Научная статья
УДК 597.551.2:575.174.015.3
doi:10.35694/YARCX.2026.74.2.018

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА *COI* ЛИНЯ ИЗ ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЁННЫХ ТОЧЕК

Шахром Сафаралиевич Боронов
Ярославский государственный аграрный университет, Ярославль, Россия
4209@student.yarcx.ru

Реферат. Проведён *in silico* анализ нуклеотидных последовательностей гена цитохром-С-оксидазы субъединицы I (*COI*) митохондриальной ДНК линя обыкновенного (*Tinca tinca* L.), депонированных в GenBank. Выборка включала шесть образцов из географически удалённых точек (Норвегия, Германия, Босния и Герцеговина, Австрия, Канада, Турция), охватывающих природный ареал и регионы интродукции. Множественное выравнивание, расчёт p-дистанций и филогенетический анализ выполнены в программе MEGA X методом максимального правдоподобия (модель TN93+G). Результаты показали чёткое разделение образцов на две кластерные группы, соответствующие западной и восточной филогруппам. Межгрупповые генетические дистанции составили 1,19–1,36%, тогда как внутри каждой группы различия не превышали 0,17%, а в восточной кладе последовательности оказались полностью идентичны. Установлено, что образец из Канады несёт восточный гаплотип, что указывает на восточноевропейское происхождение инвазивной популяции и согласуется с эффектом основателя. Результаты могут быть использованы для мониторинга генетического состава природных и аквакультурных стад линя.

Ключевые слова: *линь, Tinca tinca, COI, митохондриальная ДНК, филогеография, западная и восточная филогруппы, генетические дистанции, in silico анализ, интродукция*

NUCLEOTIDE SEQUENCE ANALYSIS OF THE *COI* GENE IN TENCH FROM GEOGRAPHICALLY DISTANT LOCATIONS

Shakhrom S. Boronov
Yaroslavl State Agrarian University, Yaroslavl, Russia
4209@student.yarcx.ru

Реферат. An in silico analysis of the mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I (*COI*) gene sequences of the tench (*Tinca tinca* L.) deposited in GenBank was performed. The sample included six samples from geographically distant points (Norway, Germany, Bosnia and Herzegovina, Austria, Canada, Turkey), covering the natural range and regions of introduction. Multiple sequence alignment, estimation of p-distances, and phylogenetic analysis were performed using the maximum likelihood method (TN93+G model) in MEGA X. The results revealed a clear separation (or clustering) of the samples into two groups corresponding to the western and eastern phylogroups. Intergroup genetic distances were 1.19–1.36%, while within each group the differences did not exceed 0.17%, and in the eastern clade the sequences were completely identical. The sample from Canada was found to carry an eastern haplotype, which indicates the eastern European origin of the invasive population and is consistent with the founder effect. The results can be used to monitor the genetic composition of natural and aquaculture tench stocks.

Keywords: *tench, Tinca tinca, COI, mitochondrial DNA, phylogeography, western and eastern phylogroups, genetic distances, in silico analysis, introduction*

Введение. Вопрос о генетической неоднородности линя обыкновенного (*Tinca tinca* L.) приобрёл особую актуальность после того, как молекулярные исследования выявили существование двух глубоко дивергировавших филогенетических линий – западной и восточной [1]. Антропогенное расселение и аквакультура существенно нарушили естественную филогеографическую структуру вида, однако не стёрли её полностью [2]. Экспериментально доказано отсутствие репродуктивной изоляции между филогруппами, что при искусственном смешивании ведёт к интрогрессии и размыванию природных генетических паттернов [1]. Для быстрой идентификации западной и восточной линий разработаны эффективные PCR-RFLP-маркеры на основе ядерных и митохондриальных локусов [3; 4]. Региональные исследования показали, что, в частности, река Дунай служит естественной границей между филогруппами, а обнаружение западных гаплотипов к югу от неё интерпретируется как результат антропогенного переноса [5]. Современные данные по инвазивным популяциям линя в Северной Америке демонстрируют крайне низкое генетическое разнообразие, вызванное эффектом основателя [6]. В настоящей работе проведён анализ нуклеотидных последовательностей гена *COI* линя из

географически удалённых точек с целью оценки их филогеографической принадлежности и выявления уровня внутривидовой дифференциации.

Цель настоящей работы – анализ нуклеотидных последовательностей гена *COI* линя (*Tinca tinca* L.) из географически удалённых точек: Норвегии, Германии, Боснии и Герцеговины, Австрии, Канады и Турции. В задачи исследования входило: сравнить шесть записей GenBank: MT216182.1 (Норвегия), MF135878.1 (Германия), HM560379.1 (Босния и Герцеговина), ON097402.1 (Австрия), EU525161.1 (Канада), JQ624008.1 (Турция); выявить различия, определить гаплотипы, географические паттерны, сделать выводы о популяционной структуре.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили *in silico*. В качестве объекта анализа использовали нуклеотидные последовательности гена цитохром-с-оксидазы субъединицы I (*COI*) митохондриальной ДНК линя обыкновенного (*Tinca tinca*), депонированные в международной базе данных GenBank (NCBI). Выборка включала шесть последовательностей из географически удалённых точек, представляющих как природные популяции из естественного ареала, так и интродуцированные либо аквакультурные группировки: MT216182 (Норвегия, длина фрагмента 655 п.н.), MF135878 (Германия, р. Рейн, 652 п.н.), HM560379 (Босния и Герцеговина, р. Требишница, 592 п.н.), ON097402 (Австрия, 654 п.н.), EU525161 (Канада, 652 п.н.) и JQ624008 (Турция, 655 п.н.). Видовая принадлежность всех записей подтверждена с помощью алгоритма BLAST.

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли в программе MEGA X с использованием алгоритма ClustalW со стандартными параметрами, после чего проводили визуальный контроль и при необходимости ручное редактирование. Для пары, включающей образцы HM560379 (592 п.н.) и MT216182 (655 п.н.), сравнительная длина после удаления неполных концевых участков составила 568 п.н., тогда как для всех остальных пар использовался общий участок в 590 п.н. Расчёт p-дистанций проводили с опцией попарного удаления пропусков (pairwise deletion). Попарные генетические дистанции рассчитывали на основе p-дистанции, отражающей долю различающихся нуклеотидных позиций. Филогенетическое дерево строили методом максимального правдоподобия (ML) с оптимальной моделью нуклеотидных замен TN93+G, выбранной на основании информационного критерия BIC; статистическую поддержку узлов оценивали бутстреп-тестом при 1000 псевдорепликациях. Вариабельные и филогенетически информативные сайты идентифицировали с помощью встроенных средств MEGA X. Принадлежность отдельных образцов к западной или восточной филогруппам устанавливали по набору диагностических нуклеотидных позиций гена *COI* в соответствии с ранее разработанными подходами [3; 5].

Результаты. В таблице 1 представлены ключевые диагностические нуклеотидные позиции, которые разделяют выборку на две чёткие группы.

На основании этих полиморфизмов все шесть образцов делятся на две группы. Группа 1 – «Западная» (аллели A, T, G), образцы MT216182 – Норвегия (интродукция, мониторинг чужеродных видов); ON097402 – Австрия (Штирия, бассейн Дуная, возможно, смешанная зона, но здесь попался «западный» гаплотип). Группа 2 – «Восточная» (аллели G, G, A): образцы MF135878 – Германия (Рейн, естественный ареал); HM560379 – Босния и Герцеговина (р. Требишница, бассейн Неретвы, естественная популяция); EU525161 – Канада (интродуцент), JQ624008 – Турция (естественная популяция).

Такое распределение полностью соответствует известной филогеографической модели для линя *Tinca tinca*. Ранее по митохондриальным маркерам (и в частности по *COI*) было показано существование западной и восточной филогрупп, которые разделились в плейстоцене и встретились в зоне вторичного контакта в районе Дуная и Балкан.

Естественные популяции (Германия, Босния, Турция) несут «свои» региональные гаплотипы: немецкий и турецкий образцы – восточный тип, боснийский – тоже восточный (что ожидаемо для Балкан). Интродуценты (вероятно, искусственные условия) показывают свой источник: канадский линь (EU525161) генетически близок к немецкому и турецкому – значит, завоз в Канаду, скорее всего, произошёл из восточной части ареала (возможно, из Германии или Центральной Европы). Норвежский образец (MT216182) имеет «западный» гаплотип и сходен с австрийским. Учитывая, что в Норвегии линь является чужеродным видом, его вселение могло идти из Западной Европы (например, из Франции или Великобритании). Это уже прямое указание на то, что искусственное расселение переносит и филогеографические линии.

В таблице 2 представлены оценки попарных генетических дистанций между шестью проанализированными последовательностями гена *COI* линя. Расчёты выполнены в программе MEGA X на основе модели p-дистанции после множественного выравнивания фрагментов. Значения в таблице выражены в процентах и

Таблица 1 – Ключевые диагностические нуклеотидные позиции, разделяющие выборку на две группы

Позиция	MT216182 (Норвегия)	MF135878 (Германия)	HM560379 (Босния)	ON097402 (Австрия)	EU525161 (Канада)	JQ624008 (Турция)
181 (в районе «GGA / GGG AAC»)	A (GGA AAC)	G (GGG AAC)	G (GGG AAC)	A (GGA AAC)	G	G
398 (T/G) – в районе «TGA TCC» / «TGA GCC»	T (TGA TCC)	G (TGA GCC)	G (TGA GCC)	T (TGA TCC)	G (TGA GCC)	G (TGA GCC)
420 (G/A)	G	A	A	G	A	A

Таблица 2 – Попарные p-дистанции (%) между образцами линя по гену *COI*

Образец	MT216182 (Норвегия)	MF135878 (Германия)	HM560379 (Босния)	ON097402 (Австрия)	EU525161 (Канада)	JQ624008 (Турция)
MT216182	–	1,36	1,36	0,17	1,36	1,36
MF135878		–	0,00	1,19	0,00	0,00
HM560379			–	1,23	0,00	0,00
ON097402				–	1,19	1,19
EU525161					–	0,00
JQ624008						–

отражают долю различающихся нуклеотидных позиций (число замен на 100 сайтов). Для выравнивания использовался общий участок длиной 590 п.н., за исключением пары с HM560379, где сравнение проводилось по более короткому фрагменту (568 п.н.).

В первой группе, объединяющей образцы из Норвегии (MT216182) и Австрии (ON097402), генетическая дистанция составляет всего 0,17%, что соответствует единственной нуклеотидной замене (позиция 181 в выравнивании) и свидетельствует о близком родстве и, вероятно, об общем происхождении из западного рефугиума. Во второй, восточной группе (MF135878, HM560379, EU525161, JQ624008), нуклеотидные последовательности идентичны на протяжении всего проанализированного участка (p-дистанция – 0,00%), что указывает на консервативность гаплотипа *COI* в этой филогруппе и подтверждает результаты о крайне низком генетическом разнообразии инвазивных популяций [6].

Дистанция между западной (норвежско-австрийской) и восточной кладами варьирует от 1,19 до 1,36%. Данный уровень дивергенции (около 7–8 фиксированных нуклеотидных замен на фрагмент) является типичным для внутривидовых филогеографических линий костистых рыб и подтверждает их длительную аллопатрическую эволюцию в плейстоценовых рефугиумах. Значения дистанций, полученные для канадского (EU525161) и турецкого (JQ624008) образцов относительно немецкого (MF135878) и боснийского (HM560379), равны нулю, что прямо указывает на восточное происхождение как природных турецких, так и интродуцированных североамериканских популяций.

Проведённый анализ нуклеотидных последовательностей гена *COI* линя из шести географически удалённых точек полностью согласуется с существующими представлениями о филогеографической структуре вида и дополняет их. Полученное чёткое разделение всех образцов на две кластерные группы с межгрупповыми p-дистанциями 1,19–1,36% и внутригрупповыми дистанциями, не превышающими 0,17%, прямо подтверждает существование западной и восточной филогрупп, впервые детально обоснованное в работе [1]. Уровень дивергенции между кладами, соответствующий примерно семи-восьми фиксированным нуклеотидным заменам, типичен для внутривидовых филогеографических линий костистых рыб и отражает длительную аллопатрическую эволюцию в плейстоценовых рефугиумах, что хорошо согласуется с выводами мультигенного исследования [2].

Внутригрупповая однородность оказалась исключительно высокой. Восточная клада, объединившая образцы из Германии, Боснии, Турции и Канады, продемонстрировала полную идентичность гаплотипов *COI* на протяжении всего изученного фрагмента (p-дистанция – 0,00%). Это свидетельствует о консервативности данного митохондриального маркёра в восточной филогруппе. Особый интерес представляет канадский образец (EU525161), чья нулевая дистанция до природных восточноевропейских линий прямо указывает на его происхождение от основателей именно из восточной филогруппы. Данный результат наглядно подтверждает модель, предложенную в работе [6], согласно которой единичный акт интродукции формирует генетический профиль всей последующей инвазивной популяции, причём численность эффективных основателей была крайне мала.

Западная клада в нашей выборке представлена образцами из Норвегии и Австрии, различающимися лишь одной нуклеотидной заменой (0,17%). Такая высокая степень гомологии может объясняться как относительно недавним голоценовым расселением западной линии, так и, в случае норвежской особи, являющейся, с высокой вероятностью, результатом интродукции, эффектом основателя. Полученные результаты хорошо иллюстрируют тезис работы [2] о том, что человеческая деятельность изменила, но не стёрла естественную филогеографическую структуру вида: даже у заведомо интродуцированной норвежской популяции сохранился отчётливый западный сигнал, позволяющий надёжно установить её происхождение.

Географическое распределение филогрупп в нашей выборке полностью согласуется с региональными исследованиями. Присутствие западного гаплотипа у австрийского образца из Штирии (бассейн Дуная) и восточных гаплотипов у боснийского из бассейна Неретвы соответствует выводам работы [5], где река Дунай рассматривается как естественная граница между двумя филогруппами, а территории к югу от неё населены преимущественно восточной линией. Тот факт, что немецкий образец из Рейна также принадлежит восточной филогруппе, не противоречит литературным данным, свидетельствующим о сложной популяционной истории Центральной Европы с проникновением восточных ли-

ний на запад в результате как естественного расселения, так и антропогенного переноса [2; 5].

С методической точки зрения, наше исследование демонстрирует, что прямой анализ последовательностей гена *COI* обладает достаточной разрешающей способностью для уверенного разграничения западной и восточной филогрупп линя. Полученные диагностические нуклеотидные позиции (в частности, замена в позиции 181 и полиморфизм в позиции 398) полностью согласуются с маркёрами, на которых основаны быстрые PCR-RFLP-методы идентификации филогрупп [3; 4].

Вывод. Таким образом, результаты *in silico* анализа шести последовательностей гена *COI* линя из географически удалённых точек полностью подтверждают фундаментальное разделение вида на западную и восточную филогруппы, демонстрируют их высокую гомогенность и хорошо согласуются с имеющимися данными о географии филогрупп и генетических последствиях антропогенного расселения. Валидация этого подхода на более обширных выборках и с привлечением ядерных маркёров составит предмет дальнейших исследований.

Список источников

1. Lajbner Z., Kohlmann K., Linhart O., Kotlík P. Lack of reproductive isolation between the Western and Eastern phylogroups of the tench // Reviews in Fish Biology and Fisheries. 2010. Vol. 20, No. 3. P. 289–300. DOI 10.1007/s11160-009-9137-y.

2. Lajbner Z., Linhart O., Kotlík P. Human-aided dispersal has altered but not erased the phylogeography of the tench // Evolutionary Applications. 2011. Vol. 4, No. 4. P. 545–561. DOI 10.1111/j.1752-4571.2010.00174.x.

3. Lajbner Z., Kotlík P. PCR-RFLP assays to distinguish the Western and Eastern phylogroups in wild and cultured tench Tinca tinca // Molecular Ecology Resources. 2011. Vol. 11, No. 2. P. 374–377. DOI 10.1111/j.1755-0998.2010.02914.x.

4. Lo Presti R., Kohlmann K., Kersten P. [et al.] Genetic variability in tench (Tinca tinca L.) as revealed by PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA // Italian Journal of Animal Science. 2012. Vol. 11, No. 1. P. 103–108. DOI 10.4081/ijas.2012.e19.

5. Lujić J., Kohlmann K., Kersten P., Marinović Z. [et al.] Phylogeographic Identification of Tench Tinca tinca (L., 1758) (Actinopterygii: Cyprinidae) from the Northern Balkans and Adjacent Regions and its implications for Conservation // Zoological Studies. 2017. Vol. 56, No. 3. 9 p. DOI 10.6620/ZS.2017.56-03.

6. Bernos T. A., Avlijaš S., Hill J. [et al.] Genetic diversity and structure of a recent fish invasion: Tench (*Tinca tinca*) in eastern North America // Evolutionary Applications. 2022. Vol. 16, No. 1. P. 173–188. DOI 10.1111/eva.13520.

Сведения об авторе

Шахром Сафаралиевич Боронов – аспирант кафедры зоотехнии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный аграрный университет», spin-код: 7395-5640.

Information about the author

Shakhrom S. Boronov – Postgraduate student of the Department of Zootechnics, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yaroslavl State Agrarian University", spin-code: 7395-5640.