

УДК 597.552.511–19(265.5)

А.М. Хрусталева*

Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии,
107140, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17

**ФИЛОГЕОГРАФИЯ АЗИАТСКОЙ НЕРКИ
ONCORHYNCHUS NERKA ПО ДАННЫМ ИЗМЕНЧИВОСТИ
МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЛОКУСОВ ОНП: АНАЛИЗ СЦЕНАРИЕВ
ПОСЛЕЛЕДНИКОВОГО РАССЕЛЕНИЯ ВИДА
НА АЗИАТСКОМ ПОБЕРЕЖЬЕ ТИХОГО ОКЕАНА**

Проведен анализ изменчивости трех локусов однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), расположенных в митохондриальной ДНК (мтОНП), в популяциях азиатской нерки на обширной части ее ареала от Чукотки до Курильских островов. В 20 исследованных выборках нерки из 15 озерно-речных систем азиатского побережья Тихого океана были выявлены два основных гаплотипа мтОНП GCC и GTT. В большинстве выборок оба гаплотипа присутствовали приблизительно в равном соотношении. В популяциях Курильских островов (кроме о. Шумшу) преобладал GTT-гаплотип, в выборке с Командорских островов обнаружен только GCC-гаплотип. Географическое распределение гаплотипов, вероятно, объясняется историко-демографическими событиями, связанными с особенностями становления ареала азиатской нерки в среднем-позднем плейстоцене: его фрагментацией с последующим вторичным контактом между ранее дивергировавшими популяциями. Полученные нами данные позволяют рассматривать различные сценарии формирования современного разнообразия гаплотипов мтОНП нерки, подразумевающие неоднократное проникновение данного вида в Азию в периоды трансгрессии моря после плейстоценовых оледенений.

Ключевые слова: нерка, *Oncorhynchus nerka*, мтДНК, однонуклеотидный полиморфизм, цитохром b, цитохромоксидаза, филогеография, послеледниковое расселение.

Khrustaleva A.M. Phylogeography of asian sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* from the data on variability of mitochondrial SNP loci: analysis of scenarios for post-glacial expansion of the species over Asian Pacific coast // Izv. TINRO. — 2016. — Vol. 186. — P. 93–106.

Variability of three SNP loci allocated in the mitochondrial DNA (*One_COI*, *One_Cytb_17*, *One_Cytb_26*) is analyzed for sockeye salmon from its different habitats from Chukotka to Kuril Islands. Two basic haplotypes (GCC and GTT) are revealed in 20 samples of sockeye ($n = 33–100$) from 15 lake-river systems. Their ratio is mostly equal, but GTT haplotype prevails in the populations from Kuril Islands (except Shumshu Island) and is absent in the sample from Commander Islands. This geographical pattern is presumably caused by historical-demographic events related to the species range formation in the middle-late Pleistocene: fragmentation of the areal and subsequent secondary contact between early diverged populations. Two scenarios are discussed, both with multiple expansions of the species to Asia during periods of oceanic transgression after Pleistocene glaciation. According to one of the scenarios, the GTT haplotype

* Хрусталева Анастасия Михайловна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: mailfed@mail.ru.

Khrustaleva Anastasia M., Ph.D., leading researcher, e-mail: mailfed@mail.ru.

has more ancient origin somewhere on the mainland, whereas the GCC appeared much later in the central Kamchatka refugia. The second scenario presumes the origin of both haplotypes on Beringia Bridge where they diverged in the times of middle-Pleistocene (Wurm) glaciation.

Key words: sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, mtDNA, single nucleotide polymorphism, SNP, cytochrome b, cytochrome oxidase, phylogeography, post-glacial expansion.

Введение

Нерка *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) является ценным промысловым объектом в Северной Пацифике. Среди видов р. *Oncorhynchus* она выделяется наиболее ярко выраженным хомингом (инстинктом возврата к местам рождения) и, соответственно, временной устойчивостью локальных стад. Эта биологическая особенность в значительной мере препятствует потоку генов между популяциями и способствует поддержанию свойственной данному виду чрезвычайно сложной популяционной организации. Нерка образует множество четко обособленных локальных стад, дифференцированных на более мелкие структурные группы: сезонные расы, субпопуляции или субизоляты, экотипы различных типов нерестилищ одного субизолята, генеративные формы, жилые, проходные и остаточные формы (Смирнов, 1975; Коновалов, 1980; Burgner, 1991; Бугаев, 1995; Глубоковский, 1995).

Благодаря сложной иерархически организованной популяционной структуре данный вид привлекает к себе внимание специалистов разных научных направлений — от ихтиологов до генетиков — уже на протяжении более чем 50 лет. Вследствие столь длительной истории исследований различных аспектов ее биологии популяционная структура нерки подробно изучена на большей части ареала (Коновалов, 1980; Бугаев, 1995, 2011; Глубоковский, 1995), в том числе и с привлечением молекулярно-генетических методов (Алтухов, 1974; Кирпичников, Муске, 1981; Варнавская, 1984, 2006; Пустовойт, 1994; Varnavskaya et al., 1994; Брыков и др., 2005; Beacham et al., 2006a, b; Пильганчук, Шпигальская, 2013). Однако для поддержания устойчивого воспроизводства, организации рационального промысла и эффективного управления запасами данного вида необходимо располагать информацией не только о численности и структуре стад, но и о генетическом разнообразии и наследуемых адаптационных особенностях эксплуатируемых популяций. Этому способствует увеличение числа информативных молекулярных маркеров ДНК, что особенно актуально при исследовании видов со сложной популяционной организацией.

К наиболее современным и перспективным маркерам, с точки зрения высокой воспроизводимости результатов анализа, точности генотипирования и производительности, можно отнести однонуклеотидные замены в структуре ДНК, или локусы однонуклеотидного полиморфизма (локусы ОНП, или SNP от англ. Single Nucleotide Polymorphism). Сайты ОНП встречаются не только в ядерном геноме, но и в митохондриальной ДНК (мтДНК). Основное достоинство митохондриальных маркеров состоит в том, что с помощью мтДНК хорошо различаются крупные региональные популяции или их совокупности, поскольку в них, благодаря высокой численности, в течение длительного времени надежно сохраняются гаплотипы, маркирующие их происхождение от ранее дивергирующих предшественников (Алтухов и др., 1997). Кроме того, мтДНК остается предпочтительным маркером для оценки популяционного разнообразия, генетической дивергенции, а также для изучения путей расселения вида и реконструкции последовательности колонизации новых территорий в послеледниковый период (Артамонова, 2007).

Цель настоящей работы — предварительная оценка варибельности сайтов ОНП, локализованных в митохондриальном геноме (мтОНП), в популяциях нерки на обширной части ареала от Чукотки до Курильских островов, рассмотрение возможных сценариев филогеографии вида, а также сопоставление общей картины пространственной генетической неоднородности нерки данного региона по оценкам изменчивости мтОНП с полученной ранее по результатам анализа контрольного региона мтДНК (Хрусталева и др., 2015).

Материалы и методы

Материал собирали в период с 2003 по 2008 г. в водоемах Чукотки, Камчатки, североохотоморского побережья, а также Курильских и Командорских островов (см. таблицу, рис. 1). Отлов производителей нерки проводили главным образом в основном русле реки закидными неводами на расстоянии 5–30 км от устья в период ее массового хода, а также бреднем и закидными неводами в протоках озер, непосредственно в нерестовых озерах и во впадающих в них малых реках. В бассейне р. Большой отлов молоди (сеголеток) осуществляли мальковым неводом во время ее ската и нагула в верховье р. Плотникова, в 10 км от оз. Начикинского, а также в нижнем течении р. Быстрой при ее впадении в основное русло р. Большой, в 10 км от пос. Карымай. Пробы ткани нерки фиксировали 96 %-ным этанолом.

Исследованные выборки нерки азиатского побережья Тихого океана,
n — объем выборки (экз.)

Samples description, *n* — sample size (ind.)

№	Выборка (обозначение)	Регион	Водоем	Дата вылова	<i>n</i>
1	Ch	Чукотка	Мейнпильгинская озерно-речная система, оз. Ваамочка	28.07.2004	50
2	KA	Восточная Камчатка	Р. Апука	24–25.06.2008	55
3	KPh		Р. Пахача	17–27.06.2005	60
4	KK		Р. Камчатка	29.06–09.07.2004	100
5	KKa		Р. Камчатка, оз. Азабачье, р. Бушуйка	03, 13.07.2004	81
6	BS	Командорские острова	О. Беринга, оз. Саранное	01.08.2007	58
7	Okh	Материковое побережье Охотского моря	Р. Охота	22.07.2004	80
8	KP	Западная Камчатка	Р. Палана	10–21.07.2003	100
9	KV		Р. Воровская	17–27.07.2007	55
10	KB-03		Р. Большая	29–30.07.2003	100
11	KB-04		Р. Большая	11, 20.08.2004	91
12	KBp		Бассейн р. Большой, р. Плотникова	09, 12.08.2004	39
13	KBb		Бассейн р. Большой, р. Быстрая	20.07.2004, 12.08.2004	33
14	KOp-07		Р. Опала	01.07.2007	50
15	KOp-08		Р. Опала	17.07–26.08.2008	35
16	KO		Р. Озерная	04–07.08.2003	100
17	NKS		Северные Курильские острова	О. Шумшу, оз. Беттобу, р. Острожная	05.08.2008
18	NKP	О. Парамушир, оз. Глухое, р. Шумная		07–13.07.2008	49
19	SKU	Южные Курильские острова	О. Уруп, оз. Токотан	07–08.2008	35
20	SKI		О. Итуруп, оз. Красивое	10.2006	50

Тотальную ДНК выделяли из фрагментов печени и плавника стандартными методами (Маниатис и др., 1984). Исследовали изменчивость трех локусов ОНП (*One_COI*, *One_Cytb_17*, *One_Cytb_26*), локализованных в митохондриальном геноме нерки (Elfstrom et al., 2006).

В работе представлены оригинальные данные по изменчивости мтОНП нерки, полученные методом ТаqМан-ПЦР. Молекулярно-генетический анализ проводили в лаборатории экологической геномики факультета гидробиологии и рыболовства Вашингтонского университета. Методика генотипирования детально изложена ранее (Seeb et al., 2009; Хрусталева и др., 2013).

Выравнивание последовательностей ДНК, депонированных в Генбанк (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), осуществляли в приложении BLAST (Altschul et al., 1990).

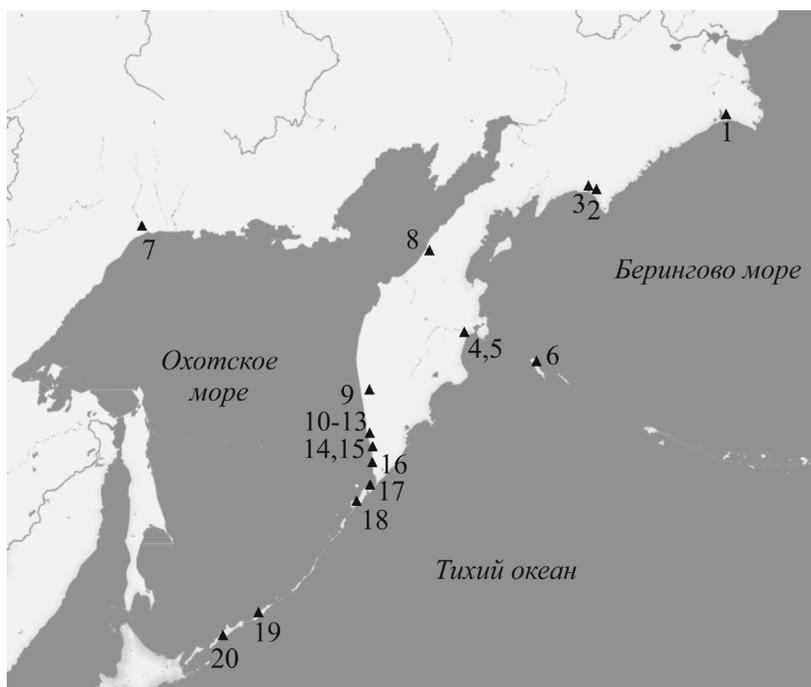


Рис. 1. Карта-схема района сбора материала. Номера выборок как в таблице
 Fig. 1. Scheme of sampling. Specification as in Table

Расчет частот аллелей в выборках, а также вероятностные тесты на генную дифференциацию и проверку неравновесия по сцеплению (с применением цепей Маркова) осуществляли в программе GENEPOP 3.4 (Raymond, Rousset, 1995).

Результаты и их обсуждение

ДНК митохондрий позвоночных животных — замкнутая кольцевая молекула, величина которой обычно не превышает 20000 пар нуклеотидов и содержит более 30 структурных генов, необходимых для синтеза каталитических компонентов системы окислительного фосфорелирования (Алтухов, Салменкова, 2002; Динамика популяционных генофондов ..., 2004). Локусы *One_Cytb_17* (транзигия G/A) и *One_Cytb_26* (транзигия T/C) расположены в гене цитохрома b, в позициях 16162 и 16168 мтДНК нерки (GenBank EF055889.1), локус *One_COI* (транзигия T/C) — в последовательности, кодирующей субъединицу I цитохромоксидазы c, в позиции 7061. Все три ОНП представлены синонимичными заменами в третьей позиции кодона.

МтДНК характеризуется цитоплазматическим клональным типом наследования, т.е. является гаплоидной и наследуется только по материнской линии (Park, 1994). С позиций формальной генетики она рассматривается как один локус, а гаплотипы мтДНК — как аллели этого локуса (Алтухов, Салменкова, 2002; Динамика популяционных генофондов ..., 2004). Проведенная нами проверка неравновесия по сцеплению выявила значимую корреляцию между аллельными вариантами локусов *One_COI* и *One_Cytb_26* во всех выборках. Локус *One_Cytb_17* был низкополиморфен на азиатской части ареала нерки (частота минорного аллеля в отдельных выборках составляла не более 2 %) (рис. 2). Вследствие этого при объединении трех локусов ОНП в один (*One_Cytb_17 – One_Cytb_26 – One_COI*) из возможных восьми вариантов гаплотипов в проанализированных выборках обнаружено лишь четыре — GCC, GTT, ACC и ATT, первые два из которых были массовыми, а остальные встречались единично.

Поскольку однонуклеотидные замены в гене цитохрома b, используемые в нашей работе, изначально были обнаружены в популяциях нерки Бристольского залива, Британской Колумбии, а также в оз. Курильском (Bickham et al., 1995), была

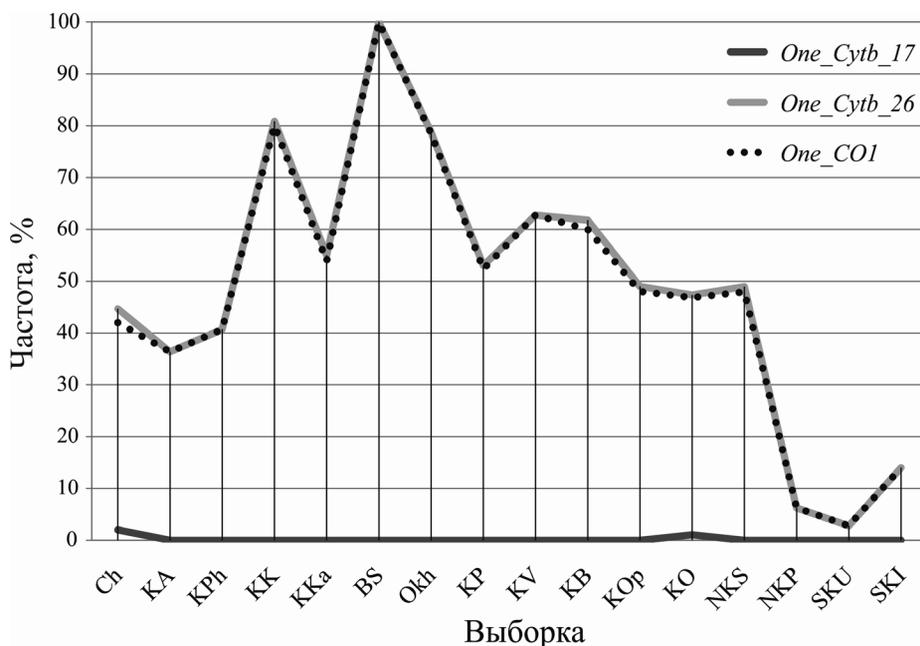


Рис. 2. Частоты аллелей митохондриальных локусов ОНП в выборках нерки азиатского побережья Тихого океана

Fig. 2. Allele frequencies of mtSNP loci in samples of sockeye salmon from Asian Pacific coast

проведена идентификация последовательностей, гомологичных соответствующим TaqMan-пробам, в фрагментах гена цитохрома b, депонированных в Генбанк с номерами AY353063-AY353065, и установлена полная аналогия между анализируемыми ОНП и гаплотипами нерки, описанными в работе Бикхема с соавторами (Bickham et al., 1995). Доминантные мтОНП гаплотипы GСС, GTT идентичны массовым гаплотипам GC и GT американской нерки, а минорный в азиатских популяциях гаплотип АСС — АС-гаплотипу, распространенному в реках Британской Колумбии. Уникальный для российских популяций гаплотип АТТ обнаружен лишь у одной особи в выборке из Мейныпильгинской озерно-речной системы (Чукотка). Кроме того, выявлено соответствие между двумя основными гаплотипами мтОНП GСС и GTT и массовыми гаплотипами Ncb2 и Ncb1 (Генбанк: KC733795 и KC733794), описанными в работах Л.Т. Бачевской с соавторами (2013, 2015).

Географическое распределение гаплотипов с включением данных по американской нерке (Bickham et al., 1995), а также нерке Тауйской губы (р. Ола) и Карагинского залива (р. Хайлюля) (Бачевская и др., 2013) представлено на рис. 3. Выборки смежных лет из рек Опала и Большая объединены по причине отсутствия значимых различий в частотах массовых гаплотипов. В выборке из р. Большой 2004 г., однако, обнаружена одна особь с редким на азиатском побережье гаплотипом АСС. Кроме того, данный гаплотип единично встречался в выборке из р. Озерной, популяция которой наиболее многочисленна на азиатской части ареала вида.

По распределению основных гаплотипов по ареалу нерки видно, что в большинстве популяций встречаются оба гаплотипических варианта. Так, на западной Камчатке в популяциях рек Палана, а также Опала и Озерная GTT и GСС-гаплотипы представлены приблизительно с равной частотой, в то время как в реках Большая и Большая Воровская частота гаплотипа GСС несколько выше (рис. 3). Клинальное распределение гаплотипов наблюдается в реках восточной Камчатки: доля GСС-гаплотипа снижается по мере продвижения в северном направлении от бассейна р. Камчатка, где отмечается его максимальная среди всех континентальных популяций частота. GСС-гаплотип фиксирован в популяции оз. Саранного (Командорские острова). В выборках нерки материкового побережья Охотского моря отмечены существенные различия

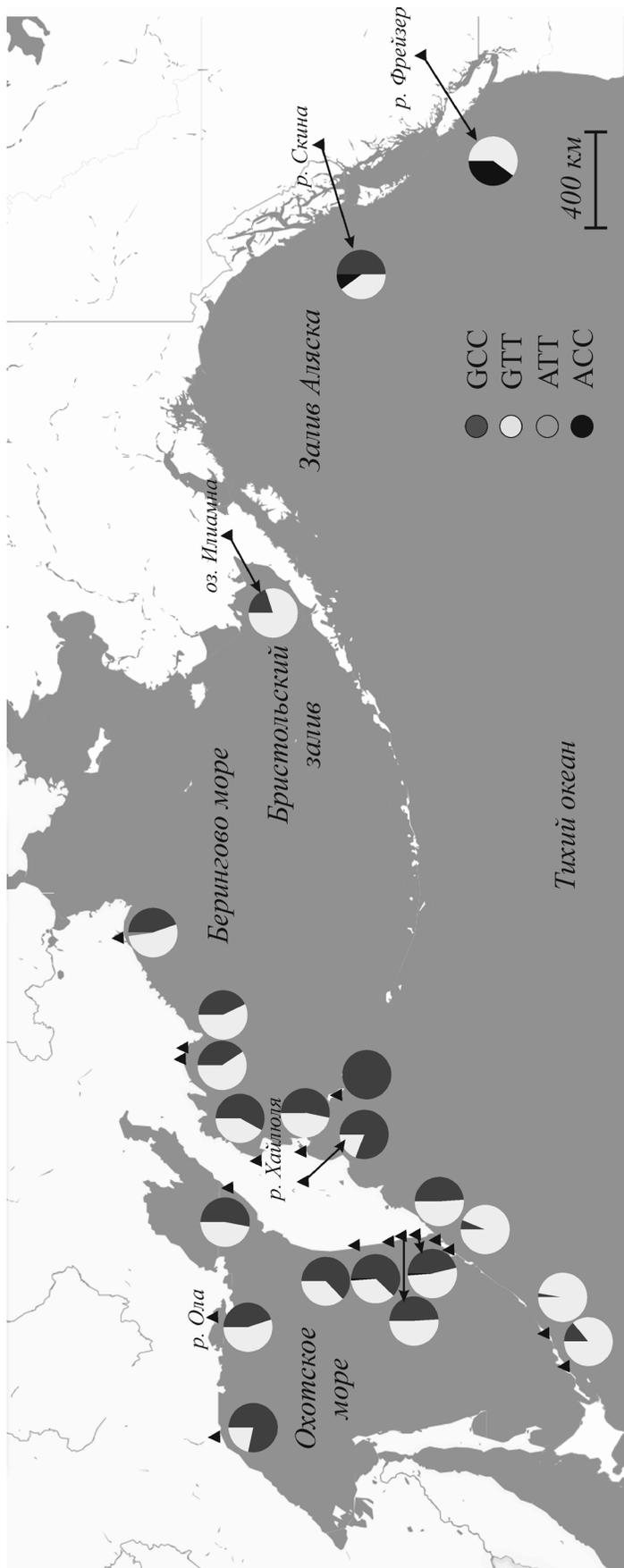


Рис. 3. Географическое распределение частот массовых гаплотипов мтОМП нерки по ареалу
 Fig. 3. Geographical distribution of mass mtSNP haplotypes frequencies over sockeye salmon habitat range

в распределениях двух массовых гаплотипов: в р. Ола они встречаются примерно в равных соотношениях, в то время как в р. Охота преобладает GСС-гаплотип. Наиболее интересная картина наблюдается в популяциях нерки Курильских островов (о-ва Уруп, Итуруп и Парамушир): в этих выборках массовым является GTT-гаплотип, а в выборке с о. Шумушу (северные Курильские острова) частоты гаплотипов примерно одинаковы.

Соотношение основных гаплотипов мтОНП в выделенных ранее группах поздней нерки р. Камчатка (Хрусталева, Кловач, 2015) также различалось (рис. 4). В выборке, предположительно из верхнего течения реки, преобладал GСС-гаплотип, в выборке из среднего течения его доля заметно снижалась, а в выборке из оз. Азабачье соотношение обоих гаплотипов было приблизительно один к одному. Сходная тенденция наблюдалась в группах ранней нерки р. Апука, нерестующей в оз. Ватыт-Гытхын, и поздней, нерестующей в верховье реки. В бассейне р. Большой большинство особей из выборки преимущественно речной нерки р. Быстрой, в бассейне которой нет подходящих для размножения данного вида озер, имели GСС-гаплотип. В выборке нерки из верхнего течения р. Плотникова, наиболее вероятно представленной покатниками-сеголетками из оз. Начикинского, доля GСС была заметно ниже.

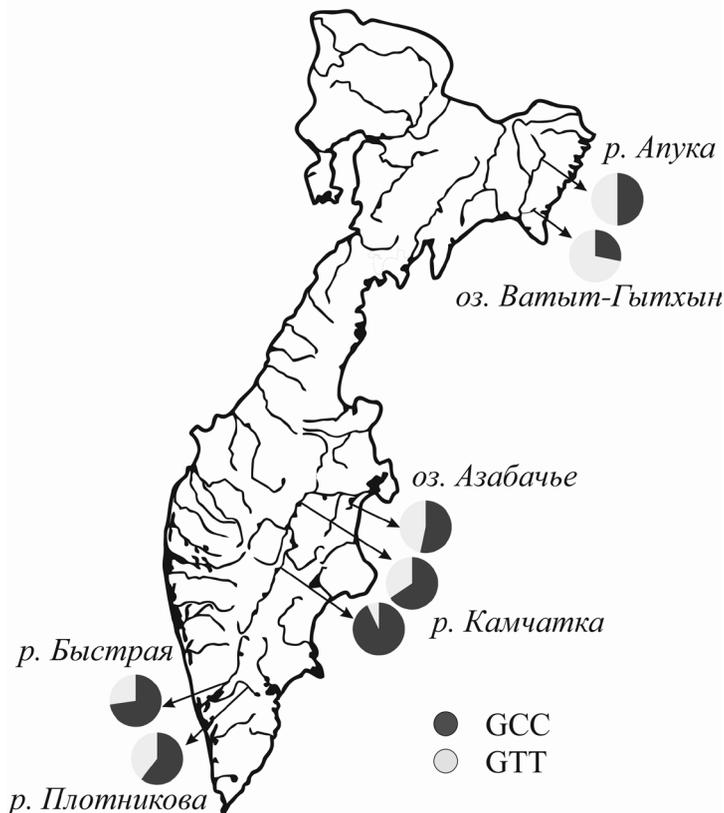


Рис. 4. Распределение массовых гаплотипов мтОНП нерки в бассейнах рек западной и восточной Камчатки

Fig. 4. Distribution of sockeye salmon mass mtSNP haplotypes frequencies in the some river basins of East and West Kamchatka

Соотнесение двух основных мтОНП-гаплотипов и вариантов нуклеотидных последовательностей контрольного региона мтДНК нерки (Хрусталева и др., 2015) позволило установить корреляцию между массовыми гаплотипами в подавляющем большинстве сравнений (в более чем 95 % случаев гаплотип GTT соответствовал 13Т-гаплотипу, а GСС — 10Т). Здесь и далее обозначим их GTT-13Т и GСС-10Т. О высокой степени сходства характера изменчивости различных участков мтДНК у

нерки свидетельствуют полученные ранее экспериментальные данные (Churikov et al., 2001). Доля несоответствий составила менее 5 % от общего числа сравнений, что не превышает порог вероятности их случайного появления. Однако здесь возможны как методические, так и объективные причины, связанные предположительно с существованием GTT-10T и GCC-13T-гаплотипов, обнаруживаемых в выборках нерки из р. Охота (материковое побережье Охотского моря) (3 экз.) и Мейныпильгинской озерно-речной системы (1 экз.), а также нового 10T-13T-гаплотипа в последней выборке (2 экз., неопубликованные данные). Кроме того, выявленные несоответствия могут быть связаны с различиями в темпах эволюционирования анализируемых сегментов мтДНК (Meuер, 1993). Большинство структурных генов, локализованных в мтДНК, подвержены существенным селективным ограничениям в зависимости от аминокислотного состава и функциональной нагрузки их продуктов, а также от положения кодирующей последовательности относительно начала тяжелой цепи (Churikov et al., 2001). В кодирующих последовательностях зачастую наблюдаются эффект «генетического попутчика», при котором сдвиги под давлением отбора в частоте некоего полиморфного локуса ДНК одновременно затрагивают и нейтральный фланкирующий полиморфизм, и так называемый фоновый отбор, т.е. отбор против вредных мутаций, тесно сцепленных с нейтральными вариантами (Nielsen et al., 2009; Салменкова, 2013). В этой связи отметим, что в гене цитохрома *b* нерки ранее обнаруживались несинонимичные замены, приводящие к изменениям в первичной структуре белка (Bickham et al., 1995; Бачевская и др., 2013, 2105). Из-за отсутствия селективной нагрузки некодирующие последовательности митохондриального генома более изменчивы. Так, темп мутирования максимален в Д-петле (Avisе, 1994), по этой причине данный регион более предпочтителен для филогенетических исследований и изучения демографической истории вида на определенном участке ареала. Однако следует отметить, что оба типа данных хорошо коррелируют между собой и дополняют друг друга.

Географическое распределение частот массовых гаплотипов мтОНП нерки нельзя назвать мозаичным (см. рис. 3), скорее, по наличию клины вдоль побережья восточной Камчатки следует предположить существование вторичного контакта между некогда изолированными предковыми популяциями на данной территории. В таких случаях объяснение клинальной изменчивости должно базироваться на анализе становления ареала, подразумевающим существование потоков миграций между некогда разделенными его участками. Гипотеза о происхождении современных популяций нерки от двух изолированных на протяжении многих поколений аллопатрических единиц, дивергировавших 150–200 тыс. лет назад вследствие изоляции в разных рефугиумах, выдвинута Вл.А. Брыковым с соавторами (2005) по результатам анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов мтДНК нерки камчатских и чукотских популяций. Наши результаты подкрепляют эту гипотезу и полностью согласуются с данными, полученными ранее, по изменчивости мтДНК азиатской и североамериканской нерки (Churikov et al., 2001; Брыков и др., 2005; Бачевская и др., 2013, 2015). Заметим, что чаще всего клинальный характер изменения частоты основного аллельного варианта является поводом для привлечения гипотезы адаптивности данного аллеля, однако в нашем случае это предположение, скорее всего, неверно, так как оба гаплотипа представлены молчащими заменами в структуре мтДНК. С другой стороны, выраженный градиент частот гаплотипов в пределах отдельных речных бассейнов свидетельствует о возможно лучшей приспособленности GCC-гаплотипа к условиям верховий протяженных рек или малых притоков основного русла, в то время как GTT-гаплотип, скорее всего, адаптирован к озерным нерестилищам. Ранее показано, что биотопическая специфичность нерестовых участков имеет большое значение для формирования популяционной структуры у нерки (Брыков и др., 2005). Однако однозначно ответить на этот вопрос на данном этапе исследований не представляется возможным.

Полученные нами и имеющиеся в литературе данные (Брыков и др., 2005; Бачевская и др., 2013, 2015; Хрусталева и др., 2015) позволяют рассматривать два основных сценария формирования современного разнообразия гаплотипов мтДНК нерки, под-

разумевающих неоднократное проникновение данного вида в Азию. По литературным данным возникновение видов р. *Oncorhynchus* связано с североамериканским континентом и произошло в раннем-среднем плиоцене (Cavender, Mikker, 1972; цит. по: Глубоковский, Глубоковская, 1981). По другим данным становление нерки как вида происходило в эпоху среднеплейстоценовых оледенений на территории богатой озерами Британской Колумбии, где располагался южный рефугиум — Каскадия (Глубоковский, Глубоковская, 1981). Здесь в условиях жесткой конкуренции с другими пресноводными видами возникла ее устойчивая связь с озерными нерестилищами.

Вероятно, первое проникновение данного вида в Азию совпало с послеледниковой трансгрессией моря уже в среднем плейстоцене (≈ 125 тыс. лет назад), когда происходило формирование нынешней ихтиофауны азиатского побережья Тихого океана (Пустовойт, 1995; Черешнев, 1998). Учитывая сведения о более древнем происхождении данного вида, нельзя исключать и более ранних попыток заселения азиатской части ареала, однако мощное среднеплейстоценовое (иллинойское) оледенение, распространившееся на всю азиатскую часть ареала нерки, скорее всего, повлекло за собой вымирание всех вселенцев.

Второе по счету верхнечетвертичное оледенение (висконсинское, или вюрмское) на территории Камчатки имело горно-долинный или же сетчатый характер (Брайцева, 1966; Брайцева, Евтеева, 1968). Ледники распространялись в основном на прибрежные и горные районы и не затрагивали центральную область полуострова — обширный палеобассейн в среднем и верхнем течении р. Камчатка, расположенный между покрытыми в то время льдами срединным и восточным хребтами (Брайцева, 1966; Брайцева, Евтеева, 1968). Не покрывались ледниками верхние участки некоторых рек центральной Камчатской депрессии (р. Быстрая, бассейн р. Большой) и южной части Западно-Камчатской низменности (р. Плотнокова, бассейн р. Большой) (Брайцева, Евтеева, 1968). Кроме того, рефугиумы в Азии располагались в районе Анадырского залива и бассейна р. Анадырь, а также на отдельных участках северного побережья Охотского моря (Черешнев, 1998; Динамика популяционных генофондов ..., 2004). Позднеплейстоценовые оледенения в основном охватывали Камчатку и побережье Охотского моря, в то время как реки Сахалина, Приморья и Итурупа практически не были подвержены воздействию ледников (Горшков, 1967; Черешнев, 1998). Более того, рефугиумы, где могли сохраниться популяции нерки, существовали на североамериканском континенте, они примыкали к ледниковому щиту на севере и юге. Северный рефугиум, или Берингия, располагался на Аляске, занимая большую часть бассейна р. Юкон, на территории Берингова пролива и северной части Берингова моря, бывших в то время сушей из-за регрессии уровня моря (Берингийская суша, или Берингийский мост) (Бискэ, Баранова, 1976; Алтухов и др., 1997; Черешнев, 1998; Динамика популяционных генофондов ..., 2004; Кожевников, Железнов-Чукотский, 2014). В литературе высказывается мнение о том, что наиболее благоприятные условия дивергенции и видообразования тихоокеанских лососей складывались именно во время неоднократных плейстоценовых регрессий в условиях строгой изоляции в рефугиумах, каждый из которых отличался своими физико-географическими и фаунистическими особенностями (Глубоковский, 1995).

С наступлением послеледниковой трансгрессии происходило расселение сохранившихся популяций на освобождающиеся от ледников территории. Согласно биогеографической гипотезе, выдвинутой МакФейлом и Линдси (McPhail, Lindsey, 1970; Lindsey, McPhail, 1986; цит. по: Динамика популяционных генофондов ..., 2004), современные популяции нерки Юкона, Анадыря и п-ова Камчатка произошли из общего Берингийского рефугиума, тогда как популяции более южных районов колонизировались вселенцами из южных рефугиумов (Динамика популяционных генофондов ..., 2004).

Преобладание GTT-13T-гаплотипа в популяциях нерки северо-западного побережья Берингова моря (северо-восточная Камчатка и Чукотка), а также в популяциях американской нерки свидетельствует в пользу гипотезы о его более древнем происхождении, скорее всего, связанном с Берингийским мостом. Согласно этой гипотезе,

первая волна расселения, предшествовавшая позднелейстоценовому висконсинскому оледенению, привела к распространению GTT-13T-гаплотипа вдоль всего азиатского побережья Тихого океана до северных островов Японского архипелага. В пользу данного предположения свидетельствует тот факт, что в выборках из водоемов южных и северных Курильских островов, за исключением о. Шумшу, также встречается преимущественно GTT-13T-гаплотип, вероятно, сохранившийся на Хоккайдо и прилегающих островах Курильской гряды, между которыми вплоть до голоцена не было проливов (Геология СССР, 1964*; Горшков, 1967). На существование рефугиума в данном районе указывает наличие на о. Итуруп пресноводной ихтиофауны (Рыбы Курильских островов, 2012). Вероятно, вторая волна расселения почти не коснулась наиболее южных территорий, где сохранились реликтовые популяции этого вида, а граница распространения «северной» нерки проходила по самому северному из островов Курильской гряды — о. Шумшу, расположенному на пути основных миграционных потоков, огибающих Камчатский полуостров, где отмечено равновесное соотношение обоих гаплотипов. К аналогичным выводам пришли Л.А. Животовский с соавторами (Животовский и др., 2010; Афанасьев и др., 2011) в исследованиях популяционной структуры кеты южных Курильских островов и других регионов Дальнего Востока России. Кроме того, интересна находка на о. Уруп предшественника альтернативного гаплотипического варианта, GCC-10T-гаплотипа, — гаплотипа 13T-10T (Хрусталева и др., 2015). Очевидно, он является предковым для GCC-10T и сохранился лишь в южнокурильских популяциях, имеющих более древнюю историю существования.

Гаплотип GCC-10T, скорее всего, окончательно сформировался гораздо позднее в периоды позднелейстоценовых регрессий в районе палеобассейна р. Камчатка, так как именно в выборках особей из среднего и верхнего течения данной речной системы этот гаплотип доминировал по численности. Этому способствовали демографические процессы, связанные со снижением численности предковой популяции (бутылочное горлышко). Интересно, что в оз. Азабачьем, расположенном в низовье р. Камчатка, оба гаплотипа встречаются приблизительно в равном соотношении, как и в других речных бассейнах. Можно предположить, что нижние участки р. Камчатка заселялись особями из других рефугиумов при их массовом расселении после отступления ледника в позднечетвертичное время. Наши данные вполне соответствуют результатам, полученным ранее по нерке ряда озерно-речных систем Камчатки и Чукотки (Брыков и др., 2005), свидетельствующим о разном происхождении популяций протяженных рек, в частности р. Камчатка, и коротких рек, таких как р. Озерная и реки Мейныпильгинской системы. Судя по всему, в это время происходило чрезвычайно быстрое распространение данного вида по всему современному ареалу, причем заселение водоемов осуществлялось одновременно особями из разных географических районов, как северных (район Беренгии), так и южных (Япония и южные Курильские острова), параллельно с иррадиацией GCC-10T-гаплотипа из центрально-камчатского рефугиума. Полученная картина распределений гаплотипов позволяет предположить, что проникновение GCC-10T-гаплотипа на охотоморское континентальное побережье и побережье западной Камчатки могло происходить как с юга, так и с севера при затоплении низменного Парापольского дола. Кроме того, во время трансгрессии моря реки разных побережий полуострова могли составлять общую систему (Пустовойт, 1995). С этой точки зрения гаплотипическое единообразие командорской популяции может объясняться эффектом основателя или же относительно недавними сокращениями эффективной численности (бутылочное горлышко).

Экспансия GCC-10T-гаплотипа на американский континент шла, очевидно, вдоль Алеутской гряды и практически не затронула южные районы Британской Колумбии, где обнаружен третий массовый мтОНИП гаплотип АСС, свойственный только озерно-речным системам данного региона, происхождение которого, скорее всего, связано с бассейном р. Колумбия, где располагался южный рефугиум Каскадия.

* Геология СССР. Т. 31: Камчатка, Курильские и Командорские острова. М.: Недра, 1964. 734 с.

Согласно второму сценарию оба гаплотипа имеют более древнее происхождение, связанное, скорее всего, с Берингийским мостом, а основные историко-демографические события, приведшие к их дивергенции, следует отнести к периоду предыдущего, среднелейстоценового (вюрмского), оледенения, о котором сохранилось не так много сведений. Фрагментация и последующее расширение ареала способствовали формированию вторичного контакта между популяциями и объединению исходных гаплотипов в единый пул, а генетическое своеобразие нерки Курильских островов и верховья р. Камчатка является лишь следствием дрейфа генов в условиях географической изоляции в течение последующего верхнечетвертичного ледникового периода. В пользу данного предположения свидетельствуют датировки времени дивергенции основных гаплотипов контрольного региона мтДНК. Так, скорость нуклеотидных замен в среднем в молекуле мтДНК пойкилотермных животных принята равной 1 % за 1 млн лет (Stepien et al., 1997), причем скорость замен в Д-петле в 2–5 раз превышает темп мутаций митохондриальных структурных генов (Meurer, 1993). Таким образом, время дивергенции двух основных гаплотипов контрольного региона мтДНК нерки (Хрусталева и др., 2015) составляет по приблизительным оценкам от 200 до 500 тыс. лет, что совпадает с началом эпохи среднелейстоценовых оледенений. Однако для человека по результатам прямых наблюдений в нескольких поколениях установлено, что скорость мутирования контрольного региона в десятки раз выше (Parsons et al., 1997), чем в кодирующих последовательностях мтДНК (Brown et al., 1979). Таким образом, наши датировки могут оказаться несколько завышенными.

Очевидно, что небольшое число маркеров позволяет нам рассматривать филогеографию азиатской нерки лишь в общих чертах, в то время как для однозначного решения поставленных задач необходимо расширить охват исследований с включением в анализ выборок нерки северных территорий Чукотки и Аляски, некогда занимаемых берингийской сушей, а также существенно увеличить набор маркеров митохондриального генома, что даст возможность оценить генетическое разнообразие в популяциях, построить генеалогию гаплотипов и более детально рассмотреть различные историко-демографические аспекты формирования внутривидовой структуры нерки азиатского побережья Тихого океана.

Заключение

По результатам анализа полиморфизма трех локусов мтОНП азиатской нерки в исследованных выборках из 15 озерно-речных систем азиатского побережья Тихого океана выявлены два основных гаплотипа — GСС и GTT. В большинстве выборок оба гаплотипа присутствовали приблизительно в равном соотношении. В популяциях Курильских островов (кроме о. Шумшу) преобладал GTT-гаплотип, в выборке с Командорских островов обнаружен только GСС-гаплотип. Эти данные свидетельствуют в пользу уникальности островных популяций и необходимости их сохранения.

Географическое распределение гаплотипов нерки на азиатской части ареала, вероятно, объясняется историко-демографическими событиями, связанными с особенностями его становления: разделением ареала в периоды плейстоценовых оледенений с последующим вторичным контактом между ранее дивергировавшими популяциями. Полученные нами данные позволяют рассматривать два альтернативных сценария формирования современного разнообразия гаплотипов мтОНП нерки, подразумевающих неоднократное проникновение данного вида в Азию во время трансгрессии моря после отступления ледников. Согласно одному из них GTT-гаплотип на азиатской части ареала имеет более древнее происхождение, в то время как GСС образовался позднее в центрально-камчатском рефугиуме. Согласно второму сценарию оба гаплотипа имеют древнее происхождение, связанное, скорее всего, с Берингийским мостом, а основные эволюционные события, приведшие к их дивергенции, следует отнести к периоду предыдущего, среднелейстоценового (вюрмского) оледенения.

Автор выражает свою искреннюю признательность д-ру Дж. Сибу (*School of Aquatic & Fishery Sciences, University of Washington, Seattle*) за всестороннюю помощь и поддержку, организацию и финансирование работ, предоставленные методики, реактивы и оборудование. Автор глубоко благодарна сотрудникам лаборатории экологической геномики факультета гидробиологии и рыболовства Вашингтонского университета штата Вашингтон, канд. биол. наук М.В. Шитовой (ИОГЕН РАН) и канд. биол. наук П.К. Афанасьеву (ВНИРО) за помощь в лабораторной обработке материала, а также всем сотрудникам ВНИРО, КамчатНИРО, ЧукотТИНРО, Сах-НИРО, МагаданНИРО и ХфТИНРО, принимавшим участие в сборе материала.

Список литературы

- Алтухов Ю.П. Популяционная генетика рыб : моногр. — М. : Пищ. пром-сть, 1974. — 245 с.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. — 2002. — Т. 38(9). — С. 1173–1195.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная генетика лососевых рыб : моногр. — М. : Наука, 1997. — 288 с.
- Артамонова В.С. Генетические маркеры в популяционных исследованиях атлантического лосося (*Salmo salar* L.). II. Анализ последовательностей ДНК // Генетика. — 2007. — Т. 43(4). — С. 437–450.
- Афанасьев К.И., Рубцова Г.А., Шитова М.В. и др. Популяционная структура кеты *Oncorhynchus keta* российского Дальнего Востока, выявленная по микросателлитным маркерам // Биол. моря. — 2011. — Т. 37(1). — С. 39–47.
- Бачевская Л.Т., Переверзева В.В., Иванова Г.Д. Изменчивость гена цитохрома b митохондриальной ДНК нерки *Oncorhynchus nerka* Walbaum из рек Камчатки и северного побережья Охотского моря // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : тез. докл. 14-й междунар. науч. конф. — Петропавловск-Камчатский : Камчатпресс, 2013. — С. 40–43.
- Бачевская Л.Т., Переверзева В.В., Иванова Г.Д. и др. Генетическое разнообразие нерки (*Oncorhynchus nerka*) из некоторых рек восточной Камчатки и материкового побережья Охотского моря по данным полиморфизма гена цитохрома b митохондриальной ДНК // Исслед. вод. биол. ресурсов Камчатки и сев.-зап. части Тихого океана. — 2015. — № 38. — С. 49–56.
- Бискэ С.Ф., Баранова Ю.П. Основные черты палеогеографии Берингии в дочетвертичном кайнозое // Берингия в кайнозое. — Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1976. — С. 121–128.
- Брайцева О.А. Климатические колебания и четвертичные оледенения Камчатки : автореф. дис. ... канд. геогр. наук. — М., 1966. — 16 с.
- Брайцева О.А., Евтеева И.С. Климатические колебания и плейстоценовые оледенения Камчатки // Геология и геофизика. — 1968. — № 5. — С. 16–22.
- Брыков Вл.А., Полякова Н.Е., Подлесных А.В. и др. Влияние биотопов размножения на генетическую дифференциацию популяций нерки (*Oncorhynchus nerka*) // Генетика. — 2005. — Т. 41(5). — С. 635–645.
- Бугаев В.Ф. Азиатская нерка (пресноводный период жизни, структура локальных стад, динамика численности) : моногр. — М. : Колос, 1995. — 464 с.
- Бугаев В.Ф. Азиатская нерка — 2 (биологическая структура и динамика численности локальных стад в конце XX — начале XXI вв.) : моногр. — Петропавловск-Камчатский : Камчатпресс, 2011. — 380 с.
- Варнавская Н.В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей : моногр. — Петропавловск-Камчатский : КамчатНИРО, 2006. — 488 с.
- Варнавская Н.В. Распределение частот генов лактатдегидрогеназы и фосфоглюкомутазы в популяциях камчатской нерки, предпочитающих различные типы нерестилищ // Генетика. — 1984. — Т. 20(1). — С. 100–107.
- Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб : моногр. — М. : Наука, 1995. — 343 с.
- Глубоковский М.К., Глубоковская Е.В. Пути эволюции тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* Suckley // Рыбы в экосистемах лососевых рек Дальнего Востока. — Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1981. — С. 5–66.
- Горшков Г.С. Вулканизм Курильской островной дуги : моногр. — М. : Наука, 1967. — 280 с.
- Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях : моногр. / Ю.П. Алтухов, Е.А. Салменкова, О.Л. Курбатова и др. — М. : Наука, 2004. — 620 с.

Животовский Л.А., Рубцова Г.И., Шитова М.В. и др. База микросателлитных ДНК-данных по кете Дальнего Востока России // Бюл. № 5 реализации «Концепции дальневосточной бассейновой программы изучения тихоокеанских лососей». — Владивосток : ТИНРО-центр, 2010. — С. 53–63.

Кирпичников В.С., Муске Г.А. Популяционная генетика камчатской нерки (*Oncorhynchus nerka* (Walbaum)) // Генетика и размножение морских животных. — Владивосток : ДВНЦ АН СССР, 1981. — С. 59–71.

Кожевников Ю.П., Железнов-Чукотский Н.К. Палеобиогеография «Берингии» как она есть // Научный диалог. — 2014. — № 1(25) : Естественные науки. — С. 30–83.

Коновалов С.М. Популяционная биология тихоокеанских лососей : моногр. — М. : Наука, 1980. — 237 с.

Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование : моногр. — М. : Мир, 1984. — 480 с.

Пильганчук О.А., Шпигальская Н.Ю. Популяционно-генетическая дифференциация нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum, 1792) восточного побережья Камчатки // Биол. моря. — 2013. — Т. 39(5). — С. 371–379.

Пустовойт С.П. Внутривидовая генетическая изменчивость и межвидовая дифференциация азиатской нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Генетика. — 1994. — Т. 30(1). — С. 101–106.

Пустовойт С.П. Генеографическое исследование нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Генетика. — 1995. — Т. 31(2). — С. 239–244.

Рыбы Курильских островов : моногр. / О.Ф. Гриценко, К.А. Савваитова, М.Ю. Пичугин и др. — М. : ВНИРО, 2012. — 384 с.

Салменкова Е.А. Молекулярно-генетические основы процессов адаптации и подходы к их анализу // Генетика. — 2013. — Т. 49(1). — С. 94–102.

Смирнов А.И. Биология, размножение и развитие тихоокеанских лососей : моногр. — М. : МГУ, 1975. — 335 с.

Хрусталева А.М., Волков А.А., Расторгуев С.М., Кловач Н.В. Вариативность мтДНК в популяциях нерки *Oncorhynchus nerka* Дальнего Востока России // Вопросы сохранения биоразнообразия водных объектов : мат-лы Междунар. науч. конф. — Ростов н/Д : АзНИИРХ, 2015. — С. 354–359.

Хрусталева А.М., Гриценко О.Ф., Кловач Н.В. Полиморфизм по однонуклеотидным заменам (SNP) в популяциях нерки *Oncorhynchus nerka* п-ова Камчатка // Генетика. — 2013. — Т. 49(11). — С. 1322–1336.

Хрусталева А.М., Кловач Н.В. Внутривидовая дифференциация нерки *Oncorhynchus nerka* озерно-речных систем восточного побережья Камчатки // Изв. ТИНРО. — 2015. — Т. 183. — С. 27–40.

Черешнев И.А. Биогеография пресноводных рыб Дальнего Востока России : моногр. — Владивосток : Дальнаука, 1998. — 131 с.

Altschul S., Gish W., Miller W. et al. Basic local alignment search tool // Journ. of Molecular Biology. — 1990. — Vol. 215(3). — P. 403–410.

Avise J. Molecular markers, natural history and evolution : monograph. — N.Y. : Chapman & Hall. ITP International Thomson Pub. Comp., 1994. — 511 p.

Beacham T.D., McIntosh B., MacConnachie C. et al. Pacific Rim population structure of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) as determined from microsatellite analysis // Trans. Amer. Fish. Soc. — 2006a. — Vol. 135. — P. 174–187.

Beacham T.D., Varnavskaya N.V., McIntosh B., MacConnachie C. Population structure of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) from Russia determined with microsatellite DNA variation // Trans. Amer. Fish. Soc. — 2006b. — Vol. 135. — P. 97–109.

Bickham J.W., Wood C.S., Patton J.C. Biogeographic implications of cytochrome b sequences and allozymes in sockeye (*Oncorhynchus nerka*) // J. Heredity. — 1995. — Vol. 86. — P. 140–144.

Brown W.M., George M. JR., Wilson A.C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1979. — Vol. 76(4). — P. 1967–1971.

Burgner R.L. Life history of Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*) // Pacific Salmon Life Histories / C. Groot and L. Margolis (eds). — Vancouver : UBC Press, 1991. — P. 3–117.

Churikov D., Matsuoka M., Luan X. et al. Assessment of concordance among genealogical reconstructions from various mtDNA segments in three species of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) // Molecular Ecology. — 2001. — Vol. 10. — P. 2329–2339.

Elfstrom C.M., Smith C.T., Seeb J.E. Thirty-two single nucleotide polymorphism markers for high-throughput genotyping of sockeye salmon // Mol. Ecol. Notes. — 2006. — Vol. 6(4). — P. 1255–1259.

Meyer A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes // Biochemistry and molecular biology of fishes / P.W. Hochachka, P. Mommsen (eds). — N.Y. : Elsevier Science Publishers, 1993. — Vol. 2. — P. 1–38.

Nielsen E.E., Hemmer-Hansen J., Larsen P.F., Bekkevold D. Population genomics of marine fishes: identifying adaptive variation in space and time // Molecular Ecology. — 2009. — Vol. 18(15). — P. 3128–3150.

Park L.K. Introduction to DNA basics : Application of DNA Technology to the Management of Pacific Salmon / L.K. Park, P. Moran, R.S. Waples (eds) : Proceedings of the Workshop. — Seattle ; Wash. : U.S. Dep. Commer., NOAA Tech., 1994. — 13 p.

Parsons T.J., Muniec D.S., Sullivan K. et al. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region // Nature Genetics. — 1997. — Vol. 15(4). — P. 363–368.

Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism // J. Heredity. — 1995. — Vol. 86. — P. 248–249.

Seeb J.E., Pascal C.E., Ramakrishnan R., Seeb L.W. SNP genotyping by the 5'-nuclease reaction: advances in high throughput genotyping with non-model organisms // Methods in Molecular Biology, Single Nucleotide Polymorphisms / A. Komar (ed.). — N.Y. : Humana Press, 2009. — P. 277–292.

Stepien C.A., Dillon A.K., Brooks M.J. et al. The evolution of Blennioid fishes based on analysis of mitochondrial 12S rDNA // Molecular Systematics of Fishes / T.D. Kocher, C.A. Stepien (eds). — San Diego : Acad. Press, 1997. — P. 245–270.

Varnavskaya N.V., Wood C.C., Everett R. Genetic variation in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) populations of Asia and North America // Can. J. Fish. Aquat. Sci. — 1994. — Vol. 51 (Suppl. 1). — P. 132–146.

Поступила в редакцию 21.04.16 г.