

На правах рукописи
Ворошилова

ВОРОШИЛОВА (СЕРГЕЕВА) Ирина Сергеевна

**ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ
ПОСЕЛЕНИЙ *DREISSENA POLYMORPHA* (PALLAS, 1771) СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ
ГРАНИЦЫ АРЕАЛА ВИДА**

03.00.16 – экология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Борок – 2008

Работа выполнена в Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор

Яковлев Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук
кандидат биологических наук

Крылов Александр Витальевич

Кодолова Ольга Павловна

Ведущая организация:

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Защита состоится 17 февраля 2009 г. в 14.00 часов на заседании Диссертационного совета ДМ 002.036.01 при Институте биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина по адресу: 152742 п. Борок Некоузского р-на Ярославской области
Тел/факс (48547) 24042

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

Автореферат разослан « » _____ 2009 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Л.Г. Корнева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Разносторонняя хозяйственная деятельность человека и глобальные изменения климата приводят к значительному преобразованию водных экосистем, расширению границ ареала гидробионтов в результате их случайной или преднамеренной интродукции. К одному из видов, активно расселяющихся в расселяющихся последние десятилетия XX в. относится двустворчатый моллюск *Dreissena polymorpha* Pallas. Образую массовые скопления в виде друз, дрейссена оказывает сильное влияние на сообщество гидробионтов. Изучению различных аспектов жизнедеятельности этого вида посвящена обширная литература. В связи с серьезными экологическими и экономическими последствиями вселения дрейссены вопрос об изменениях границ ареала вида остается одним из самых актуальных.

Считается, что северная граница современного ареала дрейссены в бассейне Балтийского моря проходит по 62⁰с.ш., а на востоке – несколько южнее, по Рыбинскому водохранилищу (59⁰с.ш.) (Старобогатов, Андреева, 1994). Однако поселения дрейссены неоднократно находили за пределами указанных границ (Кучина, 1964; Стальмакова, 1977; Выгорова, 1977; Слепухина, Выгорова, 1981).

Согласно литературным данным, самое северное поселение дрейссены в реке Северной Двине существует за счет случайного заноса особей, которые не могут основать здесь устойчивую популяцию (Старобогатов, Андреева, 1994). Однако поселения моллюска в Северной Двине находили неоднократно, а источник заноса особей до сих пор не известен (Кучина, 1964; Сергеева, 2005).

В качестве возможных источников расселения этого вида на север указывают бассейн Волги (Андрусов, 1897; Скориков, 1903; Мордухай-Болтовской, 1960). Для изучения путей расселения видов, начиная с 1990-х годов, успешно применяют анализ митохондриальной ДНК (обзор: Сулимова, 2004). К настоящему времени в широком географическом масштабе изучено разнообразие гаплотипов локуса мтДНК, кодирующего первую субъединицу фермента цитохром оксидазы *D. polymorpha*. В качестве наиболее вероятного источника популяций в Верхней Волге предполагают бассейн Черного моря (Биологические инвазии..., 2004; May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006). Другой немаловажный аспект изучения краевых популяций – их роль в процессах видообразования. Рассматривая этот вопрос, Э. Майр подчеркивал, что изучению границ ареала видов как научной проблеме уделяли мало внимания (Майр, 1974). Существует предположение, что в краевых малочисленных популяциях процессы видообразования происходят значительно быстрее, чем в основной части ареала. Таким образом, в качестве одного из наиболее актуальных направлений изучения можно отметить выявление морфологических и генетических особенностей краевых поселений *D. polymorpha*.

Цель исследования. Цель нашей работы – сопоставить морфологические и генетические особенности популяций *D. polymorpha* на северной границе и в исходной части современного ареала.

Для выполнения этой цели поставлены следующие **задачи:**

1. Уточнить северные границы современного распространения *D. polymorpha* на территории России.
2. Проанализировать направления расселения *D. polymorpha* путем изучения разнообразия внутри фрагмента митохондриального генома, содержащего locus COI.
3. Установить морфологические и фенотипические особенности поселений *D. polymorpha* в разных типах биотопов северо-восточной части ареала вида.
4. Сравнить уровни внутривидового разнообразия в близлежащих и географически удаленных поселениях моллюска.

Научная новизна. При выполнении работы впервые обобщены данные о существовании поселений *D. polymorpha* за пределами границы ареала вида, указанной Я.И. Старобогатовым и С.И. Андреевой (1994), проведено комплексное исследование этих поселений с применением методов морфологии и анализа фрагмента нуклеотидной последовательности первой субъединицы гена цитохром оксидазы митохондриальной ДНК (COI мтДНК). В ходе работы по теме диссертации разработана и применена схема анализа генетического полиморфизма для локуса COI мтДНК *D. polymorpha* с применением метода аллель-специфической ПЦР (АС-PCR) и рестриктового анализа, позволяющая выявить варианты нуклеотидных последовательностей (или гаплотипы) ранее обнаруженные в популяциях дрейссены Нижней Волги и Днепро-Бугского лимана.

В работе показано, что самое северное из известных поселений *D. polymorpha* (64° с.ш.) воспроизводится самостоятельно. В поселениях северо-восточной периферии ареала впервые обнаружен каспийский гаплотип мтДНК локуса COI, что доказывает расселение дрейссены на север из бассейна Волги. Кроме того, в периферических поселениях путем секвенирования найден новый гаплотип, отсутствующий в других частях ареала вида. Результаты работы позволяют выдвинуть гипотезу о существовании реликтовой популяции, из которой происходило расселение *D. polymorpha* на север.

Практическая значимость. Применение разработанной нами схемы анализа нуклеотидной последовательности локуса COI мтДНК позволяет обойтись без массового секвенирования, существенно сократить затраты на выполнение популяционных исследований *D. polymorpha*.

Материалы работы применены в вузовских лекционных курсах и практикумах по экологии. Результаты данной работы могут быть использованы для прогнозирования дальнейшего расселения вида и его последствий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В приустьевом участке Северной Двины (64⁰ с.ш.) существует самовоспроизводящаяся популяция *D. polymorpha*.
2. Популяции моллюска на периферии ареала отличаются не менее высоким уровнем фенотипического и морфологического разнообразия, чем в исходной части ареала.
3. Различия морфологических признаков на микрогеографическом уровне сопоставимы с таковыми между географически удаленными популяциями.

Апробация работы. Предварительные результаты исследований заслушаны на семинарах лабораторий популяционной генетики Института общей генетики РАН (Москва, 2006) и эволюционной экологии Института биологии внутренних вод РАН (Борок, 2008). Кроме того материалы диссертации докладывались на шести конференциях: Вторая всероссийская научно-техническая конференция «Вузовская наука – региону» (Вологда, 2004); Молодежная научная конференция «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2004); Молодежная научная конференция «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2005); Седьмое (Шестнадцатое) Совещание по изучению моллюсков. «Морские, пресноводные и наземные моллюски: Современные результаты исследований в области таксономии, экологии и филогении» (Санкт-Петербург, 2006); XIII Международная школа-конференция «Биология внутренних вод», (Борок, 2007); I Международная школа-конференция «Дрейссениды: эволюция, систематика, экология» (Борок, 2008).

Стендовые доклады представлены на трех конференциях: Научно-практическая конференция «Проблемы особо охраняемых природных территорий европейского севера (к 10-летию национального парка «Югыд Ва»)» (Сыктывкар, 2004); «Экологические проблемы северных регионов и пути их решения» (Апатиты, 2004); Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов европейского севера» (Вологда, 2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы, включающего 195 источников. Содержание работы изложено на 160 страницах текста, включая 16 таблиц, 21 рисунок, 8 приложений.

Личный вклад соискателя. При выполнении настоящей работы автором собраны выборки из шести поселений дрейссены, проведен анализ формы (452 особи), рисунка и окраски раковин (2173 особи), выявление нуклеотидных замен в фрагменте первичной последовательности локуса локуса COI, мтДНК (382 особи). Под руководством сотрудника ИОГен В.С. Артамоновой проведено тестирование аллель-специфических праймеров и подобраны условия для проведения аллель-специфической полимеразной цепной реакции.

Благодарности. Хочу выразить искреннюю признательность В.С. Артамоновой и А.А. Махрову за организацию стажировок, консультации и всестороннюю поддержку на протяжении всех этапов работы. Особую благодарность выражаю В.С. Артамоновой за обучение методам анализа ДНК, помощь в разработке аллель-специфических праймеров и разработке схемы изучения генетического разнообразия локуса COI мтДНК, а также за помощь в осмыслении результатов генетического анализа. Я благодарна моему научному руководителю, д.б.н. В.Н. Яковлеву, который помог мне сформулировать и раскрыть основную идею моей работы. За помощь в работе над рукописью диссертации хочется поблагодарить Е.А. Боровикову. Моя искренняя признательность — заведующему лабораторией эволюционной экологии ИБВВ РАН Ю.В. Слынько за консультации, а также всем сотрудникам лаборатории за дружеское отношение и поддержку. За ценные советы и замечания при выполнении работы я благодарна д.б.н. Н.Л. Болотовой, д.б.н. В.Г. Терещенко, к.б.н. А.Н. Касьянову, С.А. Макарову. За помощь в сборе материала выражаю мою искреннюю признательность сотрудникам Вологодской лаборатории ФГНУ ГосНИОРХ к.б.н. А.Ф. Коновалову, к.б.н. М.Я. Борисову, О.В. Болотову, а также В.А. Черепанову, Ю.Н. Рогалеву, д.б.н. Д.Л. Лайусу, А.Н. Широкову, сотрудникам ИБВВ РАН: к.б.н. Ю.В. Слынько, к.б.н. В.Б. Вербицкому, к.б.н. Г.Х. Щербине, Д.П. Карабанову. За помощь в подборе литературы – д.б.н. А.А. Протасову.

Благодарю также сотрудника Коми научного центра Уро РАН А.Б. Новаковского за предоставленную возможность использовать в работе программный модуль «Graphs».

ГЛАВА 1. ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ В ИЗУЧЕНИИ ИСТОРИИ РАССЕЛЕНИЯ И ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ *D. POLYMORPHA*

Палеобиогеография дрейссенид. В бассейне Понтокаспия, на северной границе ареала рода *Dreissena*, сформировался вид *D. polymorpha*, который в дальнейшем неоднократно расселялся по речным системам (Андрусов, 1897; Старобогатов, Андреева, 1994). Одно из наиболее масштабных расселений произошло в плейстоцене. Похолодание (рисское по альпийской системе) привело к значительному расширению бассейнов Дона, Волги и Днепра. Это позволило виду *D. polymorpha* расселиться в верховья этих рек за период межледниковья (Старобогатов, Андреева, 1994). Новое наступление ледника и последующее его таяние, сопровождавшееся большим потоком вод с минеральной взвесью, оттеснили вид далеко на юг (Дексбах, 1935; Мордухай-Болтовской, 1960; Старобогатов, Андреева, 1994).

Расселение дрейссены в исторический период. Существует предположение о реликтовом происхождении поселений дрейссены в западной Европе, сохранившихся с доисторического периода (Жадин, 1933). В то же время большинство исследователей считает, что дрейссена расселилась в Балтийском регионе и в Западной Европе из Волги (Скориков, 1903; Мордухай –

Болтовской, 1960 и др.) или из Днепра (Овчинников, 1933; Дексбах, 1935 и др.) после сооружения судоходных каналов.

В настоящее время дрейссена встречается далеко за пределами своего исторического ареала. Возможно, этому способствовала широкая экологическая пластичность вида, сформировавшегося в регионе с периодическими трансгрессиями (Gelembiuk et al., 2006).

Морфологический подход в изучении популяционной структуры поселений моллюсков.

Одним из направлений применения морфологического подхода для анализа популяций *D. polymorpha* стало изучение географического разнообразия вида (Биоцино, 1990; Биоцино, Слынько, 1990; Smirnova et al., 1993; Ludyanskiy, 1993; Протасов, 2000).

В результате исследований популяции дрейссены из системы водоемов-охладителей тепловых электростанций выявлено влияние техногенных факторов на формирование субпопуляционных групп (Протасов, 1998; Протасов, Сеницына, 2000а; Протасов, Сеницына, 2000б; Протасов, 2002; Протасов, Сеницына, 2002).

В условиях с разным режимом солености дрейссены описаны вариации вида *D. polymorpha* (Pallas). Показано, что у всех дрейссен, обитающих в солоноватых водах, с повышением концентрации хлора уменьшается содержание органических веществ и, соответственно, раковина становится тоньше (Карпевич, 1955).

С использованием эколого-физиологических и морфологических характеристик выявлена популяционная структура поселений *Dreissena p. polymorpha*, обитающих в системе Волги (Шкорбатов, Антонов, 1980; Антонов, Шкорбатов, 1983; Шкорбатов, 1986).

Оценка структуры популяций *D. polymorpha* с использованием биохимических и молекулярно-генетических маркеров. С начала 1990-х годов для изучения путей расселения и оценки уровня дифференциации поселений стали применять оценку аллельного разнообразия аллозимных локусов и молекулярные маркеры (RAPD, AFLP, микросателлиты, изучение первичной последовательности участков мтДНК).

Применение биохимических и молекулярных методов позволило оценить уровень генетической дивергенции между поселениями из различных участков ареала (обзор: Marsden et al., 1996; Müller et al., 2001; Müller et al., 2002; Stepien et al., 2002; Astanei et al., 2005 и др.). Одним из основных направлений стало выявление источника возникновения европейских и американских популяций. Однако идентификация источника популяций *D. polymorpha* возможна только в том случае, когда популяция основателя представлена уникальными аллелями или гаплотипами (Marsden et al., 1996). Результаты анализа первичной последовательности локуса первой субъединицы цитохром оксидазы митохондриальной ДНК (COI мтДНК), полученные

американскими исследователями (May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006) показали, что в анатолийских тектонических озерах существуют популяции *Dreissena p. anatolica*, *Dreissena p. gallandi*, отличающиеся уникальным набором гаплотипов (May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006). Эндемичные гаплотипы локуса COI мтДНК (С, D и D2) обнаружены также и в поселениях *Dreissena p. polymorpha* бассейна Каспийского моря (May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006).

На основании распределения частот гаплотипов локуса COI мтДНК, а также других маркеров в качестве основного источника расселения *D. polymorpha* в Европе и Северной Америке предполагается бассейн Черного моря (Marsden et al., 1996; Astaneï et al., 2005; May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор и хранение материала. Моллюсков собирали в 2004 – 2006 гг. в водоемах, относящихся к бассейнам Белого, Каспийского морей, Балтийского морей (рис. 1). Время сбора материала и объемы выборок указаны в табл. 1.

Для сбора моллюсков использовали трапециевидную драгу, собирали с бесхозных ставных сетей, случайно обнаруженных при драгировании, а также выбирали из донного рыболовецкого трала и из используемых ставных сетей при их осмотре. В некоторых случаях (выборки из исходного ареала) применяли ручной сбор с естественных субстратов. Скорость течения в местах сборов не превышала 0,5 м/с.

Мягкие ткани каждой особи фиксировали в 96% этаноле (1:5). Створки раковин моллюсков высушивали на воздухе при комнатной температуре.

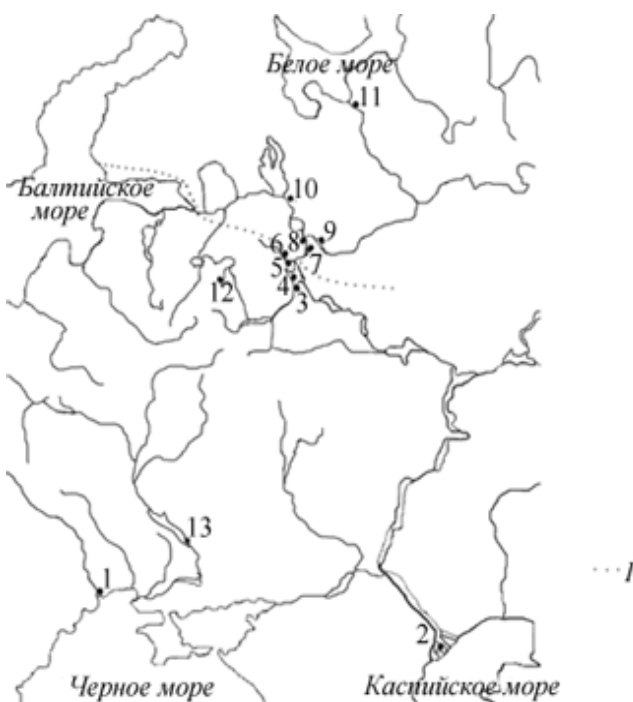


Рис. 1. Места сбора материала

Станции: 1 - Днестровский лиман, 2 - Нижняя Волга (Астрахань), 3 - устье р. Сутки (Рыбинское водохранилище), 4 – у пос. Брейтово (Рыбинское водохранилище), 5 - р. Суда, 6 - водоем-охладитель ЧГРЭС (р. Суда), 7 - Сизьменский разлив (Шекснинское водохранилище), 8 - р. Шексна (Шекснинское водохранилище), 9 - Кубенское озеро, 10 - устье р. Нагажма (Белоусовское водохранилище), 11 - р. Северная Двина; 12 – оз. Ужин; 13 – р. Днепр; / – граница ареала *D. polymorpha*, указанная в монографии (Старобогатов, Андреева, 1994)

Таблица 1. Время сбора материала, объем выборок *D. polymorpha*

Станции	Морской бассейн	Время сбора материала (год, месяц)	Субстрат	Глубина, с которой собраны выборки	N _F	N _M	N _D
1	Ч	2005, XII	-	-	103	32	36
2	К	2006, IX	Песчаный	До 1,5м	100	30	32
3	К	2006, I	Песчаный	До 3м	150	30	40
4	К	2006, X	Илистый	13м	186	34	-
5	К	2004, IX	Илисто-гравийный	1-3м	159	30	27
6	К	2004, IX	Илисто-гравийный	1-3м	173	51	33
7	К	2005, VIII	Ставная сеть	3м	270	32	34
8	К	2004, VIII	Илистый	1-3м	253	53	34
9	Бел.	2003, X	Илистый, став. сеть	1-3м	255	34	29
10	Балт.	2004, VIII	Песчаный	1-3м	251	72	29
11	Бел.	2004, IX	Ставная сеть	1-3м	273	54	28
12	Балт.	2006, VIII	-	-	-	-	31
13	Ч	2006, IX	Древесный	-	-	-	29

Примечание. Обозначения станций как на рис. 1. N_F – объем выборки для изучения фенотипической структуры популяции; N_M – объем выборки для анализа формы раковины; N_D – объем выборки для генетического анализа. Морские бассейны: Ч – Черноморский, К – Каспийский, Бел. – Беломорский, Балт. – Балтийский.

Методы изучения морфологии раковины. Фенотипическое разнообразие оценивали по двум системам описания рисуночного фенотипа (Биочино, Слынько, 1990; Протасов, Горпинчук, 1997). В соответствии с первой системой учитывали пять типов окраски и рисунка раковины: темной и светлой без рисунка, с дуговидным, зубчатым и радиальным рисунком (Биочино, Слынько, 1990). Вторая схема основана на выделении элементов, составляющих рисунок раковины (Протасов, Горпинчук, 1997). Полученные данные использовали для расчета значения показателя J/G, отражающего соотношения двух вариантов фенотипов – с волнообразным и дуговидным рисунком (Протасов, 2002). Дополнительно определяли коэффициент меланизации K_m, предложенный А.А.Протасовым. При расчете K_m интенсивность окраски раковины подразделяли на семь градаций, далее учитывали частоты каждой из них (Протасов, 1998). Для особей с темной окраской при обработке перед подсчетом и регистрацией признаков проводили механическую очистку поверхности раковины с целью удаления инородных наслоений.

Форму раковины описывали с помощью стандартных промеров раковин двустворчатых моллюсков: высоты (H), длины раковины (L), выпуклости двух створок (C). На основе этих промеров рассчитывали соотношения показателей H/L, C/L, H/C. Измеряли угол носика и

апикальный угол (Скарлато и др., 1990). Форму раковины анализировали на особях размерной группы $L = 21-25$ мм.

Анализ генетического разнообразия. Тотальную клеточную ДНК из тканей, фиксированных этанолом (1:5), выделяли методом фенол-хлороформной экстракции (<http://www.fermentas.com/techinfo/modifyingenzymes/protocols/>).

Для анализа генетического разнообразия мтДНК использован участок митохондриального генома, кодирующий первую субъединицу фермента цитохромоксидазы (COI). ПЦР-фрагмент длиной 710 п.н. синтезировали с использованием праймеров, приведенных в работе (Therriault et al., 2004): F: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3', R: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'. Амплификацию проводили в соответствии с программой, использованной в статье (Therriault et al., 2004).

Анализ полиморфизма мтДНК проводили с использованием рестриктазы *DraI* и аллель-специфических праймеров, которые были разработаны в рамках данной работы и приводятся в 5 главе.

Для восьми образцов полноразмерного фрагмента митохондриального локуса COI выполнен анализ первичной последовательности ДНК. Для всех образцов последовательность прочитана с прямого праймера, указанного в статье Терриault с соавторами (Therriault et al., 2004): F 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'. Просмотр хроматограмм с результатами секвенирования и чтение нуклеотидной последовательности проводили с использованием программы SeqMan 4.00 (DNASTAR. Inc.).

Статистическая обработка данных. При анализе фенетического разнообразия вычисляли внутривидовое разнообразие (μ) и выборочную ошибку этого показателя (Животовский, 1982). Для расчета значений этого показателя каждая выборка включала по сто особей моллюсков. Сходство в распределении частот фенотипов рисунка и окраски раковины определяли с помощью показателя сходства (r). Значимость различий между частотами фенотипов оценивали по критерию идентичности (I) (Животовский, 1982). Для выявления зависимости фенотипических показателей от географического расположения точек исследования применяли расчет коэффициента корреляции (r). Статистическую значимость отличия коэффициентов корреляции от нуля оценивали с помощью критерия Стьюдента (t_{st}) (Ивантер, Коросов, 2003).

При изучении формы раковины рассчитывали среднее арифметическое значение показателей (Ивантер, Коросов, 2003). Сравнение средних арифметических проводили по критерию T Стьюдента. При вычислениях в среде Excel использовали гетероскедастический тип критерия. Уровень варьирования основных параметров формы раковины оценивали с помощью стандартного отклонения. Для сравнения дисперсий использовали критерий Фишера (Ивантер, Коросов, 2003).

Для анализа морфологического разнообразия формы раковины дрейссены использована визуализация данных с помощью метода главных компонент в программе Statistica 6.0.

Достоверность различий частот гаплотипов мтДНК оценивали с помощью модифицированного критерия «хи-квадрат» для малых выборок (Животовский, 1991).

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА УСЛОВИЙ ОБИТАНИЯ *D. POLYMORPHA* В ВОДОЕМАХ СЕВЕРНОЙ ПЕРИФЕРИИ АРЕАЛА

Распространению *D. polymorpha* в северных регионах способствует густая гидрографическая сеть, а также наличие каналов, соединяющих бассейны трех морей: Белого, Каспийского и Балтийского. Считается, что на северо-востоке граница существования устойчивых поселений проходит по 58 - 59⁰с.ш. (Старобогатов, Андреева, 1994; Харченко, 1995). Тем не менее, в 2004 – 2005 годах за пределами указанных границ поселения дрейссены обнаружены в Северной Двине (25 км от устья), озерах Северо-Двинского водного пути (Кубенском и Сиверском), Шекснинском и Белоусовском водохранилищах Волго-Балтийской водной системы. В северных водоемах нами найдены лишь небольшие разрозненные скопления, включающие до трех друз по 20-30 особей. Такие скопления найдены в Кубенском озере, Белоусовском водохранилище, водоеме-охладителе Череповецкой ГРЭС, на бесхозных ставных сетях в Сизьменском разливе Шекснинского водохранилища и в Северной Двине. Живые особи *D. polymorpha* севернее Рыбинского водохранилища обнаружены только в участках с низкой скоростью течения, на глубине от 1,5 до 5м, на илистых, илисто-гравийных, илисто-песчаных грунтах.

Считается, что расселение дрейссены на север ограничено неблагоприятными для данного вида температурными условиями. Действительно, минимальная температура, необходимая для роста и развития дрейссены, составляет +10⁰С (Алимов, 1974; Львова, Макарова, 1994). Для начала нереста дрейссены во всех частях ареала необходима температура +15⁰С и сумма градусодней 2500⁰ (Львова, Макарова, 1994). В Северной Двине температурные условия, необходимые для начала нереста, складываются в июле – августе. В озерах Северо-Двинского водного пути и водоемах Волго-Балтийской водной системы размножение моллюска может начинаться с конца июня.

Не исключено, что в некоторых водоемах размножение происходит не каждый год. Так, мелкие особи, длиной до 15 мм единично встречались в Шекснинском водохранилище и Северной Двине, тогда как в других водоемах северной периферии ареала их доля достигала от 19 до 50%, а в Рыбинском водохранилище – 43 - 71%.

В целом для мелководных водоемов северной части Волго-Балтийского водного пути и Северо-Двинской водной системы характерно интенсивное протекание процессов накопления илистых отложений (Болотова и др., 2001; Болотова, 2003; Болотова, Коновалов, 2005). В связи с

этим причиной, ограничивающей дальнейшее расселение и массовое развитие вида, может стать недостаточное количество твердых субстратов для прикрепления особей и неблагоприятный кислородный режим участков с илистым грунтом. В основной части ареала на илистых грунтах *D. polymorpha* способна образовывать особый тип субстрата – заиленный ракушечник, на который могут прикрепляться оседающие велигеры (Burlakova et al., 2006). Заиленный ракушечник с преобладанием пустых створок *D. polymorpha* из водоемов, расположенных севернее 59⁰с.ш., обнаружен только в отдельных участках Кубенского озера. Следует отметить, что живых особей на этом субстрате не найдено. На илистом грунте Шекснинского водохранилища и устьевом участке р. Суды наряду с одиночными особями присутствовали мелкие друзы (до 10 особей в каждой). Обычно такие поселения возникают там, где происходит элиминирование дрейссены или же при заселении незанятого субстрата (Протасов, Афанасьев, 1984).

Из гидрохимических характеристик водной среды *D. polymorpha* наиболее чувствительна к концентрации ионов кальция, величине pH, насыщению воды кислородом (обзор: Mackie, Shloesser, 1996; Шкорбатов и др., 1994; Jones, Ricciardi, 2005). В отношении этих показателей гидрохимический режим указанных выше водоемов в целом благоприятен для роста и размножения дрейссены. Однако зимой в отдельных участках процент насыщения воды кислородом может достигать и быть ниже критической для вида величины 25%.

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ В ИЗУЧЕНИИ СТРУКТУРЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ДРЕЙССЕНЫ

Влияние условий обитания на форму раковины *D. polymorpha*. Биотопы, в которых собраны выборки дрейссены различались по температурным (южные и северные поселения, выборки из водоема-охладителя ЧГРЭС и участка реки, расположенного ниже по течению), гидродинамическим особенностям (озеро, река), типу субстрата (мягкий илистый, гравийный, песчаный) и глубине. Тем не менее, использование метода главных компонент в данном случае не позволило выделить какие-либо группы поселений дрейссены (рис. 2).

При сравнении средних арифметических значений показателей формы раковины выявлены значимые различия для поселений на илистом и песчаном субстратах. Установлено, что раковины моллюсков с илистого грунта реки Шексны наиболее выпуклые и высокие.

Выборка из Кубенского озера отличалась от других более сжатой раковиной с низким апикальным углом и широким углом носика. Возможно, что на форму раковины моллюсков оказали влияние гидродинамические особенности Кубенского озера (сильное влияние ветровых течений в мелководном озере).

Значения стандартных отклонений для значений показателей формы раковины в отдельных поселениях у *D. polymorpha* в северной части ареала могут быть выше, чем в исходном ареале.

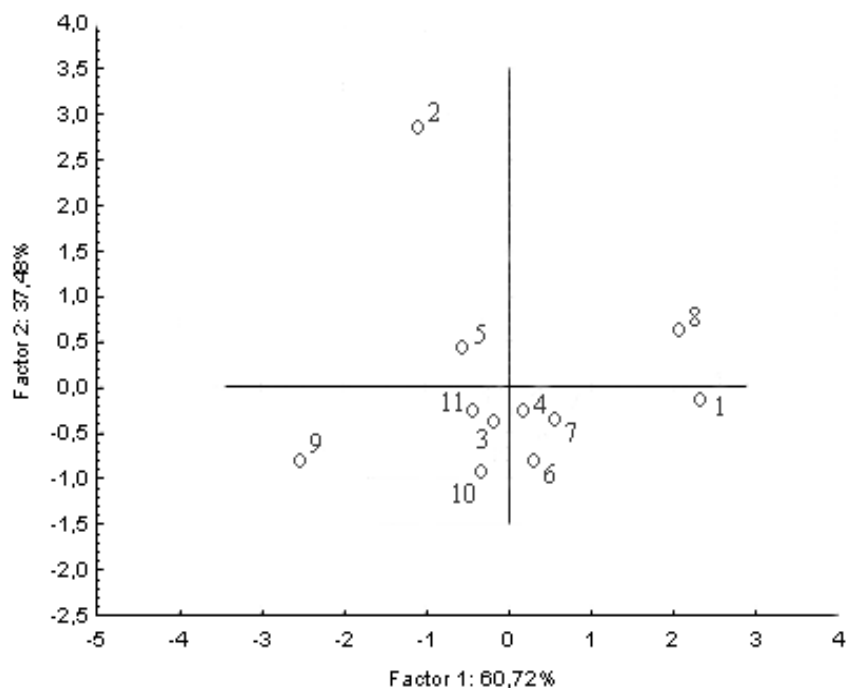


Рис. 2. Распределение выборок *D. polymorpha* в пространстве двух первых главных компонент.

Применение фенотипического подхода для изучения структуры популяций *D. polymorpha*. В исследуемых нами популяциях преобладали особи с дуговидными и зигзагообразными полосами. Моллюски с радиальным рисунком найдены только в поселениях из Северной Двины и Рыбинского водохранилища. Во всех выборках отсутствовали светлые особи без рисунка. Дрейссена с илистого грунта реки Шексны отличалась большим количеством темных безрисуночных особей. Согласно нашим данным частоты фенотипов (по схеме Биочино, Слынько, 1990) в выборках дрейссены из различных участков Рыбинского водохранилища и его притоков в большинстве случаев сходны. Тем не менее, близлежащие поселения из р. Суды и водоема-охладителя Череповецкой ГРЭС различались достоверно.

Кроме того, значимо различались и выборки, взятые из двух разных локальностей Шекснинского водохранилища: речной части и Сизьменского разлива. При этом различия между географически удаленными поселениями из Нижней Волги и Сизьменского разлива, из Нижней Волги и Суды незначимы (рис. 3).

С применением второй схемы описания рисуночных фенотипов (Протасов, 2000) показатели сходства при сравнении некоторых выборок из географически удаленных участков (Днестровский лиман и водоем-охладитель ЧГРЭС ($r=0.779$), дельта Волги и Сизьменский разлив Шекснинского водохранилища ($r=0.809$)) не меньше, чем для поселений в пределах Шекснинского водохранилища ($r=0.756$). Однако различия между всеми выборками статистически значимы. Доля редких фенотипов максимальна в выборке из Северной Двины (табл. 2).

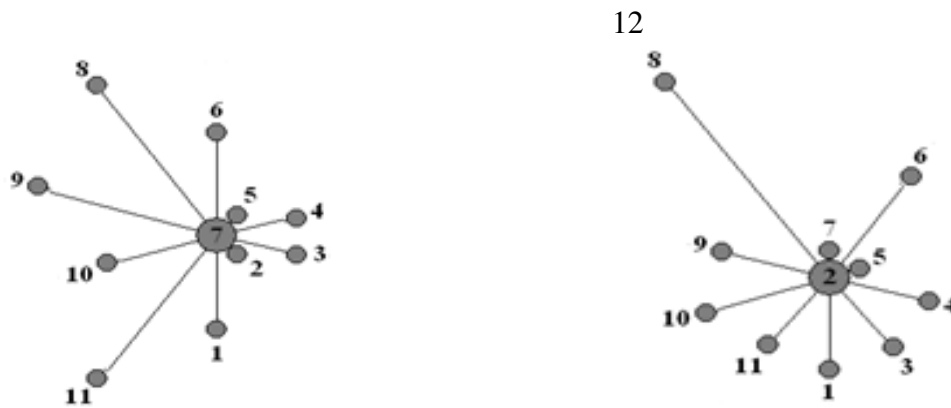


Рис. 3. Сходство частот фенотипов *D. polymorpha* выборки из Сизьменского разлива (справа) и Нижней Волги (слева) с другими исследуемыми выборками.

Примечание. Фенотипы описаны по схеме, указанной в работе (Биоцино, Слынько, 1990). Граф построен на основе показателей сходства популяций (r). Минимальное расстояние между точками соответствует наибольшему сходству частот фенотипов в исследуемых поселениях. Станции: 1 - Днестровский лиман, 2 - Нижняя Волга (Астрахань), 3 - устье р. Сутки (Рыбинское водохранилище), 4 - у пос. Брейтово (Рыбинское водохранилище), 5 - р. Суда, 6 - водоем-охладитель ЧГРЭС (р. Суда), 7 - Сизьменский разлив (Шекснинское водохранилище), 8 - р. Шексна (Шекснинское водохранилище), 9 - Кубенское озеро, 10 - устье р. Нагажма (Белоусовское водохранилище), 11 - р. Северная Двина.

Таблица 2. Частоты наиболее распространенных фенотипов в выборках *D. polymorpha*.

Фенотипы	Станции										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
CDGK	0,06	0,10	0,19	0,18	0,22	0,16	0,03	0,06	0,22	0,14	0,08
CDGF	0,03	0,11	0,07	0,04	0,03	0,03	0,16	0,13	0,20	0,10	0,09
CDG	0,69	0,44	0,27	0,26	0,39	0,49	0,47	0,24	0,11	0,20	0,20
CDGKF	0,04	0,15	0,11	0,22	0,07	0,01	0,08	0,06	0,11	0,17	0,15
CDGKJ	0,02	0,02	0,12	0,17	0,04	0,00	0,04	0,01	0,12	0,20	0,12
D2	0,01	0,01	0,04	0,04	0,04	0,19	0,03	0,45	0,08	0,02	0,00
РЕДКИЕ	0,16	0,16	0,20	0,08	0,21	0,12	0,19	0,06	0,16	0,16	0,36

Примечание. Обозначения станций как на рис. 3

Коэффициент меланизации Протасова (1998), варьировал для разных популяций в широких пределах. Различия по уровню меланизации значимы между всеми выборками. Наименее меланизированными оказались моллюски из р. Северной Двины и Белоусовского водохранилища – самых северных поселений *D. polymorpha*, известных в настоящее время (рис. 4). При этом данные выборки отличались от других и более высокими значениями показателя J/G (соотношение волнообразного и дуговидного типов рисунка). Из всех рассматриваемых признаков окраски и рисунка раковины лишь значения коэффициента J/G (рис. 4), возрастают с юга на север ($r=0,66$, $p<0,05$).

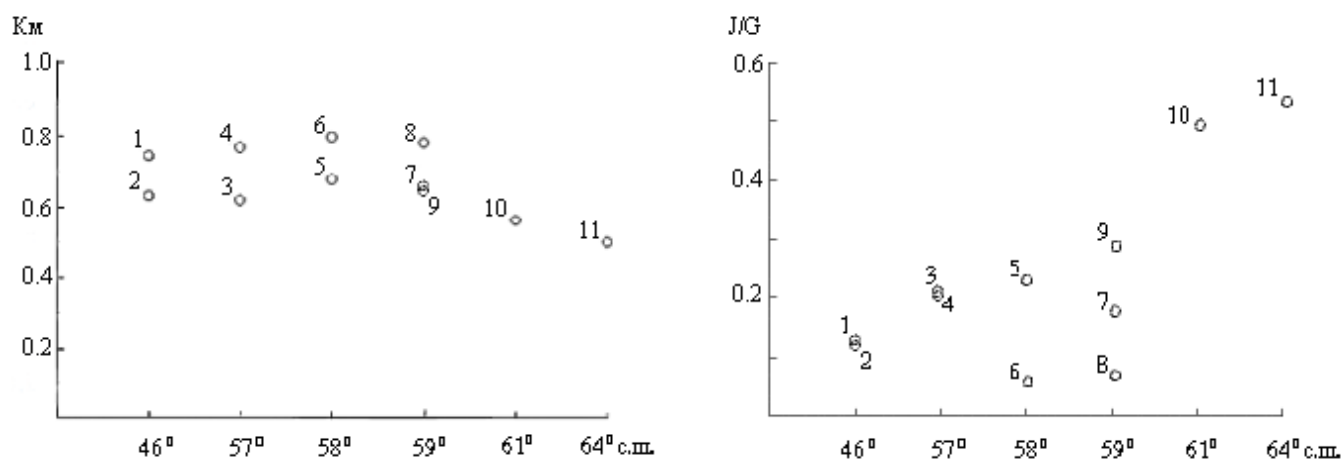


Рис. 4. Значения коэффициента меланизации раковины (Км) и показателя соотношения волнообразного и дуговидного типов рисунка (J/G) в выборках *D. polymorpha*.

Станции: 1 - Днестровский лиман, 2 - Нижняя Волга (Астрахань), 3 - устье р. Сутки (Рыбинское водохранилище), 4 - у пос. Брейтово (Рыбинское водохранилище), 5 - р. Суда, 6 - водоем-охладитель ЧГРЭС (р. Суда), 7 - Сизьменский разлив (Шекснинское водохранилище), 8 - р. Шексна (Шекснинское водохранилище), 9 - Кубенское озеро, 10 - устье р. Нагажма (Белоусовское водохранилище), 11 - р. Северная Двина.

Показатели внутривидового разнообразия (по фенотипам рисунка раковины) приведены в таблице 3. Взаимосвязь внутривидового разнообразия с географической широтой расположения поселений статистически не достоверна.

Таблица 3. Внутривидовое разнообразие (μ) в исследуемых выборках *D. polymorpha*

Станции	$\mu \pm s_{\mu}$
1. Днестровский лиман	6,34 \pm 0,54
2. Нижняя Волга (Астрахань)	8,66 \pm 0,55
3. Рыбинское вдхр. (устье р. Сутки)	8,83 \pm 0,44
4. Рыбинское вдхр. (Брейтово)	7,33 \pm 0,44
5. р. Суда	10,07 \pm 0,54
6. Водоем-охладитель ЧГРЭС (р.Суда)	6,46 \pm 0,41
7. Сизьменский разлив (Шекснинское вдхр.)	8,63 \pm 0,45
8. Шекснинское вдхр.	4,26 \pm 0,27
9. Кубенское озеро	9,59 \pm 0,57
10. Устье р. Нагажмы (Белоусовское вдхр.)	7,54 \pm 0,33
11. р. Северная Двина	9,33 \pm 0,50

**ГЛАВА 5. АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *D. POLYMORPHA* ПО
ЛОКУСУ мтДНК, СОДЕРЖАЩЕМУ ГЕН COI.**

Разработка метода анализа генетического разнообразия *D. polymorpha*. К моменту начала нашей работы участок митохондриального генома, содержащий ген COI, секвенирован у целого ряда особей *D. polymorpha* из популяций дельты Волги, Днепра, Днестра, Ингула, Буга, Горьковского водохранилища. При этом в составе фрагмента длиной 710 п.н. было обнаружено всего два полиморфных участка: это замены нуклеотидов в положениях 31 и 333 (Gen Bank: AF 510508, AF 510509, AF 510510).

Вариация нуклеотида в положении 31 может быть зарегистрирована рестриктным анализом по *DraI*. В случае нуклеотида А (аденин) в данном положении происходит расщепление полноразмерного фрагмента на две части, а в случае нуклеотида G (гуанин) расщепления не происходит (рис. 5).

Вариации нуклеотидов в положении 333 не могут быть зарегистрированы рестриктным анализом, поэтому с целью выявления различных гаплотипов митохондриальной ДНК по данному точечному локусу мы применили метод аллель-специфической ПЦР.

Для регистрации одного из двух возможных нуклеотидов С или G в положении 333 были разработаны два прямых аллель-специфических праймера, каждый из которых содержал на 3'-конце нуклеотид, соответствующий одному из аллельных вариантов. Предшествующий ему нуклеотид при отжиге на мтДНК-матрице всегда оставался не спаренным.

Последовательности прямых аллель-специфических праймеров:

F: c 5'-CTAGAGTTATAGGACATTCAGAG-3', F: d 5'-CTAGAGTTATAGGACATTCAGAC-3'.

В качестве обратного, в реакции аллель-специфической ПЦР для выявления замены в положении 333 использовали праймер: R: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' (Therriault et al., 2004).

Реакцию амплификации проводили параллельно в двух вариантах для каждого образца: в одной из пробирок, содержащих анализируемый образец, присутствовали праймеры Fc и R, а в другой Fd и R. В качестве контроля проведения АС ПЦР в каждой из двух пробирок присутствовал также праймер F, что позволяло получать, наряду с аллель-специфическим продуктом, полноразмерный фрагмент, служивший контролем прохождения реакции. Синтез вели на амплификаторах PTC-100™ (MJ Research, Inc.), Amply 4 (Biokom) в 25 мкл буфера для амплификации фирмы «Fermentas»: 10 мМ Трис-НСl (рН 8,8); 50 ммоль KCl, 2,0 ммоль MgCl₂; 0,08 % Nonidet P40. Смесь для амплификации содержала 100-300 нг тотальной клеточной ДНК, по 10 пмоль каждого праймера, по 200 нмоль каждого из четырех дезоксирибонуклеотидов и 05-1 ед. Taq-полимеразы (производство «Бионем», Москва).

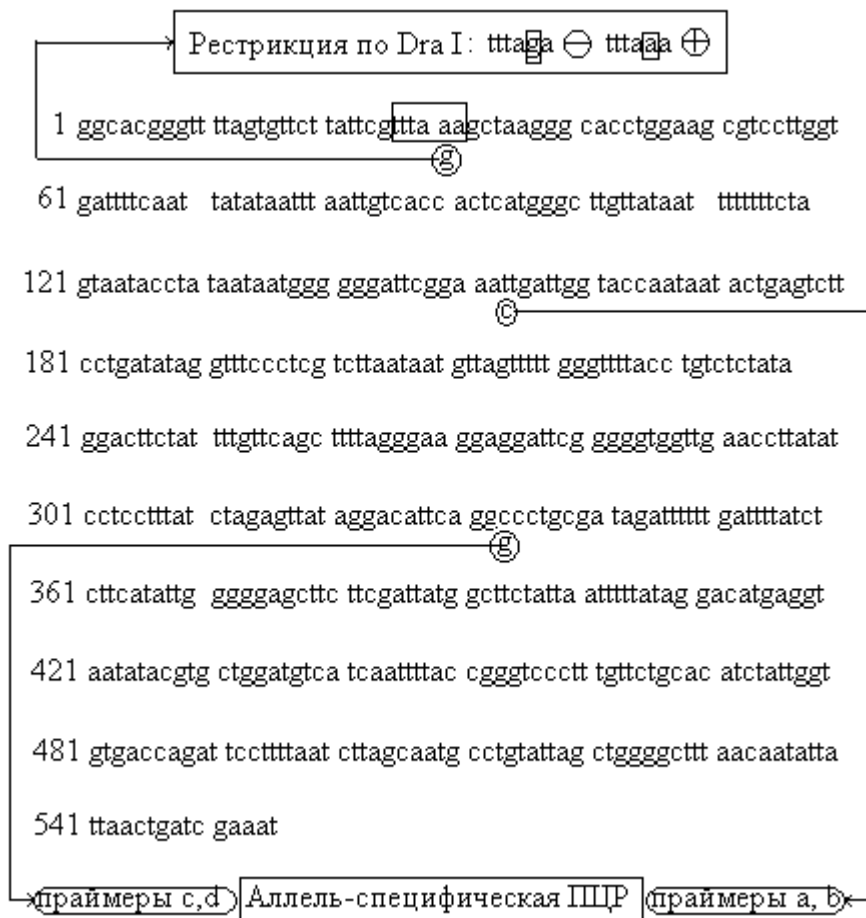


Рис. 5. Схема анализа нуклеотидной последовательности локуса CO I митохондриальной ДНК *D. polymorpha*.

Таблица 4. Анализируемые гаплотипы мтДНК локуса CO I *D. polymorpha*.

Гаплотип	Положение нуклеотидных замен в фрагменте последовательности локуса CO I мтДНК		
	31 п.н.	153 п.н.	333 п.н.
A	G	T	C
B	G	T	G
D	G	C	G
K	G	C	C
I	A	T	C

Примечание: фрагмент локуса CO I мтДНК см. рис. 2.;
п.н. – пар нуклеотидов.

Оптимальное проведение реакции имело место при следующих условиях: +95°C – 4 мин.; 35 циклов синтеза ДНК: +95°C — 50 сек, +62 С (температура отжига праймеров) — 1 мин., 72°C — 1 мин, этап конечной элонгации: +72°C, 10 мин.

Присутствие укороченного ПЦР-продукта длиной около 300 п.н. в одном из двух вариантов для каждого образца позволяло определить варьирующий нуклеотид в 333 положении. В редких случаях, когда укороченный ПЦР-продукт отсутствовал или, напротив, присутствовал в обоих вариантах, температуру отжига варьировали в пределах +54–+64 С, что всегда позволяло определить, в конечном счете, какой именно нуклеотид находится в положении 333 данного конкретного образца.

С целью проверки адекватности примененного метода исследования были секвенированы соответствующие участки митохондриального генома *D. polymorpha* в 8 образцах из поселений дрейссены реки Шексны (3 образца, нуклеотиды: G, G, C), Белоусовского водохранилища (4 образца, нуклеотиды: G, C, G, C), Северной Двины (1 образец, нуклеотид G). Результаты секвенирования подтвердили, что метод аллель-специфической ПЦР с применением разработанных нами праймеров позволяет правильно идентифицировать варьирующий нуклеотид в положении 333.

Кроме того, секвенсы трех образцов (два – из Белоусовского водохранилища и один – из Северной Двины) позволили обнаружить дополнительную нуклеотидную замену в положении 153 (Т→С) (рис. 5). Позже эта точечная мутация была найдена и американскими исследователями в популяциях дрейссены Волгоградского водохранилища, Волго-Каспийском канале и реке Урал (May et al., 2006; Gelembiuk et al., 2006. Gen Bank: DQ840125, DQ840124).

Для идентификации нуклеотида в положении 153 нами разработаны аллель-специфические праймеры Ra и Rb, которые в сочетании с прямым праймером F позволяют определить нуклеотид в положении 153: при соответствии 3'-концевого нуклеотида аллель-специфического праймера нуклеотиду тестируемого образца синтезируется ПЦР-продукт длиной около 250 п.н.

Последовательности разработанных нами аллель-специфических праймеров для определения нуклеотида в положении 153 были следующими:

Ra 5' – СТАГТАТТАТТGGТАССААТСТА-3', Rb 5' – СТАГТАТТАТТGGТАССААТСТГ-3'

Аmplификацию проводили при тех же условиях, которые указаны для первой пары аллель-специфических праймеров, в буфере, содержащем 3,0 ммоль MgCl₂.

Комплексный гаплотип определяли на основании данных по сочетанию замен нуклеотидов в 31, 153, 333 положениях (табл. 4, рис. 5), выявленных с помощью рестриктного анализа и аллель-специфической ПЦР. В целом, при обозначении гаплотипов мы придерживались системы, принятой работе Мэй с соавторами (May et al., 2006).

Тестирование по трем переменным локусам позволило нам выявить 4 гаплотипа (А, В, D, К) в 12 проанализированных популяциях дрейссены. Следует отметить, что используемая нами схема анализа не позволяет учитывать замены нуклеотидов в 5 и 232 положениях (гаплотипы С и D2), обнаруженные ранее только в Волго-Каспийском канале и реке Урал (May et al., 2006).

Происхождение популяций дрейссены Балтийской провинции Палеарктической области. Согласно зоогеографическому районированию, предложенному Я.И. Старобогатовым (1970), исследуемые нами периферические поселения дрейссены обнаружены в водоемах Балтийской (Волго-Балтийский водный путь) и Двинской (бассейн Северной Двины) провинций Палеарктической зоогеографической области.

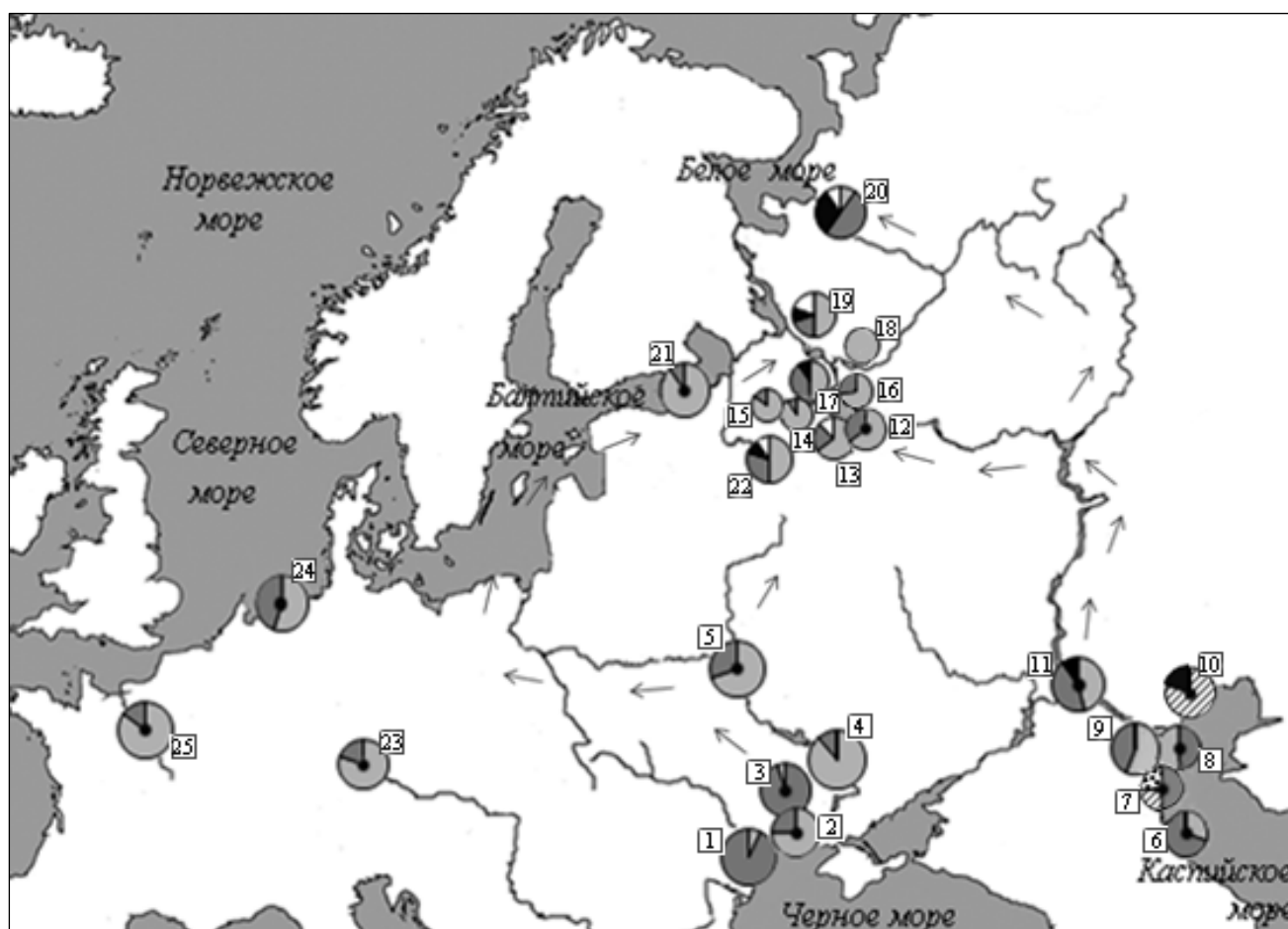
Чтобы проверить гипотезу о черноморском происхождении популяций дрейссены Верхней Волги мы взяли более представительную выборку из Рыбинского водохранилища (40 особей), а также использовали для анализа сборы моллюсков из водоемов, относящихся к бассейнам Белого и Балтийского морей.

Согласно нашим данным и результатам, приведенным в работе Мей с соавторами (May et al., 2006), в северных популяциях преобладают гаплотипы А и В, характерные для бассейнов Черного и Каспийского морей (рис. 6). Кроме этих гаплотипов, в бассейнах Верхней Волги (р. Шексна) и Балтийского моря (оз. Ужин) нами обнаружен гаплотип D, который ранее находили только в бассейне Каспийского моря (May et al., 2006). Более того, в выборках из Северной Двины, озера Ужин, Белоусовского и Рыбинского водохранилищ нами впервые найдены особи с гаплотипом К, который не обнаружен в других частях ареала вида (табл. 4, рис. 6).

Происхождение популяций *D. polymorpha* Двинской провинции Палеарктической зоогеографической области. В качестве возможных источников заноса моллюска в Северную Двину, указывают р. Шексну, из которой *D. polymorpha* может проникать в реку через Северо-Двинский канал (Старобогатов, Андреева, 1994). Кроме того, источниками регулярного заноса могут быть и другие популяции дрейссены северо-восточной части ареала, например, возможен занос из Балтийского региона по Беломорско-Балтийскому водному пути. Скориков (1903) допускал также проникновение дрейссены через Камско-Северодвинскую систему, существовавшую в 1822 – 1838 годах, однако в настоящее время эта транспортная система не функционирует, а это значит, что регулярный занос дрейссены этим путем невозможен (рис. 6).

В том случае, если северодвинское поселение моллюска действительно существует за счет заноса, преобладающие гаплотипы мтДНК дрейссены из Северной Двины и донорной популяции должны быть сходными. Тем не менее, по частотам гаплотипов мтДНК выборка из Северной Двины сильно отличается от выборок из всех других северных водоемов (рис. 6).

Следует отметить, что популяция дрейссены из Северной Двины отличается даже от популяции озера Кубенского, которое также относится к бассейну Белого моря. Отсюда



Условные обозначения:

Гаплотипы *D. p. polymorpha*:




 частоты гаплотипов по данным May et al., 2006.

Рис. 6. Пути расселения и частоты гаплотипов локуса COI мтДНК *D. p. polymorpha* Pallas.

Станции: 1 - Днестровский лиман, 2 - р. Днепр, у г. Херсон; 3 - р. Ингулец, 4 - Днепродзержинское водохранилище (р. Днепр); 5 - Киевское водохранилище (р. Днепр), 6 - Волго-Каспийский канал (Лагань); 7 - Волго-Каспийский канал (лиман); 8 - р. Волга (Астрахань), 9 - Нижняя Волга (Астрахань), 10 - р. Урал; 11 - р. Волга (Волгоград); 12 - Рыбинское водохранилище; 13 - устье р. Сутки (Рыбинское водохранилище); 14 - р. Суда; 15 - водоемоохладитель ЧГРЭС (р. Суда); 16 - Сизьменский разлив (Шекснинское водохранилище); 17 - р. Шексна (Шекснинское водохранилище); 18 - Кубенское озеро; 19 - устье р. Нагажма (Белоусовское водохранилище); 20 - р. Северная Двина; 21 - Финский залив; 22 - озеро Ужин; 23 - р. Дунай; 24 - озеро Эйсселмер; 25 - р. Сена.

направляется вывод, что Кубенская популяция не может быть источником вселения дрейссены в Северную Двину.

Уникальный состав гаплотипов отдельной популяции может быть следствием длительной изоляции и/или влияния естественного отбора. Хотя мтДНК-маркеры считаются, в основном, селективно-нейтральными, доказано, что в некоторых случаях изменение частоты гаплотипов мтДНК может быть связано с селективным воздействием факторов окружающей среды (обзор: Артамонова, 2007).

Можно предположить, что такое распределение гаплотипов связано с влиянием отбора на устойчивость моллюсков к повышенной солености. Однако, если это предположение справедливо, следовало бы ожидать сходства набора и частот гаплотипов мтДНК с другими выборками, собранными на участках с солоноватыми водами. Тем не менее, в Финском заливе Балтийского моря, преобладают особи с гаплотипом А и отсутствуют моллюски с гаплотипом D (May et al., 2006). Таким образом, говорить о действии отбора на генетическую структуру изученных популяций преждевременно.

Однако в любом случае, уникальность состава и распределения гаплотипов в выборке из р. Северной Двины хорошо объясняется длительной изоляцией популяции, а также ее происхождением из Волги.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что популяция *D. polymorpha* в р. Северной Двине существует не за счет заноса велигеров или взрослых особей из близлежащих поселений, а воспроизводится самостоятельно. Выше (гл. 3) показано, что экологические условия Северной Двины допускают существование и самостоятельное воспроизведение популяций *D. polymorpha*.

Дифференциация популяций *D. polymorpha* северо-восточной части ареала по локусу COI мтДНК. Между выборками, собранными в пределах одного водоема (р. Шексна и Сизьменский разлив) достоверных различий не найдено. Сходными оказались и частоты гаплотипов моллюсков из участков с различным температурным режимом (водоем-охладитель ЧГРЭС и речной участок р. Суды, расположенный ниже по течению). Кроме того, незначимы различия между выборками из Рыбинского, Белоусовского водохранилищ и озера Ужин.

Возможно, отсутствие дифференциации по частотам гаплотипов локуса COI мтДНК популяций *D. polymorpha* бассейнов Балтийского моря и Верхней Волги связано с общим происхождением этих поселений. Различия между выборками из Рыбинского водохранилища и р. Шексны, возможно, возникли в результате генетических процессов при снижении численности в экстремальных условиях существования моллюсков.

В поселениях дрейссены Кубенского озера, р. Суды и водоема-охладителя ЧГРЭС произошло увеличение частоты преобладающего гаплотипа мтДНК. В результате выборки из этих водоемов

значимо отличаются от выборок из остальных поселений дрейссены водоемов Волго-Балтийского водного пути.

Таким образом, результаты исследования позволяют сделать заключение, что в северо-восточной части ареала существуют две крупные системы популяций *Dreissena p. polymorpha* (Pall.). Их расположение совпадает с Двинской и Балтийской зоогеографическими провинциями, выделенными Я.И. Старобогатовым (1970).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение поселений периферии ареала существенно затрудняет то обстоятельство, что не всегда удается вновь найти обнаруженные ранее скопления дрейссены. В результате сведения о существовании этих популяций противоречивы. Это связано с тем, что для периферических поселений характерно небольшое количество особей в скоплениях при их крайне неравномерном расположении на субстратах. Севернее линии, указанной на карте в работе Я.И. Старобогатова и С.И. Андреевой (1994) нами обнаружено пять таких поселений *D. polymorpha*. Наличие молодежи свидетельствует о том, что дрейссена в поселениях периферии ареала способна к самостоятельному воспроизведению.

Так как популяции периферии ареала подвержены значительным колебаниям численности, предполагается снижение внутривидового разнообразия в этих поселениях (Яблоков, 1980; Биочино, 1990). Однако результаты нашего исследования позволяют сделать заключение, что поселения северо-восточной периферии ареала *D. polymorpha* обладают не менее высоким уровнем разнообразия морфологических признаков, чем популяции в нижних участках каспийских и черноморских рек. Следует отметить, что значения внутривидового разнообразия в изученных нами периферических поселениях выше, чем в популяциях дрейссены в европейской и североамериканской частях ареала, отмеченные Протасовым (2000).

В качестве возможной причины нарастания различий между краевыми поселениями и основной частью ареала вида можно отметить воздействие экстремальных условий периферии ареала. Быстрые преобразования генофонда могут происходить благодаря выживанию особей с новыми комбинациями генов при ослаблении внутривидовой конкуренции в периоды снижения численности (Ford, 1971). Возможно увеличение вероятности возникновения мутаций и частоты кроссинговера (Беляев, Бородин, 1982). Для периферических поселений отмечена смена частоты и набора морф, возникновение новообразований (Новоженков, 1982; Новоженков, Михайлов, 1997; Голиков, 1976).

Согласно нашим данным смена частоты и набора морф наблюдаются в поселениях дрейссены с наиболее экстремальными температурными условиями в Северной Двине, а также на илистом грунте в Шекснинском водохранилище. В популяции дрейссены из Северной Двины

обнаружены сочетания элементов рисунка и окраски раковины, отсутствующие в других исследуемых поселениях моллюска. Возможно, появление этих сочетаний следует рассматривать как новообразования под воздействием экстремальных для вида температурных условий. Предполагается, что новые варианты фенотипов могут сформироваться в результате разрушения коррелятивных связей, существующих при совместном наследовании признаков (Животовский, 1984). Другой причиной их появления может стать изменение работы регуляторных систем организма в экстремальных условиях (Беляев, Бородин 1982; Трут, 2000).

В то же время для некоторых из северных поселений периферии ареала отмечено сходство частот фенотипов с южными выборками. При этом по окраске и форме раковины существенно различаются моллюски с разных типов субстрата в пределах одного водоема. Таким образом, различия, возникающие под влиянием особенностей биотопов, могут быть не меньше, чем те, которые обусловлены географическим положением популяции.

Существенное влияние условий обитания на форму раковин водных моллюсков также отмечали и другие исследователи (Жадин, 1933; Жадин, 1952; Кодолова, Правдухина, 2006; Сергеева, Болотов и др., 2008; и др.). В связи с этим при проведении исследований, касающихся географических аспектов внутривидового разнообразия моллюсков В.И. Жадин (1933) рекомендует для каждой местности изучать весь диапазон экологических вариантов, формирующихся в стоячих и проточных водоемах разного типа. На наш взгляд, этой рекомендации следует придерживаться не только при изучении географических особенностей формы, но и фенотипов окраски раковины дрейссены.

Вследствие того, что особенности биотопов могут оказывать существенное влияние на морфологию раковины дрейссены, при изучении путей расселения вида необходимо применять молекулярно-генетические маркеры.

Использование разработанной нами схемы анализа локуса COI мтДНК позволило существенно увеличить количество и объем выборок из северных популяций дрейссены. В результате в поселениях бассейнов Балтийского, Белого морей и Верхней Волги нами впервые найден каспийский гаплотип D. Таким образом, результаты нашей работы подтверждают предположение о расселении дрейссены в бассейне Верхней Волги из каспийского региона. По распределению частот гаплотипов мтДНК выборка из Северной Двины отличается от выборок из всех предполагаемых донорных популяций. Следовательно, это поселение существует не за счет заноса извне, а воспроизводится самостоятельно. Таким образом, самая северная из самовоспроизводимых популяций дрейссены обитает в Северной Двине, 25 км от устья (64⁰с.ш.). Источник вселения дрейссены в этот регион – бассейн реки Волги.

Наличие нового гаплотипа локуса COI мтДНК в северных поселениях позволяет предположить существование реликтовой популяции, из которой происходило расселение дрейссены на север.

Обнаружение нового гаплотипа, а также результаты анализа морфологических признаков подтверждают точку зрения о более быстром протекании эволюционных процессов в экстремальных условиях периферии ареала вида.

Выводы:

1. Разработаны две группы аллель-специфических праймеров, позволяющих тестировать вариации нуклеотидов в положениях 153 и 333, подобраны условия для проведения аллель-специфической ПЦР с применением этих праймеров.
2. В популяциях *D. polymorpha* северо-восточной части ареала обнаружен гаплотип локуса COI мтДНК, характерный для каспийского региона.
3. Путем секвенирования найден неизвестный ранее гаплотип мтДНК, который присутствует в популяциях дрейссены из Северной Двины, озера Ужин, Белоусовского и Рыбинского водохранилищ.
4. В устьевом участке р. Северной Двины обитает уникальная по фенотипической структуре и генетическим особенностям популяция *D. polymorpha*.
5. В пределах Балтийской системы популяций под влиянием особенностей биотопов формируются субпопуляции дрейссены, различающиеся по частотам фенотипов рисунка и интенсивности окраски раковины.
6. На форму и окраску раковины дрейссены существенное влияние оказывает тип субстрата. Моллюски, собранные на участке с илистым грунтом обладают наиболее выпуклой и высокой раковиной с темной окраской. При наличии жестких субстратов на илистом грунте эти признаки становятся менее выраженными.
7. Внутрипопуляционное разнообразие морфологических признаков в краевых популяциях не ниже, чем в исходной части ареала. При формировании морфологического разнообразия популяции биотопические различия сопоставимы, а в отдельных случаях превышают различия между географически удаленными популяциями.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Сергеева И. С.** 2004. Инвазии дрейссены в водоемы Вологодской области // Экологические проблемы северных регионов и пути их решения. Матер. Междунар. науч. конф., 31 августа – 3 сентября. Ч.2. Апатиты. с. 83-84.
2. **Сергеева И.С.** 2004. Пространственное распределение *Dreissena polymorpha* (Pallas) в Кубенском озере // Проблемы особо охраняемых природных территорий Европейского севера (к 10-летию национального парка «Югыд Ва»). Материалы научно-практ. конф., 25 – 29 октября. Сыктывкар. с. 140-142.
3. **Сергеева И.С.,** Непоротовский С.А. 2005. Роль водных путей в распространении беспозвоночных – вселенцев на территории Вологодской области // Новые технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Материалы научно-практ. конф., 5 – 6 марта. Вологда – Молочное. с. 111-113.
4. **Сергеева И. С.,** Политов Д.В., Боровикова Е.А., Балдина С.Н., Гордон Н.Ю. 2005. Аллозимное разнообразие дрейссены (*Dreissena polymorpha* Pallas) Волго – Балтийского и Северо – Двинского водных путей // Чужеродные виды в Голарктике (Борок – 2). Тез. Второго междунар. Симпоз. по изучению инвазийных видов., 27 сентября – 1 октября. Борок. с. 105-106.
5. **Сергеева И.С.** 2005. Фенотипическое разнообразие популяций *Dreissena polymorpha* Pallas Волго – Балтийского и Северо – Двинского магистральных водных путей // Актуальные проблемы биологии и экологии. Матер. XII молод. научн. конф. Института биологии Коми НЦ УрО РАН, 4 – 7 апреля. Сыктывкар. с. 147-149.
6. **Сергеева И.С.** 2005. Разнообразие популяций *Dreissena polymorpha* по форме раковины в северо – восточной части ареала // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: Материалы IV (XXII) Междунар. конф., 5 – 10 декабря. Ч. 2. Вологда. с. 131-134.
7. **Сергеева И.С.** 2007. Распространение и изменчивость *Dreissena polymorpha* на северо-востоке России // Моллюски. Морфология, таксономия, филогения, биогеография и экология. Сб. научн. работ по матер. Седьмого (XVI) совещ. по изучению моллюсков, 14 – 17 ноября 2006. Санкт-Петербург. с. 234-237.
8. **Сергеева И.С.** 2007. Внутрипопуляционное разнообразие *Dreissena polymorpha* Pallas в экстремальных условиях периферии ареала // Тезисы докладов XIII Междунар. шк.-конфер. «Биология внутренних вод», 23 – 26 октября. Борок. с. 54-55.
9. **Сергеева И.С.** 2008. Фенотипическое разнообразие *Dreissena polymorpha* Pallas в северо-восточной части ареала // Биология внутренних вод. №3. с. 53-60.

10. **Ворошилова И.С.**, Артамонова В.С. 2008. Пути расселения *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) в северо-восточной части ареала // Дрейссениды: эволюция, систематика, экология. Лекции и материалы докладов I – ой Междунар. шк.-конфер., 28 октября – 1 ноября. Борок. с. 65-67.