

УДК 575.832:597.553.2

ФИЛОГЕОГРАФИЯ ЮЖНОЙ АЗИАТСКОЙ МАЛЬМЫ *Salvelinus malma krascheninnikovi*: ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

© 2010 г. А. Г. Олейник, Л. А. Скурихина, Е. И. Чукова

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук,
Владивосток 690041; e-mail: alla_oleinik@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2009 г.

На основании PCR–RFLP-анализа изменчивости мтДНК (участки ND1/ND2, ND5/ND6, Cytb/D-loop) исследована филогеография южной азиатской мальмы *Salvelinus malma krascheninnikovi*. Анализ современной популяционно-генетической структуры показал, что для *S. m. krascheninnikovi* на всем ареале характерны высокая дифференциация популяций в сочетании с достаточно слабыми различиями между популяциями удаленных регионов. Реконструирована генеалогия гаплотипов мтДНК и проведен гнездовой кладиристический анализ географических расстояний. Географическое распространение гаплотипов мтДНК *S. m. krascheninnikovi* объясняется как популяционно-генетическими процессами (ограниченный генный поток), так и историко-демографическими событиями (расширение и фрагментация ареала). Показано, что основные демографические события связаны с циклическими процессами геологического формирования бассейна Японского моря и прилегающих территорий, а генеалогическое дерево *S. m. krascheninnikovi* содержит следы вторичных контактов изолированных филогеографических линий.

Одной из основных задач популяционной генетики является исследование микроэволюционных процессов, связанных с распределением генетической изменчивости внутри и между популяциями, дивергенцией популяций и этапами формо- и видообразования. В последние годы основные успехи в этой области обусловлены разработкой филогеографического подхода, который объединяет данные о внутривидовой дифференциации и географическом распределении гаплотипов митохондриальной ДНК [1]. Однако современная популяционно-генетическая структура вида может быть результатом действия самых разнообразных процессов, разделенных в пространстве и во времени, и, следовательно, отражать не только происходящие в настоящее время изменения на популяционном уровне. Было показано, что пережитые популяциями отдельных видов демографические процессы отражаются на структуре генеалогических деревьев гаплотипов [2]. Важным шагом в развитии молекулярной филогеографии стала разработка метода гнездового кладиристического анализа (cladistic nested analysis) [3, 4], который на основании статистических тестов позволяет разделить влияние популяционно-генетических процессов и демографических событий в историческом прошлом исследуемых популяций. Применение данного подхода позволило реконструировать эволюционную историю нескольких видов лососевых рыб и убедительно показать, что особенности популяционной структуры видов, ареал которых в прошлом нахо-

дился в северном полушарии в районах развивающихся в плейстоцене ледников, обусловлены циклическими изменениями климата, а не микроэволюционными процессами, протекающими в современных популяциях [5–9 и др.]. В то же время филогеография лососевых рыб Азии, обитающих на территориях, не подвергавшихся оледенению, мало изучена [10–13].

Цель данной работы – филогеографический анализ изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК) южной азиатской мальмы *Salvelinus malma krascheninnikovi* Taranetz (или *Salvelinus curilus* Pallas согласно [14]) и выяснение роли исторических событий в формировании современного географического распространения гаплотипов мтДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован материал из коллекции авторов, собранный в 1995–2003 гг. и включающий 13 выборок (213 особей) южной азиатской мальмы *S. m. krascheninnikovi*. Представление о точной географической локализации популяций, распределении по ареалу и объеме выборок иллюстрирует табл. 1. Учитывая, что современный ареал южной азиатской мальмы расположен по побережью Японского моря от устья р. Амур до рек Корейского полуострова и включает островные территории к югу от 50° с.ш. [15, 16] до о. Хоккайдо, материал охватывает большую часть ареала. Выборки объединяют как проходные, так и

Таблица 1. Данные об исследованных популяциях *S. m. krascheninnikovi*

Локальность	Географическое положение	Широта	Долгота	Форма	Объем выборки
1. р. Вал	Бассейн Охотского моря, о. Сахалин, северо-восточное побережье	52°21'N	143°04'E	Проходная	19
2. руч. Анива	Бассейн Охотского моря, о. Сахалин, юго-восточное побережье	47°24'N	142°49'E	Ручьевая/проходная	26
3. руч. Теплый	Приток р. Белая, бассейн р. Найба, о. Сахалин	47°13'N	142°45'E	Ручьевая	7
4. руч. Безымянный	Бассейн Охотского моря, о. Сахалин, юго-восточное побережье	47°24'N	142°50'E	Изолят	24
5. р. Лесная	Бассейн Тихого океана, о. Кунашир, восточное побережье	44°12'N	145°59'E	Изолят	30
6. руч. Смольный	Бассейн Японского моря	43°09'N	132°48'E	Ручьевая	29
7. р. Тумнин	Бассейн Японского моря	49°19'N	140°11'E	Проходная	3
8. р. Акур	Приток р. Тумнин, бассейн Японского моря	49°36'N	139°25'E	Проходная	21
9. р. Шамора	Бассейн Японского моря	43°12'N	132°09'E	Ручьевая	10
10. р. Татарка	Бассейн Японского моря	52°10'N	141°30'E	Проходная	4
11. р. Грязная	Бассейн Японского моря	52°09'N	141°32'E	Ручьевая	20
12. р. Ювиши	Бассейн Японского моря, о. Хоккайдо, западное побережье	43°10'N	141°00'E	—	14
13. р. Ташиусу	Бассейн Охотского моря, п-ов Ширетоко, о. Хоккайдо, восточное побережье	43°51'N	145°05'E	—	6

жилые ручьевые экологические формы гольцов. К сожалению, отсутствует информация для двух выборок, любезно предоставленных нам японскими коллегами. Однако известно, что в реках о. Хоккайдо проходная форма встречается крайне редко [17] и можно полагать, что *S. m. krascheninnikovi* представлена в этой части ареала жилой речной формой. Популяции р. Тумнин и р. Акур самостоятельно представлены только в генеалогическом кладиристическом анализе, в остальных случаях анализировали объединенную выборку.

Индивидуальные препараты тотальной ДНК получали из фиксированных тканей печени и сердца по стандартной методике [18]. Изменчивость мтДНК анализировали, используя полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (RFLP) трех участков (ND1/ND2, ND5/ND6, *Cytb*/D-loop), амплифицированных в полимеразной цепной реакции (PCR). Подробно методика анализа изложена ранее [19–21]. Результаты PCR–RFLP-анализа мтДНК нескольких популяций *S. m. krascheninnikovi* были опубликованы [19–21], однако для настоящей работы расчеты велись по уточненным данным картирования амплифицированных участков мтДНК.

Основные показатели генетической изменчивости определяли, используя пакеты программ REAP [22] и Arlequin vers. 2.0 [23]. Гетерогенность частот гаплотипов между парами анализируемых выборок тестировали методом Монте-Карло (17000 псевдослучайных реплик) [24] с использо-

ванием программы CHIRXC [25]. Количественная оценка географической подразделенности разнообразия мтДНК проводилась методом AMOVA [26]. Для тестирования существенности иерархических компонентов дисперсии рассчитывались соответствующие критерии *F*-статистики [27]. Оценки нуклеотидной дивергенции [28, 29] между анализируемыми выборками использовали в качестве мер генетических дистанций при построении фенограммы (метод UPGMA).

Для реконструкции филогеографических связей между гаплотипами мтДНК было построено MST-дерево минимальной протяженности (алгоритм MJ) [30] в пакете программ Network 4.5.02 (“Fluxus Technology Ltd”, www.fluxus-engineering.com). Гнездовой план парсимониального дерева гаплотипов был составлен согласно процедуре, предложенной Темпелтоном с соавт. [3, 4, 31, 32]. Гнездовой кладиристический анализ (ГКА) географической сопряженности гаплотипов был проведен с помощью программы GeoDis [33]. ГКА оценивает значимость следующих величин: D_c — расстояние от географического центра клады; D_n — расстояние от географического центра гнезда, в качестве которого рассматривается клада следующего уровня вложенности; $I-T$ — усредненная разница расстояний между внутренними и периферическими кладами [4]. Географический центр клады рассчитывается программой исходя из точных географических координат мест сбора особей, несущих гаплотипы, входящие в данную кладу. Ста-

статистическую значимость величин D_s , D_n , I – T оценивали методом случайных перестановок (17000 реплик) [24]. В том случае, когда тесты ГКА указывали на существенно большее или существенно малое значение хотя бы одной из величин расстояния, проводился анализ неслучайного (сопряженного) пространственного распределения клад всех уровней вложенности. Для интерпретации результатов использовался модифицированный ключ, разработанный Темпелтоном [34], находящийся на веб-странице программы GeoDis (http://bio-ag.byu.edu/zoology/crandall_lab/programs.htm).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Размер амплифицированных фрагментов мтДНК равен 7672 пары нуклеотидов. Общее число сайтов, определенных из анализа размеров и распределения рестрикционных фрагментов в гаплотипах, равно 196, что составляет около 686 нуклеотидов (4.8% митохондриального генома). У 213 исследованных рыб выявлено 39 гаплотипов мтДНК, которые мы рассматриваем как гаплотипы южной азиатской мальмы. Ранее отмечалось, что в некоторых популяциях *S. m. krascheninnikovi* (р. Вал, руч. Анива, руч. Теплый) с разной частотой встречаются особи с гаплотипами мтДНК *S. m. malma*, появление которых, вероятно, связано с исторической интрогрессивной гибридизацией [19, 20]. Эти особи исключены из всех тестов, поскольку гнездовой кладистический анализ имеет ряд ограничений [32], одним из которых является гибридизация. Включение в анализ гаплотипов сильно дивергировавших филогенетических линий замаскировало бы все менее выраженные различия.

Анализ современной популяционно-генетической структуры S. m. krascheninnikovi

Распределение и абсолютные частоты гаплотипов в популяциях *S. m. krascheninnikovi* приведены в табл. 2. Можно выделить три филогенетические группы, объединяющие разное количество гаплотипов: группа, распространенная в популяциях о. Сахалин (21 гаплотип); группа гаплотипов популяции о. Кунашир (3 гаплотипа); группа, представленная в популяциях материкового побережья Японского моря и на о. Хоккайдо (13 гаплотипов). При этом один из доминирующих гаплотипов (S14) и один из редких гаплотипов (S20) третьей группы с низкой частотой встречаются в сахалинских популяциях.

Сравнительные характеристики основных показателей разнообразия мтДНК приведены в табл. 3. Средние значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия в популяциях, представленных анадромными гольцами ($h = 0.8609 \pm 0.1044$; $\pi = 0.003061$), оказались несколько вы-

ше, чем усредненные значения для популяций *S. m. krascheninnikovi* ($h = 0.7741 \pm 0.1095$; $\pi = 0.002361$). При расчете средних оценок не учитывались показатели изолированных популяций, эволюционирующих под действием случайного дрейфа генов [21]. Следует также отметить пониженные показатели разнообразия в двух популяциях (р. Шамора, руч. Смольный), представленных исключительно ручьевыми гольцами ($h = 0.1960 \pm 0.1225$; $\pi = 0.000258$). Наиболее вероятно, что наблюдаемая тенденция является следствием действия дрейфа генов.

Тестирование географической подразделенности полиморфизма мтДНК (критерии χ^2 [24], F_{ST} [27]) выявило статистически значимые различия при попарном сравнении всех анализируемых популяций ($p < 0.05$ – 0.001), кроме нескольких пар, в которых отсутствие гетерогенности вероятно определяется ошибкой выборочности. Достоверные различия наблюдались между объединенными выборками *S. m. krascheninnikovi* как на внутрорегиональном (Сахалин, материковое побережье, Хоккайдо), так и на межрегиональном уровнях географической подразделенности ($p < 0.001$).

Для количественной оценки величины генетических различий между всеми парами выборок *S. m. krascheninnikovi* было проведено разложение общей молекулярной дисперсии частот гаплотипов мтДНК на иерархические уровни по методу AMOVA [26] (табл. 4). Анализ объединенных выборок показал, что для *S. m. krascheninnikovi* на всем ареале 48% общей внутривидовой молекулярной дисперсии связано со структурированностью между популяциями и 52% – с генетическим разнообразием внутри популяций. Тестирование популяций в соответствии с их географической принадлежностью к территориям (вариант II) или к бассейнам морей (вариант III) подтвердило обнаруженные закономерности: статистически значимое ($p < 0.001$) разделение дисперсии на примерно равные внутри- и межпопуляционные компоненты (49–51% и 39–43% соответственно). На долю межгрупповой изменчивости приходится небольшая доля дисперсии (11–6%), независимо от варианта объединения популяций. Однако статистическая существенность межгруппового компонента была подтверждена только для выделенных территориальных группировок ($p = 0.04$), что может быть связано с малой мощностью тестирования при минимальных нуклеотидных различиях между основными гаплотипами, дифференцирующими популяции бассейнов Японского и Охотского морей. Однако тест гомогенности частот гаплотипов (χ^2 [24]) показывает достоверные различия ($p < 0.001$) между выделенными группами в обоих случаях.

Таким образом, для современной популяционно-генетической структуры южной азиатской

Таблица 2. Встречаемость гаплотипов мтДНК в популяциях *S. m. krascheninnikovi*: анализ участков ND1/ND2, ND5/ND6, Cytb/D-loop

Гаплотип	Популяции*												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
S1	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S7	2	15	3	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S11	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S14	0	1	2	0	0	3	0	5	9	1	6	0	1
S15	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S16	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S17	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S19	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
S21	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S22	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S23	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S24	0	0	0	0	28	0	0	0	0	0	0	0	0
S25	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
S26	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
S27	0	0	0	0	0	26	0	3	0	1	0	10	0
S28	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
S29	0	0	0	0	0	0	0	9	0	2	0	0	2
S30	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0
S31	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
S32	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
S33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0
S34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
S35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
S36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
S37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
S38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
S39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

* Нумерация популяций соответствует табл. 1.

Таблица 3. Основные показатели изменчивости мтДНК в популяциях *S. m. krascheninnikovi*

Популяция	Объем выборки	Число гаплотипов	Число полиморфных сайтов	Оценка различий между гаплотипами	Гаплотипическое разнообразие (<i>h</i>)	Нуклеотидное разнообразие (π)
р. Вал	19	12	18	6.9006 ± 3.3964	0.9415 ± 0.0351	0.004632
руч. Анива	26	11	21	4.0738 ± 2.0988	0.6738 ± 0.1044	0.002742
руч. Теплый	7	4	14	4.8571 ± 2.6940	0.8095 ± 0.1298	0.003268
руч. Безымянный	24	1	0	0.0000 ± 0.0000	0.0000 ± 0.0000	0.000000
р. Лесная	30	3	6	0.7104 ± 0.5491	0.1310 ± 0.0821	0.000475
руч. Смольный	29	2	3	0.5764 ± 0.4798	0.1921 ± 0.0902	0.000383
р. Акур	24	7	12	3.2391 ± 1.7303	0.8080 ± 0.0557	0.002188
р. Шамора	10	2	1	0.2000 ± 0.2691	0.2000 ± 0.1541	0.000134
р. Татарка	4	3	6	3.5000 ± 2.2411	0.8333 ± 0.2224	0.002365
р. Грязная	20	5	4	1.4789 ± 0.9331	0.7211 ± 0.0716	0.000981
р. Ювиши	14	3	4	1.0110 ± 0.7208	0.4725 ± 0.1358	0.000673
р. Ташиусу	6	5	9	3.0000 ± 1.8166	0.9333 ± 0.1217	0.002043

Таблица 4. Иерархический анализ гаплотипических различий *S. m. krascheninnikovi* [26]

Уровень разнообразия	<i>d.f.</i>	Процент дисперсии	Индекс	Вероятность (<i>p</i>)
Вариант I				
Между популяциями	12	48.44	$F_{ST} = 0.48440$	0.00000
Внутри популяций	201	51.56		
Вариант II (Сахалин, Кунашир — материковое побережье Японского моря; Хоккайдо)				
Между группами	1	11.37	$F_{CT} = 0.11369$	0.04149
Между популяциями внутри групп	10	39.30	$F_{SC} = 0.44346$	0.00000
Внутри популяций	201	49.33	$F_{ST} = 0.50673$	0.00000
Вариант III (бассейны Японского и Охотского морей)				
Между группами	1	6.07	$F_{CT} = 0.06072$	0.11792
Между популяциями внутри групп	10	43.39	$F_{SC} = 0.46195$	0.00000
Внутри популяций	201	50.54	$F_{ST} = 0.49462$	0.00000

мальмы характерны высокая дифференциация популяций в сочетании с достаточно слабыми различиями между популяциями географически удаленных регионов. Эти закономерности прослеживаются при кластеризации популяций по степени нуклеотидной дивергенции мтДНК. На фенограмме (рис. 1) формируются два больших кластера, один из которых объединяет популяции материкового побережья Японского моря и популяцию с восточного побережья о. Хоккайдо (р. Ташиусу). Второй кластер, объединяющий все популяции сахалино-курильского региона, включает также популяции с западного побережья о. Хоккайдо (р. Ювиши) и материкового побережья (руч. Смольный).

Обобщая, у *S. m. krascheninnikovi* можно выделить две группировки: 1) популяции сахалино-курильского региона (островные); 2) популяции материкового побережья Японского моря и о. Хоккайдо, что соответствует опубликованным результатам анализа нуклеотидных последовательностей участка D-петли мтДНК [11, 12]. Уровень нуклеотидной дивергенции для популяций первой группы находится в диапазоне 0.02–0.18%, для материковых популяций — 0.03–0.18%, для популяций о. Хоккайдо равен 0.25%. Анализ оценок дивергенции показывает, что популяции Японского архипелага оказались генетически более близки с географически удаленными материковыми популяциями (0.13%), чем с островными (0.18%). Степень дивергенции между

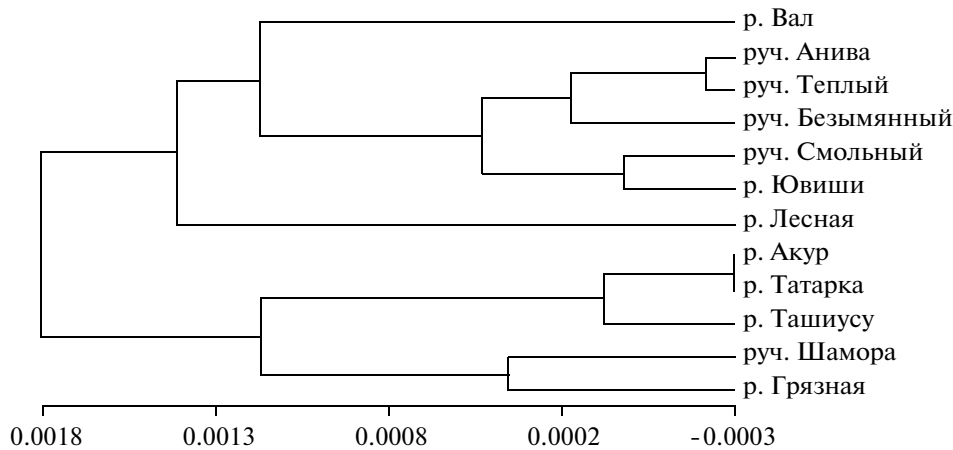


Рис. 1. Фенетические отношения (метод UPGMA) между популяциями *S. m. krascheninnikovi*. По оси — степень дивергенции нуклеотидных последовательностей мтДНК [28, 29]. Коэффициент кофенетической корреляции 0.6851.

популяциями сахалино-курильского региона и материковыми популяциями составляет 0.14% с диапазоном изменчивости от 0.03% до 0.31%.

Филогеография гаплотипов митохондриальной ДНК *S. m. krascheninnikovi*

Для того чтобы понять, какие исторические факторы оказали влияние на формирование современной популяционно-генетической структуры *S. m. krascheninnikovi*, была реконструирована (МД-анализ) генеалогия гаплотипов мтДНК (рис. 2). Характерной особенностью данного генеалогического дерева является наличие большого количества альтернативных связей равной длины, которые возникают в результате обратных или параллельных мутаций, что приводит к образованию множественных замкнутых циклов. Еще одной особенностью генеалогии *S. m. krascheninnikovi* является присутствие кластера линейной структуры, в которой отдельные гаплотипы, в основном сахалинских популяций, разделены на значительные расстояния (4–5 нуклеотидных замещений). Гаплотипы одной популяции входят в разные структуры МСТ-дерева, генеалогические расстояния между которыми оказываются очень большими. Отсутствие радиальных кластеров в генеалогии гаплотипов мтДНК, характерных для видов, ареалы которых были затронуты оледенениями [5, 9], свидетельствует, что популяции южной азиатской мальмы избежали резких падений численности.

Для установления наиболее вероятных причин географического распространения гаплотипов мтДНК был выполнен гнездовой кладиристический анализ. Гнездовой кладиристический план дерева гаплотипов *S. m. krascheninnikovi*, составленный с использованием правила вложения клад [3], изображен на рис. 3. На первом этапе тестирова-

лась нулевая гипотеза отсутствия сопряженности между генеалогическими кладами и географическими локальностями. Результаты анализа неслучайного характера пространственного распределения гаплотипов указывают на наличие высоко существенной сопряженности между шестью кладами первого (1-22, 1-23) ($p < 0.05$), второго (2-3, 2-4, 2-5) ($p < 0.01$) и третьего (3-2) ($p < 0.0001$) уровней и географическими локальностями, а также для всей кладограммы (4-1) ($p < 0.0001$) в целом.

На втором этапе тестирования учитывались географические расстояния между местами выборок и выяснялись причины неслучайного пространственного распределения клад. Результаты тестов ГКА и краткая интерпретация результатов представлены на рис. 4. Тесты, проведенные для четырех клад (1-25, 2-3, 3-2, 4-1), указывают на роль ограниченного потока генов практически на всем ареале. Установлен один случай аллопатрической фрагментации ареала, связанный с кладой 1-22. Для трех клад результаты тестирования оказались неоднозначными. В качестве возможных причин сопряженности гаплотипов для клад 2-5 могут быть фрагментация ареала, изоляция расстоянием или расширение ареала, а для клад 2-3 — фрагментация или изоляция расстоянием. Результаты тестирования для клад 2-4 указывают как на ограниченный поток генов, так и на возможную колонизацию удаленных участков ареала. Неоднозначность выводов в последнем случае определяется, вероятно, недостаточным охватом ареала выборками из района Курильских островов.

Ограниченный поток генов в условиях изоляции расстоянием был выведен в качестве причины географической сопряженности гаплотипов мтДНК *S. m. krascheninnikovi*. Ранее было показано, что при ограниченном потоке генов внутрен-

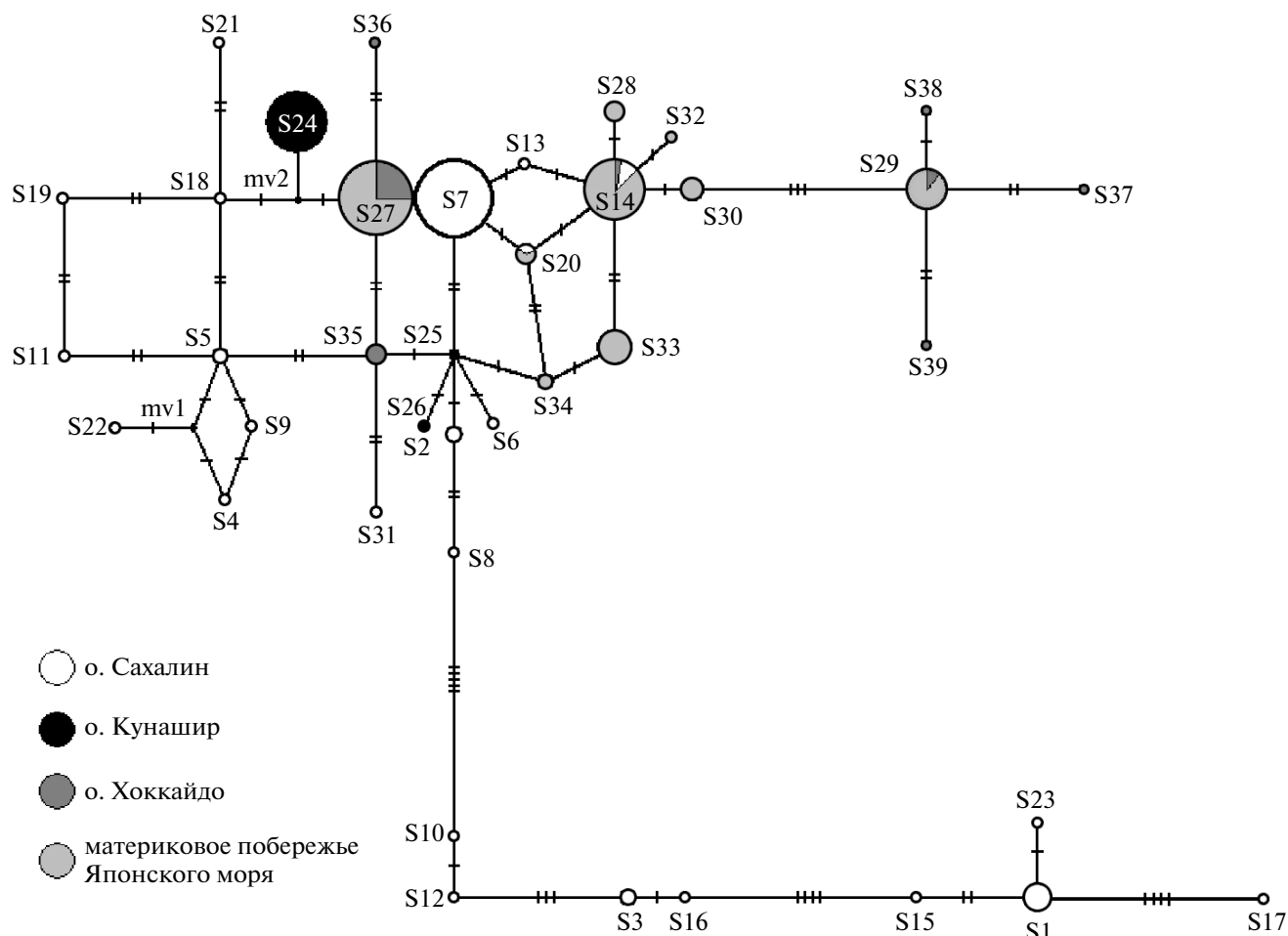


Рис. 2. Генеалогическая сеть (MJ-анализ) гаплотипов мтДНК *S. m. krascheninnikovi*. На ветвях указаны мутационные различия между гаплотипами; размер окружностей пропорционален абсолютным частотам гаплотипов. Все мутации имеют равный вес, интервал поиска медианных векторов (mv1, mv2) ϵ равен нулю. Обозначение гаплотипов согласно табл. 2.

ние клады должны быть более широко распространены по ареалу, чем периферические [35]. Эта закономерность наблюдается для кладограммы *S. m. krascheninnikovi* не только низшего (1-23, 1-25), но и высшего (2-3, 2-4, 3-2, 4-1) уровня вложенности. Внутренние клады 1-23 и 1-25 содержат основные гаплотипы (S7, S27, S14), которые встречаются по всему ареалу (табл. 2). Поскольку в гнездовом плане внутренние клады (или гаплотипы) всегда старше периферических [36], последние представляют вновь появляющиеся гаплотипы в популяциях, распространение которых через межпопуляционные миграции коррелирует с возрастом [35], а для лососевых рыб ограничено хомингом половозрелой части популяции [37]. Однако тесты ГКА для клады 1-23 (рис. 4) также указывают на вероятную историческую фрагментацию ареала на материковое побережье Японского моря и восточное побережье островов Сахалин и Хоккайдо, относящиеся к бассейну Охотского моря. Отсутствие выборок с западного

побережья о. Сахалин не дает возможности исключить влияние ограниченного потока генов на формирование наблюдаемого соотношения статистических характеристик географических расстояний внутри клады, так как имеются данные о возможной дифференциации популяций с западного и восточного побережий о. Сахалин [12].

Результаты тестирования для клады 1-22 (рис. 4) указывают на вероятную историческую фрагментацию ареала на границе Сахалина и Курильских островов. Так как после фрагментации в геноме накапливаются фиксированные различия [38], это приводит к разделению пространственного распространения клад. Клада 1-22 объединяет два гаплотипа с парсимониальной связью, один из которых (S24) является фиксированным гаплотипом изолированной р. Лесной (о. Кунашир). В данном случае неоднозначность трактовки связана не с выводом ГКА, а с двойственностью геологической ситуации.

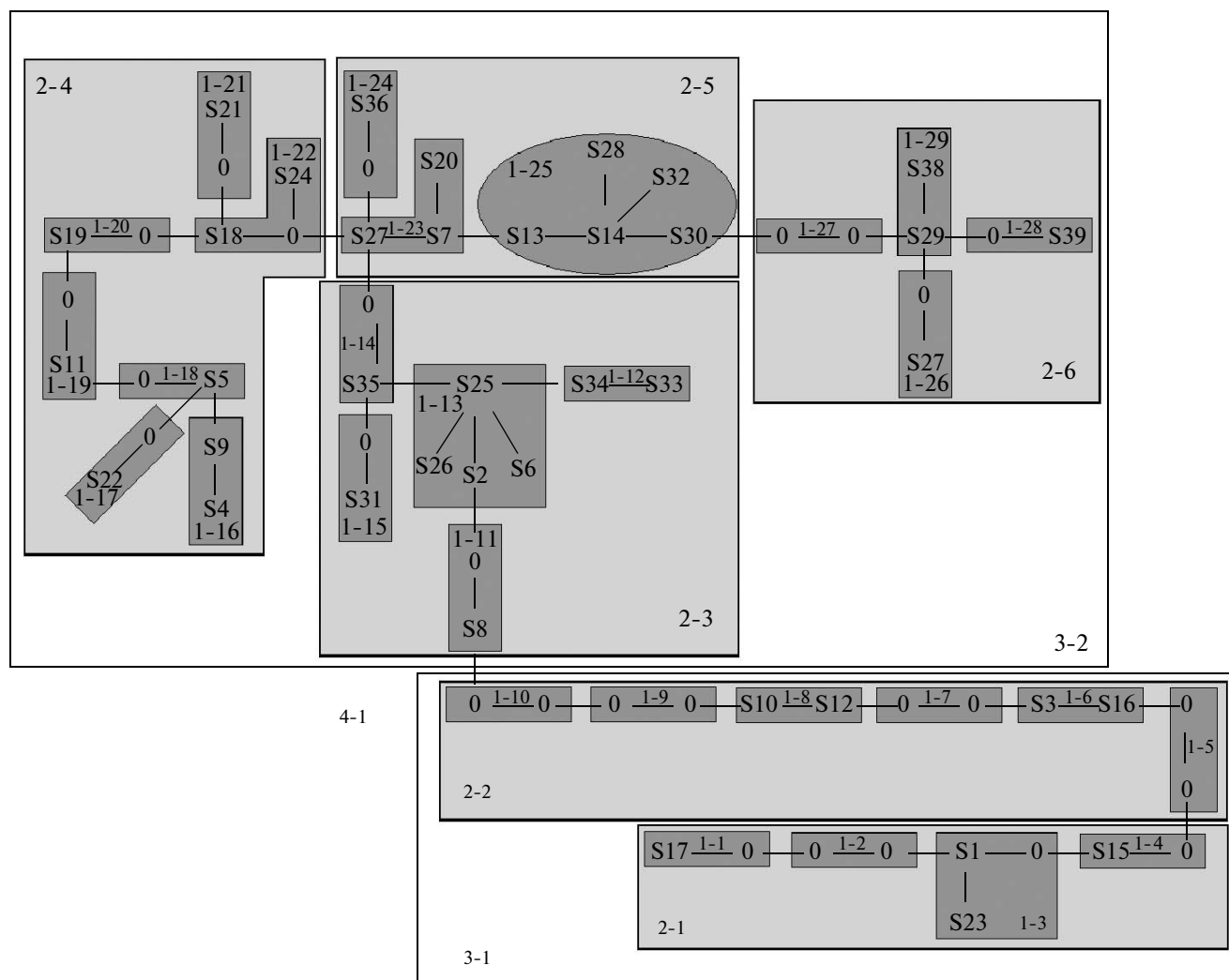


Рис. 3. Гнездовой клади́стический план дерева гаплотипов мтДНК *S. m. krascheninnikovi*. Нули обозначают промежуточные гипотетические гаплотипы, не обнаруженные в выборках. Каждая связь представляет один мутационный шаг. Обозначение гаплотипов согласно табл. 2.

Фиксированные различия могут быть связаны как с изоляцией конкретного водотока, так и с межрегиональной дивергенцией гаплотипов мтДНК. Поскольку в анализе отсутствуют сведения о гаплотипическом составе других популяций *S. m. krascheninnikovi* Курильских островов, мы рассматривали фиксированный гаплотип как предковый популяции р. Лесной [21]. В этом случае историческая фрагментация ареала определяется изоляцией р. Лесной от моря, которая может датироваться последним извержением вулкана Менделеева (около 30000–40000 лет назад) [39]. Для подтверждения этого предварительного вывода необходим более широкий охват выборками района Курильских островов, так как опубликованные в настоящий момент данные неоднозначны. Согласно результатам генетико-биохимического исследования ядерных локусов, популяции

S. m. krascheninnikovi Курильских островов достоверно отличаются от популяций Южного Сахалина [16, 39]. В то же время анализ нуклеотидных последовательностей участка D-петли мтДНК не выявил статистически значимых различий между выборками о. Сахалин и Курильских островов [11].

Клада 2–5 объединяет наиболее часто встречающиеся гаплотипы мтДНК *S. malma krascheninnikovi* в составе клад нулевого уровня, расстояние между которыми составляет 1–3 нуклеотидные замены. В качестве возможных причин географической сопряженности для клады 2–5 тесты ГКА (рис. 4) указывают на фрагментацию ареала, изоляцию расстоянием или расширение ареала. Однако, согласно комментарию к пункту 15 дихотомического ключа [34], для клад высокого уровня вложенности роль фрагментации более вероятна в том случае, когда их распространение частично

Клады 0-го уровня			Клады 1-го уровня			Клады 2-го уровня			Клады 3-го уровня			Клады 4-го уровня																																						
Клада	D_c	D_n	Клада	D_c	D_n	Клада	D_c	D_n	Клада	D_c	D_n	Клада	D_c	D_n																																				
S17			1-1	0	223	2-1	272	286	3-1	276 ^S	384																																							
S1	218	281	1-3	282	281																																													
S23	0	283																																																
I-T	216	-2																																																
S17			1-4	0	223										2-2	144	256	3-1	276 ^S	384																														
S3	0	147	I-T	247	51																																													
S16	0	403	1-6	216	187																																													
S10	0	0	1-8	0	85																																													
S12	0	0																																																
S8																																																		
S34	0	0	1-11	0	301																			2-3	327	476	3-1	276 ^S	384																					
S33	0	0	1-12	0 ^S	272																																													
S2	0	280																																																
S6	0	280																																																
S25	0	666	1-13	394	421																												2-3	327	476	3-1	276 ^S	384												
S26	0	666																																																
I-T	0	-64																																																
S35			1-14	0	727 ^L	1-2-3-4 No: ИП			3-2	445	442																																							
S31			1-15	0 ^L	103 ^S																																													
			I-T	219 ^L	252 ^L																																													
S4	0	0	1-16	0	703 ^L										2-4	319 ^S	473	1-2-3-4 No: ИП			4-1																													
S9	0	0																																																
S22																																																		
S5			1-17	0	190 ^S																																					2-4	319 ^S	473	1-2-3-4 No: ИП			4-1		
S11			1-18	0	703 ^L																																													
S19			1-19	0	703 ^L																																													
S21			1-20	0	199																																													
S18	0 ^S	417 ^L	1-21	0	199																			2-4	319 ^S	473	1-2-3-4 No: ИП			4-1																				
S24	0 ^S	17 ^S	1-22	33 ^S	243 ^S																																													
I-T	0 ^L	400 ^L																																																
			1-19 No: ФР																														1-2-3-5-6-7-8 No: ИП/КУ			3-2	445	442												
			I-T	29 ^S	-165																																													
S7	53 ^S	257 ^L	1-23	397 ^S	417 ^S	2-5	451	436	1-2-3-4 No: ИП																																									
S27	452 ^L	538 ^L																																																
S20	263	475																																																
I-T	-21	-84	1-2-3-4-9-10 No: ФР/ИП												2-5	451	436	1-2-3-4 No: ИП																																
S36			1-24	0	419																																													
S13	0 ^L	347 ^L																																																
S14	556 ^L	556 ^S																																																
S28	0 ^S	266 ^S	1-25	481	495																		2-5	451	436	1-2-3-4 No: ИП																								
S30	291	369																																																
S32	0	264 ^L																																																
I-T	507 ^L	260 ^L	1-2-3-4 No: ИП																													2-5										451	436	1-2-3-4 No: ИП						
			I-T	422 ^S	20																																													
S37			1-26	0	457																												2-5	451	436	1-2-3-4 No: ИП														
S39			1-28	0	457																																													
S38	0	563	1-29	411	438																																													
S29	364	391																																																
I-T	364	-172																																																
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																																							
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457										2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																														
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19																			2-6	442	466	I-T	169 ^L	57																					
			I-T	411	-19																																													
			1-26	0	457																												2-6	442	466	I-T	169 ^L	57												
			1-28	0	457																																													
			1-29	411	438																																													
			I-T	411	-19	2-6	442	466	I-T	1																																								

Рис. 4. Результаты гнездового кластического анализа географических расстояний *S. m. krascheninnikovi*. Индексы обозначают существенно малое (S) и существенно большое (L) значение величины расстояния на 5%-ном уровне значимости. Внутренние клады выделены жирным шрифтом. В прямоугольниках указаны последовательность шагов, согласно [37], и вероятные причины сопряженности гаплотипов: ФР — фрагментация ареала, ИП — ограниченный поток генов с изоляцией расстоянием, КУ — колонизация удаленных областей, РА — расширение ареала.

не перекрывается и они разделены значительными генетическими расстояниями. Если ветви, соединяющие клады, короткие, что соответствует ситуации в кладе 2-5, то более вероятным событием является расширение ареала, возможно объединенное с недавней фрагментацией. Ранее было показано, что расширение ареала в прошлом

должно приводить к положению, когда внутреннее (предковые) гаплотипы ограничены исторической частью ареала, а вновь появившиеся в расширяющейся популяции периферические гаплотипы географически широко распространены или находятся на значительном расстоянии от предкового гаплотипа [40]. Тем не менее эта зако-

номерность полностью не выполняется в нашем случае, так как географическое распространение внутренних клад (1-23, 1-25) охватывает практически весь исследованный регион. Несоответствие между наблюдаемым и ожидаемым распространением предковых клад можно объяснить следующими историческими причинами: во-первых, наиболее вероятно, что экспансия происходила одновременно из нескольких локальностей, охватывающих весь ареал; во-вторых, современное распространение *S. m. krascheninnikovi* не выходит далеко за пределы предкового ареала.

Необходимо отметить следующее: несмотря на то, что статистически существенная генетическая дифференциация обнаружена междукладами, их географическое распространение значительно перекрывается. Например, клад 2-4 и 3-1, уровень нуклеотидной дивергенции между которыми составляет 0.8%, включают в качестве клад нулевого уровня гаплотипы популяций западного побережья о. Сахалин (рис. 3). Исследование филогеографии гаплотипов мтДНК *Salvelinus leucomaenis* на большей части островов Японского архипелага также обнаружило значительное перекрывание географического распределения основных клад в гнездовом кладистическом анализе [13]. Авторы связывают это с расширением ареала и вторичным контактом ранее изолированных филогеографических линий. Учитывая то, что *S. m. krascheninnikovi* и *S. leucomaenis* имеют один предковый ареал [15], вполне вероятно, что историко-демографические события оказали сходное влияние на формирование современного географического распространения гаплотипов мтДНК у обоих видов.

Согласно проведенному анализу, большее влияние на неслучайное (сопряженное) распространение распределение филогеографических клад *S. m. krascheninnikovi* оказали популяционно-генетические процессы, главным образом ограниченный поток генов. Данный фактор был выведен в качестве причины географической сопряженности как для молодых клад первого уровня, так и для старых клад высших уровней. Таким образом, вероятно в эволюционной истории популяций *S. m. krascheninnikovi* в разное время существовали стабильные периоды, характеризующиеся ограниченным потоком генов между популяциями на всем ареале. Периоды стабильного существования прерывались периодами нестабильности, связанными с расширением и возможной фрагментацией ареала. Это согласуется с геологической историей региона, в котором сформировалась южная азиатская мальма. Наиболее вероятным местом ее возникновения являлся изолированный водоем, существовавший на месте современного Японского моря [15, 41]. В процессе развития и становления бассейна Япон-

ского моря отмечается несколько многократно сменяющихся стадий, обусловленных как циклическими изменениями климата и уровня Мирового океана (трансгрессиями и регрессиями), так и интенсивными тектоническими движениями [42–44]. Высокая экологическая пластичность гольцов и способность существовать в предельных условиях среды позволили им успешно пережить геологические трансформации и перестройки. В периоды регрессий предковые популяции осваивали самые разнообразные биотопы в верхних участках речных систем, образуя жилые ручьевые, речные и озерно-речные экотипы. Такая же стратегия могла сохраняться и в периоды активного тектонического формирования прибрежных территорий. Наличие преобладающей проходной формы позволяло не уменьшать распространение из-за осолонения устьев водотоков во время трансгрессий уровня моря.

Фрагментации ареала, предполагаемые тестами ГКА для клад первого уровня, наиболее вероятно связать с изоляцией Японского и Охотского морей в периоды регрессий. Во время последней позднеплейстоценовой регрессии, которая совпала с оптимумом висконсинского оледенения (18000–20000 лет [42, 43]), береговая линия располагалась вблизи отметок 120–130 м и практически вся шельфовая часть Японского моря стала сушей [45, 46]. Согласно Линдбергу [47], максимальные трансгрессии вызывали гибель исторической фауны типично пресноводных рыб в относительно коротких реках, а также в водотоках, не имеющих протяженных равнинных участков выше установившегося уровня моря. В этом случае расширение ареала, обозначенное тестами ГКА для клад второго уровня, возможно соотносить с колонизацией нерестилищ во время и после максимальной позднеплейстоценовой (рисс-вюрмской) трансгрессии (130000–74000 лет [42, 43]), когда в отсутствие жесткой конкуренции со стороны пресноводных рыб южной азиатской мальме удавалось занимать освобождающиеся биотопы. Расширение ареала, связанное с реколонизацией после фландрской трансгрессии (7500–4900 лет [43, 44]), не выявлено с помощью ГКА, так как мощность тестирования внутри молодых клад первого уровня невелика.

Таким образом, географическое распространение гаплотипов мтДНК *S. m. krascheninnikovi* обусловлено как популяционно-генетическими процессами (ограниченный генный поток), так и историко-демографическими событиями (расширение и фрагментация ареала). Так как современный ареал южной азиатской мальмы не выходит далеко за пределы предкового водоема, а основные демографические события связаны с

циклическими процессами геологического формирования бассейна Японского моря и прилегающих территорий, генеалогическое дерево *S. m. krascheninnikovi* содержит следы вторичных контактов дивергировавших филогеографических групп, объединенных в клады высокого уровня вложенности. Предлагаемая гипотеза вероятно потребует уточнения, так как для исторической реконструкции расселения необходимо, чтобы выборки были представлены со всего ареала. Поэтому для более глубокого понимания причин формирования современной популяционно-генетической структуры *S. m. krascheninnikovi* представляется важным добавить в анализ популяции западного побережья о. Сахалин, а также расширить выборки о. Хоккайдо и Курильских островов.

Авторы выражают искреннюю признательность сотрудникам лаборатории популяционной биологии рыб Института биологии моря ДВО РАН С.В. Фролову, Н.С. Романову, В.Т. Омельченко, В.А. Паренскому за помощь в сборе материала. Мы также благодарим японских коллег Syuiti Abe, Akira Goto (Division of Marine Biosciences, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Japan) за предоставленный материал двух выборок о. Хоккайдо.

Исследование осуществлено при финансовой поддержке Программ Президиума РАН (проекты 06-I-П10-015, 06-I-П11-025).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Avise J.C.* Phylogeography. The History and Formation of Species. London: Harvard Univ. Press, Cambridge, MA, 2000. 447 p.
2. *Slatkin M., Hudson R.R.* Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations // *Genetics*. 1991. V. 129. P. 555–562.
3. *Templeton A.R., Sing C.F.* A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination // *Genetics*. 1993. V. 134. P. 659–669.
4. *Templeton A.R., Routman E., Phillips C.A.* Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum* // *Genetics*. 1995. V. 140. P. 767–782.
5. *Bernatchez L.* The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation // *Evolution*. 2001. V. 55. P. 351–379.
6. *Bernatchez L., Dodson J.J.* Phylogeographic structure in mitochondrial DNA of the lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) and its relation to Pleistocene glaciations // *Evolution*. 1991. V. 45. P. 1016–1035.
7. *Churikov D., Gharrett A.J.* Comparative phylogeography of the two pink salmon broodlines: an analysis based on a mitochondrial DNA genealogy // *Mol. Evol.* 2002. V. 11. P. 1077–1101.
8. *Nesbø C.L., Fossheim T., Vøllestad L.A., Jakobsen K.S.* Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization // *Mol. Ecol.* 1999. V. 8. P. 1387–1404.
9. *Gharrett A.J., Gray A.K., Brykov V.A.* Mitochondrial DNA variation in Alaskan coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* // *Fish. Bull.* 2001. V. 99. P. 528–544.
10. *Sato S., Ando J., Yrawa A., Abe S.* Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region // *Zool. Sci.* 2001. V. 18. P. 99–106.
11. *Шедько С.В., Гинатулина Л.К., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А.* Филогеография митохондриальной ДНК южной азиатской мальмы *Salvelinus curilus* (Pallas, 1814) (Salmoniformes, Salmonidae): опосредованная интрогрессия генов? // *Генетика*. 2007. Т. 43. № 2. С. 227–239.
12. *Осинов А.Г., Мюге Н.С.* Изменчивость контрольного района митохондриальной ДНК в популяциях южной формы мальмы (*Salvelinus malma krascheninnikovi*) Сахалина // *Генетика*. 2008. Т. 44. № 12. С. 1668–1676.
13. *Yamamoto S., Morita K., Kitano S. et al.* Phylogeography of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) inferred from mitochondrial DNA sequences // *Zool. Science*. 2004. V. 21. P. 229–240.
14. *Богущая Н.Г., Насека А.М.* Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. М.: Тов-во научных изданий КМК, 2004. 389 с.
15. *Гриценко О.Ф.* Систематика и происхождение сахалинских голец рода *Salvelinus* // *Тр. ВНИРО*. 1975. Т. 106. С. 141–160.
16. *Омельченко В.Т., Салменкова Е.А., Шедько С.В.* Аллозимная изменчивость и генетическая дивергенция мальмы (*Salvelinus malma* Walbaum) Курильских островов // *Генетика*. 2002. Т. 38. № 9. С. 1259–1269.
17. *Komiyama E., Ohtaishi N., Maekawa K.* Occurrence of a sea-run type of the Dolly Varden in the Shiretoko Peninsula, Hokkaido // *Japanese J. Ichthyology*. 1982. V. 22. P. 298–302.
18. *Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T.* Molecular Cloning: A Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 1626 p.
19. *Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Брыков В.А.* Дивергенция мальмы *Salvelinus malma* в азиатской части Северной Пацифики по данным PCR-RFLP анализа митохондриальной ДНК // *Генетика*. 2002. Т. 38. № 10. С. 1393–1401.

20. Oleinik A.G., Skurikhina L.A., Frolov S.V. et al. Differences between two subspecies of Dolly Varden, *Salvelinus malma*, revealed by RFLP-PCR analysis of mitochondrial DNA // Environmental Biology Fishes. 2004. V. 69. P. 449–459.
21. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Чукова Е.И. Влияние изоляции на генетические характеристики популяций гольцов рода *Salvelinus* // Генетика. 2007. Т. 43. № 9. С. 1209–1217.
22. McElroy D., Moran P., Bermingham E., Kornfield I. REAP: an integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data // J. Heredity. 1992. V. 83. P. 153–158.
23. Schneider S., Roessli D., Excoffier L. Arlequin, version 2.000: A Software for Population Genetic Data Analysis. Genetics and Biometry Laboratory. Switzerland: Univ. Geneva, 2000.
24. Roff D., Bentzen P. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: chi-square and the problem of small samples // Mol. Biol. Evol. 1989. V. 5. P. 539–545.
25. Zaykin D.V., Pudovkin A.I. Two programs to estimate significance of Chi-square values using pseudo-probability test // J. Heredity. 1993. V. 84. P. 152.
26. Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. V. 131. P. 479–491.
27. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. P. 1358–1370.
28. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. P. 5269–5273.
29. Nei M., Tajima F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases // Genetics. 1981. V. 97. P. 145–163.
30. Bandelt H.-J., Foster P., Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 37–48.
31. Templeton A.R., Boerwinkle E., Sing C.F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila* // Genetics. 1987. V. 117. P. 343–351.
32. Templeton A.R. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes // Mol. Ecol. 2001. V. 10. P. 779–791.
33. Posada D., Crandall K.A., Templeton A.R. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 487–488.
34. Templeton A.R. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history // Mol. Ecol. 1998. V. 7. P. 381–398.
35. Neigel J.E., Ball R.M., Avise J.C. Estimation of single generation migration distance from geographic variation in animal mitochondrial DNA // Evolution. 1991. V. 45. P. 423–432.
36. Castelleo J., Templeton A.R. Root probabilities for intraspecific gene trees under neutral coalescent theory // Mol. Phy. Evol. 1994. V. 3. P. 102–113.
37. Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2002. 496 с.
38. Hey J. The structure of genealogies and the distribution of fixed differences between DNA-sequence samples from natural populations // Genetics. 1991. V. 128. P. 831–840.
39. Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционно-генетическая структура мальмы (*Salvelinus malma* Walbaum) Юго-Восточного Сахалина и южных Курильских островов // Генетика. 2000. Т. 36. № 8. С. 1100–1110.
40. Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C. Mitochondrial DNA and human evolution // Nature. 1987. V. 325. P. 31–36.
41. Таранец А.Я. Пресноводные рыбы бассейна северо-западной части Японского моря // Тр. ВНИРО. 1936. Т. 4. Вып. 2. С. 483–537.
42. Короткий Ф.М., Гребенникова Т.А., Пушкарь В.С. и др. Климатические смены на территории юга Дальнего Востока в позднем кайнозое (миоцен-плейстоцен). Владивосток: Изд-во Дальневосточного ун-та, 1996. 56 с.
43. Короткий Ф.М., Пушкарь В.С., Гребенникова Т.А. Морские террасы и четвертичная история шельфа Сахалина. Владивосток: Дальнаука, 1997. 195 с.
44. Mann D.H., Hamilton T.D. Late Pleistocene and Holocene paleoenvironments of the north pacific coast // Quaternary Science Reviews. 1995. V. 14. P. 449–471.
45. Iseki H. The erosional bases of the late Pleistocene buried valleys in the coastal region, Japan // Quaternaria. 1971. V. 14. P. 237–341.
46. Мечетин А.В. Изменение уровня Японского моря в четвертичное время (северо-западный шельф) // Прибрежная зона дальневосточных морей в плейстоцене. Владивосток: Изд-во ДВО АН СССР, 1988. С. 53–60.
47. Линдберг Г.У. Крупные колебания уровня океана в четвертичный период. Биогеографические обоснования гипотезы. Л.: Наука, 1972. 548 с.

Phylogeography of Southern Asian Dolly Varden Char *Salvelinus malma krascheninnikovi*: Genealogical Analysis of Mitochondrial DNA

A. G. Oleinik, L. A. Skurikhina, and E. I. Chukova

*Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far East Branch,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia;
e-mail: alla_oleinik@mail.ru*

Phylogeography of southern Asian Dolly Varden char was studied using the data on mtDNA variation (regions ND1/ND2, ND5/ND6, and Cytb/D loop) obtained using PCR–RFLP analysis. Analysis of contemporary population genetic structure showed that *S. m. krascheninnikovi* throughout the whole species range was characterized by high population differentiation in combination with rather small differences between the populations from remote regions. The genealogy of mtDNA haplotypes was reconstructed and nested clade analysis of geographical distances was performed. Geographical distribution of mtDNA haplotypes of *S. m. krascheninnikovi* was explained by population genetic processes (restricted gene flow), as well as by historical demographic events (range expansion and fragmentation). It was demonstrated that the main demographic events were associated with cyclic processes of the geological formation of the Sea of Japan and adjacent territories. Furthermore, genealogical tree of *S. m. krascheninnikovi* contained the traces of secondary contact between isolated phylogeographical lineages.