

**ФИЛОГЕНИЯ РОДА *Eleginus* (Gadidae) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА
ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ
И ФРАГМЕНТА *COI* мтДНК**

© 2023 г. А. Н. Строганов^{1, *}, Е. В. Пономарева¹, М. В. Пономарева¹, Е. А. Шубина¹,
К. А. Жукова¹, А. А. Смирнов^{2, 3}, Т. А. Ракицкая⁴, М. В. Ракитина⁵

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО),
Москва, 107140 Россия

³Северо-Восточный государственный университет, Магадан, 685000 Россия

⁴Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

⁵Магаданский филиал Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии
(МагаданНИРО), Магадан, 685000 Россия

*e-mail: andrei_str@mail.ru

Поступила в редакцию 12.03.2023 г.

После доработки 05.06.2023 г.

Принята к публикации 07.06.2023 г.

Генетическими методами на основе исследования изменчивости митохондриальной (*COI*) и ядерной (микросателлиты) ДНК проводили исследования процессов формообразования в роде *Eleginus*. Выявленный уровень генетической дифференциации характеризует тихоокеанскую навагу (*Eleginus gracilis*) и северную навагу (*Eleginus nawaga*) как самостоятельные виды, дивергировавшие в относительно недавний период на границе плиоцена и плейстоцена. В группировке северной наваги отмечена внутривидовая дифференциация популяции Белого моря по отношению к наваге, обитающей в акваториях Карского и Баренцева морей. При этом предполагается, что карско-баренцевоморский регион мог выступать в качестве “ледникового рефугиума”, обеспечившего послеледниковое расселение наваги, в том числе в “оводнившуюся” беломорскую депрессию. Результаты проведенного филогенетического анализа на основе гаплотипов *COI* предполагают возможную реорганизацию в отряде Gadiformes в плане рассмотрения перспектив включения рода *Eleginus* в отдельное подсемейство.

Ключевые слова: атлантическая навага, тихоокеанская навага, микросателлитные локусы, *COI*, таксономический статус.

DOI: 10.31857/S0016675823100120, **EDN:** ZWSXQJ

Представители рода *Eleginus* населяют прибрежные акватории Северной Атлантики, Северной Пацифики, Северного Ледовитого океана. Род представлен двумя аллопатрическими видами. Тихоокеанская навага *Eleginus gracilis* (Tilesius, 1810) в северной части Тихого океана распространена от Берингова пролива на севере и на юг вдоль обоих побережий: вдоль азиатского побережья до Японского моря (ограниченно присутствует также в Желтом море), а по североамериканскому побережью – до о. Ситкэ. В Северном Ледовитом океане тихоокеанская навага распространена в морях Чукотском и Бофорта. Северная навага *Eleginus nawaga* (Walbaum, 1792) обитает на восток от Кольского залива Баренцева моря и до Хатангского залива моря Лаптевых, а также распространена в Белом море [1–3]. В отличие от тихоокеанской

наваги А. Андрияшев и Н. Чернова относят северную навагу к арктическим видам, основываясь, видимо, на формировании промысловых скоплений в осенне-зимний период, ее нересте и длительном эмбрионально-личиночном развитии при отрицательных температурах [4]. При этом, в литературе присутствует информация о предпочтении северной навагой в период откорма вод с положительными значениями температур. Так, в летний нагульный период она питается и растет при температурах до 18–20°C [5, 6]. Интересно отметить, что в аквакультуре рыб, которые питаются и растут при таких температурах относят к тепловодным [7]. Учитывая все же температурный оптимум северной наваги в пределах от 0 до 12°C [8], видимо, следует относить ее, как и тихоокеанскую навагу, к бореальным видам.

Оба представителя рода *Eleginus* являются ценными объектами промысла, хотя объемы вылова относительно невелики. Так тихоокеанской наваги в начале 2000-х гг. добывали в пределах 36 тыс. т, северной наваги ловили значительно меньше — всего 0.67 тыс. т.

Исследовательский интерес к наваге имеет многолетнюю историю — изучались ее биологические, морфологические характеристики на различных этапах онтогенеза [1, 8–14]. При этом объем генетических данных для представителей рода *Eleginus* достаточно низкий. Известна проведенная на основе исследования изменчивости микросателлитных локусов ядерной ДНК публикация [15], где с использованием только одной выборки северной наваги (Баренцево море) и двух выборок тихоокеанской наваги (Северная Пацифика, залив Аляска; Северный Ледовитый океан, Чукотское море) оценивали уровень дифференциации таксонов внутри рода *Eleginus*. Что касается использования микросателлитных локусов в межвидовых исследованиях, то существует мнение, что, несмотря на имеющиеся ограничения (ноль-аллели, гомоплазия), такие преимущественные характеристики микросателлитов, как легкость типизации, кодоминантность, достаточно высокая частота мутаций, селективная нейтральность и др. действительно дают возможность их использования даже и при сравнениях между таксонами [16, 17].

В связи с небольшим количеством генетических исследований рода *Eleginus* важным является как изучение популяционной структуры, так и рассмотрение систематического положения с использованием филогенетических методов. Для рыб при видовой идентификации дает надежные результаты и широко применяется участок гена *COI* мтДНК. Для большинства видов рыб накоплена и доступна для сравнительных исследований информация в базах нуклеотидных последовательностей GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) и BOLD (http://boldsystems.org/index.php/TaxBrowser_Home), в которых содержится и небольшое количество записей для рода *Eleginus*, в основном для тихоокеанской наваги.

Цель настоящей работы — изучение особенностей полиморфизма ядерной и митохондриальной ДНК у представителей рода *Eleginus*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для выполнения данной работы послужили выборки наваги из акваторий Охотского, Карского, Баренцева, Белого морей, собранные в комплексных экспедициях МГУ, МагаданНИРО, ЦМИ в период с 2005 по 2019 гг. В рамках проведения сравнительных исследований использованы выборки атлантической трески

(*Gadus morhua*) и тихоокеанской трески (*Gadus macrocephalus*), применявшиеся также в наших ранее опубликованных работах [18, 19]. Информация об использованных выборках представлена в табл. 1.

В качестве маркеров использовали секвенированные для атлантической трески (*G. morhua*) и амплифицирующиеся у представителей рода *Eleginus*, микросателлитные локусы *PGmo32*, *Gmo8*, *Gmo-G18*, *Gmo34*, *Gmo35*, *Gmo3* [20], применяемые в исследованиях макро- и микроэволюционных процессов у рыб [21, 22]. Использование в нашем случае секвенированных для атлантической трески микросателлитных локусов вполне оправдано, с одной стороны, наличием нашего опыта успешного применения данных маркеров к представителям семейства Gadidae [23, 24], а с другой стороны, публикациями известных авторов, ранее подобным образом применивших микросателлитные локусы в рамках семейств Ophidiidae, Gadidae, Cichlidae [25–28].

Для ПЦР-амплификации использовали наборы Gene Pak PCR Core (ООО “ИзоГен”, Россия). Амплификацию микросателлитных локусов проводили в термоциклере “MJ Research PTC100”. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 6%-ном неденатурирующем полиакриламидном геле, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете. Размеры аллелей по каждому локусу определяли с использованием программы “1D Image Analysis Software Version 3.5” (“Codak”). Исследование проводили в соответствии с протоколом [23, 29].

Частоты аллелей, равновесие Харди–Вайнберга, гетерозиготность ожидаемая (H_E) и наблюдаемая (H_O) [30], коэффициент попарного сходства (дифференциации) популяций θ , уровень гетерогенности и другие показатели определяли с использованием программного пакета GDA (достоверными принимаются значения θ со значениями 95%-ного доверительного интервала выше 0) [31]. Генетическую идентичность (I) рассчитывали по методу Нея [32] в GDA. Достоверность отличий H_E и H_O оценивали с помощью F -критерия Фишера [33]. Оценки аллельного разнообразия (A_r), скорректированные по минимальному размеру выборки, были получены в программе FSTAT 2.9.3 (<http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>) [34]. Для расчета попарных значений F_{ST} и P на основе пермутационного теста с параметрами по умолчанию (999 итераций) использовали программный пакет GenAlEx 6.502 [35]. В этом же пакете проводили анализ популяционной структуры методом главных координат (PCoA) на основе ковариационной матрицы генетических дистанций и визуализацию матрицы попарных F_{ST} -значений.

Исследование последовательностей фрагмента гена *COI* проводили в соответствии с протоко-

Таблица 1. Характеристика исследованного материала и генетическая изменчивость в выборках Gadidae по микросателлитным локусам

Район сбора	Координаты		N	Обозначение	Показатели	Локусы					
	широта	долгота				Gmo32	Gmo8	Gmo18	Gmo34	Gmo35	Gmo3
<i>Eleginus nawaga</i>											
Белое море, Кандалакшский залив, ББС, июль 2011 г.	66°55'35" с.ш.	33°10'32" в.д.	48	EnWS1	A	2	2	2	6	2	2
					Ho	0.125	0.021	0.083	0.543	0.354	0.104
					He	0.117	0.021	0.080	0.543	0.364	0.099
					P	0.644	0.942	0.763	0.999	0.846	0.703
Белое море, Кандалакшский залив, ББС, июль 2015 г.	66°55'35" с.ш.	33°10'32" в.д.	43	EnWS2	A	2	1	3	7	2	3
					Ho	0.047	—	0.535	0.535	0.231	0.070
					He	0.045	—	0.435	0.548	0.242	0.068
					P	0.876	—	0.267	0.000***	0.767	0.997
Карское море, о. Белый, 27.07.2019	73°12'39" с.ш.	69°58'45" в.д.	20	EnKS	A	1	1	3	6	2	2
					Ho	—	—	0.100	0.400	0.400	0.100
					He	—	—	0.096	0.514	0.420	0.095
					P	—	—	0.997	0.003**	0.831	0.814
Баренцево море, о. Долгий, 12.07.2019	69°17'56" с.ш.	58°49'37" в.д.	22	EnBS	A	2	1	2	7	2	3
					Ho	0.045	—	0.045	0.682	0.364	0.182
					He	0.044	—	0.044	0.612	0.298	0.168
					P	0.913	—	0.913	0.836	0.297	0.974
<i>Eleginus gracilis</i>											
Охотское море, Тауйская губа, зал. Амахтонский, 03.06.2019	59°57'6" с.ш.	149°58'13" в.д.	27	EgrOS2	A	1	3	2	5	2	2
					Ho	—	0.053	0.026	0.842	0.053	0.158
					He	—	0.052	0.026	0.722	0.051	0.145
					P	—	0.999	0.934	0.880	0.868	0.597

Таблица 1. Окончание

Район сбора	Координаты		N	Обозначение	Показатели	Локусы						
	широта	долгота				Gmo32	Gmo8	Gmo18	Gmo34	Gmo35	Gmo3	
Охотское море, Тауйская губа, залив Одян, 12.03.2012	59°12'58" с.ш.	151°51'50" в.д.	38	EgrOS3	A	2	3	2	10	1	2	
					Ho	0.040	0.080	0.020	0.714	—	0.100	
					He	0.039	0.077	0.020	0.730	—	0.130	
					P	0.885	0.993	0.943	0.000***	—	0.101	
<i>Gadus macrocephalus</i>												
Охотское море, Западная Камчатка траверз устья р. Бол. Воровская, 08.11.2005	54°13'42" с.ш.	154°42'42" в.д.	25	GmacOS1	A	4	30	2	17	3	2	
					Ho	0.375	0.958	0.042	0.960	0.080	0.040	
					He	0.318	0.958	0.041	0.906	0.150	0.039	
					P	0.973	0.364	0.917	0.914	0.015*	0.919	
Охотское море, Зап. Камчатка траверз устья р. Бол. Воровская, 08.11.2005	54°13'42" с.ш.	154°42'42" в.д.	25	GmacOS2	A	4	30	2	16	2	1	
					Ho	0.476	0.952	0.095	0.957	0.043	—	
					He	0.408	0.958	0.091	0.896	0.043	—	
					P	0.514	0.303	0.819	0.885	0.915	—	
<i>Gadus morhua</i>												
Баренцево море, Мурманское мелководье, 19.08.2005	69°40'01" с.ш.	43°40'05" в.д.	30	GmoBS1	A	3	23	2	4	8	4	
					Ho	0.267	0.900	0.533	0.100	0.793	0.200	
					He	0.238	0.920	0.491	0.127	0.802	0.242	
					P	0.871	0.004**	0.638	0.000***	0.990	0.345	
Баренцево море, Канинская банка, 15.08.2005	70°01'56" с.ш.	38°09'37" в.д.	28	GmoBS2	A	4	21	3	4	8	4	
					Ho	0.407	0.926	0.607	0.286	0.778	0.179	
					He	0.448	0.925	0.513	0.314	0.785	0.168	
					P	0.057	0.039*	0.739	0.356	0.947	1.000	

Примечание. N – объем выборки, A – число аллелей, He – ожидаемая гетерозиготность, Ho – наблюдаемая гетерозиготность, P – вероятность соответствия равновесию Харди – Вайнберга. * Статистически значимое отклонение от равновесия Харди – Вайнберга, без учета поправки на множественность тестов.

лом, описанным в работе Е. Пономаревой с соавт. [36]. Первичную обработку и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе Geneious® 6.0.5 (Biomatters Ltd.), определение количества гаплотипов (H), разнообразия гаплотипов (Hd), разнообразия нуклеотидов (Pi) проводили в программах FaBox [37], DnaSP v.5 [38]. Двухпараметрическая модель замен Кимуры K2P [39] была применена для расчета матрицы средних попарных дистанций между видами, данная модель замен используется в проекте BOLD [40]. Для построения дистанционной матрицы использовали программу Mega X [41]. Байесовский информационный критерий (BIC) был применен для определения наилучшей модели замен [42]. Модель НКУ + G была применена для построения деревьев: методом присоединения соседей (NJ) с бутстреп поддержкой (10000 итераций) в программе Mega X [41], в этой же программе было построено дерево ML (максимальной правдоподобия) с теми же параметрами бутстрепа, байесовской дерево BI (цепочки длиной 400000 генераций с отбрасыванием первых 10%) в программе MrBayes [43] в плагине, встроенном в Geneious® 6.0.5. MSN (Minimum Spanning Network) алгоритм был использован для построения сети гаплотипов в программе PopArt [44]. Для построения деревьев и матрицы дистанций были использованы последовательности, депонированные в базе нуклеотидных последовательностей GenBank® (NCBI), содержащие исследованные участки мтДНК: NC_002081 (*Gadus morhua*), NC_004379 (*Lota lota*), NC_004449 (*Gadus chalcogrammus*), NC_007396 (*Melanogrammus aeglefinus*), NC_010121 (*Boreogadus saida*), NC_010122 (*Arctogadus glacialis*), NC_015094 (*Pollachius virens*), NC_036931 (*Gadus macrocephalus*), MT410897 (*Merluccius merluccius*), LC487915 (*Coryphaenoides cinereus*). Обозначение выборок для филогенетического анализа: TO (EgrOS1) выборка из Охотского моря, WS (EnWS1) выборка из Белого моря, KarS (EnKS) выборка из Карского моря, BarS (EnBS) выборка из Баренцева моря.

Полученные в работе последовательности фрагмента гена *COI* депонированы в GenBank с номерами последовательностей для гаплотипов Har_1–Har_10: OQ826811–OQ826820.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из проведенных локус-специфичных тестов на соответствие наблюдаемых генотипических распределений теоретическому распределению Харди–Вайнберга были получены достоверные отличия между H_E и H_O (табл. 1), после коррекции Бонферрони для множественных тестов отклонения от равновесия Харди–Вайнберга наблюдались в трех тестах по локусу *Gmo34* в выборках наваги и атлантической трески (табл. 1), наиболее вероят-

ной причиной таких отклонений может быть мутация в праймерной области.

Из исследованных у наваги (северная навага и тихоокеанская навага) шести микросателлитных локусов все были полиморфными. Пять из них были низкополиморфными (*PGmo32*, *Gmo8*, *GmoG18*, *Gmo35*, *Gmo3*) с 2–3 аллелями. Только локус *Gmo34* демонстрировал более высокий полиморфизм: 7 и 10 аллелей у *E. nawaga* и *E. gracilis* соответственно (табл. 2). Виды рода *Eleginus* демонстрировали сходные не только уровень полиморфизма, но также и диапазон длин аллелей микросателлитных локусов (за исключением некоторых отличий в локусе *Gmo8*, где отмечается расширенный диапазон длин аллелей у *E. gracilis*). При этом, атлантическая и тихоокеанская треска демонстрировали значительные отличия по данным показателям (табл. 2).

Оценка генетических идентичности и дифференциации была выполнена по исследованным микросателлитным локусам на основе значений I , θ , F_{ST} . Результаты показывают низкие значения генетической идентичности представителей рода *Eleginus* по отношению к атлантической треске и тихоокеанской треске. Соответственно показан высокий уровень генетической дифференциации между навагой и треской (табл. 3). По расположению точек, соответствующих особям из выборок разных видов семейства Gadiade на диаграмме $PCoA$ (рис. 1,а) прослеживается обособленность выборок рода *Gadus*. Оценка θ продемонстрировала высокое достоверное значение генетической дифференциации между выборками северной наваги и тихоокеанской наваги, что вполне соответствовало их ранее установленному видовому статусу [1] (табл. 4), также самостоятельные кластеры образуют *E. nawaga* и *E. gracilis* на диаграмме $PCoA$ (рис. 1,б). Наличие выборок северной наваги из трех морей: Белого, Баренцева и Карского, давало повод для проведения сравнений между отдельными локальностями. Результаты показывают низкие значения генетической дифференциации F_{ST} между выборками из Баренцева и Карского морей (0.011, $P > 0.05$) При этом попарные дистанции F_{ST} имеют высокие значения (0.129–0.146, $P \geq 0.001$) между беломорскими выборками наваги, выделяющимися в отдельный кластер, и навагой из Баренцева и Карского морей (рис. 2).

После множественного выравнивания последовательностей был исследован участок гена *COI* длиной 589 пн, было выявлено 15 вариативных сайтов, из них 13 информативных, 14 транзиций и 2 трансверсии, все замены – синонимичные. Среди 33 исследованных последовательностей было выделено десять гаплотипов, образовавших две группы, различающихся на 8–13 замен (~1.3–2.2% различий). К первой группе принадлежали четыре гаплотипа, обнаруженных в выборке из Охот-

Таблица 2. Сравнительные характеристики микросателлитных локусов представителей тресковых

Локус и вид	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>Ar</i>	Размер аллелей, пн
<i>PGmo32</i>				
<i>E. nawaga</i>	135	2	1.647	106–112
<i>E. gracilis</i>	115	2	1.321	106–112
<i>G. morhua</i>	57	4	3.437	103–115
<i>G. macrocephalus</i>	46	4	3.786	111–129
<i>Gmo8</i>				
<i>E. nawaga</i>	133	2	1.104	162–166
<i>E. gracilis</i>	115	3	2.120	162–222
<i>G. morhua</i>	57	23	18.634	118–294
<i>G. macrocephalus</i>	46	31	27.962	170–386
<i>Gmo-G18</i>				
<i>E. nawaga</i>	135	3	2.430	121–133
<i>E. gracilis</i>	115	2	1.463	125–137
<i>G. morhua</i>	58	3	2.490	113–129
<i>G. macrocephalus</i>	46	2	1.916	117–129
<i>Gmo34</i>				
<i>E. nawaga</i>	133	7	5.939	72–100
<i>E. gracilis</i>	114	8	5.933	72–100
<i>G. morhua</i>	58	4	3.590	96–116
<i>G. macrocephalus</i>	49	17	15.506	116–184
<i>Gmo35</i>				
<i>E. nawaga</i>	131	2	2.000	107–110
<i>E. gracilis</i>	115	2	1.389	107–113
<i>G. morhua</i>	56	8	7.319	125–149
<i>G. macrocephalus</i>	49	3	2.332	116–125
<i>Gmo3</i>				
<i>E. nawaga</i>	135	3	2.257	92–104
<i>E. gracilis</i>	115	3	1.983	92–100
<i>G. morhua</i>	58	4	3.590	160–192
<i>G. macrocephalus</i>	49	2	1.400	192–196

Примечание. *N* – объем выборки, *A* – число аллелей на локус, *Ar* – аллельное разнообразие, скорректированное на минимальный размер выборки.

ского моря (ТО), другие шесть гаплотипов второй группы выявлены в выборках из Белого, Баренцева и Карского морей. Генетическое разнообразие в выборке ТО (*E. gracilis*) выше, чем в выборках *E. nawaga*. Среди выборок *E. nawaga* значения генетического разнообразия выше в выборке VarS (табл. 5).

В выборках *E. nawaga* доминируют два гаплотипа, обнаруживаемые во всех выборках, в каждой выборке присутствует собственный гаплотип (рис. 3). Гаплотипы ТО (*E. gracilis*) образуют сестринскую кладу, с максимальными значениями поддержки (100/100/1.0) независимо от способа построения деревьев по отношению к гаплотипам *E. nawaga*. Средние дистанции между *E. nawaga* и *E. gracilis* составляют 0.018 (табл. 6), по отношению к другим видам дистанции меняются от 0.123 с *Arctogadus glacialis* до 0.222 с *Coryphaenoides cinerus*.

При построении деревьев полученные гаплотипы образуют собственную кладу рода *Eleginus* сестринскую по отношению к другим представителям сем. Gadidae (рис. 4), независимо от способа построения дерева. В случае VI-дерева клада рода *Eleginus* кластеризуется с *L. lota*, при этом дистанции K2P составляют 0.16 между *L. lota* и *E. gracilis*, 0.15 между *L. lota* и *E. nawaga*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученное по микросателлитам высокое значение генетической дифференциации ($\theta = 0.548$) между выборками северной наваги и тихоокеанской наваги на уровне межвидового поддерживает представления об их дивергенции в четвертичном периоде на фоне прогрессировавшего выхолаживания Арктики [24, 45].

На основе баркодингового участка гена *COI*, гаплотипы *E. nawaga* формируют самостоятельную сестринскую кладу по отношению к *E. gracilis*. При этом средние дистанции между ними составляют небольшие значения (0.018), что видимо указывает на “относительно недавнее” расхождение этих видов: в пределах 1–2 млн лет назад в зависимости от оценки скорости мутаций мтДНК [46, 47]. Близкие оценки времени расхождения этих видов (2.32 млн лет назад) были получены на основе анализа последовательностей митохондриального гена *Cytb*, при этом дистанции между видами были несколько выше (2.53%), чем полученные нами [45]. Дистанции между *E. nawaga* и *E. gracilis* ниже, чем в среднем у морских рыб между представителями одного рода и близки к внутривидовым, при этом дистанции по отношению к другим представителям семейства Gadidae выше, чем средние дистанции для морских рыб между родами внутри семейства [46]. Полученные данные поддерживают видовой статус *E. nawaga* и *E. gracilis* [1].

Таблица 3. Оценки по шести микросателлитным локусам генетической идентичности (J) (над диагональю) и генетической дифференциации (θ) (под диагональю) между навагой (EnWS1, EnWS2, EnBS, EnKS, EgrOS2, EgrOS3), атлантической треской (GmoBS1, GmoBS2) и тихоокеанской треской (GmacOS1, GmacOS2)

Выборки	Навага	Атлантическая треска	Тихоокеанская треска
	1	2	3
1	xxx	0.004–0.197	0.001–0.232
2	0.462 (0.272–0.658)	xxx	0.139–0.212
3	0.489 (0.267–0.705)	0.487 (0.258–0.682)	xxx

Примечание: В скобках – 95% доверительный интервал.

На основе анализа микросателлитных локусов показан достаточно высокий уровень генной дифференциации северной наваги, населяющей внутренний водоем – Белое море, по отношению к демонстрирующей высокий уровень идентич-

ности северной наваге Карского и Баренцева морей. Можно предположить, что такая дифференциация является результатом послеледникового расселения в “оттаявшее” Белое море северной наваги, возможно переживавшей вюрмский стадиал в прибрежных акваториях с выносами пресных вод в юго-восточной части Баренцева моря и юго-западной части Карского моря. Существующее в литературе предположение [48] о послеледниковом заселении северной навагой акваторий Карского, Баренцева, Белого морей из так называемого ее “ледникового рефугиума” в акваториях Восточно-Сибирского моря и моря Лаптевых, в том числе, весьма маловероятно по причине того, что даже в настоящее время (межледниковье с более высокими температурами) представители рода *Eleginus* отсутствуют в этих районах (кроме Хатангского залива в западной части моря Лаптевых) на фоне, в том числе, низких температур воды.

В соответствии с полученными данными по изменчивости микросателлитных локусов, представители рода *Eleginus* демонстрировали высокий уровень генетической дифференциации (группировки с отчетливой генетической подразделенностью (по классификации Л.А. Животовского [49]))

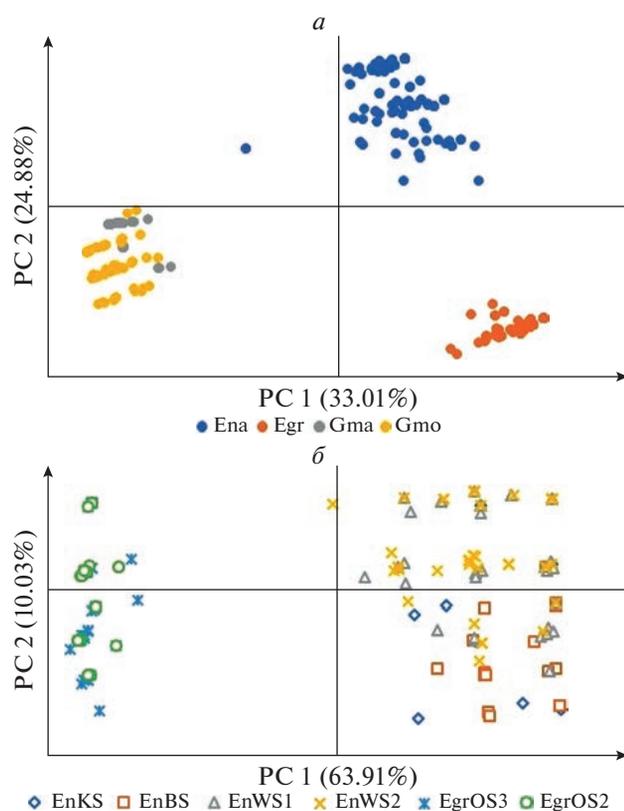


Рис. 1. Расположение представителей Gadidae в пространстве двух главных координат на основе шести микросателлитных локусов. *a* – для всех исследованных видов, обозначения на рисунке – Ena (EnKS, EnBS, EnWS1, EnWS2), Egr (EgrOS3, EgrOS2), Gma (GmacOS1, GmacOS2), Gmo (GmoBS2, GmoBS1); *b* – для представителей рода *Eleginus*. Обозначения выборок как в табл. 2.

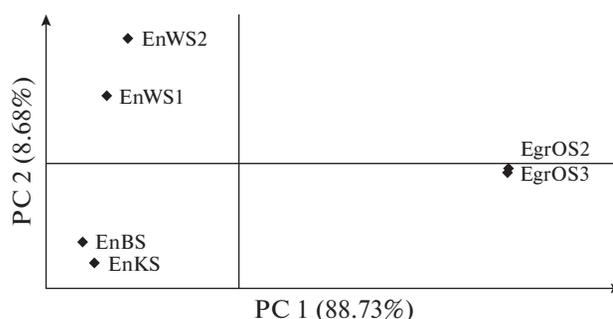


Рис. 2. Диаграмма PCoA выборок рода *Eleginus* на основе матрицы попарных дистанций (F_{ST}) по микросателлитным локусам. Обозначения выборок как в табл. 2.

Таблица 4. Уровень генетической дифференциации (θ) северной наваги (*E. nawaga*), тихоокеанской наваги (*E. gracilis*) (по 6 микросателлитным локусам)

Сравниваемые таксоны	θ
Между северной навагой (EnWS1, EnWS2, EnBS, EnKS) и тихоокеанской навагой (EgrOS2, EgrOS3)	0.639 (0.213; 0.880)
У северной наваги между Карским (EnKS) и Баренцевым (EnBS) морями	-0.002 (-0.013; 0.012)
У северной наваги между Белым морем (EnWS1, EnWS2) и совместно Карским и Баренцевым морями (EnBS, EnKS)	0.190 (-0.009; 0.319)

Примечание см. к табл. 3.

Таблица 5. Характеристики генетического разнообразия в выборках рода *Eleginus* на основе гаплотипов *COI* мтДНК

Вид	Выборка	<i>N</i>	<i>h</i>	<i>h_u</i>	<i>S</i>	<i>k</i>	<i>Pi</i>	<i>Hd (SD)</i>
<i>E. gracilis</i>	ТО	5	4	—	4	1.600	0.00272	0.900 (0.161)
<i>E. nawaga</i>	WS	10	4	1	4	1.067	0.00181	0.711 (0.117)
	KarS	9	4	1	4	1.500	0.00255	0.750 (0.112)
	VarS	9	4	1	3	1.444	0.00143	0.806 (0.089)
	Для всех	28	6	—	5	1.304	0.00221	0.725 (0.054)

Примечание. *N* – количество исследованных образцов, *h* – количество гаплотипов, *h_u* – уникальные гаплотипы, *S* – число сегрегирующих сайтов, *k* – среднее число нуклеотидных различий, *Pi* – нуклеотидное разнообразие, *Hd (SD)* – гаплотипическое разнообразие и стандартное отклонение.

по отношению к роду *Gadus* атлантической треске (*G. morhua*) и тихоокеанской треске (*G. macrocephalus*), что, соответственно, поддерживает их принадлежность к различным родам. Филогенетический анализ также подтверждает самостоятельность рода *Eleginus*, который формирует самостоятельную кладу с высокой степенью поддержки и большими дистанциями между ближайшими видами подсемейства Gadinae (0.123–0.144).

Согласно систематике отряда Gadiformes А.Н. Световидова [1], род *Eleginus* входит в состав подсемейства Gadinae, при этом на основе полученных данных род *Eleginus* может рассматриваться даже в рамках отдельного подсемейства. Результаты данного исследования являются предварительными и для более точного положения рода *Eleginus* на дереве отряда Gadiformes необходимо изучение более длинных последова-

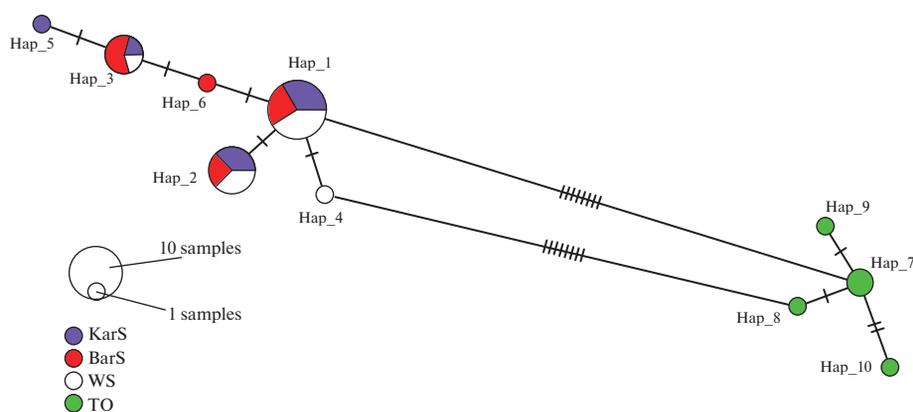


Рис. 3. MSN сеть гаплотипов *COI* мтДНК рода *Eleginus*. Цветом обозначается регион происхождения: зеленый – ТО (Охотское море), белый – WS (Белое море), красный – VarS (Баренцево море), фиолетовый – KarS (Карское море), насечки – количество замен между гаплотипами, диаметры кругов пропорциональны количеству особей.

Таблица 6. Средние дистанции (K2P) между видами отряда Gadiformes на основе фрагмента *COI* (под диагональю) и значения стандартного отклонения (над диагональю)

<i>E. nawaga</i>		0.005	0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.017	0.018	0.020	0.018	0.022
<i>E. gracilis</i>	0.018		0.017	0.017	0.016	0.016	0.017	0.017	0.019	0.020	0.017	0.023
<i>G. morhua</i>	0.135	0.133		0.007	0.008	0.008	0.008	0.014	0.012	0.022	0.019	0.021
<i>G. chalcogrammus</i>	0.140	0.132	0.030		0.008	0.009	0.009	0.013	0.012	0.023	0.019	0.021
<i>G. macrocephalus</i>	0.129	0.126	0.035	0.040		0.010	0.009	0.014	0.013	0.022	0.019	0.021
<i>A. glacialis</i>	0.123	0.124	0.038	0.046	0.050		0.008	0.015	0.013	0.021	0.020	0.020
<i>B. saida</i>	0.130	0.131	0.042	0.048	0.053	0.040		0.015	0.014	0.021	0.020	0.021
<i>P. virens</i>	0.144	0.137	0.097	0.091	0.093	0.103	0.104		0.013	0.021	0.020	0.021
<i>M. aeglefinus</i>	0.162	0.168	0.089	0.087	0.102	0.095	0.099	0.095		0.021	0.018	0.022
<i>M. merluccius</i>	0.192	0.190	0.213	0.206	0.202	0.201	0.202	0.210	0.204		0.019	0.023
<i>L. lota</i>	0.159	0.150	0.177	0.166	0.170	0.177	0.186	0.183	0.174	0.169		0.023
<i>C. cinereus</i>	0.222	0.216	0.207	0.211	0.214	0.197	0.211	0.213	0.226	0.235	0.227	

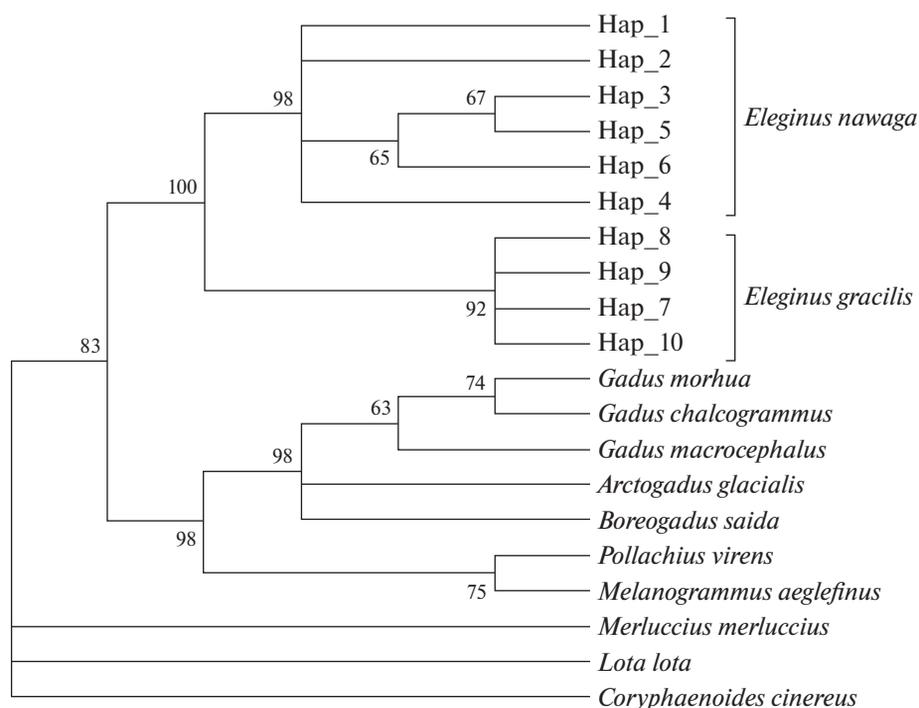
тельностью мтДНК. Также для лучшего понимания процессов формирования видов важно как увеличение объема исследуемого материала, так и вовлечение в анализ более быстро эволюционирующих участков мтДНК, например контрольного региона мтДНК.

Авторы выражают свою признательность и благодарность сотрудникам А.Г. Бушу, сотрудни-

кам МагаданНИРО за помощь в формировании выборок наваги.

Работа выполнена в рамках Госзаданий ФГБНУ “ВНИРО” и МГУ.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

**Рис. 4.** Конденсированное ML дерево (порог 60%), построенное на основе гаплотипов *COI* отряда Gadiformes, в узлах дерева значения бутстрепа, гаплотипы, полученные в работе обозначены, как Нав.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Световидов А.Н. Трескообразные. Фауна СССР. Рыбы. Т. 9. Вып. 4. М.—Л.: Изд-во АН СССР, 1948. 221 с.
2. Ульянов В.А., Матковский А.К., Степанов С.И. и др. Рыбные ресурсы и их освоение в эстуариях морей Карского и Лаптевых // Труды ВНИРО. 2016. Т. 160. С. 116–132.
3. Helser T.E., Colman J.R., Anderl D.M., Kastelle C.R. Growth dynamics of saffron cod (*Eleginus gracilis*) and Arctic cod (*Boreogadus saida*) in the Northern Bering and Chukchi Seas // Deep Sea Research. Part II. Topical Studies in Oceanography. 2017. V. 135. P. 66–77.
4. Андрияшев А.П., Чернова Н.В. Аннотированный список рыбообразных и рыб морей Арктики и сопредельных вод // Вопр. ихтиол. 1994. Т. 34. № 4. С. 435–456.
5. Стасенков В.А. Биология и промысел наваги *Eleginus nawaga* (Pallas) Белого моря. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: ВНИРО, 1991. 24 с.
6. Стасенков В.А. Многолетняя динамика биологических показателей наваги *Eleginus nawaga* (Walbaum, 1792) Белого моря в связи с изменениями температурного режима водоема // Вестник МГТУ. 2017. Т. 20. № 2. С. 370–380. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2017-20-2-370-380>
7. Сафронов Е.Н., Варюхин А.В. Температурный режим воды в прудовом рыбоводстве // Зооиндустрия. 2003. № 11. С. 12–15.
8. Стасенков В.А., Гончаров Ю.В. Размерно-возрастная структура наваги *Eleginus nawaga* Белого, Баренцева и Карского морей // Вопр. ихтиол. 2020. Т. 60. № 3. С. 297–308. <https://doi.org/10.31857/S0042875220030224>
9. Николотова Л.А. О питании дальневосточной наваги (*Eleginus navaga gracilis*) // Известия ТИНРО. 1954. 286–288.
10. Кукушкина Н.А., Щербина А.И. Сравнительная эколого-морфологическая характеристика ледовитоморской наваги *Eleginus navaga* (Pal.) Белого и Чешской губы Баренцова моря // Вопр. ихтиол. 1977. Т. 17. Вып. 6 (107). С. 1123–1127.
11. Новикова О.В. Промысел, распределение и некоторые особенности биологии наваги (*Eleginus gracilis* (Tilesius)) прикамчатских вод // Исслед. водн. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана // Сб. науч. тр. КамчатНИРО. 2002. Вып. 6. С. 120–130.
12. Ракитина М.В., Смирнов А.А. Тихоокеанская навага (*Eleginus gracilis* Tilesius) Тауйской губы Охотского моря: экология, современное состояние запаса и перспективы промысла // Рыбное хозяйство. 2018. № 3. С. 49–52.
13. Махотин В.В. Ранний онтогенез тресковых рыб Белого моря. Специфика морфогенетических процессов в раннем онтогенезе костистых рыб (на примере развития тресковых). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2021. 197 с.
14. Maznikova O.A., Orlov A.M. Navaga *Eleginus nawaga* of the White Sea: A brief review with emphasis on the Soviet-Russian literature // Polar Biol. 2020. V. 43. P. 1159–1173. <https://doi.org/10.1007/s00300-020-02681-8>
15. Sme N., Lyon S., Canino M. et al. Distinction of saffron cod (*Eleginus gracilis*) from several other gadid species by using microsatellite markers // Fishery Bulletin. 2017. V. 116. № 1. P. 60–68. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1723734/v1>
16. Zardoya R., Vollmer D.M., Craddock C. et al. Evolutionary conservation of microsatellite flanking regions and their use in resolving the phylogeny of cichlid fishes (Pisces: Perciformes) // Proc. of the Royal Soc. B. Biol. Sciences. 1996. V. 263. № 1376. P. 1589–1598.
17. Abdul-Muneer P.M. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: Recent advances in population structure analysis and conservation strategies // Genet. Res. International. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/691759>
18. Строганов А.Н. Формирование генетического разнообразия в популяциях тихоокеанской трески (*Gadus macrocephalus* Tilesius) (Gadidae) // Генетика. 2013. Т. 49. № 11. С. 1300–1305. <https://doi.org/10.7868/S0016675813090105>
19. Строганов А.Н., Семенова А.В., Черенкова Н.Н. К таксономии рода *Gadus* (Gadidae): формирование современной структуры // Генетика. 2017. Т. 53. № 12. С. 1427–1435. <https://doi.org/10.1134/S1022795417120122>
20. Строганов А.Н., Орлов А.М., Афанасьев К.И. и др. Предварительные данные по изменчивости трех микросателлитных локусов у тихоокеанской *Gadus macrocephalus* и атлантической *G. morhua* трески (Gadidae) // Вопр. ихтиол. 2009. Т. 49. № 2. С. 191–199. <https://doi.org/10.1134/S0032945209020039>
21. Skarstein T.H., Westgaard J.-I., Fevolden S.-E. Comparing microsatellite variation in North East Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) to genetic structuring as revealed by pantophysin (Pan I) locus // J. Fish. Biol. 2007. V. 70. P. 271–290. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01456.x>
22. Wennevik V., Jorstad K.E., Dahle G., Fevolden S.E. Mixed stock analysis and the power of different classes of molecular markers in discriminating coastal and oceanic Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) on the Lofoten spawning grounds, Northern Norway // Hydrobiologia. 2008. V. 606. P. 7–25. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9349-5>

23. Строганов А.Н., Афанасьев К.И., Иорстад К.Е. и др. Данные по изменчивости микросателлитных локусов у гренландской трески *Gadus ogac* Richardson 1836: сравнение с представителями рода *Gadus* (Gadidae) // Вопр. ихтиол. 2011. Т. 51. № 6. С. 770–777.
<https://doi.org/10.1134/S0032945211060087>
24. Stroganov A.N. Genus *Gadus* (Gadidae): Composition, distribution, and evolution of forms // J. of Ichthyology. 2015. V. 55. № 3. P. 319–336.
<https://doi.org/10.1134/S0032945215030145>
25. Angers B., Bernatchez L. Usefulness of heterologous microsatellites obtained from brook charr, *Salvelinus fontinalis* Mitchill, in other *Salvelinus* species // Mol. Ecol. 1996. V. 5. № 2. P. 317–319.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00922.x>
26. Patton J.C., Gallaway B.J., Feckhelm R.G., Cronin M.A. Genetic variation of microsatellite and mitochondrial DNA markers in broad whitefish (*Coregonus nasus*) in the Colville and Sagavanirktok rivers in northern Alaska // Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sci. 1997. V. 54. № 7. P. 1548–1556.
27. Perry G.M.L., King T.L., T.-Cyr J.S. et al. Isolation and cross-familial amplification of 41 microsatellites for the brook charr (*Salvelinus fontinalis*): PRIMER NOTE // Mol. Ecol. Notes. 2005. V. 5. № 2. P. 346–351.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00922.x>
28. Bezault E., Rognon X., Gharbi K. Microsatellites cross-species amplification across some african cichlids // Int. J. Evol. Biol. 2012. V. 2012. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1155/2012/870935>
29. Строганов А.Н., Афанасьев К.И., Рубцова Г.А. и др. Данные по изменчивости микросателлитных локусов у кильдинской трески *Gadus morhua kildinensis* (Gadidae) // Вопр. ихтиол. 2011. Т. 51. № 4. С. 459–466.
30. Weir B.S. Genetic Data Analysis II. Methods for Discrete Population Genetic Data. Massachusetts: Sinauer Ass. Sunderland, 1996. 445 p.
31. Lewis P.O., Zaykin D. Genetic Data Analysis: Computer Program for the Analysis of Allelic Data. 2001. Version 1.0 (d16c). <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>
32. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. 1978. V. 89. P. 583–590.
33. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Введение в количественную биологию. Петрозаводск: Петрозаводск. гос. ун-т, 2003. 304 с.
34. FSTAT 2.9.3. <http://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>
35. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. № 19. P. 2537–2539.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
36. Ponomareva E.V., Volkov A.A., Ponomareva M.V. et al. European grayling phylogeographic lineages of Russian European North from barcoding DNA fragment // Bulgarian J. of Agricultural Sci. 2022. V. 28. P. 1.
<https://doi.org/10.3389/conf.fmars.2019.07.00068>
37. Villesen P. FaBox: An online toolbox for fasta sequences // Mol. Ecol. Notes. 2007. V. 7. № 6. P. 965–968.
38. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. V. 25. P. 1451–1452.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
39. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // J. of Mol. Evol. 1980. V. 16. P. 111–120.
40. Ratnasingham S., Hebert P.D.N. BOLD: The barcode of life data system // Mol. Ecol. Notes. 2007. V. 7. P. 355–364. <http://www.barcodinglife.org>.
41. Kumar S., Stecher G., Li M. et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. and Evol. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
42. Lefort V., Longueville J.-E., Gascuel O. SMS: Smart model selection in PhyML // Mol. Biol. and Evol. 2017. V. 34. I. 9. P. 2422–2424.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx149>
43. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics Applications Note. 2001. V. 17. № 8. P. 754–755.
44. Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. and Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
45. Laakkonen H.M., Hardman M., Strelkov P., Väinölä R. Cycles of trans-Arctic dispersal and vicariance, and diversification of the amphiboreal marine fauna // J. Evol. Biol. 2021. V. 34. P. 73–96.
<https://doi.org/10.1111/jeb.13674>
46. Avise J.C. Molecular Markers, Natural History and Evolution. N.Y.: Chapman and Hall, 1994. 511 p.
47. Stepien C.A., Dillon A.K., Patterson A.K. Population genetics, phylogeography, and systematics of the thornyhead rockfishes (*Sebastolobus*) along the deep continental slopes of the North Pacific Ocean // Canadian J. of Fisheries and Aquatic Sciences. 2000. V. 57. № 8. P. 1701–1717.
<https://doi.org/10.1139/f00-095>
48. Gharrett A.J., Chernova N.V., Sme N.A. et al. Demography of a nearshore gadid (*Eleginus nawaga*) from the Barents Sea coast during the last glacial period // Res. Square. 2022. P. 1–19.
<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1723734/v1>
49. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 276 с.

Phylogeny of the Genus *Eleginus* (Gadidae) according to the Analysis of the Variability of Microsatellite Locus and mtDNA *COI* Fragment

A. N. Stroganov^{a, *}, E. V. Ponomareva^a, M. V. Ponomareva^a, E. A. Shubina^a, K. A. Zhukova^a,
A. A. Smirnov^{b, c}, T. A. Rakitskaya^d, and M. V. Rakitina^e

^aMoscow State University, Moscow, 119234 Russia

^bAll-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, 107140 Russia

^cNorth-Eastern State University (NEGU), Magadan, 685000 Russia

^dVavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences,
Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

^eMagadan Branch of the All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (MagadanNIRO),
Magadan, 685000 Russia

*e-mail: andrei_str@mail.ru

Genetic methods based on the study of the variability of mitochondrial (*COI*) and nuclear (microsatellites) DNA were used to study the processes of morphogenesis in the genus *Eleginus*. The revealed level of genetic differentiation characterizes the Pacific Saffron cod (*Eleginus gracilis*) and Navaga (*Eleginus nawaga*) as independent species that diverged in a relatively recent period at the boundary of the Pliocene and Pleistocene. The White Sea Navaga's populations were by microsatellites markers differed from the Navaga inhabiting the basins of the Kara and the Barents seas. At the same time, it is assumed that the Kara-Barents Sea region could act as a "glacial refugium", which ensured the post-glacial settlement of Navaga, including in the "watered" White Sea depression. Phylogenetic analysis based on *COI* haplotypes diversity reveals demand of possible reorganization in order Gadiformes, including *Eleginus* in an independent subfamily – sister in relation to the subfamilies Gadinae, Lotinae, Merlucciinae. The prospects of improving genetic methodological approaches in the framework of the development of research on Saffron cod are noted.

Keywords: Navaga, Saffron cod, microsatellite loci, *COI*, taxonomic status.