

УДК 575.17:597.553

ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ КУНДЖИ *Salvelinus leucomaenis* (Pallas)

© 2014 г. Е. А. Салменкова¹, В. Т. Омельченко²

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва 119991
e-mail: salm@vigg.ru

²Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток 690041

Поступила в редакцию 25.04.2014 г.

С использованием собственных ранее полученных данных о пространственной популяционно-генетической структуре кунджи по 10 микросателлитным локусам выполнен анализ факторов формирования межпопуляционной дивергенции. Показана определяющая роль дрейфа генов в дифференциации популяций по ареалу, в сопоставлении с практически не проявляющейся ролью пошагового мутационного процесса; этот результат свидетельствует об общности происхождения и родственных связях южной и северной групп популяций. В подавляющем большинстве популяций не обнаружено эффекта “горлышка бутылки”. Установлено наличие связи по типу изоляции расстоянием среди исследованных популяций после исключения из анализа генетически своеобразной выборки из популяции Приморья. Такая связь может определяться не только миграционным обменом среди соседних популяций, но и сложиться в ходе исторической постплейстоценовой колонизации ареала.

DOI: 10.7868/S0016675814120108

В нашем предшествующем исследовании популяционно-генетической структуры кунджи российского Дальнего Востока (с использованием анализа изменчивости микросателлитных локусов) была обнаружена хорошо выраженная пространственная генетическая дифференциация по ареалу: $F_{ST} = 0.203$, $R_{ST} = 0.202$ [1]. Результаты кластерного анализа и многомерного шкалирования на основе аллельных частот этих локусов показали генетическое подразделение 13 выборок из разных районов ареала (рисунок) в соответствии с географической принадлежностью на северную и южную группы. Некоторым исключением из такого генетического подразделения явились северная выборка 11 (Ямский залив, север Охотского моря), имеющая почти одинаковое близкое сходство с северной и южной группами, и выборка 7 (р. Самарга, Приморье), генетически сильно обособленная от обеих групп. Было высказано предположение, что популяционно-генетическая структура кунджи формировалась под влиянием исторических геолого-климатических преобразований ее ареала в ледниковый и постледниковый периоды, при этом основным дифференцирующим фактором, очевидно, являлся дрейф генов, обусловленный относительно невысокой популяционной численностью и ограниченной по протяженности миграционной активностью ее проходной формы. В настоящей работе приведены результаты более подробного анализа получен-

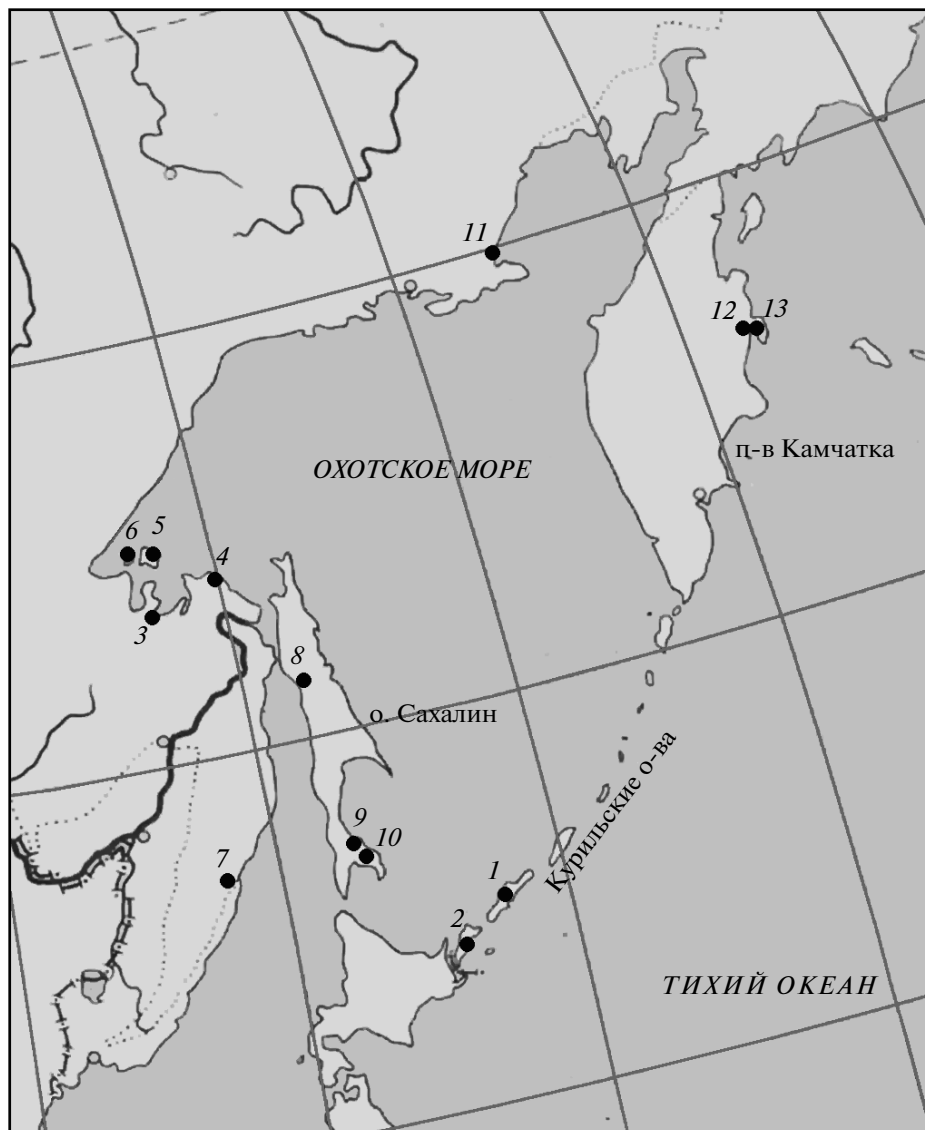
ных ранее популяционных данных для обоснования предполагаемых факторов формирования популяционно-генетической структуры кунджи. Было выполнено следующее.

Во-первых, проведено исследование относительной роли основных микроэволюционных механизмов – генетического дрейфа и мутационного процесса – в пространственной дифференциации популяций по микросателлитным локусам.

Во-вторых, проделан анализ на вероятное происхождение исследованных популяций кунджи через сильное снижение эффективной численности в относительно недавнем прошлом, т.е. анализ на выявление эффектов “горлышка бутылки (bottleneck)”.

В-третьих, проведен анализ на наличие изоляции расстоянием отдельно в северной и южной группах популяций для представления о возможной роли миграционного обмена в генетической дифференциации кунджи по ареалу.

В настоящей работе были использованы наши ранее опубликованные данные [1] по изменчивости 10 микросателлитных локусов в выборках из 13 популяций кунджи из различных регионов российской части ареала (рисунок). В той же статье представлена информация о материалах и методах анализа.



Географическая локализация выборок кунджи (исследованных по микросателлитным локусам), в скобках – размер выборки. 1 – оз. Благодатное, о-в Итуруп (48); 2 – оз. Валентины, о-в Кунашир (48); 3 – Ульбанский залив, Хабаровский край (34); 4 – р. Малая Иски, Хабаровский край (23); 5 – р. Омокой, о-в Большой Шантар, Хабаровский край (37); 6 – оз. Лисье, о-в Феклистова, Хабаровский край (8); 7 – р. Самарга, Приморский край (28); 8 – р. Виахту, о-в Сахалин (36); 9 – бассейн р. Найба (притоки), о-в Сахалин (31); 10 – р. Ударница, о-в Сахалин (17); 11 – Ямский залив, Магаданская обл. (16); 12 – протока Азабачья, бассейн р. Камчатка (17); 13 – устье протоки Азабачьей + р. Радуга, бассейн р. Камчатка (17). Популяции 1, 2, 7, 8, 9, 10 – южная группа, популяции 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13 – северная группа.

Для микросателлитных локусов характерна высокая скорость мутационного процесса, который часто следует модели пошагового мутирования (stepwise mutation model, SMM); возникающая при этом изменчивость числа повторов и соответственно размеров аллелей вносит определенный вклад в дифференциацию популяций [2, 3]. Таким образом, межпопуляционная дифференциация по микросателлитным локусам может оцениваться как показателем, основанным на дисперсии частот аллелей – F_{ST} , так и показателем R_{ST} , основанным на дисперсии размеров аллелей [3, 4]. Со-

гласно Харди и соавт. [5], эти статистики имеют равные ожидания, т.е. $F_{ST} = R_{ST}$, когда дифференциация вызвана исключительно дрейфом, но величина R_{ST} будет больше, чем F_{ST} , при преобладающем вкладе пошагового мутационного процесса. Соответствующий тест в программе SPAGeDi [6] основан на сопоставлении наблюдаемой величины R_{ST} с распределением ожидаемой величины ρR_{ST} , которая рассчитывается программой путем рандомизации (пермутации) размеров аллелей. Если R_{ST} статистически значимо больше ρR_{ST} , то процесс пошагового мутирования играет основ-

Таблица 1. Оценки генетической дифференциации по микросателлитным локусам среди исследованных популяций кунджи

| Группы популяций | F_{ST} | R_{ST} | ρR_{ST} (95% доверит. интервал) |
|---|----------|------------------------|--|
| Все выборки 9 локусов, исключен лок. 7 | 0.2043 | 0.2020 | 0.1770 (0.077–0.276) |
| Северная группа 7 выборок, 6 локусов (1, 3, 5, 6, 8, 10) | 0.1627 | 0.0875 | 0.1294 (0.065–0.227) |
| Южная группа 6 выборок, 7 локусов (1, 2, 3, 4, 8, 9, 10) | 0.1972 | 0.1194 ($P = 0.06$) | 0.1151 (0.024–0.241) |
| 6 выборок, по локусу 10 | 0.1847 | 0.4511 ($P = 0.01$) | 0.1740 (0.012–0.414) |
| 5 выборок*, 7 локусов | 0.1064 | 0.0430 | 0.1081 (0.008–0.257) |
| Между суммарной северной и суммарной южной группами 9 локусов, исключен лок. 7 | 0.0871 | 0.0872 | 0.0689 (0.011–0.156) |
| локус 8 | 0.0344 | 0.2178 ($P = 0.005$) | 0.0400 (–0.004–0.185) |
| Между общей камчатской и общей курильской группами локус 1 | 0.2080 | 0.4468 ($P = 0.004$) | 0.1817 (–0.009–0.4168) |

Примечание. Исследованные 10 микросателлитных локусов: 1 – *One301*, 2 – *Smm3*, 3 – *Smm5*, 4 – *Smm17*, 5 – *Smm21*, 6 – *Ssa197*, 7 – *Ssa20.19* (содержит <5 аллелей), 8 – *One109*, 9 – *Sle6*, 10 – *Sle5*. В анализе использованы локусы, содержащие не менее 5 аллелей в данных выборках.

* Исключена приморская выборка 7 (см. текст).

ную роль в дифференциации изучаемых популяций по микросателлитным локусам [5].

Сравнение величин межпопуляционной дифференциации F_{ST} и R_{ST} с ожидаемой величиной ρR_{ST} (полученной путем 1000 пермутаций в программе SPAGeDi [6]) представлено в табл. 1. Оценки этих показателей по локусам, содержащим не менее 5 аллелей (согласно [5]), приведены для всей совокупности выборок, для выборок отдельно из северной и южной групп, а также для пары суммарной выборки северной и суммарной выборки южной групп. Соответствующие оценки даны и для пары наиболее отдаленных – объединенной курильской выборки (1 + 2) и объединенной камчатской выборки (12 + 13). Для всей совокупности выборок как многолокусные, так и полокусные (последние для локусов с незначимым результатом не приводятся) оценки дифференциации F_{ST} и R_{ST} практически совпадают и значимо не отличаются от соответствующих ожидаемых величин ρR_{ST} . Многолокусные оценки F_{ST} и R_{ST} значимо не различаются между собой (т.е. R_{ST} не превышает доверительных интервалов ρR_{ST}) и среди выборок в северной и в южной группах, между объединенной северной и объединенной южной группами, хотя по единичным локусам может наблюдаться значимое превышение R_{ST} над ρR_{ST} . Отсюда следует, что основная роль в дифференциации изучаемых популяций принадлежит дрейфу генов, тогда как роль мутационного

процесса невелика и проявляется только в отдельных случаях по единичным локусам.

Эти факты позволяют также предполагать, что генетическая дифференциация между северной и южной группами популяций кунджи сформировалась в относительно недавнем прошлом, причем эти группы являются родственными по происхождению. В противном случае, если бы они происходили из разных, длительно изолированных друг от друга филогенетических линий, то следовало ожидать заметного вклада пошагового мутационного процесса в дифференциацию между этими группами и, согласно Харди и соавт. [5], наблюдалось бы статистически значимое превышение оценки R_{ST} над оценкой ρR_{ST} и соответственно соотношение $R_{ST} > F_{ST}$.

Значительная роль дрейфа генов в дифференциации популяций кунджи могла определяться и такими демографическими процессами, которые приводили к большим колебаниям численности в поколениях (в ходе геолого-климатических изменений ее ареала в ледниковый и постледниковый периоды) и в результате – к снижению эффективной численности популяций. При этом могли быть и поколения с очень малой численностью, когда популяция претерпевала эффекты “горлышка бутылки”. Выявить такие эффекты позволяет соответствующий статистический тест, основанный на том, что в популяции, пережившей относительно недавно снижение численности,

Таблица 2. Статистическая оценка эффекта “горлышка бутылки” (вероятность нулевой гипотезы $H_0: H_e > H_{eq}$, односторонний тест Уилкоксона по [8]) для трех моделей мутационного процесса в исследованных популяциях кунджи

| Выборки (популяции) | IAM | TRM | SMM | Средняя гетерозиготность на локус H_e |
|---------------------|--------|-------|-------|---|
| 1 | 0.037* | 0.808 | 0.875 | 0.446 ± 0.094 |
| 8 | 0.018* | 0.410 | 0.500 | 0.396 ± 0.071 |
| 12 | 0.039* | 0.078 | 0.078 | 0.272 ± 0.085 |

Примечание. Приведены только данные хотя бы с одним значимым тестом; подробности в тексте.

* Статистически значимо, $P < 0.05$.

сокращаются число аллелей и гетерозиготность. Но в этом случае число аллелей сокращается быстрее, за счет чего образуется избыток (эксцесс) оцениваемой гетерозиготности (H_e), по сравнению с теоретической величиной гетерозиготности, ожидаемой для данного числа аллелей и данного размера выборки при равновесии мутационного процесса и дрейфа генов (H_{eq}) [7]. Такой тест реализован в программе BOTTLENECK [7, 8], которая оценивает статистическую значимость эксцесса или дефицита H_e для трех моделей мутационного процесса: бесконечного числа аллелей (IAM), пошаговой (SMM) и двухфазной (TRM). Следуя рекомендациям авторов программы, задавали исходные параметры расчетов и оценивали статистическую значимость односторонним тестом Уилкоксона, наиболее мощным для случая с числом локусов меньше 20. Такое тестирование наших данных по аллельным частотам 10 микросателлитных локусов в 12 выборках (выборка 6 была исключена из-за малого размера) показало значимый эксцесс H_e в выборках 1, 8 и 12 только для модели IAM (табл. 2). Величины средней на локус ожидаемой гетерозиготности в них составляли соответственно 0.446, 0.396 и 0.272 при диапазоне этого показателя среди всех выборок от 0.267 до 0.446 и средней 0.351 ± 0.021 . По-видимому, можно говорить о проявлении эффекта относительно недавнего “горлышка бутылки” только в выборке 12, в которой найден значимый эксцесс H_e для модели IAM и минимальный уровень H_e . Для выборок 1 и 8 получен неоднозначный результат, а в остальных выборках статистически достоверного искомого эффекта не установлено.

Ранее [1] мы обнаружили отсутствие изоляции расстоянием, т.е. значимой корреляции между парными генетическими и географическими расстояниями среди популяций кунджи в масштабах большей части ареала. Здесь мы проверяем наличие изоляции расстоянием отдельно в северной и южной группах популяций. Для этого в качестве

генетических расстояний использовали показатели $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и $R_{ST}/(1 - R_{ST})$, а географическое расстояние измеряли как кратчайшее расстояние между выборками по морю на карте (используя в т.ч. оценки расстояний и в логарифмической форме). Статистическую значимость корреляции оценивали с помощью теста Мантеля [9]. Результаты анализа показали, что в северных популяциях изоляция расстоянием статистически значима (при использовании показателя $F_{ST}/(1 - F_{ST})$), тогда как среди южных популяций изоляция расстоянием не выявляется (табл. 3). Возможно, последнее связано с тем, что южная группа включает генетически довольно обособленную от остальных выборку 7 из приморской популяции р. Самарга. Поэтому мы проверили изоляцию расстоянием в южной группе и среди всей совокупности популяций, исключив выборку 7. В южной группе (5 популяций) тест Мантеля оказался значимым только для корреляции между показателем $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и географическим расстоянием в логарифмической форме, а в общей группе (12 популяций) – высокосignificant во всех случаях (табл. 3). Следовательно, можно говорить о влиянии приморской выборки на степень проявления изоляции расстоянием среди исследованных популяций. При этом очевидно, что изоляция расстоянием среди пяти популяций в южной группе менее выражена, чем среди популяций северной группы. Последнее отчасти может быть обусловлено случайными причинами из-за относительно небольшого числа выборок, неравномерно распределенных по ареалу. В то же время, имея единичную, генетически своеобразную выборку из Приморья, мы вправе лишь предполагать, что она представляет популяцию(и), отличающуюся эволюционным происхождением от сахалинских и курильских популяций. Необходимо также отметить, что связь по типу изоляции расстоянием среди остальных исследованных 12 популяций может определяться не только миграционным обменом среди соседних популяций, но и сложиться в ходе

Таблица 3. Изоляция расстоянием в группах популяций кунджи

| Популяции | Показатели | Коэффициент корреляции | P (H_0 : корреляция незначима) |
|------------------------------------|----------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Все 13 популяций | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и geoD | 0.1095 | 0.219 |
| | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и log geoD | 0.160 | 0.097 |
| | $R_{ST}/(1 - R_{ST})$ и geoD | 0.128 | 0.215 |
| 12 популяций, без популяции 7 | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и geoD | 0.268 | 0.035* |
| | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и log geoD | 0.295 | 0.005** |
| | $R_{ST}/(1 - R_{ST})$ и geoD | 0.308 | 0.019* |
| 7 северных популяций | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и geoD | 0.341 | 0.046* |
| | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и log geoD | 0.388 | 0.034* |
| | $R_{ST}/(1 - R_{ST})$ и geoD | 0.120 | 0.220 |
| 6 южных популяций | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и geoD | 0.179 | 0.284 |
| | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и log geoD | 0.276 | 0.221 |
| | $R_{ST}/(1 - R_{ST})$ и geoD | -0.053 | 0.483 |
| 5 южных популяций, без популяции 7 | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и geoD | 0.670 | 0.111 |
| | $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ и log geoD | 0.762 | 0.047* |
| | $R_{ST}/(1 - R_{ST})$ и geoD | 0.043 | 0.421 |

Примечание. P – вероятность нулевой гипотезы, тест Мантеля по [9]; 10000 репликаций. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; geoD – географическое расстояние.

исторической постплейстоценовой колонизации ареала [10].

Таким образом, дополнительный анализ полученных ранее данных о пространственной популяционно-генетической структуре кунджи по микросателлитным локусам показал: 1) определяющую роль дрейфа генов в дифференциации популяций по ареалу в сопоставлении с практически не проявляющейся ролью пошагового мутационного процесса, следовательно, общность происхождения и родственную связь южной и северной групп популяций; 2) следы эффекта “горлышка бутылки”, найденные в единичных популяциях; 3) наличие эффекта изоляции расстоянием среди исследованных популяций, который искажается присутствием генетически своеобразной выборки из популяции Приморья.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Программы фундаментальных исследований РАН “Живая природа: современное состояние и проблемы развития” (подпрограмма “Динамика и сохранение генофондов”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Салменкова Е.А., Омельченко В.Т., Рубцова Г.А. и др. Популяционно-генетическая дифференциация кунджи *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) российского Дальнего Востока // Генетика. 2014. Т. 50. № 1. С. 52–61.
2. Slatkin M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies // Genetics. 1995. V. 139. P. 457–462.
3. Rousset F. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes // Genetics. 1996. V. 142. P. 1357–1362.
4. Balloux F., Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers // Mol. Ecol. 2002. V. 11. P. 155–165.
5. Hardy O.J., Charbonnel N., Freville H., Heuertz M. Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation // Genetics. 2003. V. 163. P. 1467–1482.
6. Hardy O.J., Vekemans X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels // Mol. Ecol. Notes. 2002. V. 2. P. 618–620.
7. Cornuet J.M., Luikart G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data // Genetics. 1996. V. 144. P. 2001–2014.
8. Piry S., Luikart G., Cornuet J.M. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data // J. Heredity. 1999. V. 90. № 4. P. 502–503.
9. Bohonak A.J. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance // J. Heredity. 2002. V. 93. P. 153–154.
10. Crispo E., Hendry A.P. Does time since colonization influence isolation by distance? A meta-analysis // Conservation Genetics. 2005. V. 6. P. 665–682.

Factors Responsible for Spatial Population Genetic Structure in White-Spotted Char *Salvelinus leucomaensis* (Pallas)

E. A. Salmenkova^a and V. T. Omelchenko^b

^a*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia
e-mail: salm@vigg.ru*

^b*Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia*

Using personal data obtained earlier on the spatial population genetic structure of white-spotted char at ten microsatellite loci, an analysis of factors shaping the interpopulation divergence was performed. The primary role of genetic drift in population differentiation over the distribution range was demonstrated, compared to the practically absent role of stepwise mutation process. This result points to the common origin and relative connections between southern and northern population groups. In the majority of populations, no bottleneck effect was detected. Exclusion of the genetically peculiar Primorye population from the analysis resulted in the identification of the isolation by distance signatures among the examined populations. Such an association can be determined by the migratory exchange between the populations, or it could have formed during the historical post-Pleistocene colonization of the range.

English translation of paper is published in "Russian J. of Genetics" (2014, Vol. 50, No. 12), www.maik.ru