

УДК 575.17+591.4:594.38

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ *Benedictia fragilis* (Dybowski, 1875) – ЭНДЕМИКА ОЗЕРА БАЙКАЛ

© 2017 г. В. И. Тетерина*, Н. В. Максимова, Т. Я. Ситникова**, С. В. Кирильчик

Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск 664033

*e-mail: veronika_t@inbox.ru

**e-mail: sit@lin.irk.ru

Поступила в редакцию 29.05.2016 г.

Исследованы байкальские эндемичные брюхоногие моллюски *Benedictia fragilis*, распространенные в широком диапазоне глубин (от сублиторали до абиссали) трех котловин озера. Анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента митохондриального гена *COI* и внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной ДНК *ITS1* показал, что изучаемые гастроподы представлены в оз. Байкал тремя генетическими группами. Результаты исследований генетического разнообразия, фенотипических признаков и распространения позволяют предположить, что выявленные группы – это зарождающиеся аллопатрические (географические) виды. На основе полученных данных и геолого-климатической истории Байкала предложена гипотеза о возможных путях расселения *B. fragilis* в озере и появления трех генетических групп.

Ключевые слова: *Benedictia fragilis*, *COI*, *ITS1*, генетический полиморфизм, морфология раковины, фенотипическая изменчивость.

DOI: 10.7868/S0016675817040130

Как и все древние озера мира, Байкал имеет уникальную эндемичную фауну, представленную сериями “букетов близкородственных видов” [1, 2], образование которых объясняют, как правило, адаптациями к различным экологическим условиям внутри озерной экосистемы [3–8]. Географическую диверсификацию в древних озерах связывают обычно с историей формирования озера (существование разрозненных водоемов и дальнейшее их объединение в единое озеро) и наличием естественных преград в мелководной зоне, образованных изрезанностью береговой линии [1]. Озеро Байкал – единственное среди древних озер мира, в котором существует фауна, в том числе брюхоногих моллюсков, населяющая все зоны глубин вплоть до максимальных (>1600 м). Молекулярно-генетические свидетельства о возможных путях диверсификации животных по географическому градиенту в глубоководной зоне озера на сегодняшний день отсутствуют.

Байкал имеет длительную историю формирования, охватывающую период 25–30 млн лет от появления и объединения сначала южной и средней котловин, образования озера с глубинами в первые сотни метров, затем присоединения северной впадины (0.8–0.5 млн лет назад) и до окончательного образования (500–150 тыс. лет назад) единого ультраглубоководного водоема с

глубинами более 1 км [9–11]. Глобальные изменения климата от субтропического до резко континентального [9], чередования холодных и теплых периодов, в том числе на протяжении последних 1.5–1.8 млн лет, способствовали видообразованию в Байкале [12, 13].

Фауна брюхоногих моллюсков (Gastropoda) оз. Байкал включает около 150 видов, 78% из которых – эндемики, среди них аллопатрические виды и подвиды, имеющие географическую приуроченность, известны главным образом в мелководной зоне [14]. Кроме того, выявлено, что некоторые виды гастропод, распространенные на глубинах от 10 до 40 м вдоль всей береговой линии, представлены популяциями, занимающими различные географические ареалы [15].

Байкальские эврибатные гастроподы (около 10% эндемичных видов) способны обитать в широком диапазоне глубин (от 20–30 до 800–1300 м) при практически постоянно низкой температуре воды около 4°C [14]. Поднятия дна между котловинами Байкала (Бугульдейско-Селенгинский перешеек и Академический хребет) имеют глубины более 100 м и не являются естественными преградами для расселения фауны.

Среди эврибатных видов особое место занимают три вида – *Benedictia fragilis* Dybowski, 1875,

B. distinguenda Lindholm, 1909 и *B. pulchella* Sitnikova, 1983, таксономическая самостоятельность которых была поставлена под сомнение и объединяемые из-за морфологического сходства в группу *B. fragilis* [14]. Улитки этой группы характеризуются по сравнению с остальными байкальскими гастроподами “гигантской” раковинной, достигающей высоты 50 мм, и маленькой крышечкой в 4–5 раз меньше размеров устья. Легкая раковина (менее 0.2 мм толщиной и составляющей около 22% общего веса моллюска) и большая по площади нога способствуют передвижению этих улиток по илистым грунтам без потопления в вязком осадке. Обитая “стадами”, улитки прикрепляют яйцевые капсулы на раковины соседних особей и тем самым восполняют потребность в твердом субстрате. Являясь всеядными, “гигантские” бенедиктии питаются, главным образом, растительным и животным детритом и населяют участки дна с высокой трофностью [16]. Ареал обитания “гигантских” бенедиктий охватывает всю акваторию Байкала с глубинами от 30 до 1300 м. Какой-либо строгой приуроченности к зоне глубин улиток этих таксонов не выявлено, не обнаружены также биотопические и трофические предпочтения для каждого из них при раздельном и совместном обитании. Таким образом, байкальские гастроподы *B. fragilis* являются хорошим объектом для изучения батиметрической и географической диверсификации в глубоководной зоне в пределах одного пресноводного континентального водоема.

Для выявления генетической неоднородности разных групп животных, включая гастропод, в последние десятилетия используют генетические маркеры. У многоклеточных организмов, в том числе моллюсков, межвидовая дивергенция по *COI*, как правило, составляет не менее 2%, а внутривидовая не более 1% нуклеотидных замен [17–19]. Генетические маркеры применяют также для выяснений биогеографических связей и путей аллопатрического видообразования, например у морских гастропод [20]. Кроме того, в последние годы большое внимание уделяется неконгруэнтности между морфологическими и генетическими признаками, а также между различными генетическими маркерами, в частности у пресноводных гастропод Pleuroceridae [21] и байкальских эндемичных моллюсков семейства Baicaliidae [15, 22].

Настоящее исследование посвящено проблеме аллопатрического видообразования на примере байкальских брюхоногих моллюсков. Соответственно были поставлены следующие задачи: 1) выяснить существует ли генетическая диверсификация по глубинам и географическим районам у гастропод *B. fragilis* в пределах средней и северной котловин оз. Байкал; 2) определить наличие/отсутствие конгруэнтности между морфологической и генетической изменчивостью, а также митохондриальными и ядерными маркерами;

3) базируясь на имеющихся сведениях о геологических и климатических изменениях в истории Байкала, предложить гипотезу о возможных путях расселения изучаемых гастропод.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Особь бенедиктий (92 экз.) были собраны трапом в различных районах озера Байкал. Информация о местах, глубинах, датах сбора и количестве проанализированного материала представлена на рис. 1, а.

Генетический полиморфизм исследован на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов гена первой субъединицы цитохром-с-оксидазы митохондриальной ДНК (*COI*) и внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной ДНК (*ITS1*). Тотальная ДНК выделена из тканей ноги моллюсков стандартным методом экстракции фенолом и хлороформом [23]. Для амплификации фрагмента гена *COI* использована пара праймеров, универсальных для беспозвоночных: L1490 (5'-ggtaacaatacataaagatattgg-3') и H2198 (5'-taaacttcagggtgacsaataatca-3') [24]. Амплификацию фрагмента *ITS1* проводили при помощи универсальных праймеров KP-2 (5'-aaaaagcttcgtagtgtaacctg-3') [25] и 5.8S (3'-agcttggtgcgttctcatcga-3') [26]. Определение нуклеотидных последовательностей сделано на автоматическом секвенаторе 3500xL (Applied Biosystems, USA). Предварительный анализ нуклеотидных последовательностей, расчет индексов разнообразия гаплотипов (*Hd*) и уровней нуклеотидной изменчивости (π) выполнен с использованием программы DnaSP 4.10.3 [27]. Индексы нейтральности нуклеотидных замен Tajima's *D* [28] и Fu's *F_s* [29] рассчитывали в программе ARLEQUIN 3 [30]. Построение медианной сети гаплотипов сделано в программе NETWORK 4.6.1.3 (<http://fluxus-engineering.com/>) с использованием алгоритма “median-joining” [31]. С помощью программы MEGA 6.06 [32] оценены генетические расстояния для *COI* с использованием Tamura 3-parameter model с Gamma-распределением (T92 + G). Эволюционная модель нуклеотидных замен выбрана в программе jModelTest 2.1.6 [33, 34]. Расчет времени дивергенции проводился на основе генетических расстояний с учетом внутривидового генетического полиморфизма (net average distances, MEGA 4) и с использованием оценок скорости накопления нуклеотидных замен гена *COI*, предложенных для гастропод и составляющих $1.83\% \pm 0.21$ замен на последовательность в миллион лет [35].

Видовая идентификация улиток проведена компараторным методом [36], поскольку выделение *B. pulchella* и *B. distinguenda* было сделано на основании этого метода. Отметим, что первый из них был выделен из типовой серии *B. fragilis*, а второй считался изначально его подвидом [14].

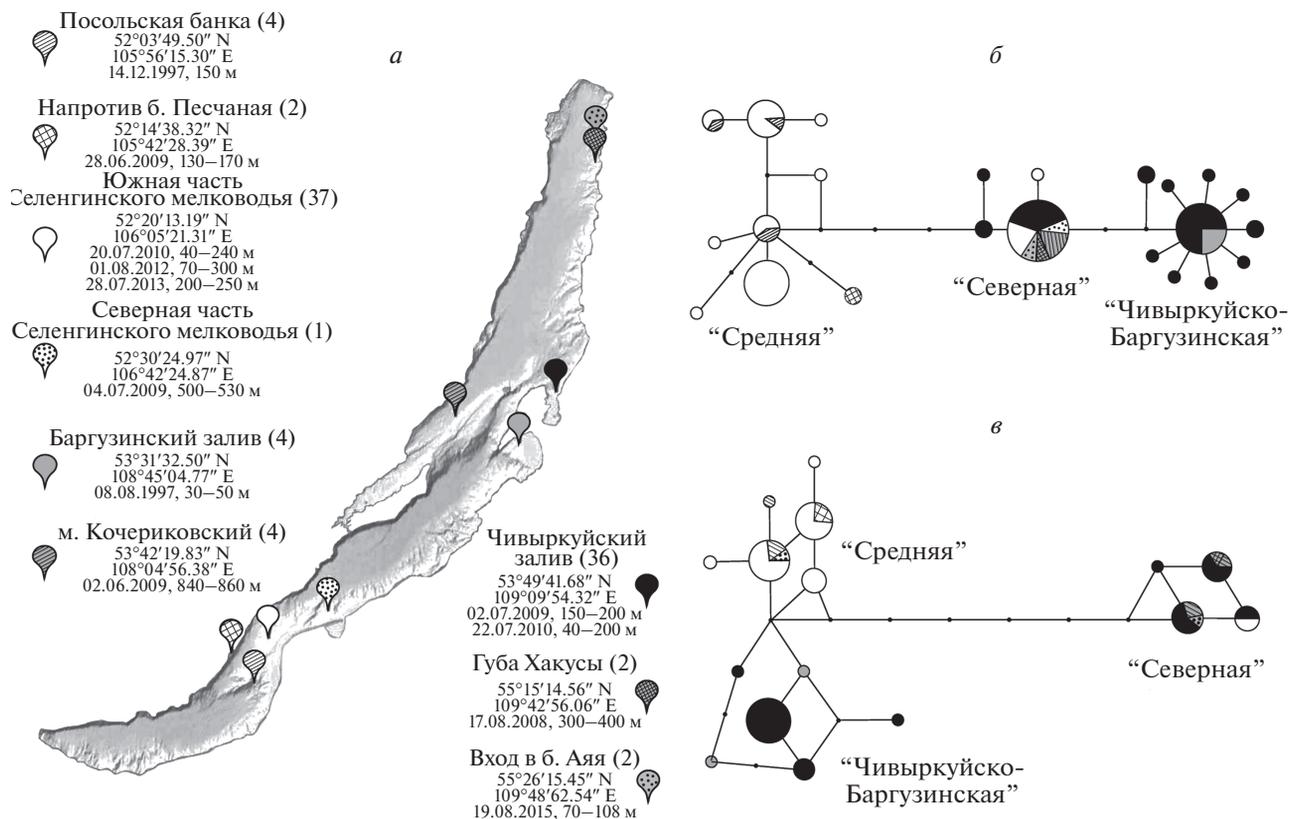


Рис. 1. Расположение районов сбора материала (а). В скобках — число проанализированных особей; медианная сеть гаплотипов, построенная на основе нуклеотидных последовательностей: б — *COI*, в — *ITS1*. См. текст.

Суть метода заключается в следующем: контур завитка голотипа или лектотипа зарисовывали с помощью рисовального аппарата типа камеры Люцида, приспособленного к стереомикроскопу МБС-9 и DRS-Opton так, чтобы ось раковины лежала точно в плоскости изображения. Далее этот контур (или шаблон) использовали для сравнения с другими раковинами, независимо от их размера. Сравнимую раковину устанавливали под тем же увеличением, под которым был зарисован шаблон, и, проворачивая ее вдоль оси, совмещали один из ее оборотов с одним из оборотов шаблона. Если и все остальные обороты завитка раковины совпадали, то заключали, что раковины принадлежат одному виду. Если совпадения не было, то использовали шаблон типа другого вида. Уровень различий в соотношении видов среди генетических групп определен с помощью теста Pearson's χ^2 (STATISTICA-10).

Морфологический анализ моллюсков сделан на основе оценки фоновой окраски раковины и анализа ее морфометрических признаков. Оценка окраски раковины проводили у всех особей преимущественно на свежем материале. Морфометрический анализ сделан только на половозрелых экземплярах. Для этого моллюски были сфото-

графированы и затем по фотографиям проведены измерения 14 линейных параметров раковины с помощью программы Image-Pro Plus (см. рис. 3). Для определения уровня морфологических различий использовали непараметрический критерий Kruskal-Wallis для небольших выборок с ненормальным распределением признака согласно тесту Shapiro-Wilk's (STATISTICA-10). В качестве оценки значений параметров применяли медианы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Популяционный полиморфизм по митохондриальному маркеру

Частичная нуклеотидная последовательность гена *COI* размером 622 пн определена у 92 особей. Нуклеотидные последовательности уникальных гаплотипов помещены в GenBank под номерами доступа KX241824–KX241846. Анализ полученных последовательностей выявил 26 переменных позиций, из которых 14 — филогенетически информативные. Только одна замена у единственной особи является несинонимичной. Медианная сеть, представленная из 23 гаплотипов (рис. 1, б), показывает наличие трех основных гаплогрупп. Первую группу “Средняя” из девяти

гаплотипов образуют 37 особей, собранных в районе Селенгинского мелководья, бухте Песчаная и Посольской банке. Вторая гаплогруппа “Северная” состоит из четырех гаплотипов и объединяет четыре особи с юга Селенгинского мелководья и одну из северной части этногелководья, а также 22 особи из северных районов озера (Чивыркуйский залив, мыс Кочериковский, губа Хакусы, бухта Аяя). Третью группу “Чивыркуйско-Баргузинская” из 10 гаплотипов образуют 28 особей из Чивыркуйского и Баргузинского заливов. Между группами “Чивыркуйско-Баргузинская”/“Северная” выявлены две фиксированные замены, между “Средняя”/“Северная” и “Чивыркуйско-Баргузинская”/“Средняя” — по четыре. Расчетное время, прошедшее с начала дивергенции групп “Средняя”/“Северная” составило 392–494 тыс. лет, “Северная”/“Чивыркуйско-Баргузинская” — 245–309 тыс. лет и “Средняя”/“Чивыркуйско-Баргузинская” — 490–617 тыс. лет.

Сравнительный анализ выявленных генетических групп *B. fragilis* показал, что генетическое разнообразие группы “Средняя” самое высокое ($Hd = 0.788$ и $\pi = 0.00335$). У группы “Чивыркуйско-Баргузинская” гаплотипическое разнообразие несколько ниже ($Hd = 0.635$), в то время как нуклеотидное разнообразие более чем в 2 раза меньше ($\pi = 0.00147$). Высокое разнообразие гаплотипов в сочетании с низким нуклеотидным разнообразием указывает на вероятность быстрого роста группы “Чивыркуйско-Баргузинская”. Охватывающая большую акваторию Байкала группа “Северная” оказалась наименее генетически разнообразной. Индексы разнообразия гаплотипов ($Hd = 0.297$) и уровней нуклеотидной изменчивости ($\pi = 0.00061$) у группы “Северная” в несколько раз ниже, чем у групп “Средняя” и “Чивыркуйско-Баргузинская”.

Генетические различия внутри группы “Средняя” составили 0.3%, в пределах групп “Северная” и “Чивыркуйско-Баргузинская” — по 0.1%. Между гаплогруппами выявлены следующие значения генетических расстояний: “Северная”/“Чивыркуйско-Баргузинская” — 0.6%, “Средняя”/“Северная” — 1% и “Средняя”/“Чивыркуйско-Баргузинская” — 1.3%. Внутривидовая дивергенция по *COI* в пределах всей группы “гигантских” бенедиктий составила 0.7%.

Индексы нейтральности нуклеотидных замен Tajima's *D* и Fu's *F_s* для всех гаплогрупп имеют отрицательные значения, но достоверно значимые ($P < 0.05$) только для группы “Чивыркуйско-Баргузинская”.

Популяционный полиморфизм по ядерному маркеру

Нуклеотидные последовательности фрагмента ITS1 ядерной ДНК длиной 450–470 пн определе-

ны для 65 особей. Фрагменты ITS1 содержат вставки и делеции, что значительно усложняет анализ последовательностей. Поэтому для построения медианного древа все вставки были сокращены до одного нуклеотида, что позволяло учитывать вставку/делецию как единое мутационное событие. Медианная сеть ITS1 (рис. 1, в), состоящая из 16 гаплотипов, представлена теми же тремя группами — “Средняя”, “Северная” и “Чивыркуйско-Баргузинская”, как и сеть гаплотипов *COI*. Однако в отличие от мтДНК-сети, пять особей из группы “Северная” в ITS1-сети находятся в гаплогруппе “Средняя”. Между группами “Чивыркуйско-Баргузинская”/“Северная”, а также “Средняя”/“Северная” выявлено по семь фиксированных мутаций (среди которых — три замены и четыре вставки/делеции). Между группами “Чивыркуйско-Баргузинская”/“Средняя” полностью фиксированных мутаций нет.

Ядерная ДНК исследованных моллюсков несет в себе следы обмена генетической информацией между группами “Чивыркуйско-Баргузинская” и “Средняя”. Во второй группе в последовательности ядерной ДНК по одной позиции выявлено 24.2% гетерозиготных особей. По данной позиции чаще (44.8%) гомозиготных особей несут нуклеотид, характерный только для группы “Средняя”, в то время как другая часть (31%) несет нуклеотид, характерный для группы “Чивыркуйско-Баргузинская”. Наличие гетерозигот свидетельствует о потоке генов из этой группы в группу “Средняя”. У группы “Северная” признаков обмена генами с другими группами не обнаружено.

Генетическое расстояние между группами “Средняя” и “Чивыркуйско-Баргузинская” по ITS1 было ниже, чем по *COI*, и составило 0.3%. Генетические дистанции между парами “Северная”/“Чивыркуйско-Баргузинская” и “Средняя”/“Северная” были близки и составили 0.8 и 0.6% соответственно.

Генетическая однородность по глубинам обитания

У исследованных гастропод, собранных в диапазоне глубин от сублиторали (40 м) до абиссали (860 м) озера (рис. 1, а), генетическая дифференциация по батиметрическим зонам не выявлена. В каждую из трех групп, выделенных по двум генетическим маркерам, объединены особи, населяющие сходные зоны глубин. Так, группа “Средняя” представлена особями с глубин от 40 до 530 м, “Северная” — от 40 до 860 м и “Чивыркуйско-Баргузинская” — от 30 до 200 м. Кроме того, выявлено, что в Чивыркуйском заливе не существует батиметрической изоляции между группами “Северная” и “Чивыркуйско-Баргузинская”: особи обеих групп найдены на глубинах 40–60 м.

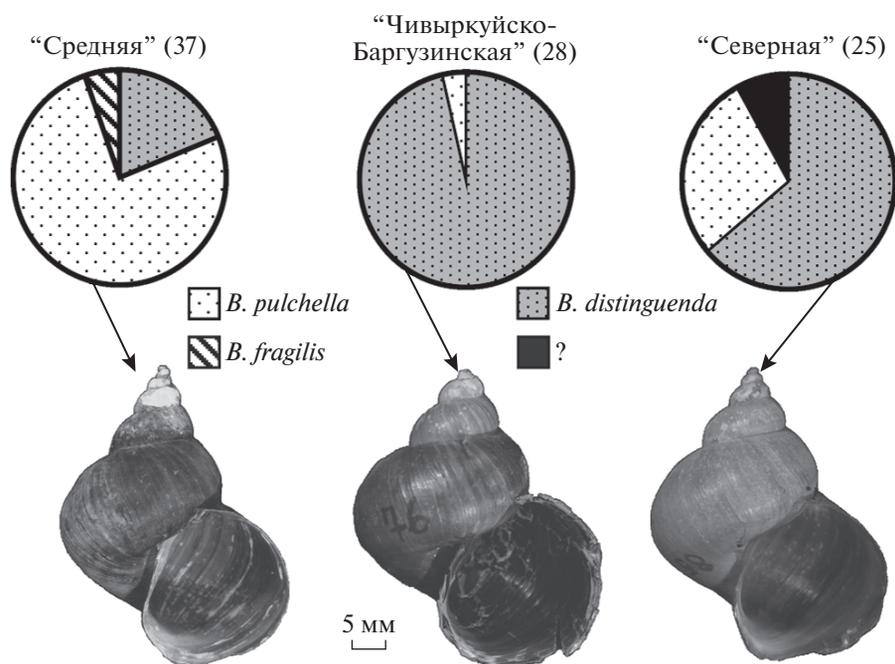


Рис. 2. Соотношение таксонов *B. fragilis*, *B. distinguenda* и *B. pulchella* в выделенных генетических группах. В скобках — число проанализированных особей.

Соотношение таксонов *B. fragilis*, *B. distinguenda* и *B. pulchella* в генетических группах

Из 90 проанализированных с помощью компараторного метода особей только два неполовозрелых экземпляра из группы "Средняя" отнесены к *B. fragilis* (рис. 2). Представители *B. distinguenda* и *B. pulchella* присутствовали во всех выделенных генетических группах, но соотношение их внутри групп значительно различалось (Pearson's χ^2 , $P < 0.05$). Количество *B. distinguenda* было достоверно больше (96%) в группе "Чивыркуйско-Баргузинская" ($P \leq 0.027$), а *B. pulchella* преобладали (76%) в группе "Средняя" ($P \leq 0.0002$). В группе "Северная" соотношение *B. pulchella* и *B. distinguenda* было 1 : 2. Две половозрелые особи из северного района Селенгинской акватории совмещали признаки завитка двух таксонов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что основной признак раковины, разграничивающий обсуждаемые таксоны компараторным методом — форма завитка, существенно варьирует внутри каждой из выделенных генетических групп и не может быть использован для их таксономической дифференциации. Данные результаты подтверждают ранее высказанное мнение о сведении таксономических видов в синонимы [14].

Морфологический анализ раковины

Выявлены два варианта фоновой окраски раковины моллюсков в выделенных генетических группах: светлые желто-бежевого оттенка и более темные зеленого цвета. Вне зависимости от принадлежности к таксону и места обитания особи групп "Северная" (в том числе улитки, обитавшие в Чивыркуйском заливе) и "Средняя" были представлены моллюсками только со светлой раковиной желто-бежевого оттенка, тогда как представители группы "Чивыркуйско-Баргузинская" имели более темную раковину зеленоватого оттенка (рис. 2). При этом отмечено, что светлые раковины желто-бежевого оттенка более хрупкие и ломкие по сравнению с темными раковинами зеленого цвета, структура которых гораздо пластичнее и устойчивее к механическому воздействию. Анализ 14 пластических признаков раковины моллюсков выделенных генетических групп показал (рис. 3), что половозрелые особи группы "Чивыркуйско-Баргузинская" по трем параметрам (W , aw , $w1$) достоверно крупнее (Kruskal-Wallis-test, $P < 0.05$) представителей групп "Средняя" и "Северная". Раковина моллюсков группы "Северная" значимо меньше особей группы "Чивыркуйско-Баргузинская" дополнительно еще по пяти параметрам (al , $h2$, $h3$, $w2$, $w3$). Кроме того, раковина моллюсков группы "Чивыркуйско-Баргузинская" отличается от улиток двух других групп формой устья: колумеллярный край у них закруглен и утолщен в виде складки, то-

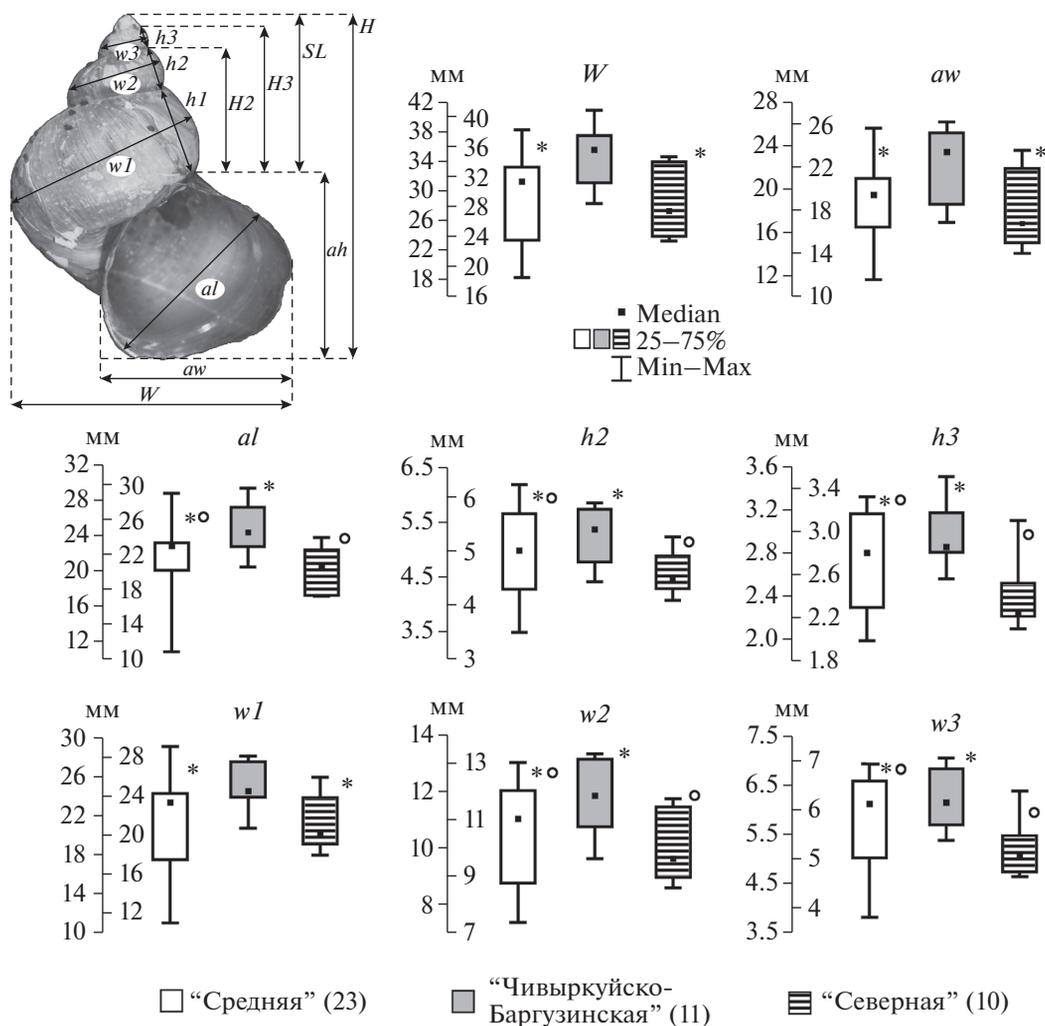


Рис. 3. Схема измерений раковины и значения различающихся параметров между выделенными генетическими группами. Одинаковые символы обозначают отсутствие достоверных различий (Kruskal-Wallis-test, $P < 0.05$). В скобках – число проанализированных особей.

гда как раковины представителей групп “Средняя” и “Северная” имеют в основном спрямленный или скошенный и лишь слегка утолщенный колумеллярный край устья. Различия между двумя последними группами бенедиктий не выявлены.

Таким образом, раковина взрослых моллюсков группы “Чивыркуйско-Баргузинская” отличается от представителей двух других групп (“Средняя” и “Северная”) по качественным и некоторым морфометрическим признакам при значительном перекрытии показателей большинства проанализированных параметров раковины среди всех генетических групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

Топология медианных сетей, построенных по митохондриальному и ядерному геномам, различается. В первом случае (*COI* мтДНК) группы

“Средняя” и “Чивыркуйско-Баргузинская” наиболее отдалены друг от друга, во втором (*ITS1* яДНК), наоборот, – наиболее близки (рис. 1, б, в). Причиной этого, вероятно, является гетерогенность скоростей эволюции митохондриальной и ядерной ДНК у исследованных гастропод.

Наибольшая генетическая гетерогенность группы “Средняя”, наличие в ее составе особей, несущих одновременно митохондриальную ДНК группы “Северная” и ядерную ДНК группы “Средняя”, может быть следствием интрогрессии митохондриальной ДНК в прошлом. Наличие в группе “Средняя” аллелей *ITS1* группы “Чивыркуйско-Баргузинская” в гомозиготном и гетерозиготном состоянии свидетельствует о потоке генов из группы “Чивыркуйско-Баргузинская” в группу “Средняя”, происходящем в настоящее время или недалеком прошлом.

Отсутствие признаков потока генов, а также большое количество фиксированных замен в проанализированных последовательностях ITS1 указывают на репродуктивную изоляцию представителей групп “Северная” от моллюсков двух других групп, в том числе при совместном их обитании в Чивыркуйском заливе с группой “Чивыркуйско-Баргузинская”. Именно здесь, в Чивыркуйском заливе, особи обеих генетически изолированных групп визуально (без дополнительных измерений) различаются по цвету, хрупкости раковины и форме колумеллярного края устья, но небольшие генетические расстояния между ними (<2%) по двум генетическим маркерам не позволяют придавать им ранг видовых таксонов.

Выявленный низкий уровень генетического разнообразия у групп “Северная” и “Чивыркуйско-Баргузинская” — возможно следствие их меньшего эволюционного возраста по сравнению с группой “Средняя”. Отрицательные индексы нейтральности, наиболее значимые в группе “Чивыркуйско-Баргузинская”, свидетельствуют об экспансивном ее росте или действии отрицательного отбора. Экспансивный генетический рост выявлен и среди мелководных байкальских эндемичных гастропод *Maackia herderiana* (Lindholm, 1909), населяющих каменистую литораль [37].

На основании полученных результатов и имеющихся сведений об истории формирования оз. Байкал мы предполагаем, что исходной для трех существующих ныне групп “гигантских” бенедиктий была группа “Средняя”, наиболее генетически разнообразная и изначально занимавшая акваторию Селенгинского района (от Посольской банки до залива Провал). После объединения южно-средних котловин с северной впадиной начался первый этап расселения части особей на север, который мы датируем на основании генетических различий между группами “Средняя” и “Чивыркуйско-Баргузинская” приблизительно 500–600 тыс. лет назад. Этот период времени в климатической истории оз. Байкал соответствует межледниковью (621–560 тыс. лет назад), в течение которого, в отличие от предшествующего холодного периода (663–621 тыс. лет назад), происходило значительное увеличение численности планктонных диатомовых водорослей и накопление биогенного кремнезема в донных осадках [13]. Постоянное поступление на дно пищи в виде фитопланктона, независимо от чередования холодных и теплых периодов во всех котловинах озера, могло способствовать увеличению численности гастропод и их расселению. На основании того, что расчетное время дивергенции групп “Средняя” и “Северная” составляет 392–494 тыс. лет, мы предполагаем, что второй этап расселения произошел после образования единого ультраглубоководного водоема (~500 тыс. лет назад [9–11]); часть особей из Селенгинского района (исходная для группы “Северная”)

мигрировала в северную оконечность озера. Группа “Северная” имеет самые низкие индексы разнообразия гаплотипов и уровень нуклеотидной изменчивости *COI* мтДНК, что является свидетельством прохождения через стадию “бутылочного горлышка”. Отсутствие признаков расселения моллюсков группы “Чивыркуйско-Баргузинская” из освоенной ими акватории может быть обусловлено наличием достаточного количества пищи, вследствие чего они не нуждались в миграции для ее поиска. Пищевые ресурсы в Чивыркуйском и Баргузинском заливах присутствуют в виде оседающего на дно отмершего планктона, растительного детрита, поступающего со стоками рек (Большой и Малый Чивыркуй, Большая и Малая Черемшаная, Баргузин), а также в виде животного детрита (трупы рыб).

Генетическая однородность особей группы “Чивыркуйско-Баргузинская” объяснима, возможно, близостью заливов (расстояние менее 100 км) и отсутствием крупных естественных преград между створами заливов по мористой стороне озера, что поддерживает высокий уровень панмиксии внутри группы и способствует повышению постоянства фенотипических признаков, характерных для этой группы.

Таким образом, из трех генетически выделенных групп среди байкальских гастропод *B. fragilis* две — “Средняя” и “Северная” — являются наиболее близкими по фенотипическим признакам, но занимают разные части видového ареала. Ареал третьей группы “Чивыркуйско-Баргузинская”, населяющей крупные заливы, перекрывается с ареалом группы “Северная”, с которой она различается генетическими дистанциями и фенотипическими признаками. Появление генетико-географических групп, произошедшее в результате неоднократного расселения исходной группы особей за сравнительно короткий промежуток времени (~600 тыс. лет), связано с геолого-климатической историей озера и поиском пищевых ресурсов. Возможно, выявленные генетические группы являются зарождающимися аллопатрическими (географическими) видами, формирование которых происходит внутри крупного континентального пресноводного водоема.

Авторы очень признательны руководителю группы подводных исследований ЛИН СО РАН И.В. Ханаеву за проведение траловых работ для сбора моллюсков, зав. лаб. биологии водных беспозвоночных ЛИН СО РАН, д.б.н., проф. О.А. Тимошкину за предоставление материала из Баргузинского залива, а также анонимному рецензенту за ценные замечания.

Работа выполнена в рамках тем госзадания ЛИН СО РАН (№ 0345-2016-0002, 0345-2016-0007) и гранта РФФИ (№ 15-29-02515).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Martens K., Couter G., Goddeeris B.* Speciation in Ancient Lakes – 40 years after Brooks // Arch. Hydrobiol. Adv. Limnol. 1994. V. 44. P. 75–96.
2. *Тимошкин О.А., Ситникова Т.Я., Русинек О.Т. и др.* Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Том I. Озеро Байкал, Кн. 1. Новосибирск: Наука, 2001. 832 с.
3. *Föller K., Stelbrink B., Hauffe T. et al.* Constant diversification rates of endemic gastropods in ancient Lake Ohrid: ecosystem residence likely buffers environmental fluctuation // Biogeosciences. 2015. V. 12. P. 7209–7222. doi 10.5194/bg-12-7209-2015
4. *Martens K.* Speciation in ancient lakes // Tree. 1997. V. 12. P. 177–182.
5. *Michel E.* Phylogeny of a gastropod species flock: exploring speciation in Lake Tanganyika in a molecular framework // Ancient Lakes: Biodiversity, Ecology and Evolution. Advances in Ecological Research. San Diego: Acad. Press; San Francisco: A Harcourt Science and Technology Company, 2000. P. 275–302.
6. *Schon I., Martens K.* Adaptive, pre-adaptive and non-adaptive components of radiations in ancient lakes: a review // Org. Divers. Evol. 2004. V. 4. P. 137–156. doi 10.1016/j.ode.2004.03.001
7. *Wilke T., Väinölä R., Riedel F.* Eds Patterns and Processes of Speciation in Ancient Lakes: Proc. Fourth Symp. Speciation in Ancient Lakes. Germany: Berlin, 2006 // Hydrobiol. 2006. V. 615. P. 1–3. doi 10.1007/s10750-008-9559-x
8. *Cristescu M.E., Adamowicz S.J., Vaillant J.J., Haffner D.G.* Ancient lakes revisited: from the ecology to the genetics of speciation // Mol. Ecol. 2010. V. 19. P. 4837–4851. doi 10.1111/j.1365-294X.2010.04832.x
9. *Попова С.М., Мац В.Д., Черняева Г.П. и др.* Палеолимнологические реконструкции. Байкальская рифтовая зона. Новосибирск: Наука, 1989. 111 с.
10. *Мац В.Д.* Геологические факторы формирования уникального биоразнообразия Байкала // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 томах. Т. II. Кн. 2. Водоемы и водооток юга Восточной Сибири и Северной Монголии. Новосибирск: Наука, 2011. С. 1406–1419.
11. *Логачев Н.А.* История и геодинамика Байкальского рифта // Геология и геофизика. 2003. Т. 44. № 5. С. 391–406.
12. *Карабанов Е.Б., Сиделева В.Г., Вильямс Д.Ф. и др.* Гляциальные экологические стрессы как механизм видообразования в озере Байкал // Третья Верещагинская Байкальская конф.: Тез. докл. Иркутск, 2000. С. 104.
13. *Хурсевич Г.К., Карабанов Е.Б., Прохоренко А.А. и др.* Детальная диатомовая биостратиграфия осадков озера Байкал в эпоху Брюнес и климатические факторы видообразования // Геология и геофизика. 2001. Т. 42. № 1–2. С. 108–129.
14. *Ситникова Т.Я., Старобогатов Я.И., Широкая А.А. и др.* Брюхоногие моллюски (Gastropoda) // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Том I. Озеро Байкал. Кн. 2. Новосибирск: Наука, 2004. С. 937–1002.
15. *Перетолчина Т.Е., Букин Ю.С., Ситникова Т.Я., Щербаков Д.Ю.* Генетическая дифференциация эндемичного байкальского моллюска *Baicalia carinata* (Mollusca: Caenogastropoda) // Генетика. 2007. V. 43. № 12. P. 1667–1675.
16. *Ситникова Т.Я., Шимараев М.Н.* О глубоководных “карлика” и “гигантах” среди байкальских эндемичных гастропод // Журн. общей биологии. 2001. Т. 62. № 3. С. 226–238.
17. *Avise J.C.* Phylogeography. The History and Formation of Species. Cambridge, MA: Harvard Univ. Press, 2000. 464 p.
18. *Hebert P.D.N., Ratnasingham S., de Waard J.R.* Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species // Proceed. Royal Soc. B: Biol. Sci. 2003. V. 270. P. 96–99. doi 10.1098/rsbl.2003.0025
19. *Layton K.K., Martel A.L., Hebert P.D.* Patterns of DNA Barcode variation in canadian marine molluscs // PLoS One. 2014. V. 9. № 4. e95003. doi 10.1371/journal.pone.0095003
20. *Eilertsen M.H., Malaquias M.A.E.* Speciation in the dark: diversification and biogeography of the deep-sea gastropod genus *Scaphander* in the Atlantic Ocean // J. Biogeogr. 2015. V. 42. P. 843–855. doi 10.1111/jbi.12471
21. *Whelan N.V., Strong E.E.* Morphology, molecules and taxonomy: extreme incongruence in pleurocerids (Gastropoda, Cerithioidea, Pleuroceridae) // Zool. Scr. 2016. V. 45. № 1. P. 62–87. doi 10.1111/zsc.12139
22. *Коваленкова М.В., Ситникова Т.Я., Щербаков Д.Ю.* Генетическая и морфологическая диверсификация гастропод семейства Baicaliidae // Экол. генетика. 2013. Т. 11. № 4. С. 3–11.
23. *Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular Cloning: A Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 545 p.
24. *Folmer O., Black M., Hoeh W. et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1994. V. 3. P. 294–299.
25. *Salim M., Maden B.E.* Nucleotide sequence of *Xenopus laevis* 18S ribosomal RNA inferred of gene sequence // Nature (London). 1981. V. 291. P. 205–208.
26. *Nazar R.N., Roy K.L.* Nucleotide sequence of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ribosomal 5.8S ribonucleic acid // J. Biol. Chem. 1978. V. 153. P. 395–399.
27. *Rozas J., Sanchez-DelBarrio J.C., Messeguer X., Rozas R.* DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods // Bioinformatics. 2003. V. 19. P. 2496–2497.
28. *Tajima F.* Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // Genetics. 1989. V. 123. P. 585–595.
29. *Fu Y.* Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection // Genetics. 1997. V. 147. P. 915–925.
30. *Excoffier L., Laval G., Schneider S.* Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinform. Online. 2005. V. 1. P. 47–50.

31. Bandelt H.-J., Forster P., Rohlf A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.
32. Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 2725–2729. doi 10.1093/molbev/mst197
33. Guindon S., Gascuel O. A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum-likelihood // *Syst. Biol.* 2003. V. 52. P. 696–704.
34. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // *Nat. Meth.* 2012. V. 9. № 8. P. 772. doi 10.1038/nmeth.2109
35. Wilke T. *Salenthydrobia* gen. nov. (Rissooidea: Hydrobiidae): a potential relict of the Messinian salinity crisis // *Zool. J. Linn. Soc.* 2003. V. 137. № 2. P. 319–336. doi 10.1046/j.1096-3642.2003.00049.x
36. Иззатуллаев З.И., Старобогатов Я.И. Род *Melanopsis* (Gastropoda, Pectinibranchia) и его представители, обитающие в водоемах СССР // *Зоол. журн.* 1984. Т. 63. № 10. С. 1471–1483.
37. Fazalova V., Nevado B., Peretolchina T. et al. When environmental changes do not cause geographic separation of fauna: differential responses of Baikalian invertebrates // *BMC Evol. Biol.* 2010. V. 10:320. doi 10.1186/1471-2148-10-320

Genetic and Morphological Heterogeneity of Lake Baikal Endemic Gastropod *Benedictia fragilis* (Dybowski, 1875)

V. I. Teterina*, N. V. Maximova, T. Ya. Sitnikova**, and S. V. Kirilchik

Limnological Institute, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia

*e-mail: veronika_t@inbox.ru

**e-mail: sit@lin.irk.ru

Baikal endemic *Benedictia fragilis* gastropods distributed in a wide range of depths (from sublittoral to abyssal) of three lake basins are studied. The analysis of the nucleotide sequence of the *COI* mitochondrial gene fragment and internal transcribed nuclear DNA spacer (ITS1) demonstrates that the studied gastropods are represented in Lake Baikal by three genetic groups. The results of the studies on genetic diversity, phenotypic traits, and distribution allow us to assume that the detected groups are incipient allopatric (geographical) species. On the basis of the data obtained and geological and climatic history of Baikal, possible pathways of the *B. fragilis* resettlement in the lake and the emergence of three genetic groups are hypothesized. English translation of the paper published in *Russian Journal of Genetics*, 2017, Vol. 53, No. 5, is available ONLINE by subscription from: <http://www.springer.com/>, <http://link.springer.com/journal/11177>

Keywords: *Benedictia fragilis*, *COI*, ITS1, genetic polymorphism, shell morphology, phenotypic variability.