кроме того были получены изображения скоплений ряпушки в толще воды в предзимний период и во время ее нереста на мелководье. На рис.2. приводятся в качестве примера записи скоплений ряпушки.

Для количественной оценки скоплений рыб на мелководных участках (литорали) оз. Плещеево, которые занимают более 25% акватории озера с глубинами менее 1 м использовали высокочастотный гидроакустический комплекс «Панкор». Комплекс включает в себя: многолучевую антенну с рабочей частотой 445 КГц и сектором сканирования от 70° до 210°; программно управляемые приемник и генератор; 14-и битовый аналого-цифровой преобразователь с частотой дискретизации эхосигнала – до 100КГц; спутниковый навигатор, ноутбук. С помощью этой системы можно проводить гидроакустические съемки как в горизонтальном, так и вертикальном режимах. Визуализация подводной

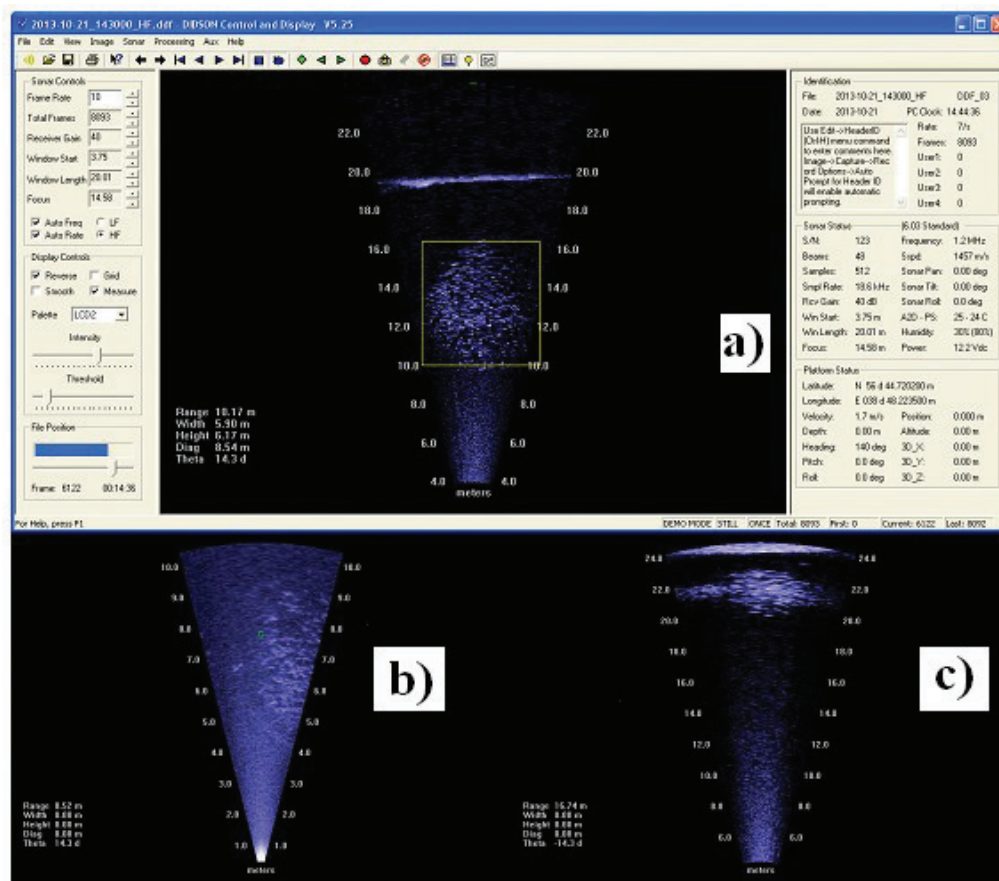


Рис.2. Регистрация ряпушки идентификационным сонаром ДИДСОН в толще воды (а), во время нереста (b) и в придонных горизонтах (с) в светлое время суток

обстановки происходит в виде движущейся эхограммы – интегральной и по секторам. Программное обеспечение камеральной обработки использует современные геоинформационные продукты – «MapViewer», «MapInfo», «Surfer». В результате обработки данных гидроакустических съемок представляются карты-планшеты размещения рыб на обследованной акватории, определяется их общая численность и размерный состав.

Для изучения вертикальных и горизонтальных миграций рыб в условиях мелководий, включая: подсчет численности зарегистрированных рыб, определение их размерного состава и направления перемещения осуществляли при помощи научно-исследовательского гидроакустического комплекса «Неткор». Комплекс состоял из плавучей гидроакустической высокочастотной многолучевой станции, связанной по радиоканалу пакетной передачи данных с береговой компьютеризированной контрольно-измерительной системой. Высокочастотное акустическое сканирование водного пространства может осуществляться как в горизонтальной плоскости под любым заданным углом, так и вертикально – в направлении дна или поверхности воды. Наблюдения за перемещением рыб осуществляли в течении нескольких суток, в результате получены данные по суточной динамике вертикальной миграции ряпушки и горизонтальной миграции карповых и окуневых рыб в условиях мелководий.

Выводы

1. Гидроакустический метод является эффективным инструментом проведения фундаментальных и прикладных исследований в области распределения рыб.
2. Гидроакустические исследования позволяют оперативно получить надежные биологические материалы при минимальных затратах на их проведение.
3. Необходимо дифференцированное применение определенных типов гидроакустических комплексов в зависимости от особенностей водоема и целей исследования.

Литература:

Borisenko E.S., A.I. Degtev, A.D. Mochek, D.S. Pavlov. Hydroacoustic characteristics of mass fishes of Ob-Irtish basin// Journal of Ichthyology. Vol. 46. Suppl.2.2006.P.S227–234

Mehner T. Prediction of hydroacoustic target strength of vendace (*Coregonus albula*) from concurrent trawl catches // Fish. Res., 2006. 79. P. 162-169.

Parker-Stetter S.L., Rudstam L.G., Sullivan P.J., Warner D.M. Standard operating procedures for fisheries acoustic surveys in the Great Lakes. Great Lakes Fish. Comm. 2009. Spec. Pub. 09-01. 170 p.

Simmonds J., MacLennan D. Fisheries Acoustics: Theory and Practice. Second edition, Blackwell Science, 2005. Fish and Aquatic Resources Series 10. 437 p.

**ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА
И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ
РЯПУШКИ (COREGONUSALBULA) ОЗЕРА ПЛЕЩЕЕВО**
Е.А. Боровикова, Ю.В. Кодухова, Ю.И. Малина, Н.А. Халько
Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Аннотация. Характерная особенность переславской ряпушки – высокий уровень генетического полиморфизма при выраженной морфологической однородности популяции. Несмотря на значительную генетическую дифференциацию, согласно морфологическим признакам, представители двух филогенетических линий, сосуществующих в озере, принадлежат одному виду – *Coregonusalbula*.

Ключевые слова: оз. Плещеево, переславская ряпушка, морфологический анализ, полиморфизм митохондриальной ДНК.

**FEATURES OF GENETIC POLYMORPHISM
AND MORPHOLOGICAL TRAITS
VENDACE (COREGONUS ALBULA) LAKE PLESHCHEYEVO**
E.A. Borovikova, Yu.V. Kozhuhova, Yu.I. Malina, N.A. Halco
Institute of internal water biology I. D. Papanin RAS

Annotation. A characteristic feature of the vendace of the Lake Pleshcheyevo is a high level of genetic polymorphism with a pronounced morphological homogeneity of the population. Despite the significant genetic differentiation according to morphological features representatives of two phylogenetic lineages coexisting in the lake belong to the *Coregonusalbula*.

Keywords: Lake Pleshcheyevo, vendace, morphological analysis, mitochondrial DNA polymorphism.

Популяция ряпушки (*Coregonusalbula*) оз. Плещеево, так называемая переславская ряпушка, — самая южная популяция в пределах первичного ареала вида на европейской территории России (Атлас..., 2003). Несмотря на многовековое хозяйственное использование переславской ряпушки, или «сельди», как ее называли в прошлом, систематическое изучение особенностей ее экологии и морфологии было начато лишь в 20-х годах прошлого столетия. Работы натуралистов XIX века затрагивали в основном вопросы промысла и запасов этой рыбы в озере (Свирилин, 1863; Гримм, 1889; Коврайский, 1893).

Впервые полный анализ морфологических признаков ряпушки оз. Плещеево, используемых обычно для описания сиговых рыб, проведен в работе П.Г. Борисова (1924). На основе полученных данных автор сделал заключение, что переславская ряпушка — крупная форма ряпушки европейской (*C. albula*). Действительно, еще в начале прошлого столетия рыба достигала длины 30 см и массы 300 г (Борисов, 1924; Веселов, Ласточкин, 1933). Сравнение с популяциями *C. albula* других водоемов европейского севера позволило П.Г. Борисову рассматривать ряпушку оз. Плещеево как отдельную форму *C. albula* *L. nationovapereslavicus*; в дальнейшем Л.С. Берг возвел переславскую ряпушку в ранг подвида *C. albula* *pereslavicus* (Берг, 1948). В настоящее время ряпушка оз. Плещеево считается локальной формой европейской ряпушки (Рыбы..., 2010), является охраняемой и занесена в Красную книгу РФ (2001).

В рамках настоящей работы приведены результаты анализа особенностей генетического полиморфизма и морфологических признаков современной популяции переславской ряпушки, полученные в ходе многолетнего комплексного исследования экосистемы оз. Плещеево, проводимого Институтом биологии внутренних вод РАН.

Материалы и методы

В работе использован материал, собранный в течение 2013–2017 годов. Отлов ряпушки в оз. Плещеево осуществляли ставными сетями с размером ячеи 18–25 мм в соответствии с разрешениями на добычу объектов животного мира, принадлежащих к видам, занесенным в Красную книгу Российской Федерации.

Для анализа особенностей морфологии переславской ряпушки использовано 10 счетных (меристических) и 26 пластических характеристик (Правдин, 1966). Объем исследованной выборки составил 98 экземпляров. С целью сравнения ряпушки оз. Плещеево с ряпушкой других популяций использован материал собственной базы данных по ряпушке из шести водоемов европейской территории России (444 экз.): оз. Белое (Вологодская обл.), озер Горелое и Большое Красное (Соловецкий Архипелаг), Водлозера (Карелия), оз. Виштынецкое (Калининградская обл.) и Рыбинского водохранилища. Кроме того, в анализ включены данные о морфологических признаках переславской ряпушки начала прошлого столетия (Борисов, 1924), что позволило оценить направление изменения признаков за прошедшие 90 лет.

Различия разных выборок ряпушки по меристическим признакам оценивались с использованием U критерия Манна-Уитни (Ивантер, Коросов, 2003). Для выявления особенностей популяций по пластическим признакам использован дискриминантный анализ, перед проведением которого первичные измерения для удаления эффектов аллометрии были преобразованы согласно рекомендациям работы (Bochkarevetat., 2011). Обработку данных проводили в программных пакетах Excel (MicrosoftCo) и Statistica 10 (StatSoft).

Для исследования генетического полиморфизма из кусочков ткани ряпушки, фиксированных 96%-ным этанолом, выделяли клеточную ДНК с использованием набора «ДНК-Экстран-2» (производитель НПО «Синтол», Москва). В качестве маркеров полиморфизма были взяты ND1 фрагмент и участок гена первой субъединицы цитохром оксидазы (COI) митохондриальной ДНК (мтДНК). Использованы два метода анализа: ПДРФ анализ (полиморфизм длин рестриктных фрагментов) ND1 фрагмента длиной 2052 пары нуклеотидов (п. н.) и секвенирование (определение последовательности нуклеотидов). Указанные методы подробно описаны в работах (Боровикова, 2009; Боровикова и др., 2016; Боровикова, 2017). ПДРФ анализ выполнен для 68 особей ряпушки. Нуклеотидная последовательность ND1 фрагмента длиной 1983 п. н. определена для 12 особей, участка гена COI (длина 580 п. н.) – для 14 особей.

Результаты и обсуждение

Особенности генетического полиморфизма переславской ряпушки. В ходе ПДРФ анализа ND1 фрагмента выявлено 12 вариантов последовательности (комплексных гаплотипов). Наиболее частым (66.2%) является гаплотип E, широко распространенный в популяциях ряпушки водоемов Европы. Кроме гаплотипа E у переславской ряпушки обнаружены еще два варианта, отмечаемые ранее у других популяций *C. albula* европейской территории России. Остальные девять гаплотипов являются уникальными, характерными только для ряпушки оз. Плещеево. Частота уникальных гаплотипов составила 30.9%, что на 10% меньше, чем указано в работе (Боровикова, 2009). Таким образом, за десятилетний период времени в генетической структуре популяции переславской ряпушки произошли изменения: увеличилась частота гаплотипа E; не обнаружены девять гаплотипов, в том числе и уникальных, которые отмечались ранее. В то же время следует отметить, что зафиксировано пять новых комплексных гаплотипов.

Среди уникальных гаплотипов следует отметить вариант ALBP2, наиболее сильно отличающийся от распространенного варианта E. Нуклеотидные замены, маркирующие этот комплексный гаплотип, произошли в сайтах пяти ферментов рестрикции (рестриктаз), которые были использованы в ходе ПДРФ анализа. Обычно же у ряпушек внутри популяций варианты различаются заменами в сайтах одной – двух рестриктаз (Боровикова, 2009). Частота носителей варианта ALBP2 в популяции переславской ряпушки составляет не более 10%.

Секвенирование как метод анализа, дающий более полную информацию об особенностях полиморфизма нуклеотидных последовательностей, подтвердил значительную дифференциацию вариантов ALBP2 и E. Нуклеотидные последовательности первого гаплотипа отличаются замены в 32 нуклеотидных позициях (p-дистанция 1.56%), что значительно превышает уровень внутривидового полиморфизма, характерного для вида *C. albula* в целом (Боровикова, 2017). Данные для ND1 фрагмента подтверждают и результаты секвенирования участка COI мтДНК. Дифференциация COI последовательностей носителей варианта ALBP2 по фрагменту ND1 в два раза превышает уровень дифференциации для COI не только внутри популяций европейской ряпушки, но и между видами *C. albula*, *C. sardinella* (сибирская ряпушка) и *C. peled* (пелядь). Полученные данные, таким образом, свидетельствуют о совместном существовании в оз. Плещеево, по крайней мере, двух филогенетических линий ряпушки – E и ALBP2, маркируемых мтДНК. Линия ALBP2 является более древней в своем происхождении по сравнению с линией E.

Особенности морфологии переславской ряпушки. Анализ морфологических особенностей ряпушки оз. Плещеево проводили с учетом данных о присутствии в популяции двух филогенетических линий разного происхождения. Одной из задач работы было выяснить, есть ли отличия в морфологии у представителей этих линий.

Информация о счетных признаках ряпушки оз. Плещеево приведена в таблице.

Таблица

Меристические признаки ряпушки оз. Плещеево и ряпушки (*C. albula*) ряда других популяций европейской территории России

Признак	оз. Плещеево			оз. Горелое	оз. Белое	Рыбинское в/х	оз. Виштынецкое	Водлозеро
	Борисов, 1924	линия E	линия ALBP2					
<i>sp.br.</i>	48 42–54	49 43–55	52 46–56	–	–	–	–	–
<i>vert.</i>	55 52–58	56 51–58	56 53–58	57 56–59	55 53–57	56 53–58	56 53–59	55 52–56
<i>D</i>	4 3–4	4 2–5	3 2–4	3 3–4	3 3–4	3 2–4	4 3–5	3 1–4
<i>Db</i>	9 7–10	9 7–11	9 7–10	9 9–10	10 9–11	10 8–14	9 8–11	9 8–11
<i>A</i>	3 3–4	4 2–4	3 2–4	4 3–4	4 3–4	4 3–5	4 3–5	3 1–4
<i>Ab</i>	11 10–13	12 9–14	12 10–15	12 11–14	13 12–14	14 11–15	12 10–15	13 11–15
<i>Pb</i>	–	14 11–16	14 12–15	14 13–14	13 12–15	14 10–15	14 12–15	13 10–17
<i>Vb</i>	–	10 9–12	10 9–11	10 9–10	10 9–10	10 9–11	10 9–10	10 7–11

Обозначения: *sp.br.* – число жаберных тычинок на первой жаберной дуге слева; *vert.* – число позвонков; *D, A* – число неветвящихся лучей в спинном и анальном плавниках соответственно; *Db, Ab, Pb, Vb* – число ветвящихся лучей в спинном, анальном, грудном и брюшном плавниках. Для каждого признака указано значение медианы и пределы варьирования.

Сравнение меристических показателей двух линий выявило, что представители линии ALBP2 имеют большее число неветвящихся лучей в спинном плавнике и число жаберных тычинок. Интересно, что различие в последнем показателе по всей вероятности не связано с различиями в питании представителей линий E и ALBP2: анализ содержимого

желудков рыб и изотопный анализ дифференциации для них не выявили. Следует отметить, что число жаберных тычинок – признак, по которому отличается современная популяция переславской ряпушки в целом от обитавшей в озере в начале прошлого столетия: за более чем полвека произошло увеличение этого показателя (см. таблицу). Кроме того, изменилось число позвонков, число ветвящихся лучей в анальном плавнике и неветвящихся лучей в спинном.

Сравнение счетных показателей ряпушки разных популяций европейской территории России свидетельствует о том, что значения этих признаков переславской ряпушки лежат в пределах, характерных для вида *C. albula* (таблица).

Анализ пластических признаков показал, что, хотя две линии ряпушки имеют некоторые отличия, степень их дифференциации не выходит за пределы внутривидового полиморфизма. Это хорошо видно на рисунке, где представлены результаты дискриминантного анализа: облака распределения представителей двух линий почти полностью перекрываются. Признаками, дискриминирующими линии, являются максимальная высота тела и длина хвостового стебля. Следует отметить, однако, что различия между линиями по этим признакам становятся заметны лишь при анализе статистически значимых выборок.

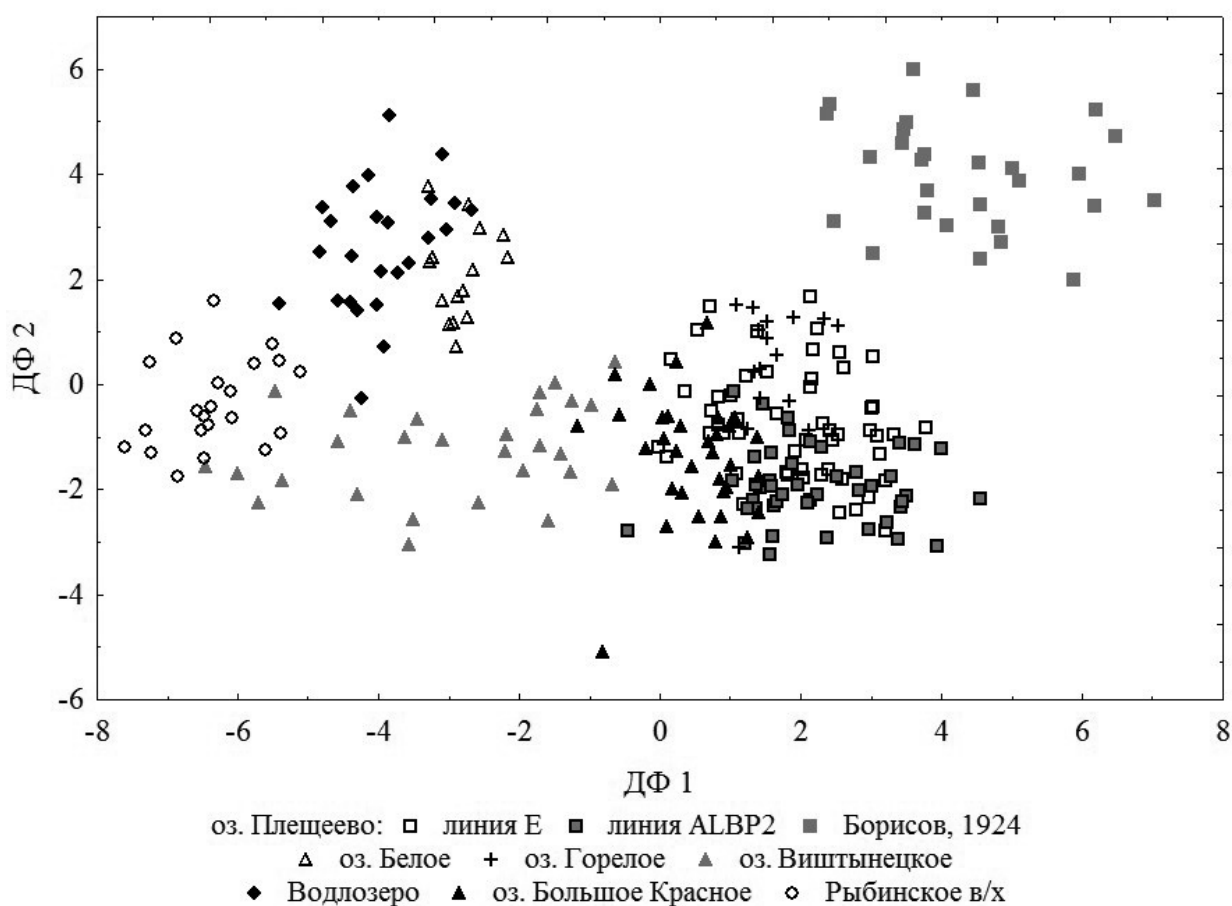


Рис. Результаты дискриминантного анализа для *C. albula* оз. Плещеево и других водоемов европейской территории России

Пластические признаки переславской ряпушки за период времени с начала прошлого века также претерпели ряд изменений. Особи, данные о которых взяты из работы П.Г. Борисова (1924), образуют отдельное облако распределения в пространстве координат дискриминирующих функций (см. рисунок). Параметром, обусловившим дифференциацию выборок, собранных в разное время, является длина нижней челюсти. Средние показатели признака свидетельствуют, что с течением времени нижняя

челюсть у ряпушки стала длиннее. Эти изменения привели к более верхнему положению рта, что может быть связано со сменой объекта(или нескольких объектов) питания.

Если говорить о популяциях *C. albula*, к которым ряпушка оз. Плещеево наиболее близка по внешним морфологическим признакам, то ими оказались популяции озер Соловецкого Архипелага (озера Горелое и Большое Красное). Данный факт интересен тем, что оз. Плещеево и озера Соловков располагаются на противоположных границах ареала *C. albula* (южной и северной). Однако несмотря на это они, по-видимому, испытывают такое действие экологических факторов, которое ведет к наибольшему сходству их морфологических характеристик.

Таким образом, характерной особенностью переславской ряпушки является высокий уровень генетического полиморфизма при выраженной морфологической однородности популяции. Несмотря на значительную генетическую дифференциацию, достигающую межвидового уровня, согласно морфологическим признакам представители двух филогенетических линий ряпушки, сосуществующих в оз. Плещеево, принадлежат одному виду – *Coregonusalbula*.

Присутствие в популяции оз. Плещеево двух филогенетических линий *C. albula*, одна из которых отличается значительной древностью, делает ее уникальной. Однако следует отметить, что с течением времени во внешней морфологии ряпушки и генетической структуре ее популяции происходят изменения. Так, увеличивается частота широко распространенного гаплотипа мтДНК, а редкие гаплотипы исчезают. Утрачивает переславская ряпушка и характерное для нее морфологическое своеобразие. Все это, несомненно, делает необходимыми охрану и поддержание этой реликтовой эндемичной популяции.

Работа выполнена в рамках НИР «Комплексное исследование экосистемы оз. Плещеево», а также государственного задания ИБВВ РАН АААА-А18-118012690102-9.

Литература:

Атлас пресноводных рыб России. Под ред. Ю.С. Решетникова. В 2-х томах. Т. 1. М.: Наука, 2003. 379 с.

Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Часть 1. 466 с.

Борисов П.Г. Ряпушка озера Переславского // Труды научного института рыбного хозяйства. 1924. Т. 1. С. 53–127.

Боровикова Е.А. Филогеография ряпушек *Coregonusalbula*(L.) и *C. sardinella* Valenciennes Европейского Севера России. Дисс. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. М.: РУДН, 2009. 175 с.

Боровикова Е.А. Особенности генетической структуры и происхождения популяции ряпушки *Coregonusalbula* озера Плещеево // Известия РАН. Серия биологическая. 2017. № 3. С. 228–233.

Боровикова Е.А., Романов В.И., Никулина Ю.С. Морфологические и генетические особенности ряпушки (*Coregonidae*: *Coregonus* sp.) оз. Собачье (плато Путорана) // Экологическая генетика. 2016. XVI (3). С. 47–55.

Веселов Е.А., Ласточкин Д.А. Переяславское (Плещеево) озеро // Рыбное хозяйство ИПО и его перспективы. ОГИЗ: Москва–Иваново, 1933. С. 7–9.

Гримм О.А. Улов ряпушки в Переяславльском озере // Вестник рыбопромышленности. 1889. № 3. С. 121.

Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 304 с.

Коврайский Ф.Ф. Переяславльское озеро // Вестник Владимирского губернского земства. 1893. № 15. С. 865–869.

Красная книга Российской Федерации (животные). М.: Астрель, 2001. 862 с.

Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. 4-е издание. Под ред. проф. П.А. Дрягина и канд. биол. наук В.В. Покровского. М.: Пищевая промышленность, 1966. 376 с.

Рыбы в заповедниках России. В 2 томах / Под ред. Решетникова Ю.С. Т. 1. Пресноводные рыбы. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010. 628 с.

Свирелин А. (свящ.) Переславское озеро, Рыбная слобода и рыбная ловля на озере // Архив исторических и практических сведений относящихся до России издаваемый Н. Качаловым. Книга 5. СПб: Типография Юлия Андреевича Бокраша, 1863. 37 с.

Bochkarev N.A., Zuykova E.I., Abramov S.A., Katokhin A.V., Matveev A.A., Samusenok V.P., Baldina S.N., Gordon N.Y., Politov D.V. Morphological, ecological and mtDNA sequence variation in coregonid fish from the Baunt Lakes system (the Vitim River basin) // *Advanc. Limnol.* 2011. V. 64. P. 257–277.

STATISTICA (data analysis software system), version 10. StatSoft, Inc. 2011. www.statsoft.com.

**ПРИМЕНЕНИЕ ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЯ ПРИ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ
И МОНИТОРИНГЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ
(НА ПРИМЕРЕ РЫБ ОЗЕРА ПЛЕЩЕЕВО)**

Д.П. Карabanов, Е.А. Боровикова

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Аннотация: Впервые проведено ДНК-штрихкодирование (по локусу COI митохондриальной ДНК) для пресноводных рыб озера Плещеево. Установлена высокая эффективность идентификации и инвентаризации биологического разнообразия с помощью генетических методов.

Ключевые слова: рыбы, озеро Плещеево, ДНК-штрихкодирование, COI.

**THE USE OF DNA BARCODING FOR INVENTORY
AND THE BIODIVERSITY MONITORING
(FOR EXAMPLE FISH LAKE PLESHCHEYEVO)**

D.P. Karabanov, E.A. Borovikova

Institute of internal water biology I. D. Papanin RAS

Annotation: The present study evidenced that freshwater fish species of Lake Pleshcheyevo can be efficiently identified using DNA-barcoding. COI library can be used for subsequent applications in identification and inventory of biological diversity.

Keywords: fish, Pleshcheyevo Lake, DNA-barcoding, COI.

Введение

Водные экосистемы Центральной России оказываются крайне уязвимыми в условиях высокой антропогенной нагрузки, создания рекреационных участков и глобальных инфраструктурных проектов в этом регионе, проводившихся на протяжении всего XX в. Актуальность изучения таких экосистем закреплена в «Повестке дня на XXI век» Рио-де-Жанейрской декларации по окружающей среде и развитию, где отдельно выделены главы 15 («Сохранение биологического разнообразия») и 18 («Сохранение качества ресурсов пресной воды...»). Здесь же специально отмечено, что отдельное внимание при оценке биологического разнообразия водных экосистем должно уделяться вопросам инвентаризации и сохранения местных и реликтовых форм. Требованиям к таким уникальным водоёмам полностью соответствует озеро Плещеево, находящееся на юго-западе Ярославской области, Россия (56.4° с.ш., 38.4° в.д.). Прежде всего здесь обитает реликтовая популяция европейской ряпушки *Coregonus albula* (включена в Красную книгу Российской Федерации), для охраны которой изначально организован Национальный парк «Плещеево озеро».

Особенностью инвентаризации биологического разнообразия на территории ООПТ является её сопряжённость с мероприятиями по защите и сохранению биологических ресурсов. Снизить ущерб для нативной фауны в ходе подобных работ позволяет генетический анализ: для оценки полиморфизма ДНК требуется совершенно незначительный размер пробы (часть плавника у рыбы, волосяные луковицы у зверей, перо птицы). Процедура ДНК-штрихкодирования служит эффективным методом идентификации видов на основе массива специфических по видам молекулярных меток, полученных из 5'-области митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы с (COI мтДНК), являясь одним из базовых элементов определения таксономического состава (Ward et al., 2009). Применение метод особенно успешно, когда средняя генетическая дистанция среди индивидуумов в пределах вида не превышает среднего генетического расстояния между родственными видами.

Рыбы представляют собой весьма разнообразную группу позвоночных животных, которые проявляют глубокие фенотипические изменения во время развития. В этом контексте идентификация видов рыб является сложной задачей, и анализ ДНК открывает новые перспективы в экологии и систематике рыб.

Материал и методы исследования

Сбор ихтиологического материала проводился на акватории озера Плещеево в полевые сезоны 2014/16 гг. с апреля по октябрь. Основными орудиями лова служили разноразмерные ставные жаберные сети и мальковый невод согласно квот спецразрешения для научного лова рыбы на территории НП «Плещеево озеро». Количество генотипированных особей указано в таблице. Для анализа полиморфизма мтДНК использовали пробы тканей рыб, фиксированные 96 % этанолом (1:5). Клеточную ДНК выделяли с использованием наборов реагентов «ДНК-Экстран-2» (ЗАО «Синтол», Москва). Синтез COI фрагмента проводили с использованием праймеров, рекомендованных (Ward et al., 2005). Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 10.6 мкл воды, 2.5 мкл десятикратного буфера для ПЦР (60 mM Tris-HCl (pH 8.5); 25 mM KCl; 10 mM 2-меркаптоэтанола; 0.1% Triton X-100) (производитель НПО «СибЭнзим»); 1.2 мкл MgCl₂ (50 mM); по 0.1 мкл каждого праймера; 2.5 мкл смеси дезоксирибонуклеотидов (по 10 mM каждого); 0.5 единицы Tag-полимеразы (производитель НПО «СибЭнзим») (Ivanova et al., 2007, с модификацией). Программа амплификации включала следующие этапы: прогрев (94°C - 1 мин); 5 циклов предварительной ПЦР (94°C - 30 сек, 50°C - 40 сек и 72°C - 1 мин); 35 циклов основной ПЦР (94°C - 30 сек, 54°C - 40 сек и 72°C - 1 мин); заключительный этап элонгации цепи (72°C - 5 мин). Определение нуклеотидной последовательности проведено на автоматическом секвенаторе 3500 ABI с использованием набора ABI PRISM BigDye Terminator v.3.1 путём прочтения с прямого и обратного праймеров.

Обработка хроматограмм и сборка контигов проведена в пакете Unipro UGENE v.1.25 (Okonechnikov et al., 2012). Множественное выравнивание последовательностей проведено по алгоритму MAFFT v.7 в составе UGENE. Ваучерные последовательности из разных водоёмов Голарктики выбраны по запросу blastn в NCBI GenBank для каждой из последовательностей с уровнем сходства не ниже 98%, идентификаторы указаны на рисунке, аннотация доступна в публичном доступе. Наилучшая модель нуклеотидных замен была определена из набора 152 моделей на основании минимального значения байесова информационного критерия (Posada, Buckley, 2004) с использованием web-приложения ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) с учётом кодирующих триплетов. Восстановление филогении проведено методом максимального правдоподобия с использованием определённых ранее параметров модели нуклеотидных замен на web-кластере IQ-TREE Венского университета (Trifinopoulos et al., 2016). Процедура автоматического баркодинга на основе нескорректированных *p*-дистанций выполнена на web-кластере ABGD (Puillandre et al., 2012). Выделение оперативных таксономических единиц проведено с использованием байесова подхода в смешанных моделях Йеля и коалесценции (bGMYC) в соответствии с методикой (Reid, Carstens, 2012). Первичный набор данных для bGMYC был сгенерирован согласно выбранной модели нуклеотидных замен в BEAST2 (Bouckaert et al., 2014) с жёстким определением аутгруппы, 4 независимых запуска цепи, 20 млн. поколений, сэмплирование результата каждые 100 тыс. поколений, отжиг первых 50% деревьев. Все новые последовательности общедоступны и депонированы в NCBI GenBank с присвоением уникальных идентификаторов (таблица). Представленная работа выполнена в соответствии с принципами публикационной и биологической этики, отражённых в соответствующих нормативных документах ИБВВ РАН.

Результаты

В настоящее время для всех массовых видов рыб (12 из 16 обитающих в озере) проведено определение уникальных нуклеотидных последовательностей локуса COI мтДНК (таблица). Установлено, что виды, обитающие в оз. Плещеево, характеризуются

довольно большим генетическим разнообразием по этому достаточно консервативному локусу. Из 18 гаплотипов более трети являются уникальными, известными носителями которых служат только плещеевские рыбы. Однако, следует отметить, что данных по ДНК-баркодингу пресноводных рыб Восточной Европы в общедоступных международных базах данных крайне мало, поэтому нельзя утверждать об уникальности этих выборок. Наибольшее нуклеотидное разнообразие в изученной выборке характерно для ерша и плотвы, что в целом подтверждает многочисленные литературные данные о высоком полиморфизме этих видов.

После глобального выравнивания и удаления терминальных разрывов была получена матрица, состоящая из 48 последовательностей, длиной 493 пар нуклеотидов (п. н.), из них 303 константных сайтов, 188 парсимонично информативных сайтов.

При анализе распределения нуклеотидных замен по локусу COI всей выборки рыб установлено, что наилучшей моделью является TPM2 (двухпараметрическая модель с равновесными частотами), включая наблюдаемые частоты аминокислот в трансляции (+F) с параметрами неоднородности скорости замен, определяемыми пропорцией инвариантных сайтов (+I, 0.5848) и 4 категориями гамма-распределения (+G4) (значение альфа 1.281).

Таблица

Список гаплотипов определённых у массовых видов рыб оз. Плещеево и депонированных по результатам работы в NCBI GenBank

№	Вид рыбы	N, экз.	Гаплотипы NCBI GenBank	Примечание
1	Ряпушка, <i>Coregonus albula</i>	4	KT254047, KT254049, KT254051, KT254055	Гаплотип «Е»
		2	KT254048, KT254053	Гаплотип «ALBP2»
2	Густера, <i>Blicca bjoerkna</i>	4	KT989758	Ещё один гаплотип гибридного происхождения.
3	Ёрш, <i>Gymnocephalus cernuus</i>	2	KT989768	В настоящее время гаплотип выявлен только в оз. Плещеево.
		1	KT989769	–
4	Карась обыкновенный, <i>Carassius carassius</i>	1	KT989759	Широко распространённый гаплотип.
5	Лещ, <i>Abramis brama</i>	1	KT989760	Имелся один гибрид (Fn+1) густера х лещ с однозначным фенотипом леща.
		1	KT989761	
6	Линь, <i>Tinca tinca</i>	1	KT989762	Широко распространённый гаплотип.
7	Налим, <i>Lota lota</i>	1	KY228990	Один гаплотип, широко распространённый в Голарктике.
8	Окунь, <i>Perca fluviatilis</i>	3	KT989764	–
9	Плотва, <i>Rutilus cf. rutilus</i>	2	KT989765	Гаплотипы встречаются и у «моллюсковядной», и у «растительнойядной» форм плотвы.
		2	KT989766	
		1	KT989767	

10	Уклейка, <i>Alburnus alburnus</i>	3	КТ989763	В настоящее время гаплотип выявлен только в оз. Плещеево.
11	Щука, <i>Esox lucius</i>	1	КТ989772	–
		1	КТ989773	–
12	Язь, <i>Leuciscus idus</i>	1	КТ989770	В настоящее время гаплотипы выявлены только в оз. Плещеево.
		1	КТ989771	

Средняя внутривидовая изменчивость не была связана с количеством проанализированных особей (среднее внутривидовое расстояние $p=0.005$), средние расстояния для рыб между таксонами составляли от 0.041 (близкие виды карповых) до 0.227 (рыбы разных семейств), что свидетельствует о достаточно репрезентативной выборке для разных видов. Следует отметить, что распределения средних p -дистанций внутри групп и между групп видов частично перекрывались, что встречается у рыб разных систематических групп и создаёт некоторые таксономические трудности (Hubert et al., 2008). Также наблюдается устойчивый рост генетической изменчивости при увеличении таксономических уровней, что сопровождается заметным изменением генетической дивергенции на границах видов. Это особенно хорошо видно при сравнении представителей разных семейств: например, сравните дистанции в группе видов карповых рыб и дистанции между Карповыми и Тресковыми (рисунок).

Анализ результатов восстановления филогении методами максимального правдоподобия (ML) и байесова анализа (BI) показал идентичность топологии «деревьев генов» в обоих методах. На рисунке приведена ML-дендрограмма кластеризации последовательностей 12 видов, обитающих в оз. Плещеево и ваучерных последовательностей из других водоёмов Голарктики. При автоматическом анализе ABGD была установлена полная поддержка всех первично определённых таксонов. Байесовый анализ при высокой степени достоверности также полностью поддержал выявленное видовое богатство (рисунок).

Обсуждение

Данное исследование показало эффективность ДНК-штрихкодирования по локусу COI для видовой диагностики пресноводных рыб оз. Плещеево. Большинство рассматриваемых здесь видов соответствуют единому сплоченному массиву последовательностей, которые значимо отличаются от других видов. Однако применение стохастического подхода позволяет выявить и некоторые интересные для общей ихтиологии факты (рисунок). Так для ряда видов выявлены разные сосуществующие в озере филогенетические линии, маркируемые уникальными гаплотипами COI. Прежде всего это справедливо для переславской ряпушки, две филогенетические линии которой (молодая и древняя) обитают в озере совместно, по крайней мере, со времени последнего оледенения (Боровикова, 2017). Сравнение внутривидовой p -дистанции переславской ряпушки и ряпушки волжских популяций (0,011) свидетельствует о значительной изоляции первой, возникшей еще в плейстоцене, что хорошо согласуется с геохронологическими данными.

Аналогичная ситуация складывается при рассмотрении разграничения между европейскими и североамериканскими гаплотипами ($p=0.014$) у линя. Появление этих групп гаплотипов хорошо объясняется геологической историей миоцена. Отделение североамериканской клады от предковых евроазиатских форм могло произойти в миоцене после беренгийского разделения континентов. Еще один интересный факт – наличие в озере уникальной филогенетической линии у ерша, которая значительно дифференцирована от популяций Западной Европы. В данном случае требуются дополнительные исследования, при этом нельзя исключать как возможность долготной клинальности, так и паттернов поддержания независимых филогенетических линий этого вида на территории Европы. Для популяции плотвы также характерно сосуществование двух филогенетических

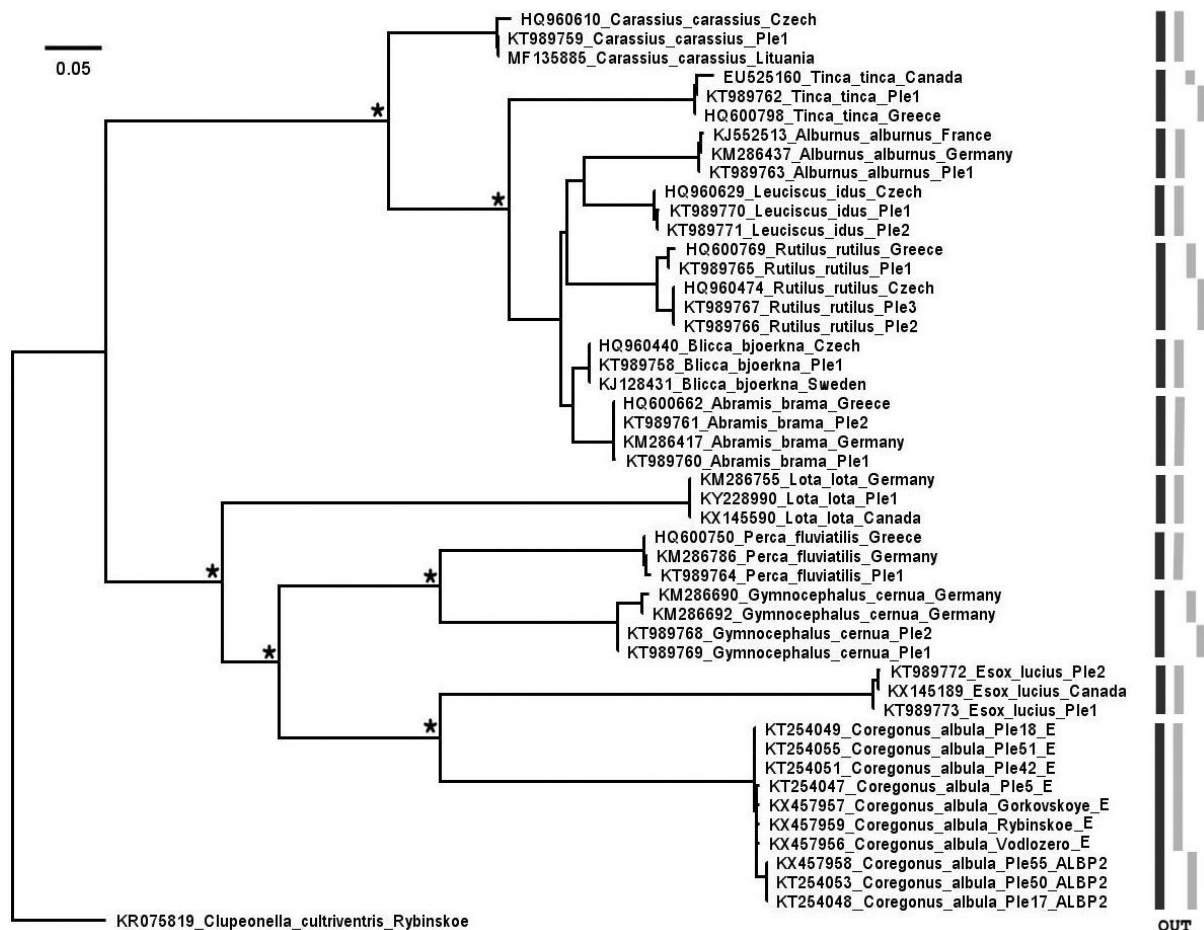


Рис. Таксономические отношения рыб оз. Пleshчево и ваучерных гаплотипов из Голарктики

В качестве априорной аутгруппы взята последовательность сельдевой рыбы *Clupeonella cultriventris*. Поддержка ветвей указана знаком (*) для значений более 75% в случае согласования деревьев ML (1000 реплик бутстрепа) и BI (апостериорная вероятность) одновременно. На масштабе указано значение нескорректированной р-дистанции. На линейке справа показана поддержка выделения таксономических единиц на основании bGMYC при $0.95 < P < 1$ (чёрные линии) и $0.5 < P < 0.95$ (серые линии).

линий в озере: обнаружены гаплотипы, характерные для Южной Европы и для Евразии в целом (рисунок). Не исключено, что эти филогенетические линии аналогичны ранее выделяемым подвидам (или видам плотвы, Levin et al., 2017). Вместе с тем формирование особых «растительнойядного» и «моллюсковядного» фенотипов плотвы в озере характерно для представителей обеих клад. На изученной выборке не удалось найти генетический маркер «моллюсковядности» путём ДНК-штрихкодирования по локусу COI, а формирование «моллюсковядного» фенотипа у крупных рыб происходит в пределах одного онтогенетического канала, связано с переходом на другой тип питания (Кодухова, Карабанов, 2017) и, явно, имеет эпигенетический характер.

Ещё одним примером успешного применения метода ДНК-штрихкодирования является уточнение морфологической идентификации гибридов поколений F_{n+1} . Если определение гибридов первого поколения, как правило, не вызывает сложностей, то особи последующих поколений имеют «восстановленный» морфотип одного из родительских видов, зависящий от типа скрещивания (Кодухова, Карабанов, 2013). Одна из исследованных нами особей со всеми диагностическими признаками леща обладала гаплотипом мтДНК идентичным густере. Это довольно редкий случай, с учётом того, что доля гибридов среди карповых видов рыб в оз. Пleshчево крайне низка и не превышает 0.01% (за изученный период).

Можно отметить, что успех подхода ДНК-штрихкодирования видов прежде всего зависит от распределения генетических расстояний между филогенетическими линиями, группами популяций и видами. В вопросе проведения межвидовых разграничений до сих пор нет окончательного ответа. При изучении генетического разнообразия у североамериканских рыб (Hubert et al., 2008) было показано, что генетические линии у некоторых видов могут диверсифицироваться быстрее в конспецифических выборках, чем между видами, что создаёт определённые трудности в применении дистанционных методов определения межвидовых разрывов. Другим, в настоящее время одним из самых популярных, методом определения хиатуса видов служит набор стохастических методов, основанных на математической коалесценции. Реализацию одного из самых мощных из них (bGMYC) мы провели на представленном наборе данных. Несомненно, что одной из ключевых проблем любых методов, построенных на байесовом подходе для определения топологии восстановленного «дерева генов» (как предполагается – аналогичного «дереву видов»), является поиск релевантной модели нуклеотидных замен, реализуемой в имеющемся наборе данных. В отличие от методов максимального правдоподобия (которых удовлетворяет наиболее вероятная из известных моделей замен), для байесовой филогении критически важным элементом является определение истинной наилучшей модели (что не всегда возможно не только определить, но и выполнить в имеющемся программном обеспечении). Второе условие при реализации вычислений – определение параметров процессов Йеля и коалесценции на представленном наборе данных. Даже наш небольшой материал показывает, что при подобных реконструкциях важное значение приобретает неопределённость миграции и сортировки филогенетических линий, что требует многоточечных данных, исчерпывающей географической выборки и адекватных моделей для разграничения значимых таксономических единиц среди всего набора последовательностей. Несомненно, что все методы, основанные на коалесценции, чувствительны к размерам выборки и географической представленности. Однако увеличение географической шкалы выборки не обязательно решает эту проблему. То, что регулирует формирование кластеров (определение видов) – это не столько современная популяционная структура, а скорее совокупность структур, сформированных в прошлом. В современных условиях виды часто состоят из метапопуляций, связанных сетчатым родством, так что филогенетические линии могут тратить большую часть своей истории на демы, которые впоследствии вымерли, и поэтому никак не могут быть оценены в настоящее время. Всё это создаёт предпосылки к чрезмерному «дробительству» видовой структуры при снижении порога поддержки (рисунок). Примером этому является, например, уникальная филогенетическая линия «плещеевских» гаплотипов ALBP2 у ряпушки, которую, при должном энтузиазме, можно определить как реликтовый вид (и привлечение bGMYC это поддержит). Аналогичная ситуация имеется и при анализе генетической структуры у плотвы во всём её ареале (Levin et al., 2017). Хотя скорости фенотипической эволюции и видообразования должны в макроэволюционном масштабе более или менее совпадать, не исключены ситуации, когда локальные адаптации могут изменять фенотипы или генотипы со скоростью, значительно отличающейся от средних значений. В таких «пограничных» случаях кроме генетических исследований возникает необходимость дополнительных данных по морфологии, поведению, распределению и экологии животных при проведении таксономических ревизий.

С систематической точки зрения штрих-коды COI создают возможность быстрого скрининга реального количества видов, характеризующихся частными наборами диагностических признаков. Таким образом широкое внедрение метода ДНК-штрихкодирования будет полезным для практики инвентаризации биоразнообразия и экспертизы генетических данных для пресноводных рыб и других животных ООПТ.

Сбор материала проведён при поддержке Администрации НП «Плещеево озеро» в рамках проекта «Комплексное исследование экосистемы оз. Плещеево». Работа выполнена в рамках государственного задания ИБВВ РАН, тема АААА-А18-118012690102-9.

Литература:

Боровикова Е.А. Особенности генетической структуры и происхождения популяции ряпушки *Coregonus albula* озера Плещеево // Известия РАН. Серия биологическая. 2017. № 3. С. 228–233.

Кодухова Ю.В., Карабанов Д.П. Характеристика природных гибридов леща *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) и плотвы *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) в Рыбинском водохранилище // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. № 3(7). С. 2293–2300.

Кодухова Ю.В., Карабанов Д.П. Морфологические изменения в популяции плотвы (*Rutilus rutilus*, Cyprinidae) озера Плещеево в результате вселения моллюска *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) // Зоологический журнал. 2017. Т.96. №9. С.1069-1077.

Bouckaert R., Heled J., Kuhnert D., et al. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis // PLoS Computational Biology. 2014. Vol. 10(4). P. e1003537.

Hubert N., Hanner R., Holm E., et al. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes // PLoS One. 2008. Vol. 3(6). P. e2490.

Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., et al. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates // Nature Methods. 2017. Vol. 14(6). P. 587–589.

Levin B.A., Simonov E.P., Ermakov O.A., et al. Phylogeny and phylogeography of the roaches, genus *Rutilus* (Cyprinidae), at the Eastern part of its range as inferred from mtDNA analysis // Hydrobiologia. 2017. V. 788. No. 1. P. 33–46.

Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., et al. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. 2012 Vol. 28(8). P. 1166–1167.

Posada D., Buckley T.R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests // Systematic Biology. 2004 Vol. 53(5). P. 793–808.

Puillandre N., Lambert A., Brouillet S., Achaz G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation // Molecular Ecology. 2012. Vol. 21(8). P. 1864–1877.

Reid N.M., Carstens B.C. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model // BMC Evolutionary Biology. 2012. Vol. 12(1). P. 196.

Trifinopoulos J., Nguyen L.T., von Haeseler A., Minh B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis // Nucleic Acids Research. 2016. Vol. 44(W1). P. 232–235.

Ward R.D., Hanner R., Hebert P.D.N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL // Journal of Fish Biology. 2009. Vol. 74 (2). P. 329–356.

Ward R.D., Zemplak T.S., Innes B.H., et al. DNA barcoding Australia's fish species // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. 2005. Vol. 360(1462). P. 1847–1857.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОЛОВУШЕК ПРИ УЧЕТЕ КОПЫТНЫХ
НА СОЛОНЦАХ В «ОЛЕКМИНСКОМ» ЗАПОВЕДНИКЕ**

Д.И. Тирский

Государственный природный заповедник «Олекминский», Олекминск

Аннотация. Всего на территории заповедника «Олекминский» отмечено пять видов копытных животных. Из них четыре вида зарегистрированы с помощью фотоловушек, которые являются эффективным способом наблюдения за животными в естественной среде обитания.

Ключевые слова: заповедник, копытные, фотоловушка, мониторинг, учет численности.

**THE USE OF CAMERA TRAPS IN ACCOUNTING UNGULATES
THE SALT LICKS IN «OLEKMINSK» RESERVE**

D.I. Tyrsky

State nature reserve «Olekminsky», Olekminsk

Annotation. In total, on the territory of the Olekminsky reserve, five species of hoofed animals are noted. Of these, four species are recorded using photo traps, which are an effective way to observe animals in their natural habitat.

Keywords: reserve, ungulates, photo-trap, monitoring, counting.

Государственный природный заповедник «Олекминский» расположен в юго-восточной части Якутии и удален от г. Олекминска на 180 – 200 км. Территория представляет собой сплошной лесной массив прямоугольной формы, протяженностью с севера на юг 130 км и с востока на запад 70 км. Общая площадь заповедника составляет 851413 га и охранной зоны 77600 га. Климат континентальный, это выражается в значительном колебании температур воздуха и почв в течение всего года. Абсолютная годовая амплитуда температур равна 98 градусам. За год выпадает 400-500 мм осадков. Продолжительность зимы 6-7 месяцев. Устойчивый снежный покров устанавливается во второй декаде октября и сохраняется около 200 дней. Продолжительность вегетационного периода 101 день.

В заповеднике «Олекминский» параллельно с ежегодным зимним маршрутным учётом для мониторинга за животными, применяются автоматические фото-видеорегастраторы (фотоловушки) которые используются в заповеднике с 2012 г., и которые являются одним из наиболее современных и эффективных способов наблюдения за животными в естественной среде обитания.

На данный момент на территории заповедника по местам основных проходов копытных, по берегам рек и на солонцах размещены 20 фотоловушек. Фотоловушки действуют круглогодично, и благодаря этому ведется постоянный мониторинг за копытными различных видов, обитающих на охраняемой территории. Фотоловушки позволяют выявлять присутствие животных, различные аспекты их поведения и экологии, межвидовые взаимодействия на протяжении всего года, в том числе и в снежный (зимний) период. Так же позволяют получить материал по стадности, половому и возрастному составу животных, который другими способами получить затруднительно, а часто и невозможно.

Методы учета численности копытных животных различны. В заповеднике ежегодно проводится зимний маршрутный учет (ЗМУ), во время осеннего гона (рёва), ведется подсчет численности благородного оленя (изюбря), учитываются взрослые самцы этого вида (Гажала, 2001). Кроме этого проводятся учеты на зверовых природных

солонцах, где учитываются все виды копытных посещающих солонцы, и где уже шесть лет выставлены фотоловушки, которые ведут круглосуточные, регулярные наблюдения. Благодаря этому были получены данные какие виды копытных посещают солонцы, и для какого вида какие типы солонцов предпочтительней.

Всего в заповеднике в охранной зоне и на прилегающих территориях за весь период наблюдений отмечено пять видов копытных – лось *Alces alces*, благородный олень (изюбрь) (*Cervus elaphus*), северный олень (*Rangifer tarandus*), кабарга (*Moschus moschiferus*), косуля (*Capreolus pygargus*) (Егоров, 1965; Ревин и др., 2010). Из пяти видов, четыре вида копытных кроме косули, были зарегистрированы фотоловушками.

Использование фотоловушек позволило провести круглосуточные наблюдения за животными на солонцах. Установили численность зверей выходящих на солонцы, а также режим посещения солонцов различными видами копытных животных. На основании полученных фото- и видеоматериалов было установлено, что копытные с разной периодичностью посещали солонцы в течении всего года, в том числе и в зимний период. Распознавание особей одного вида для копытных крайне затруднено, однако пол особи, размеры животного, форма рогов, различные потертости на шкуре, позволяют индивидуально различать животных одного вида (Тирский, 2015).

Активное посещение солонцов копытными, начинается сразу после таянья снега. Появление животных на солонцах связано с потребностью в минеральной подкормке. Необходимость в минеральной подкормке возникает в периоды физиологической перестройки организма, связанной со сменой кормового рациона, перед отелом, лактацией и гонам, а также во время линьки и роста пантов. К исходу лета и в начале осени, посещаемость солонцов у копытных снижается. В этот период у копытных проходит гон, и они чаще регистрируются на берегах рек. В течении всего зимнего периода, как удалось установить с помощью фотоловушек, копытные так же не редко появляются на солонцах. Разгребая снег изюбри и северные олени, поедают снег где так же присутствуют минеральные вещества (Ревин, 1989; Тирский, 2016).

Лось преимущественно посещает крупные солонцы гидроморфного характера. На солонец лоси заходят шумно. Во время солонцевания ведут себя не осторожно. Продолжительность пребывания на солонце в среднем 15 – 25 минут. Пик посещения солонцов приходится на наиболее темное время суток с 23-24 часов до 4-5 часов утра. Одни и те же особи приходят на солонец почти ежедневно. В разгар активного посещения солонцов обычно во второй декаде июня, нередко регистрируются скопления по 8 – 11 особей одновременно (рис.1).

Изюбрь в отличие от лосей отдает предпочтение литоморфным сухим солонцам которые находятся на склонах по берегам рек и солонцам смешанного типа, реже посещает солонцы гидроморфного характера. Продолжительность солонцевания в среднем продолжается от 12 – 40 минут. На солонец заходят не заметно, тихо во время солонцевания ведут себя очень осторожно, время от времени долго прислушиваются и оглядываются. Солонец посещают часто, в начале лета практически ежедневно.

Северный олень в отличии от других диких копытных солонцы посещает избирательно. Из пяти солонцов на которых установлены фотоловушки, северные олени посещали регулярно только один из них в течении всего года не исключая и зимний период (рис. 2). В основном это пары оленей, или смешанные разновозрастные группы из четырех – пяти особей. Продолжительность пребывания от 20 – 35 минут. На солонец заходят по разному, иногда быстро без предварительной остановки и прислушивания, то не заметно тихо, но иногда шумно. Солонец посещают периодически через 2 - 4 дня.

Кабарга за все время наблюдения на солонцах фотоловушками не регистрировалась, хотя следы кабарги на солонцах присутствуют. При установке фотоловушек на скальных обрывах и на лесных тропах в местах обитания кабарги, она в кадр попадала не неоднократно, но в основном в ночное время.



Рис. 1. Лось – *Alces alces*. Массовое посещение солонца. Фото Д.И. Тирского



Рис. 2. Северный олень – *Rangifer tarandus*. Посещение солонца зимой. Фото Д.И. Тирского

В общей сложности с 2012 по 2017 г., фотоловушки устанавливались на пяти солонцах, которые охватили 1/50 часть площади заповедника. Всего было получено и проанализировано 21680 снимком с копытными животными. На основании полученных фото – и видеоматериалов было установлено что солонцы в течении одного года в среднем посещало 40 – 45 лосей, 30 – 36 изюбрей, 10 – 12 северных оленей. Все животные были индивидуально распознаны как разные особи.

Полученные результаты использования фотоловушек показали эффективность дистанционных методов наблюдения за животными. Применение большого количества

фотоловушек и расширение территории их установки позволит получить дополнительные сведения о жизни животных в заповеднике.

Литература:

Гажала А.А. Сезонные миграции и численность диких копытных животных Олекминского заповедника // Флора и фауна особо охраняемых природных территорий. – Якутск, 2001. – С. 39–45.

Егоров О.В. Дикие копытные Якутии. – М.: Наука, 1965. – 258 с.

Ревин Ю.В. Млекопитающие Южной Якутии. – Новосибирск: Наука, Сиб.отд-ние, 1989. – 320 с.

Ревин Ю.В., Тирский Д.И. Сводный аннотированный список позвоночных животных заповедника Олекминский // Флора и фауна заповедников. – Олекминск: Изд-во. Редакция газеты Олекма, 2010. – 102 с.

Тирский Д.И. История зоологических исследований на территории Олекминского заповедника// Труды Государственного природного заповедника «Олекминский», вып. 1, Якутск: Издательский дом СВФУ, 2015.-С. 180-204.

Тирский Д.И. Структура популяций копытных Олекминского заповедника. Научный электронный журнал Принципы экологии. Издатель ФГБОУ «Петрозаводский государственный университет» Российская Федерация, г. Петрозаводск, пр. Ленина,33. Т.5.№3 (19). 2016. С. 151.

