

УДК 574.91

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ ЧУЖЕРОДНОГО СЕВЕРОАМЕРИКАНСКОГО КРАБА *RHITHROPANOPEUS HARRISII* (GOULD, 1841) В ВОДАХ ЧЕРНОМОРСКО- КАСПИЙСКОГО РЕГИОНА

© 2015 Симакова У.В.¹, Залота А.К.², Спиридонов В.А.³

Институт океанологии им. П.П. Ширшова Российской Академии наук (ИО РАН),
Нахимовский проспект, 36, Москва, 117997;
e-mail: ¹yankazeisig@gmail.com, ²azalota@gmail.com, ³vspiridonov@ocean.ru

Поступила в редакцию 27.12.2015

В популяциях чужеродного вида крабов *Rhithropanopeus harrisi* (Gould, 1841) (семейство Panopeidae), заселившего водоёмы Азово-Черноморского и Каспийского бассейнов в 1930–1950-е гг., исследована структура участка (523 пар нуклеотидов) гена 1-й субъединицы митохондриальной цитохромоксидазы (COI). В пробах из 6 популяций региона обнаружено 4 гаплотипа (А, В, Т, Lerm1). Один из них – уникальный (Lerm1), встреченный только у Кавказского побережья Чёрного моря. Гаплотип Т встречен только в Черноморско-Каспийском регионе, гаплотип А встречен почти во всех европейских популяциях. Всего в полученной выборке последовательностей обнаружено 4 нуклеотидные замены, из них одна – не синонимичная, а число полиморфных сайтов равнялось 3. Разнообразие гаплотипов (h) популяций Черноморско-Каспийского региона (от 0.181±0.143 до 0.475±0.098) заметно ниже, чем разнообразие остальных европейских, где значение h варьировало от 0.563±0.063 до 0.795±0.065 и североамериканских популяций: от 0.725±0.083 до 1±0. Популяции краба Харриса Черноморско-Каспийского региона имеют общее происхождение и отличаются по своей генетической структуре от остальных популяций области интродукции в Европе. Популяция Каспийского моря происходит непосредственно от азовских популяций. При этом возможна обособленность популяций крабов устьев рек Шапсухо и Вулан в северо-восточной части Чёрного моря, состав гаплотипов которых несколько отличается от других популяций региона.

Ключевые слова: инвазии, вектор, COI, разнообразие гаплотипов, Азовское море, Таманский залив, Краснодарский край, Северный Каспий.

Введение

Во второй половине XX – начале XXI столетия Чёрное, Азовское и Каспийское моря стали районами массового вселения чужеродных видов [Zaitsev, Ozturk, 2001; Paavola et al., 2005]. Инвазии видов-вселенцев оказали и продолжают оказывать большое влияние на структуру и функционирование экосистем этих бассейнов [Ivanov et al., 2000; Chikina, Kucheruk, 2005; Иванов, Синегуб, 2008; Чикина, 2009; Набоженко и др., 2010; Промысловые биоресурсы, 2011]. Одним из широко распространённых в регионе видов-вселенцев является американский по своему происхо-

ждению краб из семейства Panopeidae – *Rhithropanopeus harrisi* (Gould, 1841). Краб Харриса, как мы будем его называть, является эвригаллиным видом, связанным, как правило, с эстуариями [Turboyski, 1973; Williams, 1984; Forward, 2009]. В приливных морях поведенческие особенности личинок этого вида ограничивают их распространение из прибрежных районов нереста крабов [Cronin, 1982; Forward, 2009]. Природный ареал *R. harrisi* охватывает всё восточное побережье Северной Америки от залива Св. Лаврентия до штата Веракруз (Мексика) [Williams, 1984]. В настоящее время этот вид распространился

у западных берегов Северной Америки, в Панаме, в озёрах штата Техас [Petersen, 2006; Roche et al., 2009; Boyle et al., 2010]. В Старом Свете он впервые (в 1874 г.) был обнаружен и описан в Нидерландах как новый вид *Pilumnus tridentatus* [Maitland, 1874; Buitendijk, Holthuis, 1949], отсюда бытующее в русской литературе название «голландский крабик» [Резниченко, 1967]. С тех пор краб Харриса широко распространился: он встречается на атлантическом побережье Европы, в Северном, Балтийском, Средиземном, Чёрном, Азовском и Каспийском морях [Neubaur, 1936; Buitendijk, Holthuis, 1949; Demel, 1953; Wolff, 1954; Резниченко, 1967; Cuesta et al., 1991; Gonçalves, 1991; Mizzan, Zanella, 1996; Kerckhof, 2001].

В северо-западной части Чёрного моря краб Харриса известен с 1936 г., а в Азовском море – с 1949 г. [Резниченко, 1967]. В отличие от большей части природного и инвазионного ареала, где *R. harrisii* живёт ограниченно распространёнными популяциями эстуариев и обособленных заливов, в Азовском море этот вид встречается практически по всей акватории и часто оказывается доминирующим видом макробентоса по данным дночерпательных съёмок [Резниченко, 1967; Макаревич и др., 2000; Сергеева, Буркатский, 2002; Иванов, Синегуб, 2008; Набоженко и др., 2010; Zalota et al., 2016]. При этом в других частях Азово-Черноморского бассейна краб Харриса до последнего времени был практически неизвестен. Только в 2010-е гг. его популяции были обнаружены в некоторых эстуариях и лиманах северо-восточного побережья Чёрного моря (Краснодарский край России) [Zalota et al., 2016], а личинки найдены в планктоне в акваториях портов Туапсе и Новороссийска [Селифонова, 2012]. Преобладающий тип циркуляции вод делает весьма маловероятным предположение о происхождении этих группировок от азовской популяции путём естественного расселения с помощью личинок, поэтому предполагается, что восточная часть Чёрного моря может быть областью независимого вселения вида посредством вектора судоходства [Zalota et al., 2016]. В 1958 г. *R. harrisii* был обнаружен в Каспийском море [Неболь-

сина, 1959] и достаточно быстро стал обычным видом в Северном Каспии и, по крайней мере, в прибрежной зоне российского и азербайджанского побережья Среднего и Южного Каспия [Резниченко, 1967]. Из Азова краб Харриса был занесён также в Аральское море (Большой Арал), где, по-видимому, не пережил современного этапа падения уровня и резкого увеличения солёности [Андреев, Андреева, 1988; Andreev et al., 1992; Плотников, 2013; А.К. Залота, неопубл. данные].

Показано, что европейские популяции *R. harrisii* генетически весьма неоднородны [Projecto-Garcia et al., 2010]. Причиной этого могут быть и биологические особенности вида (механизм, ограничивающий распространение личинок за пределы родительского эстуария), и многократное вселение из различных популяций-доноров, и генетический дрейф.

Происхождение и генетическая структура популяций краба в водах Черноморско-Каспийского региона остаётся малоизученной. В литературе имеются лишь ограниченные данные о составе митохондриальных гаплотипов в одной из прибрежных популяций Болгарии [Projecto-Garcia et al., 2010]. Целью нашей работы является описание генетической структуры популяций *R. harrisii* в водоёмах Азово-Черноморского и Каспийского бассейнов (для краткости объединяемых под названием «воды Черноморско-Каспийского региона») и выявление связей между различными популяциями в пределах этой области. Исследование призвано проверить следующие гипотезы.

1). Общность происхождения черноморско-азовской и каспийской популяций, постулированная Резниченко [1967].

2). Обособленность восточно-черноморских популяций от остальной части региона, которая может проявиться в отличающемся наборе гаплотипов.

Материалы и методы

Сбор и обработка материала

В 2011–2012 гг. собраны образцы *R. harrisii*, обитающих в шести разобщённых местообитаниях Чёрного (2), Азовского (3) и Каспийского (1) морей (рис. 1).



Рис. 1. Расположение и состав гаплотипов популяций водоёмов Черноморско-Каспийского региона. На карте цифрами (1–6, как в таблице 1) обозначены популяции, исследованные в данной работе. Остальные данные приведены по: [Projecto-Garsia et al., 2010].

В Чёрном море крабы были собраны А.К. Залотой в устьях рек Вулан и Шапсухо (Краснодарский край). Эти реки обладают относительно спокойным течением по сравнению с другими реками черноморского побережья Кавказа и обширными эстуариями, солёность в которых достигает 9%. Крабы были найдены в корневищах тростника, произрастающего вдоль топкого побережья и на островках. В открытой части прибрежной зоны в непосредственной близости от устьев этих рек *R. harrisi* обнаружен не был. В Таманском заливе Азовского моря крабы собраны авторами на обширном мелководье в районе пос. Сенной в 2011 г. Глубина залива не превышает 5 м, солёность варьирует от 14.8 до 15.5‰, но может достигать 18‰ при нагоне вод Чёрного моря. В месте сбора (на глубине до 1 м) дно покрыто зарослями макрофитов, преимущественно *Zostera noltei* и харовыми водорослями, с большим количеством нор, в которых и была обнаружена часть крабов. В Азовском море у села Золотое крабы были обнаружены А.К. Залотой на участке открытого берега (глубина около 2 м) под камнями на ракушке. В Та-

ганрогском заливе Азовского моря крабы собраны сотрудниками Института аридных зон Южного Научного Центра РАН из дночерпательных проб, данные о глубине сборов утрачены. В северной части Каспийского моря материал собран Н.Б. Водовским и Ф.В. Сапожниковым во время судовых экспедиционных работ в Северном Каспии на глубине до 30 м с помощью дночерпателя в июле 2013 г.

Образцы (ходильные ноги или клешни) помещали в 96%-й этанол сразу после сбора. ДНК была получена из мышц крабов с помощью набора для выделения нуклеиновых кислот Diatom™ DMA Prep 400. Амплификацию участка гена 1-й субъединицы митохондриальной цитохромоксидазы (COI) – молекулярного «штрих-кода» проводили с помощью пары праймеров COI-PanoF-5' GGTGCATGAGCYGGHATAGTWGG -3' и COI-PanoR - 5' - RTGTTGRTATARTACAGGR TCTCC [Thoma et al., 2014] с помощью ПЦР (35 циклов 95 °С в течение 25 с, 52 – 48 °С 30 с, 72 °С – 45 с, финальная элонгация – 72 °С 5 мин. Объём реакционной смеси составлял 20 мкл). Визуализацию продуктов пцр-реакции

проводили в 2%-м агарозном геле. После этого следовала очистка пцр-продукта на колонках. Для амплификации и последующей очистки продуктов ПЦР использовали готовую смесь для ПЦР ScreenMix и набор для выделения ДНК из реакционных смесей Cleanup-Mini (Evrogene) в соответствии с рекомендациями производителя. Секвенирование проводили с помощью праймера COI-PanoR в ЦКП «Геном» с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer.

Анализ данных

Последовательности были обработаны и выровнены в программе Codon Code Aligner (Codon Code Corporation, Dedham, Massachusetts). Для того, чтобы полученные данные были сравнимы с опубликованными ранее, был использован участок гена COI длиной 523 пар нуклеотидов (пн). Полученные последовательности опубликованы в базе данных GeneBank под номерами (accession numbers) KU246041-KU246044. Нуклеотидные последовательности остальных европейских популяций [Projecto-Garcia et al., 2010] были получены из базы данных GeneBank. Оценку генетического разнообразия популяций, проверку

нейтральности и анализ AMOVA проводили в программном пакете Arlequin 3.5 [Excoffier, Lischer, 2010]. Гаплотипная сеть (TCS-сеть) была построена методом статистической парсимонии [Clement et al., 2002] в программе Popart 1.7 [Leigh et al., 2015]. Выбор модели нуклеотидных замен (модель Тамуры-Ней), соответствующей анализируемым данным, провели с помощью программы Jmodeltest [Guindon, Gascuel, 2003; Darriba et al., 2012].

Результаты

Среди 85 нуклеотидных последовательностей участка гена COI краба Харриса из 6 популяций Черноморско-Каспийского региона (табл. 1) нами обнаружено 4 гаплотипа. Один из них – уникальный (Lerm1), встреченный только у Кавказского побережья Чёрного моря. Обозначение этого гаплотипа дано по названию посёлка Лермонтово при устье р. Шапсухо. Гаплотип Т встречен только в Черноморско-Каспийском регионе, гаплотип А встречен во всех европейских популяциях кроме Португалии и в Северной Каролине, а гаплотип В не обнаружен в Нидерландах, но есть в Нью-Джерси [Projecto-Garcia et al., 2010]. Всего в полученной выборке последовательностей было обнаружено 4 нуклеотидные замены, из них одна – не синонимичная, а число полиморфных сайтов равнялось 3.

Таблица 1. Географическое положение выборок из популяций *Rhithropanopeus harrisi*, число проанализированных особей (нуклеотидных последовательностей) – N; и состав гаплотипов.

Популяции	Координаты (градусы)		N	Гаплотипы	Число особей гаплотипа
	с. ш.	в. д.			
1. Чёрное море, р. Шапсухо	44.30	38.74	5	A	4
				Lerm1	1
2. Чёрное море, р. Вулан	44.35	38.52	10	A	10
3. Азовское море, Таманский залив	45.27	36.87	30	A	24
				B	4
				T	2
4. Азовское море, Таганрогский залив	47.22	39.16	2	A	2
5. Азовское море, у села Золотое, Керченский полуостров	45.47	36.21	11	A	10
				T	1
6. Каспийское море	44.94	47.59	27	A	19
				B	3
				T	5
Всего			85	4	85

Таблица 2. Нуклеотидное разнообразие, разнообразие гаплотипов и результаты проверки модели нейтральной эволюции для выборок из популяций *Rhithropanopeus harrisii* в Черноморско-Каспийском регионе

Популяция	N	Число гаплотипов	Число полиморф. сайтов	Разнообразие гаплотипов (h±SE)	Нуклеотидное разнообразие (π±SE)	Тест	
						Таямы D (p)	Фу Fs (p)
р. Шапсухо	5	2	1	0.400± 0.237	0.0003±0.0005	-	-
Таманский залив	30	3	2	0.349± 0.101	0.0007±0.0007	-0.555 (0.276)	-0523 (0.215)
Село Золотое	11	2	1	0.181± 0.143	0.0003±0.0005	-	-
Каспийское море	27	3	2	0.475± 0.098	0.0009±0.0009	-0.001 (0.426)	0.064 (0.366)

Разнообразие гаплотипов (h) популяций Черноморско-Каспийского региона (табл. 2) заметно ниже, чем разнообразие остальных европейских популяций, где значение h варьировало от 0.563±0.063 до 0.795±0.065 и североамериканских популяций, для которых разнообразие гаплотипов принимало ещё более высокие значения: от 0.725±0.083 до 1±0 [Projecto-Garcia et al., 2010]. Заметно ниже и значения нуклеотидного разнообразия (π), характерные для исследуемого региона по сравнению с остальными популяциями.

Для анализа популяционной структуры краба Харриса в регионе инвазии мы разделили его популяции на две группы: 1) группа популяций Европы (данные Projecto-Garcia et al. [2010]), 2) группа популяций Черноморско-Каспийского региона (Болгария [Projecto-

Garcia et al., 2010] и 6 популяций, анализируемых в данной работе). Иерархический анализ молекулярной дисперсии всех исследованных европейских популяций показал (табл. 3), что наибольшая доля молекулярной дисперсии (>54%) приходится на внутривидовое разнообразие, меньшая доля (35.8%) определяется дисперсией между группами – западноевропейских популяций с одной стороны и популяций Азово-Черноморского бассейна и Каспия с другой. Дисперсия внутри заданных групп оказалась наименьшей (9.9%). На втором этапе для выявления подразделённости популяции *R. harrisii* в пределах исследуемого региона пункты сбора были объединены в следующие группы: 1) Азовское море, Каспийское море, Болгария, 2) Северокавказское побережье (р. Шапсухо, р. Вулан). Анализ моле-

Таблица 3. Результаты анализа молекулярной дисперсии фрагмента гена CO I в выборках из популяций *Rhithropanopeus harrisii* по объединённым данным Projecto-Garcia et al. [2010] и настоящего исследования (разбиение на группы – см. в тексте).

	Источник дисперсии	d.f.	SS	Компоненты дисперсии	% дисперсии	p
Все популяции Старого Света	Межгрупповая	1	35.798	0.37838Va	35.80	0.00094
	Популяции внутри групп	8	18.972	0.10437Vb	9.87	0.00030
	Внутривидовая	169	97.046	0.57423 Vc	54.33	0.00000
	Всего	178	151.816	1.05699		
Популяции Черноморско-Каспийского региона	Межгрупповая	1	0.304	0.00549 Va	3.30	0.13446
	Популяции внутри групп	4	0.657	0.00020 Vb	0.12	0.34040
	Внутривидовая	97	15.583	0.16065 Vc	96.58	0.27653
	Всего	102	16.544	0.16635		

кулярной дисперсии в этом случае показал, что наибольшая часть дисперсии приходится на внутрипопуляционные различия. Дисперсия между особями Северокавказского побережья (р. Шапсухо. р. Вулан), и группой остальных популяций региона составляет около 3%, а внутригрупповая дисперсия меньше 1%. Однако, эти значения статистически не достоверны (табл. 3).

Проведённые для выборок наибольшего размера (около 30 особей в Таманском заливе и Каспии) тесты на нейтральность эволюции (тест Таямы и тест Фу) говорят о том, что популяции исследуемого региона близки к состоянию равновесия между мутациями и дрейфом, так как ни в одном случае модель не была отвергнута (табл. 2). Отрицательные (хотя и

статистически недостоверные) значения показателя D Таямы указывают на возможность недавнего быстрого роста популяции после прохождения ситуации «бутылочного горлышка» [Tajima, 1989; Fu, 1995].

Сеть гаплотипов (рис. 2), построенная с учётом литературных данных, показывает, что все гаплотипы *R. harrisii* в европейской области интродукции близки между собой. Общим почти для всех популяций является один гаплотип (А). Этот гаплотип встречен во всех популяциях, кроме Португалии. Гаплотип В встречается во всех водоёмах исследуемого региона, но не во всех популяциях. Он также встречен в Польше, Португалии и Испании. Гаплотипы Т и Lerm1 характерны только для Черноморско-Каспийского региона.

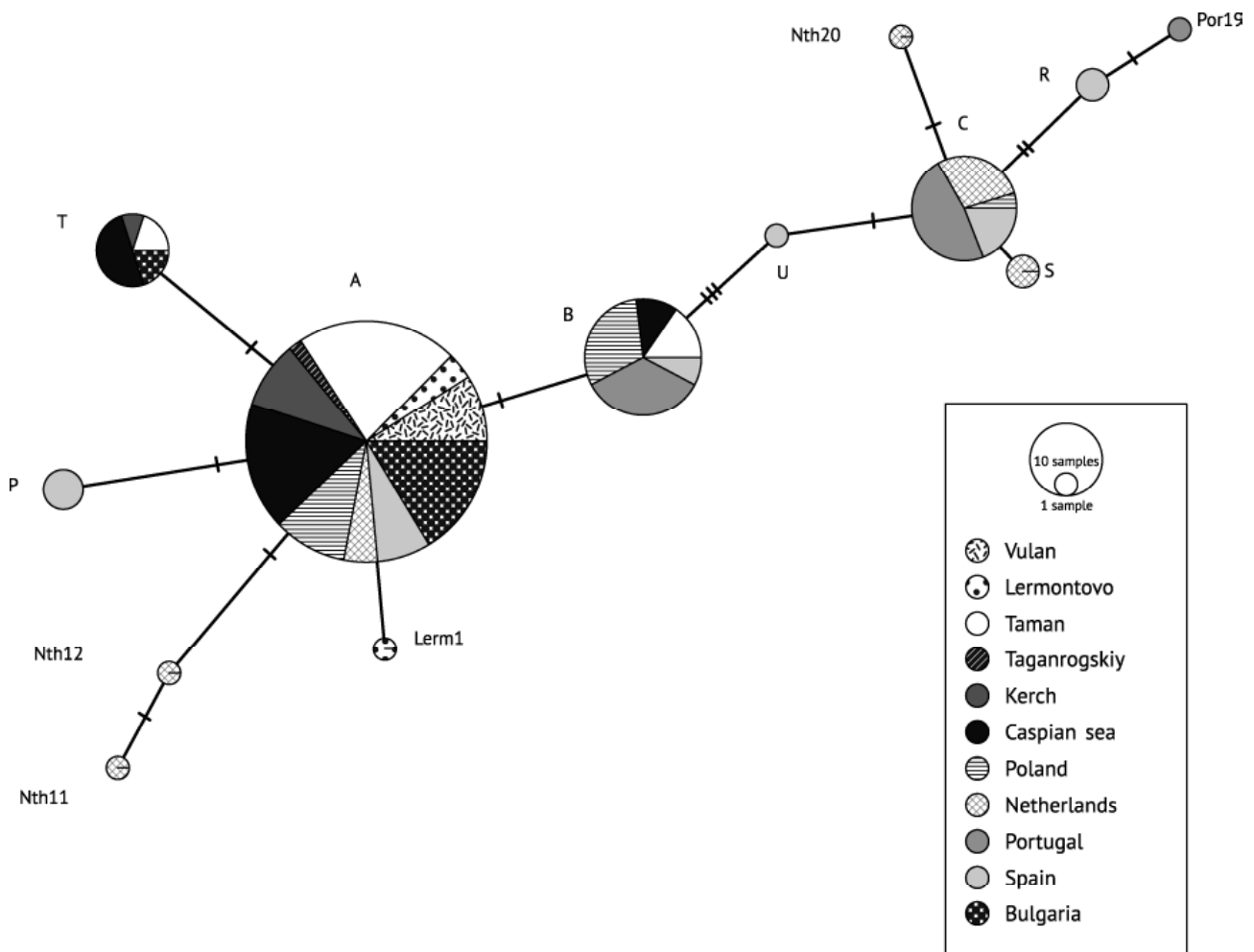


Рис. 2. TCS сеть гаплотипов *Rhithropanopeus harrisii*, обнаруженных в популяциях в области интродукции в бассейне Северо-восточной Атлантики и Каспии по объединённым данным Projecto-Garcia et al. [2010] и настоящего исследования.

Обсуждение

Способ и точное время проникновения краба Харриса в европейские моря достоверно неизвестны. Можно лишь достаточно уверенно полагать, что первоначальное вселение произошло в прибрежные воды провинции Северная Голландия, в частности лагуну Зойдерзее (Zuiderzee) до 1874 г. [Buitendijk, Holthuis, 1949]. Бойтендейк и Хольтхойс высказали предположение о переносе крабов через Атлантику с обрастанием обшивки судов [Buitendijk, Holthuis, 1949]. Так, на относительно медленно движущихся деревянных судах, скорее всего, расселялся на первоначальном этапе своей глобальной экспансии другой известный инвазивный вид зелёный краб, *Carcinus maenas* [Carlton, Cohen, 2003]. Сомнение, правда, вызывала способность *R. harrisii* выжить в длительном путешествии в условиях океанической солёности при условии эстуарного образа жизни этого вида. Более поздние исследования показали толерантность взрослых особей краба Харриса к изменениям солёности в очень широком диапазоне [Smith, 1967; Normant, Gibowicz, 2008], поэтому и в настоящее время данная гипотеза о векторе трансатлантического расселения не опровергнута. Ещё один предположительный вектор расселения краба может быть связан с устричной торговлей, которая была весьма распространена во второй половине XIX в. между Америкой и Европой [Kirby, 2004; Projecto-Garcia et al., 2010].

Уровень генетической гетерогенности природных и ряда интродуцированных популяций *R. harrisii* весьма высок [Petersen, 2006; Projecto-Garcia et al., 2010; Hegele-Drywa et al., 2015]. Из трёх исследованных выборок с Восточного побережья США популяция из вод штата Нью-Джерси наиболее похожа по составу гаплотипов на популяции Северного моря и некоторые другие группировки в области интродукции; однако в ней не обнаружен гаплотип А, один из распространённых в Европе [Projecto-Garcia et al., 2010]. Это свидетельствует в пользу того, что в образовании европейских популяций и формировании их генетической структуры большую роль играл эф-

фект основателя, но генетическое разнообразие основателей было при этом в целом довольно значительным. Кроме того, нельзя исключать возможности нескольких повторных вселений [Projecto-Garcia et al., 2010; Hegele-Drywa et al., 2015].

Как показывает наше исследование и данные из Болгарии, взятые из работы Прохекто-Гарсия с соавторами [Projecto-Garcia et al., 2010], популяции краба Харриса в Черноморско-Каспийском регионе характеризуются низким генетическим разнообразием (табл. 1). Это подтверждает происхождение популяций Азово-Черноморского и Каспийского бассейнов от основателей, нёсших лишь малую часть генетического разнообразия вида. Кроме того, с высокой долей вероятности можно предполагать единый или географически близкие источники происхождения для всех исследованных популяций региона. Некоторые сомнения в этом могут быть связаны с наличием редкого уникального гаплотипа Legm1 в одной из эстуарных популяций северо-восточного побережья Чёрного моря (табл. 1; см. ниже).

А.К. Макаров [1939], впервые обнаруживший *R. harrisii* в Чёрном море в районе г. Николаева, предположил, что вселение крабов произошло из Голландии благодаря вектору судоходства. Действительно, на тот момент ему было известно единственное местообитание в области интродукции в Северо-восточной Атлантике. Именно к середине 1930-х гг. популяция в районе лагуны Зойдерзее достигла высокой численности, и к этому же времени относятся первые находки крабов за пределами этой области [Buitendijk, Holthuis, 1949]. Поскольку в Черноморско-Каспийском регионе самым распространённым является гаплотип А, достаточно редкий в природном ареале, и встречается гаплотип В, отмечающийся почти во всех европейских популяциях (рис. 2), то можно полагать, что источником интродукции краба Харриса в Чёрное море, скорее всего, были европейские воды, а не природный ареал. В то же время, на достаточно обширном материале нами подтверждено, что для Черноморско-Каспийского региона характерны уникальные гаплотипы Т и

Lerm1, нигде более в популяциях *R. harrisii* не встреченные. Это не позволяет предполагать происхождение популяций региона от какой-либо из изученных к настоящему времени европейских популяций вида. Важно отметить, что популяция в Зойдерзее, первоначальном месте вселения краба Харриса в европейские воды, уже давно не существует: перекрытие входа в лагуну дамбой в 1932 г. привело к полному опреснению вод и исчезновению крабов к концу 1930-х гг. после кратковременного периода высокой численности [Buitendijk, Holthuis, 1949]. В музее Натуралис в г. Лейдене, Нидерланды (в прошлом Nationaal Naturhistorisches Museum) хранится серия первых сборов *R. harrisii* из Зойдерзее (6 самцов, 2 самки, номер в каталоге D 2725) и ряд других сборов вида 1930-х гг. из провинции Северная Голландия. Образцы ткани, взятые от этих экземпляров при использовании современных методов работы с «древней» ДНК, возможно, смогут прояснить вопрос о генетической структуре первоначальной популяции краба Харриса в Европе.

Различия между популяциями Азово-Черноморского бассейна по составу гаплотипов незначительны. Выборка из Болгарии (северо-западная часть Чёрного моря) характеризуется преобладанием гаплотипа А (91%), в ней также присутствует гаплотип Т (9%), но не найден гаплотип В [Projecto-Garcia et al., 2010] (рис. 1). В Азовском море и Таманском заливе (формально относимом к этому морю, но представляющем собой водоём со своеобразным режимом, на который существенное влияние оказывают черноморские воды [Овсиенко и др., 2008]) гаплотипы А и Т находятся в соотношении, близком к таковому в популяции северо-западной части Чёрного моря (соответственно, 70–90% и 7–9%). В Таманском заливе с невысокой частотой представлен также гаплотип В. *R. harrisii* широко распространён по Азовскому морю, как у берегов, так и в открытой части [Макаревич и др., 2000; Сергеева, Буркатский, 2002; Набоженко и др., 2010; Son et al., 2013; Zalota et al., 2016], встречается в северной части Керченского пролива [Иванов, Синегуб, 2008] и представляет собой су-

щественный компонент экосистемы Таманского залива [Zalota et al., 2013, 2016].

Крабы Харриса у черноморского восточного, южного и западного (до Каркинитского залива [см. Резниченко, 1967]) побережья Крыма не найдены [Резниченко, 1967; Zalota, 2016], за исключением нахождения в Севастопольской бухте [Shalovenkov, 2005]. Таким образом, контакт между популяциями северо-западной части Чёрного моря и Азовского моря через связующие прибрежные популяции, скорее всего, отсутствует или ограничен. С учётом данных об ограниченности переноса личинок этого вида [Petersen, 2006; Forward, 2009; Hegele-Drywa et al., 2015], сходство между популяциями северо-западной части Чёрного моря и Азовского моря может быть объяснено происхождением от одной группы основателей, поскольку вселение *R. harrisii* в эти районы происходило примерно в одно время (конец 1930-х – 1940-е гг.). Кроме того, в этих районах концентрация морских портов очень велика и каботажное судоходство между ними всегда, а в особенности в советское время было весьма интенсивным [Виноградов и др., 2012], что могло обеспечивать регулярный перенос взрослых крабов с судовым обрастанием и, возможно, балластными водами в обоих направлениях.

В прибрежной зоне северо-восточного побережья Чёрного моря за пределами устьев рек и акваторий портов *R. harrisii* не обнаружен. Обособленные популяции встречены в эстуариях рек северо-восточной части Чёрного моря (Шапсухо и Вулан) [Zalota et al., 2016]. Они вряд ли сами по себе могли быть основаны за счёт вектора судоходства, поскольку находятся достаточно далеко от ближайших портов. Скорее всего, их формирование стало результатом распространения личинок. В то же время, учитывая общее направление течений вдоль Кавказского побережья на северо-запад [Залогин, Косарев, 1999], попадание личинок из ближайших известных крупных популяций краба Харриса (Таманский залив и Керченский пролив) против течения представляется маловероятным. По составу гаплотипов эстуарные популяции также несколько отличаются

ся от других черноморских популяций, в особенности ближайшей таманской. Здесь не встречены гаплотипы Т и В, но присутствует уникальный (в популяции эстуария р. Шапсухо) гаплотип Lerm1 (табл. 1). Мы предполагаем, что эстуарные популяции краба Харриса кавказского побережья Чёрного моря могут быть производными от популяционных группировок, сформировавшихся в портовых акваториях этого побережья, таких как Новороссийск и Туапсе, где были найдены личинки этого вида [Селифонова, 2012]. Эти же «портовые» популяции могли сформироваться позднее, чем популяции крабов в северо-западной части Чёрного моря и в Азовском море (поскольку до последнего времени не были обнаружены) и иметь иной набор основателей.

Популяции Северного Каспия оказались по составу гаплотипов (А, В и Т) удивительно похожи на популяции Азовского моря – Таманского залива (табл. 1). Это безусловно указывает на их происхождение из данного района, что предполагалось ранее Резниченко [1967]. Механизмы вселения, однако, не столь очевидны. Можно, в частности, предполагать занос крабов Харриса в Каспий с судами, проходившими по Волго-Донскому каналу (введён в действие в 1952 г.). В этом случае нам придётся признать, что вселение с помощью судоходства было настолько массовым, чтобы произошёл перенос в Каспий того же генетического разнообразия, которое известно в Азове, а скрытая фаза интродукции была очень короткой. Будучи впервые обнаружен в Каспийском море в 1958 г. [Небольсина, 1959], всего через семь-восемь лет после открытия канала *R. harrisii* повсеместно и достаточно массово встречался в Северном Каспии, достиг побережья Азербайджана и Туркмении, а в начале 1960-х гг. появился у иранских берегов [Резниченко, 1967].

Возможно, однако, что судоходство было не единственным вектором вселения краба Харриса из Азовского моря в Каспий. Для улучшения кормовой базы бентосоядных рыб в конце 1930-х гг. и в первые послевоенные годы в СССР было осуществлено несколько масштабных проектов преднамеренной интродук-

ции видов бентоса. В 1939–1941 гг. из Азова в Каспий осуществлялась перевозка *Nereis* spp. [Карпинский, 2006], а в 1940, 1947 и 1948 гг. – двусторчатого моллюска *Abra ovata*, который, кстати, впервые обнаружен в северной части Каспия в 1955 г. [Карпевич, 1975]. Если в предвоенные годы, крабов Харриса в Азовском море могло ещё не быть, или, во всяком случае, они только туда прибыли, то в конце 1940-х они там присутствовали, и молодые крабики вполне могли быть перенесены в Каспий вместе с аброй. В последующие годы связь между популяциями Азовского и Каспийского морей могла поддерживаться благодаря судоходству (с 1952 по 2013 г. прошло 1 406 900 судов, из них значительная часть танкеров [Волго-Донской судоходный канал, 2014]) и перевозке крабов с балластными водами. Именно с балластными водами в Каспий проникли некоторые другие инвазивные виды, в частности гребневик мнемииопсис (*Mnemiopsis leidyi*), для которого другие векторы предположить сложно [Ivanov et al., 2000].

Прохекто-Гарсия с соавторами [Projecto-Garcia et al., 2010] полагают, что ограничение потока генов между локальными, обычно связанными с эстуариями, популяциями *R. harrisii* (признаки которого выявлены в их и других работах [Hegele-Drywa et al., 2015]) может ускорить адаптацию популяций к местным условиям. Это, в свою очередь, обеспечивает инвазивный потенциал вида. Северо-западные черноморские, азовские и каспийские популяции краба Харриса в отличие от большинства популяций Европы широко распространены и характеризуются географической связностью. В их пределах крабы должны быть адаптированы к очень широкому набору условий, в которых эти популяции обитают: различиям сезонного хода температуры и солёности, донным субстратам и сообществам, преобладающим хищникам [Резниченко, 1967; Набоженко и др., 2010; Виноградов и др., 2012; Son et al., 2013; Zalota et al., 2016]. Такой адаптивный потенциал, очевидно, может быть реализован и на основе ограниченной части генетического разнообразия вида (как в случае водоёмов Черноморско-Каспийского региона), что

делает *R. harrisii* почти идеальным видом-вселенцем.

Заключение

Наше исследование подтвердило, что, по крайней мере, большинство популяций краба Харриса из вод Черноморско-Каспийского региона имеют общее происхождение и отличаются по своей генетической структуре от остальных популяций области интродукции в Старом Свете. Они характеризуются низким генетическим разнообразием, что, очевидно, не препятствует адаптации к различным условиям Чёрного, Азовского и Каспийского морей. Популяция Каспийского моря происходит непосредственно от азовских популяций. При этом представляется возможной обособленность популяций крабов северо-восточной части Чёрного моря, состав гаплотипов которых несколько отличается от других популяций региона. Однако, учитывая то, что изученные нами выборки были невелики, для окончательного выяснения вопроса о популяционной структурированности, генеалогии популяций и степени ограничения потока генов между ними необходимы дополнительные популяционно-генетические исследования. Весьма желательно, в частности, получение и изучение проб крабов Харриса из акваторий портов Кавказского побережья, не охваченных данным исследованием районов Азовского моря и района Днепро-Бугского лимана, который считается областью первоначального вселения *R. harrisii* в Азово-Черноморский бассейн.

Благодарности

Мы благодарны Н.Б. Водовскому и Ф.В. Сапожникову за сбор проб в Северном Каспии и коллегам из Института аридных зон Южного научного центра РАН за материал, полученный из Таганрогского залива. Мы также выражаем признательность С.Е. Аносову (ВНИРО) за помощь в проведении полевых исследований на побережьях Крыма и Кавказа в 2013 г., Ч. Франсену (С. Fransen) за помощь в работе с коллекциями Музея Натуралис и рецензенту статьи за полезные замечания и комментарии. Работа поддержана гран-

том Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) № 13-04-01127.

Литература

- Андреев Н.И., Андреева С.И. Краб *Rhithropanopeus harrisii* (Decapoda, Xanthidae) в Аральском море // Зоологический журнал. 1988. Т. 67. № 1. С. 135–136.
- Виноградов А.К., Богатова Ю.И., Синегуб И.А. Экосистемы акваторий морских портов Черноморско-Азовского бассейна: Введение в экологию морских портов // Одесса: Астропринт, 2012. 572 с.
- Волго-Донской судоходный канал // Вестник Росморречфлота. 2014. № 1. 2014. С. 5.
- Залогин Б.С., Косарев А.Н. Моря. М.: Мысль, 1999. 399 с.
- Иванов Д.А., Синегуб И.А. Трансформация биоценозов Керченского пролива после вселения хищного моллюска *Rapana thomasiana* и двустворчатых *Mya arenaria* и *Cunearca cornea* // Проблемы экологии Азово-Черноморского бассейна: Материалы III Международной конференции, 10–11.11.2007 г. Керчь: ЮГНИРО, 2008. С. 45–51.
- Карпевич А.Ф. Теория и практика акклиматизации водных организмов. М.: Наука, 1975. 431 с.
- Карпинский М.Г. О вселении полихет рода *Nereis* в Каспийском море // В сб.: IX съезд Гидробиологического общества РАН: Тезисы докладов. Т. 1. (г. Тольятти, 18–22 сентября 2006 г.). 2006. С. 208.
- Макаревич П.Р., Любин П.А., Ларионов В.В. Основные тенденции динамики структуры фитопланктонных и бентосных сообществ в Азовском море // Экология. 2000. № 6. С. 444–448.
- Макаров А.К. О некоторых новых элементах в составе фауны черноморских лиманов в связи с судоходством // Доклады АН СССР. 1939. Т. 23. № 8. С. 25–26.
- Набоженко М.В., Шохин И.В., Булышева Н.И. Зообентос // Чужеродные виды в биоразнообразии и продуктивности Азовского и Чёрного морей / Под ред. Матишова Г.Г. и Болтачева А.Р. Ростов-на-Дону: Южный научный центр РАН. 2010. С. 17–27.
- Небольсина Т.К. Краб в Каспийском море // Природа. 1959. № 6. С. 116–117.
- Овсиенко С.Н., Фащук Д.Г., Зацепя С.Н. и др. Шторм 11 ноября 2007 г.: Хроника событий, математическое моделирование и географо-экологический анализ // Труды ГОИН. 2008. Т. 211. С. 308–340.
- Плотников И.С. Изменение видового состава фауны свободноживущих беспозвоночных (Metazoa) Аральского моря // Труды Зоологического института РАН. 2013. Приложение № 3. С. 41–54.
- Промысловые биоресурсы Чёрного и Азовского морей / Под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаевской, Г.Е. Шульмана, Ю.А. Загородней. НАН Украины, Институт биологии южных морей НАН Украины. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. 367 с.
- Резниченко О.Г. Трансокеаническая аутоакклиматизация ритропанопеуса (*Rhithropanopeus harrisii*:

- Crustacea, Brachyura) // Труды Ин-та океанологии АН СССР. 1967. Т. 85. С. 136–177.
- Селифонова Ж.П. Таксономический состав и сезонная динамика меропланктона прибрежных вод северо-восточного шельфа Чёрного моря // Биология моря. 2012. Т. 38. № 1. С. 3–10.
- Сергеева Н.Г., Буркатский О.Н. Макробентос восточной части Азовского моря осенью 2000 г. // Экология моря. 2002. Т. 61. С. 29–35.
- Чикина М.В. Макробоентос рыхлых грунтов Северо-Кавказского побережья Чёрного моря: пространственная структура и многолетняя динамика: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: ИОРАН. 2009. 25с.
- Andreev N.I., Andreeva S.I., Filippov A.A., Aladin N.V. The fauna of the Aral Sea in 1989. 1. The benthos // International Journal of Salt Lake Research. 1992. Vol. 1. P. 103–110.
- Boyle J.R.T., Keith D., Pfau R. Occurrence, reproduction, and population genetics of the Estuarine Mud Crab, *Rhithropanopeus harrisi* (Gould) (Decapoda, Panopidae) in Texas freshwater reservoirs // Crustaceana. 2010. Vol. 83, № 4. P. 493–505.
- Buitendijk A.M., Holthuis L.B. Note on the Zuiderzee crab, *Rhithropanopeus harrisi* (Gould) subspecies *tridentatus* (Maitland) // Zoologische Mededelingen. 1949. Vol. 30. № 7. P. 95–106.
- Carlton J.T., Cohen A.N. Episodic global dispersal in shallow water marine organisms: the case history of the European shore crabs *Carcinus maenas* and *C. aestuarii* // Journal of Biogeography. 2003. Vol. 30. P. 1809–1820.
- Chikina M.V., Kucheruk N.V. Long-Term changes in the structure of coastal benthic communities in the North-eastern part of the Black Sea: influence of alien species // Oceanology. 2005. Vol. 45. Suppl. 1. P. S176–S182.
- Clement M., Snell Q., Walker P., Posada D., Crandall K. TCS: Estimating gene genealogies // Parallel and Distributed Processing Symposium, International Proceedings. 2002. Vol. 2. P. 184.
- Cronin T.W. Estuarine retention of larvae of the crab *Rhithropanopeus harrisi* // Estuarine, Coastal and Shelf Science. 1982. Vol. 15. P. 207–220.
- Cuesta J.A., Garcia-Raso J.E., Gonzalez-Gordillo J.I. Primeracita de *Rhithropanopeus harrisi* (Gould, 1814) (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Xanthidae) en la Península Iberica // Boletón del Instituto Espanol de Oceanografía. 1991. Vol. 7. P. 149–153.
- Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel Test 2: more models, new heuristics and parallel computing // Nature Methods. 2012. Vol. 9. № 8. P. 772.
- Demel K. Nowy gatunek w faunie Bałtyku // Kosmos. 1953. Vol. 2. P. 105–106.
- Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Molecular Ecology Resources. 2010. Vol. 10. P. 564–567.
- Forward R.B. Larval biology of the crab *Rhithropanopeus harrisi* (Gould): A Synthesis // The Biological Bulletin. 2009. Vol. 216. P. 243–256.
- Fu Y.X. Statistical properties of segregating sites // Theoretical Population Biology. 1995. Vol. 48. P. 172–197.
- Gonçalves F. Zooplankton do estuario do Rio Mondego: distribuicao e abundancia (Maio a Agosto de 1988) // Revista de Biologia Universidade de Aveiro. 1991. Vol. 4. P. 173–185.
- Guindon S., Gascuel O. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood // Systematic Biology. 2003. Vol. 52. P. 696–704.
- Hegele-Drywa J., Thiercelin N., Schubart C.D., Normant-Saremba M. Genetic diversity of the non-native crab *Rhithropanopeus harrisi* (Brachyura: Panopeidae) in the Polish coastal waters – an example of patchy genetic diversity at a small geographic scale // International Journal of Oceanological and Hydrobiological studies. 2015. Vol. 44. № 3. P. 305–315.
- Ivanov V.P., Kamakin A.M., Ushivtzev V.B., Shiganova T., Zhukova O., Aladin N., Susan I., Wilson S.I., Harbison G.R., Dumont H.J. Invasion of the Caspian Sea by the comb jellyfish *Mnemiopsis leidyi* (Ctenophora) // Biological Invasions. 2000. Vol. 2. P. 255–258.
- Kerckhof F. National report for Belgium, Anex 3: National reports, WGITMO report. 2001.
- Kirby M.X. Fishing down the coast: historical expansion and collapse of oyster fisheries along continental margins // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004. Vol. 101. P. 13096–13099.
- Leigh J., Bryant D., Steel M. Popart 1.7 (Электронный документ) // (<http://popart.otago.ac.nz>). Проверено 24.12.2015.
- Maitland R.T. Naamlijst van Nederlandsche Schaaldieren // Tijdschriften Nederlandischen Dierkunde. 1874. Vol. 1. P. 228–269.
- Mizzan L., Zanella L. First record of *Rhithropanopeus harrisi* (Gould, 1814) (Crustacea, Decapoda, Xanthidae) in the Italian Waters // Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia. 1996. Vol. 46. P. 109–122.
- Neubaur R. Ein neuer Mitbewohner schleswig-holsteinischer Feischgewasser // Fischereizeitung. 1936. Vol. 39. P. 725–726.
- Normant M., Gibowicz M.. Salinity induced changes in haemolymph osmolality and total metabolic rate of the mud crab *Rhithropanopeus harrisi* Gould, 1814 from Baltic coastal waters // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2008. Vol. 355. № 2. P. 145–152.
- Paavola M., Olenin S., Leppakoski E. Are invasive species most successful in habitats of low native species richness across European brackish water seas? // Estuarine, Coastal and Shelf Science. 2005. Vol. 64. P. 738–750.
- Petersen C. Range expansion in the northeast Pacific by an estuary mud crab – a molecular study // Biological Invasions. 2006. Vol. 8. P. 565–576.
- Projecto-Garcia, J., Cabral H., Schubart C.D. High regional differentiation in a North American crab species throughout its native range and invaded European waters: a phylogeographic analysis // Biological Invasions. 2010. Vol. 12. P. 253–263.

- Roche D.G., Torchin M.E., Leung B., Binning S.A. Localized invasion of the North American Harris mud crab, *Rhithropanopeus harrisi*, in the Panama Canal: implications for eradication and spread // *Biological Invasions*. 2009. Vol. 11. P. 983–993.
- Shalovenkov N. Restoration of some parameters in the development of benthos after reduction of anthropogenous loading in the ecosystem of the Sevastopol Bay in the Black Sea // *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 2005. Vol. 10. P. 105–113.
- Smith R.I. Osmotic regulation and adaptive reduction of water permeability in a brackish-water crab, *Rhithropanopeus harrisi* (Brachyura, Xanthidae) // *Biological Bulletin*. 1967. Vol. 133. № 3. P. 643–658.
- Son M.O., Novitsky R.A., Dyadichko V.G. Recent state and mechanisms of invasions of exotic Decapods in Ukrainian rivers // *Vestnik zoologii*. 2013. Vol. 47. № 1. P. e-45-e-50.
- Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // *Genetics*. 1989. Vol. 123. № 3. P. 585–595.
- Thoma B.P., Guinot D., Felder D.L. Evolution of American mud crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Xanthoidea) inferred from nuclear and mitochondrial markers with comments on adult morphology // *Zoological Journal of the Linnean Society*. 2014. Vol. 170. P. 86–109.
- Turoboyski K. Biology and ecology of the crab *Rhithropanopeus harrisi* ssp. *tridentatus* // *Marine Biology*. 1973. Vol. 23. P. 303–313.
- Williams A.B. Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the eastern United States, Maine to Florida. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1984. 401p.
- Wolff T. Occurrence of two East American species of Crabs in European Waters // *Nature*. 1954. Vol. 174. P. 188–189.
- Zaitsev Y., Ozturk B. Exotic Species in the Aegean, Marmara, Black, Azov and Caspian Seas. Istanbul: Turkish Marine Research Foundation, 2001. 267 p.
- Zalota A.K., Spiridonov V.A., Tiunov A.V. The position of an invasive crab *Rhithropanopeus harrisi* in the food chain network of the Taman Bay // Abstracts volume from the 4th Bi-annual Black Sea Scientific Conference 28–31 October 2013, Constanta Romania. 2013. P. 118–119.
- Zalota A.K., Spiridonov V.A., Kolyuchkina G.A. New method of in situ observations and census of invasive mud crab *Rhithropanopeus harrisi* (Crustacea, Decapoda, Panopeidae) applied in the Black and Azov seas // *Arthropoda Selecta*. 2016. Vol. 25. No. 1. P. 39–62.

GENETIC ANALYSIS OF POPULATION STRUCTURE OF INVASIVE NORTH AMERICAN MUD CRAB *RHITHROPANOPEUS HARRISII* (GOULD, 1841) IN THE BLACK SEA – CASPIAN REGION

© Simakova U.V.¹, Zalota A.K.², Spiridonov V.A.³

P.P. Shirschov Institute of Oceanology of the Russian Academy of Sciences (IO RAS)
Nakhimovsky prospect, 36, Moscow, 11799

e-mail: yankazeisig@gmail.com, azalota@gmail.com, vspiridonov@ocean.ru

The structure of a fragment (523 nucleotide pairs) of the gene of the 1st subunit of mitochondrial cytochrome oxidase (COI) has been studied in the populations of invasive crab *R. harrisii* (family Panopeidae) that established in the basins of the Azov-Black and Caspian Seas in 1930–1950s. In the samples of 6 populations from this region, 4 haplotypes (A, B, T, Lerm1) have been found. One of them is unique (Lerm1) to the northern part of the Black Sea. Haplotype T has only been found in the Black and Caspian Seas region, while haplotype A is found in almost all European populations. Only 4 substitutions have been observed in the sampled sequence, one of which is non-synonymous and there have been 3 polymorphic sites. The diversity of haplotypes (h) of the Black/Caspian Seas region population (from 0.181 ± 0.143 to 0.475 ± 0.098) is significantly lower than this in the other European populations, where the value of h ranged from 0.563 ± 0.063 to 0.795 ± 0.065 , and in North American populations (from 0.725 ± 0.083 to ± 1.0). Harris crab populations of the Black/Caspian Seas region have a common origin, and differ in their genetic structure from populations of the rest of introduction area in Europe. The population of the Caspian Sea originates directly from the Sea of Azov populations and, possibly, there have been numerous repeated exchange events due to shipping vector. The populations in the estuaries of rivers Shapsuho and Vulkan in the north-eastern Black Sea might be isolated since their haplotype composition is slightly different from other populations in the region.

Key words: invasions, vector, COI, haplotype diversity, Sea of Azov, Taman Bay, Krasnodar region, North Caspian Sea.