

УДК 575.832:597.553.2

## ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА СЕВЕРНОЙ МАЛЬМЫ *Salvelinus malma malma* АЗИИ И СЕВЕРНОЙ АМЕРИКИ

© 2011 г. А. Г. Олейник<sup>1</sup>, Л. А. Скурихина<sup>1</sup>, Вл. А. Брыков<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского  
Дальневосточного отделения РАН, Владивосток 690041  
e-mail: alla\_oleinik@mail.ru

<sup>2</sup>Дальневосточный государственный университет, Академия экологии, морской биологии и биотехнологии,  
кафедра генетики, Владивосток 690600

Поступила в редакцию 04.04.2011 г.

На основании PCR-RFLP-анализа изменчивости мтДНК (участки ND1/ND2, ND5/ND6, *Cytb/D-loop*) оценен уровень генетической дифференциации северной мальмы *Salvelinus malma malma* Азии и Северной Америки. Средние значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия *S. m. malma* равны  $0.5261 \pm 0.00388$  и  $0.001558$  соответственно, средняя оценка нуклеотидной дивергенции популяций составляет 0.055%. Показано, что для *S. m. malma* на большей части исследованного ареала (бассейны морей Бофорга, Чукотского, Берингова, Охотского) характерна популяционно-генетическая структура с низким уровнем генетической дифференциации и дивергенции. В то же время обнаружена хорошо выраженная генетическая дифференциация популяций из залива Аляска Тихого океана, подтверждаемая высокими значениями попарных  $F_{ST}$  (0.4198–0.5211) и оценками нуклеотидной дивергенции (средняя дивергенция 0.129%) от азиатских и североамериканских популяций. Иерархический анализ молекулярного разнообразия (AMOVA) показал, что большая часть изменчивости мтДНК *S. m. malma* приходится на внутривидовую компоненту (72.5%), тогда как различия между популяциями (21.1%) и между регионами (6.4%) вносят меньший вклад в общую изменчивость.

Современная популяционно-генетическая структура вида может быть результатом действия самых разнообразных процессов, разделенных в пространстве и во времени. Глобальные изменения климата, происходившие в плейстоценовую и плейстоценовую эпохи, оказали серьезное воздействие на формирование биоразнообразия не только арктических, но и всех северных экосистем [1, 2]. Лимитирующими факторами, определявшими возможности существования ихтиофауны в эти периоды, были количество и масштабы оледенений, крупные колебания уровня Мирового океана, вулканические и тектонические процессы. Типичным представителем арктической фауны, которая исторически заселяет районы, подвергшиеся значительным оледенениям в плейстоцене, является северная мальма *Salvelinus malma malma* Walbaum.

Северная мальма в Азии занимает ареал к востоку от р. Колыма по арктическому побережью Чукотки до южной оконечности п-ова Камчатка и Амурского лимана по материковому побережью Охотского моря [3]. В Северной Америке ареал *S. m. malma* расположен к западу от р. Макензи по арктическому побережью до п-ова Аляска, включая Алеутские острова [3–5]. В то же время появились данные о ее гораздо более широком распространении вдоль североамериканского тихоокеанского побережья, чем предполагалось ранее [6, 7].

Сходство северной мальмы Азии и Северной Америки показано на основании морфологических [5, 8] и генетических признаков [9, 10]. Это может свидетельствовать о происхождении современных популяций из одного рефугиума [10–15], который располагался на Берингийской суше, соединявшейся два континента в периоды оледенений, сопровождавшихся регрессиями Мирового океана [1, 16]. Однако была предложена и альтернативная гипотеза, опирающаяся на различия биологических характеристик гольцов двух географических районов [1, 17]. Согласно гипотезе ДеЧико и Рейста [17], у северной мальмы существуют две формы, собственно “северная” (northern form), распространённая в североамериканской части ареала от бухты Имурук (Imuruk Basin) на п-ове Сьюард до р. Макензи, и “берингийская” (Beringian form), которая встречается между заливом Нортон, расположенным на п-ове Сьюард, и п-овом Аляска. Предполагается, что предковые популяции этих форм северной мальмы были аллопатричными, т.е. эволюционировали в двух изолированных рефугиумах, расположенных на Берингийской суше.

Следует отметить, что большинство работ по исследованию генетической дифференциации северной мальмы [9, 12, 13, 18–31] посвящены изучению изменчивости популяций из ограни-

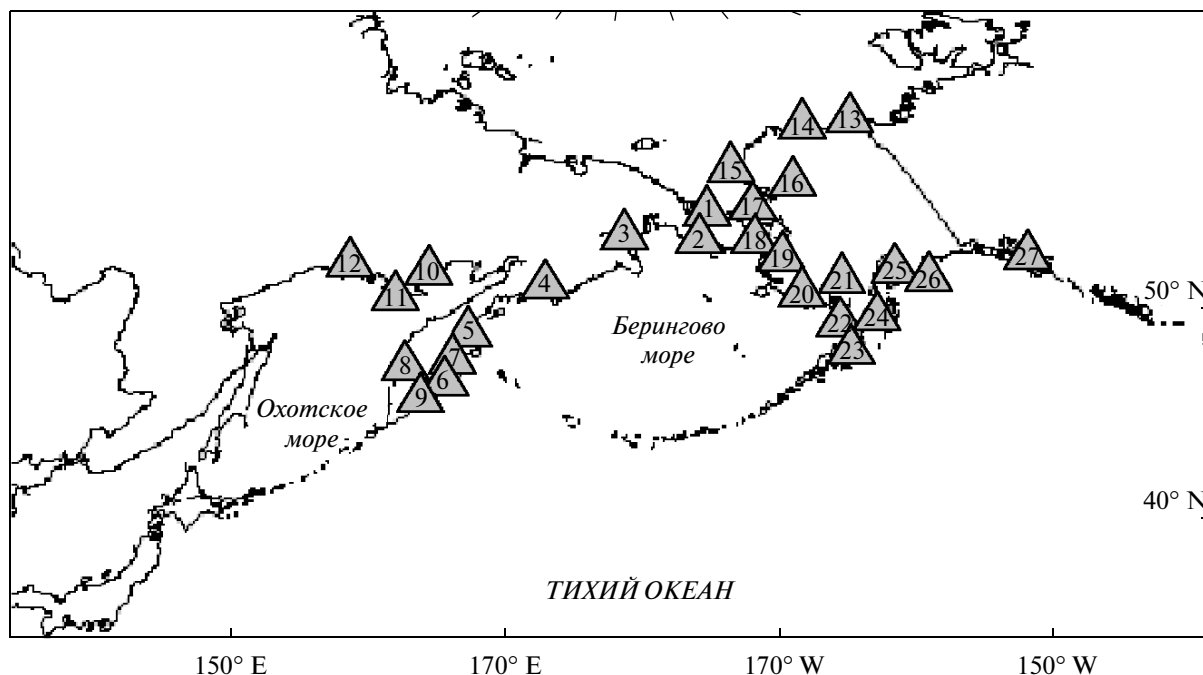


Рис. 1. Схематическая карта локализации выборок северной мальмы *Salvelinus malma malma*. Нумерация выборок соответствует табл. 1.

ченной части ареала, как правило представляющей только один континент, Азию или Северную Америку. Исключением является исследование Осина [11], объединившего собственные данные по азиатским и литературные данные по североамериканским популяциям *S. m. malma*.

В настоящей работе проведен анализ изменчивости мтДНК северной мальмы *S. m. malma* с целью установления характерных особенностей популяционно-генетической структуры на территории, охватывающей основную часть ареала в Северо-Восточной Азии и Северо-Западной Америке.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован материал из коллекции авторов, собранный в 1995–2004 гг. В анализ включены как опубликованные ранее [9, 14, 18, 19, 28], так и новые результаты. Схематическая карта сбора материала изображена на рис. 1. Данные о географической локализации 27 исследованных популяций, распределении по ареалу и объеме выборок приведены в табл. 1. Большая часть выборок состоит из преднерестовых взрослых рыб, выловленных вблизи нерестилищ. Выборка гольцов р. Кроноцкой объединяет материал, собранный у истока (2003 г.) и в нижнем течении (2004 г.) реки. Две изолированные популяции (руч. Холодный, оз. Крокур) представлены жилой экологической формой гольцов, и две популяции из залива Нортон (р. Соломон, р. Синук) – ювенильными особями. Молодь также была включена

на в состав выборок из рек Камчатка (7 экз.) и Кивалина (2 экз.). Разработанная методика сбора молоди [23] была направлена на минимизацию ошибок выборочности из-за 1) возможного анализа семейных групп; 2) присутствия мигрирующей молоди из других локальностей. Для всех смешанных выборок на предварительном этапе тестирования нулевая гипотеза наличия гетерогенности была отвергнута. Выборка из бухты Оук-Бэй, не привязанная к нерестилищу, состояла из мелких особей не более 300 мм длиной и возрастом смолтификации 2–5, которые не совершают длительных миграций между речными системами [23].

Изменчивость мтДНК анализировали, используя полиморфизм длины рестриционных фрагментов (RFLP) трех участков (ND1/ND2, ND5/ND6, *Cytb*/D-loop), амплифицированных в полимеразной цепной реакции (PCR). Подробно методика анализа изложена ранее [9, 19, 28]. Основные показатели генетической изменчивости [32–34] определяли, используя пакеты программ REAP [35] и Arlequin vers. 2.0 [36]. Гетерогенность частот гаплотипов между каждой парой анализируемых выборок оценивали методом Монте-Карло (17000 псевдослучайных реплик) [37] с использованием программы SHIRXS [38] и по критерию  $F_{ST}$ , аналогичному критерию  $F_{ST}$  Райта [39]. Количественную оценку географической подразделенности изменчивости мтДНК проводили методом AMOVA [40]. Существенность иерархических компонентов дисперсии и соответствующую

Таблица 1. Данные об исследованных популяциях *Salvelinus talpa talpa*

Популяция	Географическое положение	Широта/долгота	Объем выборки
1. оз. Аччен	Басс. Берингова моря, п-ов Чукотка, Азия	64°50' N/174°36' W	8
2. оз. Пекульнейское	Пекульнейская озерно-речная система, басс. Берингова моря, материковое побережье, Азия	62°33' N/177°17' E	6
3. р. Анадырь	Зал. Анадырский, басс. Берингова моря, Азия	64°51' N/176°17' E	32
4. р. Алука	Зал. Олоторский, басс. Берингова моря, п-ов Камчатка, Азия	61°49' N/174°05' E	27
5. р. Камчатка	Зал. Камчатский, басс. Берингова моря, п-ов Камчатка, Азия	56°13' N/162°01' E	25
6. р. Кроноцкая	Зал. Кроноцкий, басс. Тихого океана, п-ов Камчатка, Азия	54°42' N/160°22' E	32
7. оз. Крокур	П-ов Камчатка, Азия	54°42' N/160°23' E	35
8. руч. Гришкин	Басс. оз. Начикинского, басс. Охотского моря, п-ов Камчатка, Азия	53°01' N/157°50' E	20
9. р. Паратунка	Басс. Тихого океана, п-ов Камчатка, Азия	52°58' N/158°15' E	25
10. р. Яма	Ямская губа, басс. Охотского моря, материковое побережье, Азия	59°41' N/154°21' E	13
11. руч. Холодный	Тауйская губа, басс. Охотского моря, материковое побережье, Азия	59°31' N/150°44' E	24
12. р. Кухтуй	Басс. Охотского моря, материковое побережье, Азия	59°21' N/143°12' E	19
13. р. Конгакут	Басс. моря Бофорта, арктическое побережье, Аляска, Сев. Америка	69°46' N/141°42' W	10
14. р. Савюквяк	Басс. моря Бофорта, арктическое побережье, Аляска, Сев. Америка	70°00' N/148°28' W	10
15. р. Кивалина	Зал. Коцебу, басс. Чукотского моря, Аляска, Сев. Америка	67°47' N/164°39' W	10
16. р. Келли	Приток р. Ноатак, Зал. Коцебу, басс. Чукотского моря, Аляска, Сев. Америка	67°04' N/162°18' W	10
17. р. Кобльстоун	Бухта Имурок, басс. Берингова моря, п-ов Сьюард, Аляска, Сев. Америка	65°07' N/165°26' W	10
18. р. Синук	Зал. Нортон, басс. Берингова моря, п-ов Сьюард, Аляска, Сев. Америка	64°36' N/166°11' W	10
19. р. Соломон	Зал. Нортон, басс. Берингова моря, п-ов Сьюард, Аляска, Сев. Америка	64°32' N/164°28' W	10
20. р. Канекток	Зал. Бристольский, басс. Берингова моря, Аляска, Сев. Америка	59°43' N/162°01' W	10
21. р. Кашаяк	Приток р. Тогиак, зал. Бристольский, басс. Берингова моря, Аляска, Сев. Америка	59°03' N/160°18' W	10
22. оз. Бечаров	Зал. Бристольский, басс. Берингова моря, п-ов Норт, Аляска, Сев. Америка	58°01' N/156°48' W	21
23. р. Фрости-Крик	Зал. Аляска, басс. Тихого океана, п-ов Норт, Сев. Америка	57°38' N/155°46' W	10
24. р. Рассел-Крик	Зал. Аляска, басс. Тихого океана, п-ов Сауз, Сев. Америка	59°06' N/153°16' W	10
25. р. Кварц-Крик	Зал. Аляска, басс. Тихого океана, п-ов Кенай, Сев. Америка	60°32' N/151°15' W	10
26. р. Сноу-Крик	Зал. Аляска, басс. Тихого океана, п-ов Кенай, Северная Америка	60°02' N/149°07' W	10
27. бухта Оук-Бей	Зал. Аляска, басс. Тихого океана, Сев. Америка	58°22' N/134°39' W	19

ших  $\Phi$ -статистик оценивали из непараметрического распределения псевдовероятностного теста [40]. Анализ проводился на следующих уровнях географической иерархии: между всеми популяциями, между популяциями внутри континентов, между популяциями внутри областей, между областями внутри континентов, между континентами (Азией и Северной Америкой). На азиатской части ареала были выделены три области: 1) п-ов Чукотка и материковое побережье Берингова моря; 2) п-ов Камчатка; 3) побережье Охотского моря. Также тестировалось деление на водоемы бассейнов Берингова моря, Тихого океана и Охотского моря. В пределах североамериканского континента были выделены четыре области, относящиеся к побережьям морей Бофорта, Чукотского, Берингова и залива Аляска Тихого океана. Тестировалась степень генетической дифференциации между популяциями Берингова моря и объединенной выборкой популяций моря Бофорта и Чукотского моря. Распределения абсолютных частот гаплотипов в выборках из соответствующих мест обитания составлялись для каждого из уровней географической иерархии. Степень генетической дифференциации количественно оценивалась между всеми парами популяций методом одноуровневой AMOVA [40]. Оценки нуклеотидной дивергенции [41, 42] использовали в качестве мер генетических дистанций при кластеризации популяций (методы UPGMA, NJ) в пакетах программ REAP [35] и PHYLIP 3.67 (<http://evolution.gs.washington.edu/phytip.html>).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Суммарный размер амплифицированных фрагментов мтДНК составил 7672 пары нуклеотидов. Общее число сайтов, определенных из анализа размеров и распределения рестриционных фрагментов в гаплотипах, равно 212, что составляет около 848 нуклеотидов, или 5.0% митохондриального генома. У 436 исследованных рыб выявлено 75 гаплотипов мтДНК.

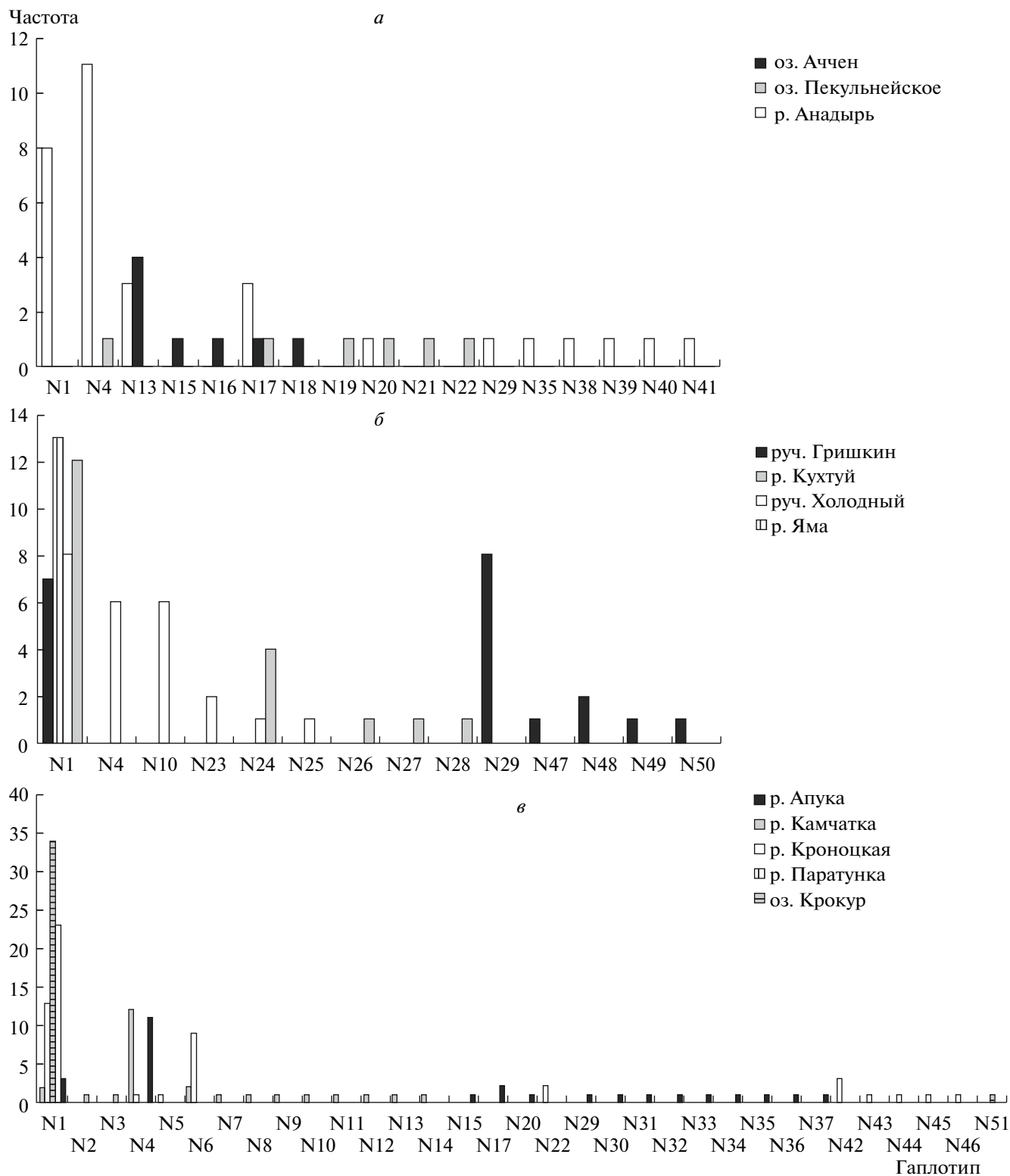
Распределение и абсолютные частоты гаплотипов мтДНК в популяциях *S. m. malma* показаны на рисунках (рис. 2, 3). На всем исследованном ареале у *S. m. malma* выявлено три основных гаплотипа: N1, N4, N13. Гаплотип N1 присутствует практически во всех популяциях (82%) и в большинстве является наиболее распространенным (63%). Гаплотип N4, являющийся основным в трех популяциях азиатского побережья Берингова моря (р. Анадырь, р. Апука, р. Камчатка), встречается также и в популяциях материкового побережья Охотского моря (руч. Холодный) и североамериканского побережья Берингова моря (р. Кобльстоун, р. Соломон). В четырех популяциях зал. Аляска наиболее распространенным гаплотипом является N13, который с разной частотой

встречается также в популяциях азиатского (оз. Аччен, р. Анадырь, р. Камчатка) и североамериканского (р. Соломон, р. Кашайак, оз. Бечаров) побережий Берингова моря. Помимо трех основных в некоторых популяциях с высокой частотой встречаются и другие гаплотипы: N71 (частота 42% в бухте Оук-Бэй), N6 (28% в р. Кроноцкой), N10 (25% в руч. Холодный), N29 (42% в руч. Гришкин). Из указанных гаплотипов только N71 является уникальным для популяции бухты Оук-Бэй, а остальные с низкими частотами встречаются также и в других популяциях.

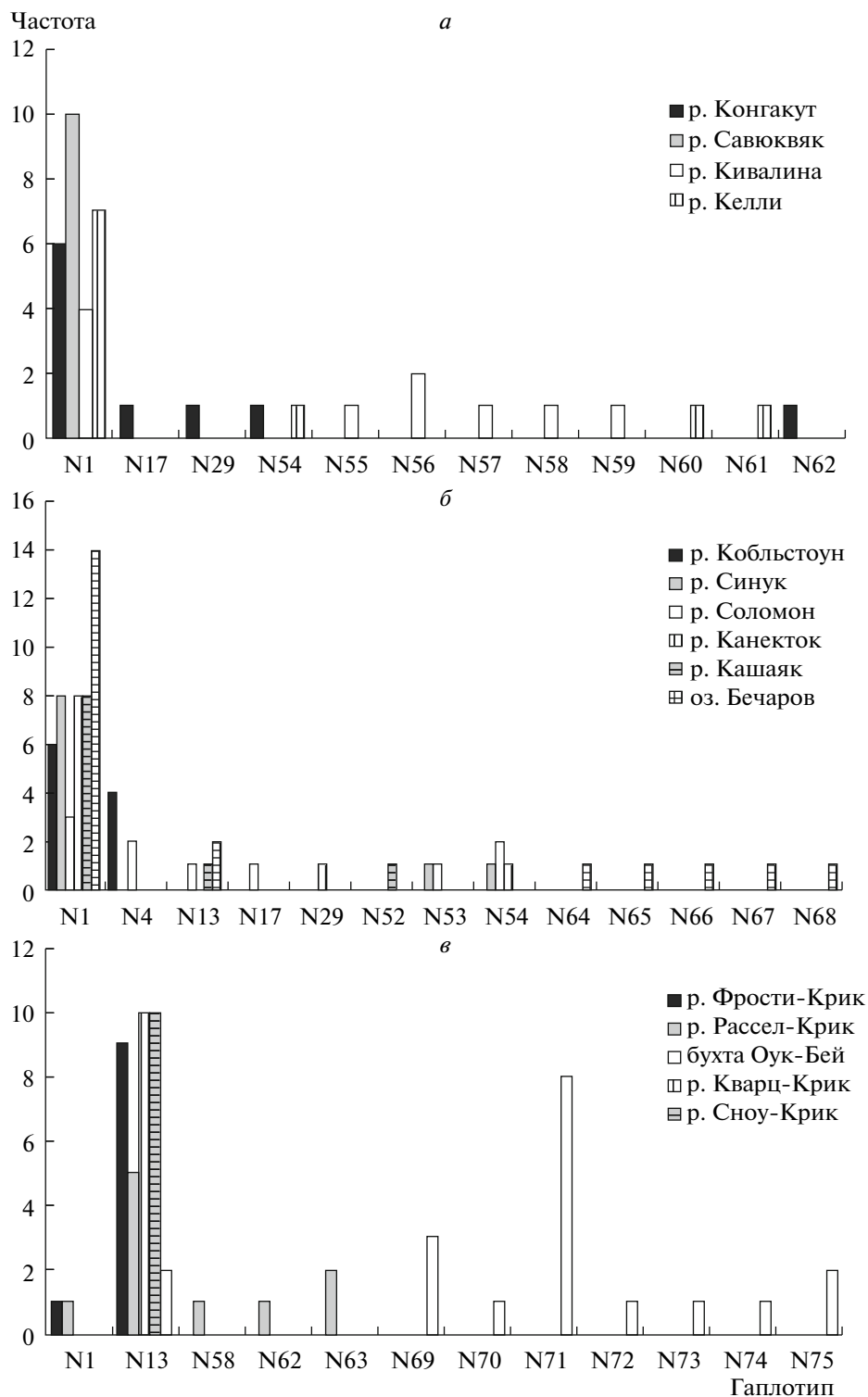
Сравнительные характеристики основных показателей разнообразия мтДНК в популяциях *S. m. malma* приведены в табл. 2. Средние значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия *S. m. malma* на всем ареале оказались равны  $0.5261 \pm 0.00388$  и  $0.001558$  соответственно. Средние оценки гаплотипического разнообразия в азиатских популяциях *S. m. malma* ( $h = 0.6066 \pm 0.0736$ ) оказались выше, чем в североамериканских ( $h = 0.4616 \pm 0.1099$ ), но показатели нуклеотидного разнообразия статистически достоверно не различаются ( $\pi = 0.001979$  и  $\pi = 0.001220$  соответственно).

Анализ гетерогенности частот гаплотипов мтДНК *S. m. malma* выявил высокосущественные различия при сравнении всех популяций ( $p_2 < 0.001$ ), популяций Азии ( $p_2 < 0.001$ ), популяций Северной Америки ( $p_2 < 0.001$ ), а также между объединенными выборками двух континентов ( $p_2 < 0.001$ ) (см. табл. 4). Достоверные различия наблюдались между выборками, представляющими тестируемые области Азии ( $p_2 < 0.01$ ), а также объединенными выборками бассейнов Берингова и Охотского морей ( $p_2 < 0.001$ ) (табл. 3). При попарном сравнении объединенных выборок, представляющих области североамериканского континента, высокосущественная гетерогенность была в основном обусловлена популяциями зал. Аляска. При исключении из анализа этого региона достоверные различия наблюдались между популяциями бассейнов Чукотского и Берингова морей ( $p_2 = 0.0081$ ) и между популяциями заливов Бристольский и Нортон Берингова моря ( $p_2 < 0.01$ ). Генетическая гетерогенность между объединенной выборкой бассейнов морей Бофорта и Чукотского и выборкой аляскинских популяций Берингова моря была близка к достоверной ( $p_2 = 0.0549$ ). В то же время не удалось обнаружить существенных различий между объединенными выборками двух континентов бассейна Берингова моря ( $p_2 = 0.0907$ ) (табл. 3).

Оценка географической подразделенности полиморфизма мтДНК с помощью критерия  $\Phi_{ST}$  (табл. 3) подтвердила дифференциацию азиатских популяций двух территорий (п-ов Чукотка, материковое побережье Берингова моря—побере-



**Рис. 2.** Географическое распространение и частоты гаплотипов мтДНК *Salvelinus malma malma* в популяциях Азии: *а* – п-ов Чукотка и материковое побережье Берингова моря; *б* – побережье Охотского моря; *в* – восточное побережье п-ова Камчатка.



**Рис. 3.** Географическое распространение и частоты гаплотипов мтДНК *Salvelinus malma malma* в популяциях Северной Америки: *а* – побережья морей Бофорта и Чукотского; *б* – побережье Берингова моря; *в* – побережье залива Аляска Тихого океана.

жье Охотского моря). Однако для остальных тестируемых регионов Азии между объединенными выборками *S. t. malma* не выявлено статистически значимой гетерогенности. Крайне низкие

значения  $\Phi_{ST}$  (0.002–0.092) существенно не отличались от нуля после поправки на множественность тестов. Попарные  $\Phi_{ST}$  между объединенной выборкой зал. Аляска и областями североамериканского

Таблица 2. Основные показатели изменчивости мтДНК в популяциях *Salvelinus malma malma*

Популяция	Число особей $N$	Число гаплотипов	Число полиморфных сайтов ( $S$ )	Оценка различий между гаплотипами ( $\theta_\pi$ )	Гаплотипическое разнообразие ( $h$ )	Нуклеотидное разнообразие ( $\pi$ )
1. оз. Аччен	8	5	13	$5.3214 \pm 2.8727$	$0.7857 \pm 0.1508$	0.003771
2. оз. Пекульнейское	6	6	18	$7.9333 \pm 4.3025$	$1.0000 \pm 0.0962$	0.005595
3. р. Анадырь	32	11	19	$3.5262 \pm 1.8427$	$0.8206 \pm 0.0476$	0.002458
4. р. Алука	27	14	19	$4.8832 \pm 2.4562$	$0.8319 \pm 0.0692$	0.003423
5. р. Камчатка	25	12	21	$3.0333 \pm 1.6352$	$0.7733 \pm 0.0876$	0.002108
6. р. Кроноцкая	32	9	19	$2.8952 \pm 1.5613$	$0.7519 \pm 0.0569$	0.001969
7. оз. Крокур	35	2	9	$0.5143 \pm 0.4442$	$0.0571 \pm 0.0532$	0.000363
8. руч. Гришкин	20	6	9	$1.8596 \pm 1.1138$	$0.7368 \pm 0.0676$	0.001368
9. р. Паратунка	25	3	2	$0.1600 \pm 0.2270$	$0.1567 \pm 0.0957$	0.000111
10. р. Яма	13	1	0	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0000 \pm 0.0000$	0.000000
11. руч. Холодный	24	6	6	$1.7138 \pm 1.0360$	$0.7862 \pm 0.0446$	0.001177
12. р. Кухтуй	19	5	14	$2.0000 \pm 1.1781$	$0.5789 \pm 0.1138$	0.001407
13. р. Конгакут	10	5	8	$3.4667 \pm 1.9303$	$0.6667 \pm 0.1633$	0.002246
14. р. Савюквяк	10	1	0	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0000 \pm 0.0000$	0.000000
15. р. Кивалина	10	6	9	$2.5778 \pm 1.5069$	$0.8444 \pm 0.1029$	0.002757
16. р. Келли	10	4	10	$3.0889 \pm 1.7508$	$0.5333 \pm 0.1801$	0.001298
17. р. Кобльстоун	10	2	1	$0.5333 \pm 0.4816$	$0.5333 \pm 0.0947$	0.000365
18. р. Синук	10	3	8	$2.3778 \pm 1.4109$	$0.3778 \pm 0.1813$	0.001303
19. р. Соломон	10	6	12	$4.7556 \pm 2.5393$	$0.8889 \pm 0.0754$	0.002709
20. р. Канекток	10	3	7	$1.7111 \pm 1.0880$	$0.3778 \pm 0.1813$	0.000689
21. р. Кашаяк	10	3	8	$1.6000 \pm 1.0335$	$0.3778 \pm 0.1813$	0.001116
22. оз. Бечаров	21	7	19	$3.2762 \pm 1.7559$	$0.5619 \pm 0.1263$	0.002259
23. р. Фрости-Крик	10	2	2	$0.4000 \pm 0.4029$	$0.2000 \pm 0.1541$	0.000275
24. р. Рассел-Крик	10	5	9	$2.9556 \pm 1.6873$	$0.7556 \pm 0.1296$	0.002119
25. р. Кварц-Крик	10	1	0	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0000 \pm 0.0000$	0.000000
26. р. Сноу-Крик	10	1	0	$0.0000 \pm 0.0000$	$0.0000 \pm 0.0000$	0.000000
27. бухта Оук-Бей	19	8	9	$1.6959 \pm 1.0373$	$0.8070 \pm 0.0790$	0.001166

континента имели высокие значения (0.420–0.521) и являлись достоверными ( $p_1 < 0.01$ ). В то же время для всех других тестируемых объединенных выборок, включая дифференциацию популяций с противоположных побережий Берингова моря, гипотеза гомогенности не была отвергнута из-за низких значений  $F_{ST}$  (0.007–0.062) (табл. 3).

Для количественной оценки величины генетических различий между всеми парами популяций *S. m. malma* было проведено разложение общей молекулярной дисперсии частот гаплотипов мтДНК на иерархические уровни с использованием АМОВА [40]. Степень генетической дифференциации оценивалась на выделенных уровнях географической иерархии (табл. 4). Анализ объединенных выборок (вариант I) показал, что у *S. m. malma* на всем ареале большая часть изменчивости (74.92% дисперсии) приходится на внутривнутрипопуляционную

компоненту. Анализ для популяций Азии (вариант II) и Северной Америки (вариант IV) подтвердил обнаруженные закономерности распределения изменчивости (табл. 4). Однако межпопуляционная компонента дисперсии *S. m. malma* Северной Америки (33.39%) оказалась значительно выше, чем у азиатских популяций (15.28%). Разложение молекулярной дисперсии на три иерархических уровня с учетом географической принадлежности популяций к областям внутри континентов (табл. 4, варианты III и V) обнаружило следующие особенности распределения изменчивости мтДНК: во-первых, высокая межрегиональная доля дисперсии для Северной Америки (32.71%) наряду с относительно низкой внутри регионов (6.55%); во-вторых, низкая доля дисперсии между регионами Азии (1.81%) наряду с умеренной межпопуляционной (14.07%).

**Таблица 3.** Тестирование уровня дифференциации популяций *Salvelinus malma malma*

Популяции	$\Phi_{ST}$	$p_1$	$\chi^2$	$p_2$
<b>Азия</b>				
П-ов Чукотка, материковое побережье Берингова моря – п-ов Камчатка	0.00917	0.23042	86.405	<0.001
П-ов Чукотка, материковое побережье Берингова моря – материковое побережье Охотского моря	0.09187	0.00000	59.8387	<0.001
П-ов Камчатка - материковое побережье Охотского моря	0.00214	0.41063	61.9632	<0.01
Бассейны Берингова моря, Тихого океана и Охотского моря	0.00202	0.31051	95.9858	<0.001
<b>Северная Америка</b>				
Бассейны моря Бофорта и Чукотского моря	0.05240	0.98644	13.9259	0.1031
Бассейны моря Бофорта и Берингова моря	0.04372	0.99930	10.8929	0.6565
Бассейны моря Бофорта и зал. Аляска Тихого океана	0.52111	0.001	66.9529	<0.001
Бассейны Чукотского моря и Берингова моря	0.00703	0.71497	34.3522	0.0081
Бассейны Чукотского моря и зал. Аляска Тихого океана	0.51666	<0.01	70.0494	<0.001
Бассейны Берингова моря и зал. Аляска Тихого океана	0.41979	<0.001	107.737	<0.001
Зал. Нортон и зал. Бристольский	0.01876	0.17886	20.3807	<0.01
Бассейны моря Бофорта, Чукотского моря – Берингова моря	0.06230	0.06858	26.4800	0.0549
Берингово море (Азия – Северная Америка)	0.00530	0.275040	64.80	0.0907

Анализ популяций в соответствии с их географической принадлежностью к континентам (Азия и Северная Америка) выявил, что на всем ареале только 6.42% общей молекулярной дисперсии обусловлены разделением на континентальные области, 21.07% связаны с межпопуляционной компонентой, а основная часть дисперсии 72.51% обусловлена генетическим разнообразием внутри популяций (табл. 4, вариант VI). Все компоненты дисперсии статистически высоко существенны ( $p_1 < 0.001$ ), за исключением межрегионального уровня для Азии ( $p_1 = 0.0867$ ), что может быть связано с малой мощностью тестирования, как следствие минимального числа нуклеотидных замен (1–2) между основными гаплотипами, дифференцирующими популяции. Тем не менее тест, основанный на частотах гаплотипов [37], показывает достоверные различия ( $p_2 < 0.001$ ), в том числе и для этого варианта анализа (табл. 4).

Проведенный анализ выявил, что большая часть молекулярного разнообразия *S. m. malma* приходится на различия внутри популяций. Значения  $\Phi_{ST}$ , которые рассматриваются в качестве мер генетической дифференциации [39], имеют низкие показатели на разных уровнях популяционной организации *S. m. malma*. Также низкие значения имеют и оценки нуклеотидной дивергенции мтДНК [41, 42] между популяциями *S. m. malma*. Средняя попарная оценка нуклеотидной дивергенции для популяций на всем ареале составляет 0.055% с диапазоном изменчивости от –0.027% до максимального 0.230%. При кластеризации популяций на фенограммах (рис. 4) образуются два ос-

новных кластера (средняя дивергенция 0.129%), один из которых объединяет популяции зал. Аляска и оз. Аччен. Во втором кластере, объединяющем большинство популяций, можно выделить две группы, в одну из которых входят популяции азиатского побережья Берингова моря, в другую – материкового побережья Охотского моря и п-ова Камчатка. Расположение североамериканских популяций *S. m. malma* в этом кластере не связано с географической принадлежностью.

Данные по изменчивости мтДНК, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о наличии у *S. m. malma* на большей части исследованного ареала (бассейны морей Бофорта, Чукотского, Берингова, Охотского) популяционной структуры с низким уровнем генетической дивергенции и генетической дифференциации популяций. Анализ аллозимных локусов также показал, что для популяций Азии [11, 12, 20, 29] и Северной Америки [21–26, 30, 31] характерны низкий уровень генетической дивергенции и слабая географическая структурированность. Распределения генного разнообразия аллозимных [11, 25] и микросателлитных [22, 23, 27] локусов ядерного генома соответствуют оценкам, полученным нами для мтДНК, так как, согласно проведенным исследованиям, 90–95% общего разнообразия *S. m. malma* заключено внутри популяций. Низкий уровень популяционно-генетической подразделенности *S. m. malma* может быть обусловлен наличием потока генов между современными популяциями [11, 23], непродолжительным историческим периодом с момента дивергенции популяций [11] или существо-



**Таблица 4.** Иерархический анализ межпопуляционных гаплотипических различий *Salvelinus malma malma* [40]

Уровень разнообразия	<i>d.f.</i>	Процент дисперсии	Вероятность ( $p_1$ )	Вероятность ( $p_2$ )
<b>Вариант I. Весь ареал <i>S. m. malma</i></b>				
Между популяциями	26	25.08	<0.001	<0.001
Внутри популяций	408	74.92		
<b>Вариант II</b>				
Между популяциями <i>S. m. malma</i> Азии	11	15.28	<0.001	<0.001
Внутри популяций <i>S. m. malma</i> Азии	253	84.72		
<b>Вариант III</b>				
Между регионами Азии	2	1.81	0.08667	<0.001
Между популяциями регионов Азии	9	14.07	<0.001	
Внутри азиатских популяций	253	84.12	<0.001	
<b>Вариант IV</b>				
Между популяциями <i>S. m. malma</i> Северной Америки	14	33.39	<0.001	<0.001
Внутри популяций <i>S. m. malma</i> Северной Америки	155	66.61		
<b>Вариант V</b>				
Между регионами Северной Америки	3	32.71	<0.001	<0.001
Между популяциями регионов Северной Америки	11	6.55	<0.001	
Внутри американских популяций	155	60.74	<0.001	
<b>Вариант VI</b>				
Между Азией и Северной Америкой	1	6.42	<0.001	<0.001
Между популяциями Азии и Северной Америки	25	21.07	<0.001	<0.001
Внутри популяций	408	72.51	<0.001	

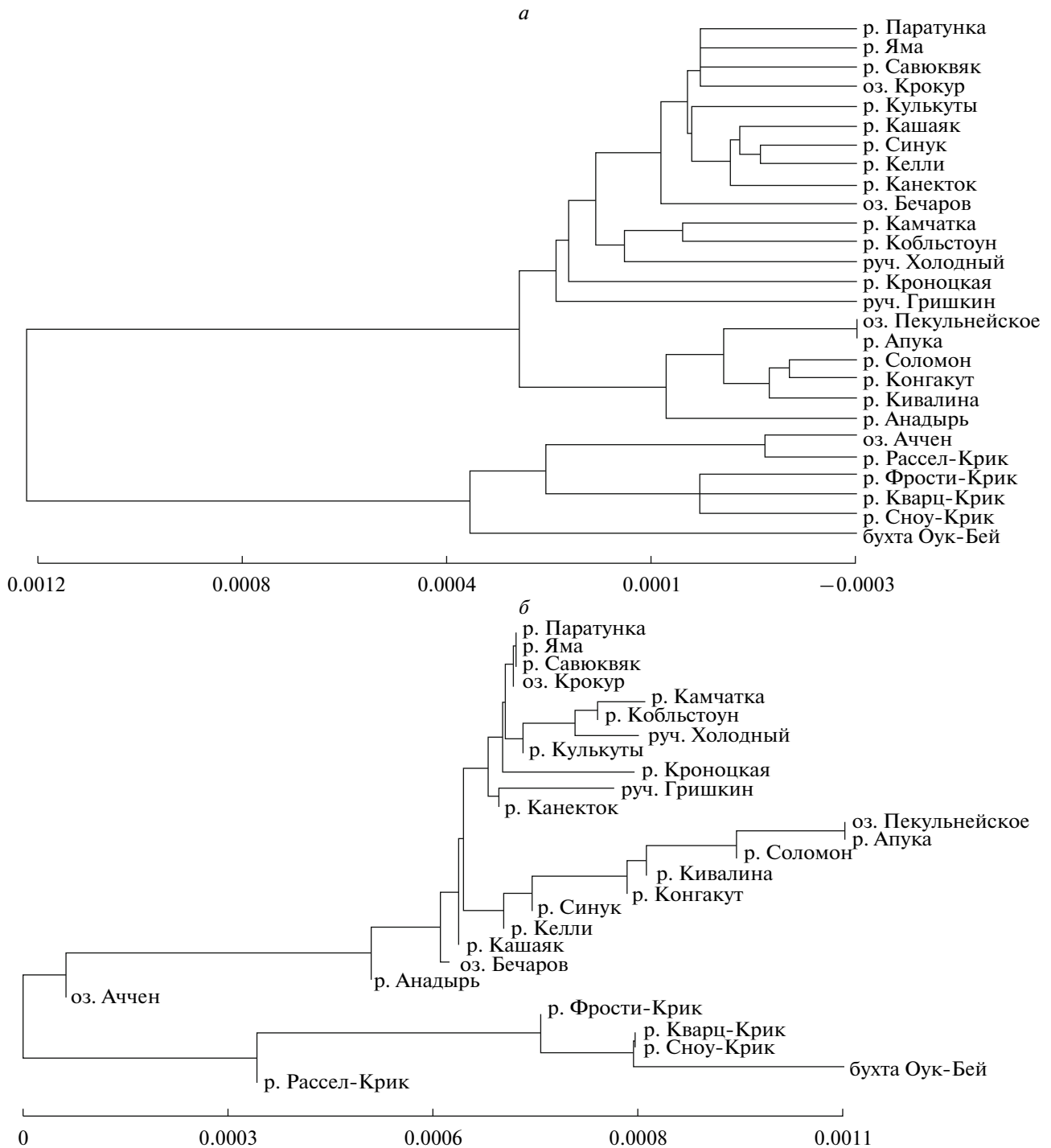
Примечание.  $p_1$  – вероятность, рассчитанная для  $F$ -статистик [39];  $p_2$  – вероятность, рассчитанная для  $\chi^2$  [37].

ванием в эволюционной истории рефугиальной стадии [10–13, 15]. Наиболее вероятным является последнее предположение. Согласно полученным результатам анализа мтДНК, слабая генетическая дифференциация популяций *S. m. malma* связана с их недавним происхождением от общей предковой популяции. Об этом может свидетельствовать преобладание в выборках одного основного гаплотипа, низкий уровень нуклеотидного разнообразия и небольшая глубина дивергенции между гаплотипами мтДНК, что типично для видов, в недавнем прошлом переживших фазу низкой численности в рефугиуме [43].

В то же время популяционная структурированность *S. m. malma* Северной Америки, основанная на генетических дистанциях и значениях  $F_{ST}$  (AMOVA) для мтДНК (табл. 3) и микросателлитных локусов [23], противоречит гипотезе об историческом разделении ареала *S. m. malma* на Аляске [17, 30, 31]. В этой части ареала, включающей популяции бассейнов морей Бофорта, Чукотского и Берингова, выявлена наибольшая го-

могенность частот гаплотипов мтДНК. Сходная слабая структурированность на всех уровнях географической иерархии при наличии хоминга была установлена для еще одного вида, горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*, расширение ареала которого связано с отступлением ледников в плейстоцене [44, 45]. При этом наибольшая генетическая гомогенность также наблюдалась среди популяций горбуши на Аляске. Очевидно, что общие черты современной популяционно-генетической структуры обоих видов лососевых рыб формировались под влиянием одинаковых историко-демографических событий.

В азиатской части ареала *S. m. malma* кластерный анализ, основанный на генетических дистанциях, выделяет две географические группы, которые приблизительно могут соответствовать биологическим группам, предложенным Черешневым [1]. Подразделенность азиатских популяций существенна на разных уровнях географической иерархии по частотам гаплотипов мтДНК, однако она не всегда поддерживается показателя-



**Рис. 4.** Фенетические отношения между популяциями северной мальмы *Salvelinus malma malma* (а – метод UPGMA,  $r = 0.81171$ ; б – метод NJ,  $r = 0.78325$ ). По оси – степень дивергенции нуклеотидных последовательностей мтДНК [41, 42].

ми  $F_{ST}$  (табл. 3). Кроме того, в рамках деления на “северную” и “бореальную” группы (по определению автора [1]) довольно сложно объяснить положение популяции оз. Аччен и ее генетическую близость с популяциями зал. Аляска.

Таким образом, результаты анализа собственных и литературных данных, касающихся популяционно-генетической структуры *S. t. malma*, позволяют определить наиболее характерные особенности ее организации. Показано, что со-

временная генетическая структурированность северной мальмы на большей части ее ареала (бассейны морей Бофорта, Чукотского, Берингова, Охотского) выражена достаточно слабо. На широкой географической шкале выделяется только район зал. Аляска, который определяет повышенную структурированность регионов Северной Америки. Исключение этой локальности из анализов демонстрирует, что североамериканские популяции гораздо более гомогенны по сравнению с азиатскими как по гаплотипическому составу, так и по нуклеотидному разнообразию. Следует также отметить, что различия между континентами значительно менее выражены, чем между популяциями внутри континентов. Генетическая структурированность популяций с противоположных побережий Берингова моря статистически недостоверна. Оценки нуклеотидной дивергенции и генетической дифференциации на разных уровнях популяционной организации *S. m. malma* имеют низкие значения. Иерархический анализ молекулярного разнообразия показал, что основная часть внутривидовой изменчивости мтДНК *S. m. malma* обусловлена различиями между индивидами внутри популяций, тогда как различия между популяциями и между регионами вносят меньший вклад в общую изменчивость.

В то же время для более глубокого понимания причин формирования популяционно-генетической структуры *S. m. malma* и выяснения роли исторических событий в формировании современного географического распространения гаплотипов мтДНК представляется важным провести филогеографический анализ. Применение данного подхода позволило реконструировать эволюционную историю нескольких видов лососевых рыб и показать, что особенности популяционной структуры видов, ареалы которых в прошлом находились в северном полушарии как в районах развивающихся в плейстоцене ледников [44–46], так и обитающих на территориях, не подвергавшихся оледенению [47, 48], обусловлены циклическими изменениями климата.

Авторы искренне признательны И.А. Черешневу (Институт биологических проблем Севера ДВО РАН), С.В. Фролову (Институт биологии моря ДВО РАН) за помощь, оказанную в сборе и определении материала. Выражаем благодарность Р.А. Crane (Conservation Genetics Laboratory, 1011 E. Tudor Rd., Anchorage, Alaska, USA) и А.Ж. Garrett (School of Fisheries and Ocean Science, University of Alaska Fairbanks, Juneau, USA) за предоставленные препараты мтДНК *S. m. malma*.

Исследование частично финансировалось грантом ДВО РАН № 09-1-П23-03.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черешнев И.А. Биологическое разнообразие пресноводной ихтиофауны северо-востока России. Владивосток: Дальнаука, 1996. 198 с.
2. Hewitt G.M. The genetic legacy of Quaternary ice ages // Nature. 2000. V. 405. P. 907–913.
3. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Ч. 1. 467 с.
4. Behnke R.J. A systematic review of the genus *Salvelinus* // Charrs, Salmonid Fishes of the Genus *Salvelinus* / Ed. Balon E.K. Hague: Dr. W. Junk Publ., 1980. P. 441–480.
5. Morrow J.E. Analysis of the Dolly Varden charr, *Salvelinus malma*, of northwestern North America and northeastern Siberia // Charrs, Salmonid Fishes of the Genus *Salvelinus* / Ed. Balon E.K. Hague: Dr. W. Junk Publ., 1980. P. 323–338.
6. Baxter J.S., Taylor E.B., Devlin R.H. et al. Evidence for natural hybridization between Dolly Varden (*Salvelinus malma*) and bull trout (*Salvelinus confluentus*) in a northcentral British Columbia watershed // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1997. V. 54. P. 421–429.
7. Behnke R.J. Trout and salmon of North America. N.Y.: The Free Press, A Division of Simon & Shuster Inc., 2002. 359 p.
8. Черешнев И.А. Фауна, систематика и родственные связи пресноводных рыб Восточной Чукотки // Экология и систематика пресноводных организмов Дальнего Востока. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1983. С. 89–108.
9. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Брыков Вл.А. и др. Дифференциация мальмы *Salvelinus malma* Азии и Северной Америки по данным PCR-RFLP анализа митохондриальной ДНК // Генетика. 2005. Т. 41. № 5. С. 626–634.
10. Осинев А.Г. Эволюционные взаимоотношения между основными таксонами *Salvelinus alpinus* – *Salvelinus malma* complex: результаты сравнительного анализа аллозимных данных разных авторов // Вопр. ихтиологии. 2001. Т. 41. № 2. С. 167–183.
11. Осинев А.Г. Северная форма мальмы *Salvelinus malma* Азии и Северной Америки: аллозимная изменчивость, генетическая дифференциация и происхождение // Вопр. ихтиологии. 2002. Т. 42. № 5. С. 664–677.
12. Осинев А.Г., Павлов С.Д. Аллозимная изменчивость и генетическая дивергенция популяций арктического гольца и мальмы (*Salvelinus alpinus* – *S. malma* complex) // Вопр. ихтиологии. 1998. Т. 38. Вып. 1. С. 47–61.
13. Brunner P.C., Douglas M.R., Osinov A. et al. Holarctic phylogeography of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences // Evolution. 2001. V. 55. P. 573–586.
14. Oleinik A.G., Skurikhina L.A., Brykov V.I.A. Dolly Varden charr: phylogeography, genetic differentiation and origin, based on PCR-RFLP analysis of mitochondrial DNA // Computational Phylogenetics and Molecular Systematics. Commemorating the 50th anniversary of Molecular Phylogenetics and Systematics in Russia: Conference proceedings (November 16–19, 2007, Moscow, Russia). Moscow, 2007. P. 226–228.

15. Redenbach Z., Taylor E.B. Evidence for historical introgression along a contact zone between two species of char (Pisces: Salmonidae) in northwestern North America // *Evolution*. 2002. V. 56. № 5. P. 1021–1035.
16. Mann D.H., Hamilton T.D. Late Pleistocene and Holocene paleoenvironments of the north pacific coast // *Quaternary Sci. Rev.* 1995. V. 14. P. 449–471.
17. DeCicco A., Reist J. Distribution of Dolly Varden in northern Bering and Chukchi Sea drainages, a provisional organization // *ISACF Inform. Ser.* № 7. 1999. P. 13–18.
18. Олейник А.Г., Скурухина Л.А., Брыков Вл.А. и др. Дивергенция митохондриальной ДНК двух подвидов мальмы *Salvelinus malma* (Salmonidae: Pisces) // Докл. РАН. 2001. Т. 376. № 6. С. 844–846.
19. Олейник А.Г., Скурухина Л.А., Брыков Вл.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. Пустовойт С.П. Генетическая изменчивость и межпопуляционные различия мальмы (*Salvelinus malma* Walb.) // *Генетика*. 1991. Т. 27. № 1. С. 106–112.
21. Crane P.A., Seeb L.W., Seeb J.E. Genetic relationships among *Salvelinus* species inferred from allozyme data // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994. V. 51. Suppl. 1. P. 182–197.
22. Crane P.A., Lewis C.J., Kretschmer E.J. et al. Characterization and inheritance of seven microsatellite loci from Dolly Varden, *Salvelinus malma*, and cross-species amplification in Arctic char, *S. alpinus* // *Conservation Genetics*. 2004. V. 5. P. 737–741.
23. Crane P., DeCicco A., Spearman W., Wenburg J. Genetic diversity of Dolly Varden populations in Norton and Kotzebue Sounds // U.S. Fish and Wildlife Service, Office of Subsistence Management, Fisheries Resource Monitoring Program, Technical Report for Study 01–136, Anchorage, Alaska, 2005. 26 p.
24. Currens K.P., Griswold K.E., Reeves G.H. Relations between Dolly Varden populations and between coastal cutthroat trout populations in Prince William Sound // *Restoration Project 98145, Final Report*. 2003. 85 p.
25. Everett R.J., Wilmot R.L., Krueger C.C. Population genetic structure of Dolly Varden from Beaufort Sea drainages of Northern Alaska and Canada // *Fish Ecology in Arctic North America*. American Fisheries Society Symposium 19 / Ed. Reynolds J. Maryland: Bethesda, 1997. P. 240–249.
26. Gharrett A.J., Goto A., Yamazaki F. A note on the genetic contrast of sympatric Dolly Varden (*Salvelinus malma*) and Arctic charr (*S. alpinus*) in the Karluk river system, Alaska // *Report of Overseas Work Supported by Grant-in Aid for Overseas Scientific Survey of the Ministry of Education, Science and Culture of Japan, during 1987–1990* / Ed. Yamazaki F. Hokodate: Hokkaido Univ., 1991. P. 37–48.
27. Gordeeva N., Chukova E., Oleinik A. Microsatellite genetic variation of asian populations of Dolly Varden char // *Hydrobiologia*. 2010. V. 650. № 1. P. 133–144.
28. 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.
29. Osinov A.G. The Dolly Varden (*Salvelinus malma*) of Eurasia and the chars of the Kamchatka river basin: data from allozyme analysis: Proc. of the eighth and ninth ISACF workshops on Arctic char, 1996 and 1998 // *ISACF Inform. Ser.* № 7. 1999. P. 173–181.
30. Reist J.D., Johnson J.D., Carmichael T.J. Morphological variation in charr from north-western Canada—*Salvelinus alpinus* and *Salvelinus malma* // *ISACF Inform. Ser.* № 5. 1991. P. 135–145.
31. Reist J.D., Johnson J.D., Carmichael T.J. Variation and specific identity of the char from northwestern Arctic Canada and Alaska // *Fish Ecology in Arctic North America*. American Fisheries Society Symposium 19 / Ed. Reynolds J. Maryland: Bethesda, 1997. P. 250–261.
32. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1973. V. 70. P. 3321–3323.
33. Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.
34. Tajima F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations // *Genetics*. 1983. V. 105. P. 437–460.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure // *Evolution*. 1984. V. 38. P. 1358–1370.
40. 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.
41. Nei M., Tajima F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases // *Genetics*. 1981. V. 97. P. 145–163.
42. Nei M., Miller J.C. A simple method for estimating average number of nucleotide substitution within and between populations from restriction data // *Genetics*. 1990. V. 125. P. 873–879.
43. Avise J.C. *Phylogeography. The History and Formation of Species*. London: Harvard Univ. Press, Cambridge, MA, 2000. 447 p.
44. Чуриков Д.Ю. Генеалогия гаплотипов митохондриальной ДНК у нескольких видов тихоокеанских лососей: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2001. 17 с.

45. 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.
46. Bernatchez L. The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from philogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation // *Evolution*. 2001. V. 55. P. 351–379.
47. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Чукова Е.И. Филогеография южной азиатской мальмы *Salvelinus malma krascheninnikovi*: генеалогический анализ митохондриальной ДНК // *Генетика*. 2010. Т. 46. № 2. С. 226–238.
48. Yamamoto S., Morita K., Kitano S. et al. Phylogeography of white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) inferred from mitochondrial DNA sequences // *Zoological Science*. 2004. V. 21. P. 229–240.

## Population Genetic Structure of Northern Dolly Varden Char *Salvelinus malma malma* in Asia and North America

A. G. Oleinik<sup>a</sup>, L. A. Skurikhina<sup>a</sup>, and V. A. Brykov<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>*Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia*  
e-mail: [alla\\_oleinik@mail.ru](mailto:alla_oleinik@mail.ru)

<sup>b</sup>*Far Eastern National University, Academy of Ecology, Marine Biology and Biotechnology, Department of Genetics and Selection, Vladivostok, 690000 Russia*

The level of genetic differentiation of northern Dolly Varden char *Salvelinus malma malma* from Asia and North America was evaluated using the data on mtDNA variation (regions ND1/ND2, ND5/ND6, and Cytb/D loop) obtained by means of PCR–RFLP analysis. For *S. m. malma*, the mean values of haplotype and nucleotide diversity were  $0.5261 \pm 0.00388$  and 0.001558, respectively. The mean estimate of the population nucleotide divergence constituted 0.055%. It was demonstrated that *S. m. malma* on the most part of the species range examined (drainages of the Beaufort Sea, Chukotka Sea, Bering Sea, and the Sea of Okhotsk) was characterized by the population genetic structure with the low level of genetic differentiation and divergence. At the same time, populations from the Pacific Ocean Gulf of Alaska demonstrated marked genetic differentiation, supported by the high pairwise  $\Phi_{ST}$  values (from 0.4198 to 0.5211) and nucleotide divergence estimates (mean divergence, 0.129%), from Asian and North American populations. Nested analysis of molecular variance (AMOVA) showed that most of the mtDNA variation in *S. m. malma* fell in the intrapopulation component (72.5%). At the same time, the differences between the populations (21.1%) and between the regions (6.4%) made lower contribution to the total variation.