

УДК 597.553.2.575.17

Популяционная структура нерки *Oncorhynchus nerka* северо-восточного побережья Камчатки, Чукотки и Командорских островов

А.М. Хрусталёва, Н.В. Кловач

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО», г. Москва)

E-mail: mailfed@mail.ru

Исследована пространственная генетическая организация нерки Восточной и Северо-Восточной Камчатки и некоторых водоёмов западно-берингоморского побережья. Проведён анализ изменчивости 45 локусов однонуклеотидного полиморфизма ДНК (ОНП) в 7 выборках из 5 крупнейших популяций данного региона. Популяционная структура нерки Восточной Камчатки и Чукотки по результатам анализа ОНП в общих чертах соответствует полученной ранее по данным микросателлитного анализа. Выборки нерки из водоёмов северо-восточной части Камчатского полуострова объединяются в две региональные группы: первая представлена локальными популяциями бассейна р. Камчатка, вторая — северной группировкой рек западно-берингоморского побережья. Частоты аллелей и генотипов локусов ОНП достоверно не различались в выборках из рек Олюторского района (р. Апука и р. Пахача) и из нижнего течения р. Камчатка. Выраженная дифференциация обнаружена между островной (оз. Саранное, о. Беринга) и «континентальными» популяциями. Представленные результаты свидетельствуют о том, что пространственно-генетическая структура данного вида на исследованной части ареала (исключая Командорские о-ва) удовлетворительно описывается моделью изоляции расстоянием.

Ключевые слова: нерка *Oncorhynchus nerka*, однонуклеотидный полиморфизм, ОНП, популяционная структура, Северо-Восточная Камчатка.

ВВЕДЕНИЕ

Нерка *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) — ценный вид, являющийся важнейшим объектом промысла в северной части Тихого океана. Наиболее крупные стада, обеспечивающие более 95% отечественного вылова нерки, воспроизводятся на Камчатке [Бугаев, 2011]. Значительные запасы данного вида сосредоточены на северо-восточном побережье полуострова. Так, стадо нерки, воспроизводящейся в бассейне самой протяжённой на территории Камчатского края р. Камчатки, является вторым (а в

отдельные годы даже первым) по численности в Азии [Бугаев, 2010]. Крупные второстепенные стада населяют реки, впадающие в Олюторский залив Берингова моря, а также водоёмы Чукотки и Командорских островов.

Условия размножения, пресноводного нагула и ската молоди нерки на северо-востоке азиатской части ареала имеют определённое сходство с таковыми на североамериканском побережье, где запасы её значительно больше и существенно отличаются от условий существования западно-камчатских популяций. В част-

ности, высокая численность нерки в данном районе обусловлена в первую очередь обилием в бассейнах рек ледниковых и лагунно-лиманых озёр, пригодных для размножения и нагула молоди данного вида. Так, в системе притоков р. Камчатка это озёра Двухюрточное, Курсин, Азабачье и др., в бассейнах рек Олюторского района это основные нерковые нерестово-выростные озёра Корякского нагорья — оз. Потат-Гытхын (бассейн р. Пахача) и оз. Ватат-Гытхын (бассейн р. Апука (Апукваям)), на юге Чукотки это Мейныпильгинская озёрно-речная система с лиманными озёрами Ваамочка и фиордовым Пикульнейское, в северной части о. Беринга это, прежде всего, оз. Саранное [Остроумов, 2007; Бугаев, Кириченко, 2008; Погодаев, 2013]. Исключение, пожалуй, составляют лишь реки побережья Карагинского залива, в бассейнах которых нет крупных озёр и, соответственно, воспроизводятся преимущественно речные популяции нерки [Погодаев, 2013].

Следует отметить, что исследованиям внутрипопуляционного генетического разнообразия нерки бассейна р. Камчатки посвящены десятки работ [Новосельская и др., 1982; Алтухов, 1983; Пустовойт, Макоедов, 1992; Пустовойт, 1993; Varnavskaya et al., 1994 a, 1994 б; Брыков и др., 2003, 2005; Шпигальская и др., 2005; Варнавская, 2006; Veacham et al., 2006 a, 2006 б; Пильганчук, Шпигальская, 2013; Пильганчук, 2014]. В результате эта популяция, характеризующаяся самой сложной структурой среди всех популяционных систем азиатско-тихоокеанского региона, считается наиболее хорошо изученной не только в Азии, но и в Северной Пацифике в целом [Бугаев, 2010]. В отличие от нерки бассейна р. Камчатка, популяции западного побережья Берингова моря изучены гораздо менее детально. Данные о генетической структуре нерки северо-востока Камчатки до недавнего времени носили фрагментарный характер [Varnavskaya et al., 1994 a, 1994 б; Пустовойт, 1994; Брыков и др., 2005; Veacham et al., 2006 a, 2006 б; Хрусталева и др., 2010 и др.]. Лишь в последние годы в научной литературе появились подробные сведения о межпопуляционной генетической дифферен-

циации стад данного региона по микросателлитным маркерам [Пильганчук, Шпигальская, 2013; Пильганчук, 2014]. Было обнаружено соответствие степени генетического сходства ряда берингоморских популяций азиатской нерки и географической близости их местообитаний, выделены региональные группы, уровень различия между которыми превосходил уровень межпопуляционной изменчивости [Пильганчук, Шпигальская, 2013; Пильганчук, 2014]. Однако анализ изменчивости микросателлитных локусов, в силу нейтральности последних, не всегда даёт исчерпывающую информацию о структуре того или иного регионального комплекса исследуемого вида. Кроме того, нестабильность, сложное мутационное поведение этих локусов и неполное соответствие ему имеющегося математического аппарата, высокая скорость эволюции и, как следствие, насыщение мутациями, в отдельных случаях приводящие к гомоплазии аллелей в популяциях с длительными сроками дивергенции, а также нуль- и интер-аллели, искажающие результаты анализа, нередко ставят под сомнение корректность интерпретации микросателлитных данных [Хрусталева, 2010; Горбачев, 2011]. По сравнению с микросателлитными маркерами, локусы однонуклеотидного полиморфизма ДНК (ОНП) обладают рядом преимуществ как методического, так и концептуального характера [Алтухов, Салменкова, 2002; Хрусталева и др., 2010] и при условии репрезентативности панели локусов дают возможность анализировать как нейтральные процессы в популяциях, так и действие факторов, связанных с локальной адаптацией и отбором.

В этой связи целью данной работы было исследование популяционной структуры нерки восточного и северо-восточного побережья Камчатки, Чукотки и Командорских островов с привлечением как нейтральных, так и селективно значимых маркеров ОНП, дающих более высокие оценки дифференциации, а также сопоставление общей картины пространственной генетической неоднородности нерки данного региона по данным анализа ОНП с полученной ранее по микросателлитным маркерам [Пильганчук, Шпигальская, 2013; Пильганчук, 2014].

Таблица 1. Исследованные выборки нерки бассейна р. Камчатка и рек западного побережья Берингова моря

Район	Локальность	Обозначение	Даты вылова	Объём выборки (экз.)
Чукотка, Наваринский район	Мейньшильгынская оз.-р. сист., оз. Ваамочка	Ch	28.07.2004	50
Северо-Восточная Камчатка, побережье Олюторского залива	р. Апука (Апукваям)	КА	24.06.2008 и 25.06.2008	53
	р. Пахача	КРh	17.06.2005— 27.06.2005	59
	р. Камчатка (устье, основное русло)	КК-04	29.06.2004— 09.07.2004	100
Восточная Камчатка, бассейн р. Камчатка	р. Камчатка (устье)	КК-05	14.06.2005	20
	оз. Азабачье, р. Бушуева	ККа	03.07.2004 и 13.07.2004	81
Командорские о-ва, о. Беринга	оз. Саранное	BS	01.08.2007	50

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал собирали в период с 2004 по 2008 гг. в реках Восточного побережья Камчатки, Чукотки и Командорских островов (рис. 1). Отлов производителей нерки проводили в основном русле реки или в протоках озёр закидными неводами на расстоянии 5–30 км от устья в период её массового хода. Производители весенней нерки бассейна р. Камчатка, мигрирующие на нерестилище в р. Бушуева, были отловлены в оз. Азабачье 3 и 13 июля 2004 г. (табл. 1).

Пробы ткани нерки фиксировали 96%-м этанолом. Тотальную ДНК выделяли из фрагментов печени и плавника стандартными методами [Маниатис и др., 1984]. Исследовали полиморфизм 45 описанных ранее локусов ОНП, три из которых (*One_CO1*, *One_Cytb_17*, *One_Cytb_26*) локализованы в митохондриальном геноме, остальные — преимущественно в ядерных генах, диспергированных повторах и EST-последовательностях [Smith et al., 2005; Elfstrom et al., 2006; Nabicht et al., 2010].

В работе представлены оригинальные данные по изменчивости 45 локусов ОНП нерки юго-западного побережья Камчатки, полученные методом ТаqМаp-ПЦР. Молекулярно-генетический анализ проводили в лаборатории экологической геномики факультета гидробиологии и рыболовства Университета штата Вашингтон. Методика генотипирования деталь-

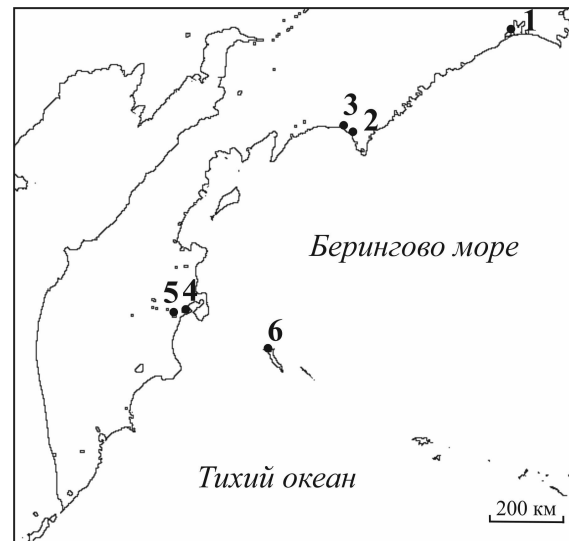


Рис. 1. Карта-схема района сбора материала.

- 1 — Мейньшильгынская озёрно-речная система, оз. Ваамочка; 2 — р. Апука (Апукваям) (устье); 3 — р. Пахача (устье); 4 — р. Камчатка (устье); 5 — бассейн р. Камчатка, оз. Азабачье; 6 — о. Беринга, оз. Саранное

но изложена в работах [Seeb et al., 2009; Хрусталева и др., 2013]. Обозначения локусов приведены в сокращённом варианте: префикс *One_*, принятый для обозначения SNP-локусов нерки, опущен для краткости изложения.

Расчёт частот аллелей в выборках, оценок ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности, коэффициентов инбридинга (F_{st} , F_{is} , F_{ct}) и значимости отличий значений F_{st} от нуля, а также

вероятностные тесты на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (по методу полного перебора), генную дифференциацию и проверку неравновесия по сцеплению (с применением цепей Маркова) осуществляли в программе GENEPOP 3.4 [Raymond, Rousset, 1995]. Уровень значимости для множественных тестов корректировали с помощью последовательной поправки Бонферрони [Rice, 1989]. Детекцию локусов под влиянием отбора, дисперсионный анализ по каждому из локусов (Locus-by-locus AMOVA), расчёт парных оценок *Fst* выполняли в программе Arlequin 3.5 [Excoffier et al., 2005]. Оценки аллельного разнообразия, скорректированные для единичного минимального объёма выборки, рассчитывали в программе FSTAT 2.9.3. [Goudet, 1995]. Проверку гипотезы изоляции расстоянием (Мантель-тест) осуществляли в программе Isolda (GENEPOP 3.4). Для проверки гипотезы о сокращении эффективной численности популяций использовали программу Bottleneck 1.2.02 (тесты: критерий знаков, критерий стандартизованной разности и критерий Вилкоксона) [Cornuet, Luikart, 1996]. Вычисление хордовых генетических дистанций Кавалли-Сфорца осуществляли с помощью программы Populations 1.2.30 [Langella, 2002]. Представление графической проекции выборок на основе многомерного шкалирования матрицы хордовых генетических дистанций проводили в программе SPSS 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменчивость ОНП-локусов

Из 45 проанализированных ОНП 4 локуса (*p53-576*, *RAG1-103*, *RAG3-93* и *U404-229*) были охарактеризованы как мономорфные или низкополиморфные. В выборке из р. Пахача по трём последним локусам были обнаружены редкие аллели с частотой, не превышающей порогового значения, принятого для ОНП. Частота минорного аллеля остальных 41 ОНП составляла не менее 1%.

Проверка неравновесия по сцеплению выявила корреляцию между генотипами митохондриальных локусов (*CO1*, *Cytb_26* и *Cytb_17*) во всех выборках. Кроме того, тесты на независимое наследование были не значимы

после введения поправки Бонферрони для двух пар локусов: *GPDH* – *GPDH2* и *CPH-414* – *MHC2_251v2* в выборке из нижнего течения р. Камчатка (КК-04). В выборках из рек Олюторского района (КА и КРh) и из оз. Азабачье (ККа) обнаружено сцепленное наследование локусов *MHC2_190v2* и *MHC2_251v2*, расположенных, соответственно, в экзоне и интроне гена главного комплекса гистосовместимости класса II (Major Histocompatibility Complex, class II, или МНСII). Таким образом, у нас имеются достаточные основания для объединения лишь трёх митохондриальных ОНП в общий гаплотип *Cytb_CO1*, объединение же локусов *MHC2_190v2* и *MHC2_251v2* представляется неправомерным в силу, как показано ранее [Gomez-Uchida et al., 2011; Хрусталева и др., 2013], различий в эволюционировании экзонов и интронов гена МНСII, а также высокой вероятности внутригенной рекомбинации, свойственной всему комплексу МНС. Таким образом, с учётом выполненных объединений и после исключения низкополиморфных локусов далее будут рассмотрены 39 ОНП (38 ядерных и 1 митохондриальный).

Генетические различия между выборками

Оценки внутривидового генетического разнообразия (средняя ожидаемая гетерозиготность и среднее число аллелей на локус) были наибольшими в выборке из р. Пахача (КРh), наименее полиморфна нерка Командорских о-вов, выловленная в оз. Саранное (BS) (табл. 2).

Обращают на себя внимание наличие редких аллелей и высокое аллельное разнообразие по полиморфным локусам в выборке из р. Пахача. При этом следов прохождения данной популяции через «бутылочное горлышко» по результатам соответствующих тестов не выявлено, тогда как для всех остальных обследованных озёрно-речных систем обнаружены признаки недавнего сокращения эффективной численности популяций. Отмеченный феномен может объясняться, с одной стороны, действием локального отбора, не учитываемого нейтральной моделью, и, следовательно, вероятностью ошибки II рода в тестах, с другой — на наш взгляд, весьма правдоподобным объясне-

Таблица 2. Показатели генетического разнообразия в выборках нерки бассейна р. Камчатка и рек западного побережья Берингова моря. Обозначения как в табл. 1

Выборка (обозначение)	H_o (s.d.)	H_e (s.d.)	n_a (s.d.)	$n_{a\text{ корр.}}$
Ch	0,299 (0,171)	0,271 (0,187)	1,87 (0,41)	1,79
КА	0,258 (0,144)	0,267 (0,163)	1,92 (0,27)	1,85
КРн	0,267 (0,168)	0,285 (0,176)	1,95 (0,22)	1,85
КК-04	0,248 (0,166)	0,256 (0,184)	1,87 (0,34)	1,79
КК-05	0,311 (0,183)	0,282 (0,206)	1,74 (0,44)	1,74
ККа	0,298 (0,17)	0,261 (0,187)	1,85 (0,37)	1,78
BS	0,252 (0,188)	0,187 (0,188)	1,74 (0,44)	1,62

Примечание. H_o — наблюдаемая гетерозиготность; H_e — ожидаемая гетерозиготность; s.d. — стандартное отклонение; n_a — среднее число аллелей на локус; $n_{a\text{ корр.}}$ — среднее число аллелей на локус, скорректированное на минимальный объём выборки (19 экз.).

Таблица 3. Выявленные отклонения от равновесия Харди-Вайнбега в некоторых выборках нерки

Выборка (обозначение)	Локус	ρ	F_{is}
КА	<i>GPDH</i>	0,008	0,38
	<i>zP3b</i>	0,015	0,47
КРн	<i>Ots213-181</i>	0,003	0,65
	<i>GPDH</i>	0,002	0,43
	<i>HCFA</i>	0,03	0,32
КК-04	<i>STC-410</i>	0,006	0,38
	<i>MHC2_190v2</i>	0,0003	0,65
	<i>GPH-414</i>	0,006	0,29
	<i>RF-295</i>	0,016	0,37
	<i>MHC2_251v2</i>	0	0,95
КК-05	<i>Prl2</i>	0,013	0,26
	<i>MHC2_190v2</i>	0,002	0,85
	<i>U508-533</i>	0,004	1
КК-05	<i>MHC2_251v2</i>	0,002	0,85
	<i>U401-224</i>	0,018	0,27
ККа	<i>GPDH2</i>	0,01	1
	<i>ZNF-61</i>	0,02	0,46

Примечание. ρ — уровень значимости по результатам вероятностного теста; F_{is} — коэффициент инбридинга.

нием может быть прохождение данной популяцией фазы быстрого роста численности и, вследствие этого, накопления редких аллелей [Алтухов, 1983]. Ранее в р. Пахача были от-

мечены случайные, но довольно существенные отклонения от среднего межгодового уровня изменчивости аллозимных локусов, обусловленные, по мнению автора, несистематическим стрейнгом производителей из других локальностей [Пустовойт, 1994]. Очевидно, что для однозначного ответа на данный вопрос необходимо оперировать не единичными выборками, а данными за ряд лет.

Соответствие фактических и ожидаемых генотипических распределений наблюдалось в большинстве тестов на равновесие Харди-Вайнберга. Значимый дефицит гетерозигот обнаружен в некоторых выборках по ряду локусов (табл. 3). После введения поправки на множественность тестов статистически значимое несоответствие наблюдаемых и ожидаемых при равновесии Харди-Вайнберга частот генотипов отмечено лишь для нерки р. Камчатка в 2004 г. (КК-04) по экзонному и интронному локусам *MHC2*, что, скорее всего, объясняется эффектом Валунда в смешанной выборке из устья крупной озёрно-речной системы, в различных локальностях которой по данным локусам действует разнонаправленный отбор.

Гетерогенность частот аллелей и генотипов в исследованных выборках выявлена по результатам большинства парных тестов на генную и генотипическую дифференциацию популяций. Значимых межвыборочных различий

не обнаружено лишь по локусам *LEI-87*, *ctgf-301*, *MARCKS-241* и *Tf_ex3-182*. Частоты аллелей и генотипов локусов ОНП достоверно не различались в выборках из рек Олюторского района (КА и КРн) и из нижнего течения р. Камчатка в 2004 и 2005 гг. (КК-04 и КК-05) (после введения поправки Бонферрони).

В низовьях р. Камчатка в 2004 г. пробы ткани собирали в течение нерестового хода предположительно поздней нерки. Судя по срокам сбора образцов в 2005 г., выборка этого года представлена ранней неркой р. Камчатка. Однако различий между данными выборками по сумме всех ОНП обнаружено не было, что может объясняться существенной примесью ранней нерки в выборке 2004 г. Фактически деление нерки бассейна р. Камчатка на позднюю и раннюю по срокам хода весьма условно, т.к. сроки хода обеих рас сильно перекрываются. По авторитетному мнению В.Ф. Бугаева, в первой декаде июля рыбы ранней расы довольно многочисленны в уловах, их доля составляет до 20–30% [Бугаев, 2011].

Межвыборочное генетическое разнообразие, оценённое величиной F_{st} , составило в среднем 0,113 ($p = 0$), по отдельным локусам — от 0,0003 (*MARCKS-241*) до 0,376 (*MHC2_190v2*), парные оценки F_{st} варьировали от 0,0064 до 0,187 (рис. 2). По матрице парных F_{st} хорошо прослеживается выраженная дифференциация командорской нерки (BS), а также близость популяций из рек западно-берингоморского побережья (Ch, КА и КРн) и сходство выборок из бассейна р. Камчатка (ККа, КК-04 и КК-05).

По результатам детекции селективно нагруженных ОНП претендентами на воздействие дифференцирующего отбора были *MHC2_190v2* ($p < 0,01$) и *GRN-414* ($p < 0,01$), балансирующего — *LEI-87* ($p < 0,01$). При повторной детекции в различных комбинациях выборок обнаружено, что первые два ОНП с наибольшей вероятностью находятся под давлением направленного отбора в бассейне р. Камчатка, тогда как в других локальностях адаптивное значение помимо них имеет ещё и митохондриальный локус — *Cytb_CO1* ($p < 0,05$).

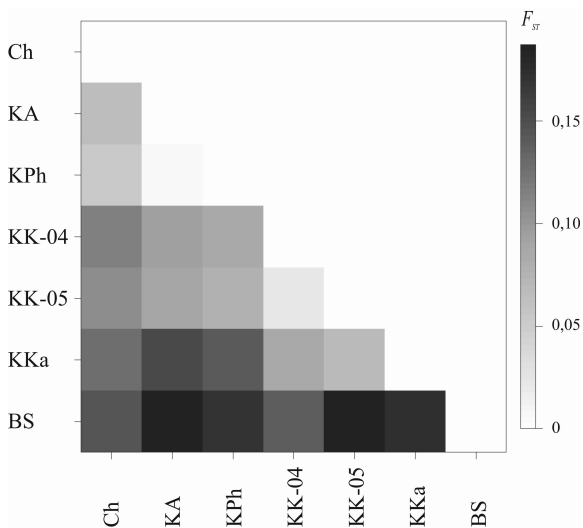


Рис. 2. Матрица парных коэффициентов F_{st} для семи выборок нерки из бассейна р. Камчатка и четырёх озёрно-речных систем западно-берингоморского побережья. Обозначения как в табл. 1

Популяционная структура нерки *Oncorhynchus nerka*...

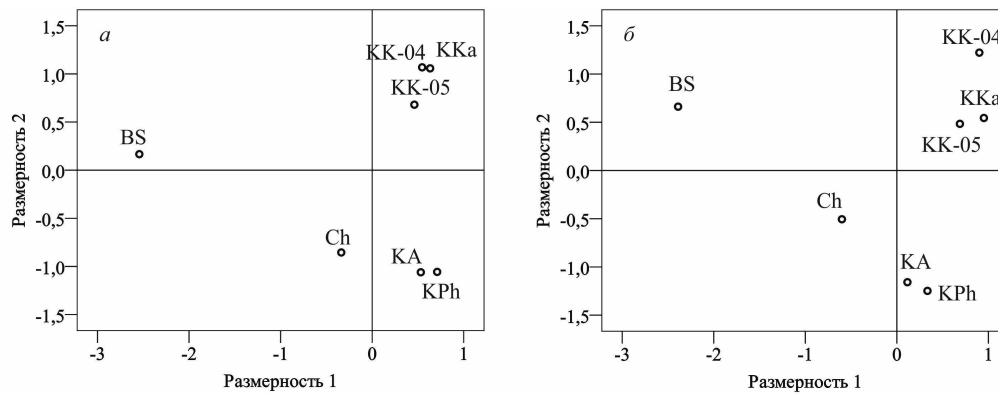


Рис. 3. Диаграммы многомерного шкалирования выборок нерки из водоёмов Северо-Восточной Камчатки, Чукотки и Командорских островов. а — по результатам анализа изменчивости 39 ОНП; б — по результатам анализа изменчивости 35 нейтральных ОНП. Обозначения как в табл. 1

Таблица 4. Иерархический анализ молекулярной варiances (AMOVA) в выборках нерки бассейна р. Камчатка и рек западного побережья Берингова моря

Уровень иерархии	Доля дисперсии, % Все локусы	Доля дисперсии, % Нейтральные локусы
Выборки сгруппированы согласно принадлежности к речным бассейнам		
Между популяциями различных речных бассейнов	4,26	1,9
Между популяциями в пределах речных бассейнов	7,58	6,6
В пределах популяций	88,16	91,5
F_{st}	11,8*	8,5*
3 группы: Олюторско-Наваринский район (Ch, KA, KPh), бассейн р. Камчатка (KKa, KK-04, KK-05), Командорские о-ва, о. Беринга (BS)		
Между группами	7,38	3,67
Между популяциями в группах	5,72	5,72
В пределах популяций	86,9	90,61
F_{st}	13,1*	9,4*
4 группы: Олюторско-Наваринский район (Ch, KA, KPh), оз. Азабачье (KKa), р. Камчатка (KK-04, KK-05), Командорские о-ва, о. Беринга (BS)		
Между группами	8,76	1,69
Между популяциями в группах	3,67	6,84
В пределах популяций	87,57	91,47
F_{st}	12,4*	8,5*
4 группы: Чукотка (Ch), Олюторский район (KA, KPh), бассейн р. Камчатка (KKa, KK-04, KK-05), Командорские о-ва, о. Беринга (BS)		
Между группами	7,41	2,96
Между популяциями в группах	5,16	6,06
В пределах популяций	87,43	90,97
F_{st}	12,6*	9,0*
5 групп: Чукотка (Ch), Олюторский район (KA, KPh), оз. Азабачье (KKa), р. Камчатка (KK-04, KK-05), Командорские о-ва, о. Беринга (BS)		
Между группами	10,72	0,28
Между популяциями в группах	1,19	8,05
В пределах популяций	88,09	91,67
F_{st}	11,9*	8,3*

Примечание. * — $p < 0,001$.

Пространственно-генетическая структура популяций нерки западно-берингоморского побережья и бассейна р. Камчатка отображена на диаграммах многомерного шкалирования, построенных отдельно по всем локусам ОНП и по нейтральным ОНП (после исключения локусов, предположительно подверженных действию дифференцирующего отбора (*MHC2_190v2*, *CPH-414* и *Cytb_CO1*) и *LEI-87* — кандидата на действие балансирующего отбора во всей совокупности выборок) (рис. 3). На представленных диаграммах выделяются крупные кластеры, образованные выборками из бассейна р. Камчатка и из рек западно-берингоморского побережья (северо-восток Камчатки и Чукотка) (все ОНП). При этом нерка Мейньпильгынской озёрно-речной системы относительно обособлена от остальных северных популяций. Обращает на себя внимание значительная степень дивергенции нерки из оз. Саранное (Командорские о-ва, о. Беринга) и популяций континентального побережья.

Иерархический анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) в различных вариантах объединения выборок по географическому принципу показал, что пространственная организация нерки западного побережья Берингова моря и восточного побережья Камчатки наиболее удовлетворительно (по суммарной величине межгрупповой и межпопуляционной компонент дисперсии) описывается двухуровневой структурой с делением на регионы происхождения: западно-берингоморское побережье (Ch, KA, KPh), бассейн р. Камчатка (KKa, KK-04, KK-05) и Командорские о-ва, о. Беринга (BS) (табл. 4).

Отметим, что картина пространственно-генетической дифференциации восточно-камчатских популяций нерки, по нашим оценкам, как для полного набора ОНП, так и для нейтральных локусов, в целом соответствует полученной ранее по данным микросателлитного анализа [Пильганчук, Шпигальская, 2013; Пильганчук, 2014]. Вдоль северо-восточного побережья Камчатки (исключая выборку BS — о. Беринга, оз. Саранное) нами также отмечена корреляция генетических и географических дистанций между популяциями (Мантель-тест: $\rho = 0,01$). Более значительные оценки ди-

вергенции были получены для островной (о. Беринга) и «материковых» популяций нерки данного региона. Как правило, выраженные генетические отличия островных популяций объясняются рядом причин: изоляцией, ослаблением межвидовых отношений, а также «эффектом основателя», т.е. смещением аллельных частот и снижением генетического разнообразия в популяции вследствие её происхождения от ограниченного числа особей из предкового генофонда при заселении новой территории. По-видимому, фактор отбора в этом случае всё же имеет решающее значение, что косвенно подтверждается как своеобразием климатических и гидрологических условий в оз. Саранное [Бугаев, Кириченко, 2008], так и более выраженными различиями между данными группами (островные и материковые) по потенциально селективно нагруженным ОНП, локализованным в генах, продукты которых участвуют в регуляции или непосредственно вовлечены в энергетический метаболизм у рыб (глицерол-3-фосфат дегидрогеназы — *GPDH* ($F_{CT} = 0,244$), инсулина — *rIns-107* ($F_{CT} = 0,244$) и митохондриальных локусах — *Cytb_CO1* ($F_{CT} = 0,253$)).

По имеющимся оценкам генетической изменчивости нерки восточной Камчатки и прилегающих территорий у нас нет достаточных оснований для выделения нерки оз. Азабачье в отдельную группу, как было предложено ранее [Пильганчук, Шпигальская, 2013], учитывая, что зачастую вывляемая высокая степень дивергенции между популяциями по микросателлитным локусам не является следствием реально протекающих генетических процессов, а обусловлена завышением оценок дифференциации при использовании данного типа маркёров [Горбачев, 2011]. С другой стороны, селективно-нейтральные микросателлитные локусы зарекомендовали себя как надёжные маркёры в популяционных исследованиях как для анализа внутривидовой структуры, так и для оценки ряда популяционных параметров, таких как эффективная численность популяции, коэффициент миграции, время дивергенции и пр. Кроме того, популяционно-генетическая структура, полученная по оценкам селективно нейтральной и адап-

тивно значимой молекулярно-генетической изменчивости, может сильно различаться [Салменкова, 2013]. Очевидно, что наши выводы нельзя считать окончательными, т.к. анализировались эпизодические и смешанные выборки из устьев рек.

Несмотря на то что большинство используемых в работе ОНП считаются «анонимными», т.е. неизвестно приводят ли данные заметны к изменению функции белка или его экспрессии, высока вероятность того, что выявляемая на основе их изменчивости внутри- и межпопуляционная дифференциация во многом обусловлена действием локального отбора, вектор и интенсивность которого варьируют в водоёмах воспроизводства азиатской нерки. Так, по нашим предварительным данным, в целом для Восточной Камчатки и Командорских островов обнаружены широтные клины аллельных частот локусов *Cytb_CO1*, *hcs71-220* (локализован в гене, отвечающем за синтез белков теплового шока), *ALDOB-135* (локализован в гене альдолазы, ферменте, катализирующем одну из реакций гликолиза), *СРН-414* и *СНII-2461*. Первые три локуса так или иначе вовлечены в обменные процессы, прямую или косвенно зависимые от температурного фактора. *СРН-414*, расположенный в интроне гена, кодирующего α -субъединицу гликопротеиновых гормонов гипофиза, вероятно, сцеплен с адаптивно значимыми локусами, отвечающими за регуляцию процессов роста, полового созревания, формирование брачного наряда и устойчивость рыб к высокой температуре [Аминева, Яржомбек, 1984]. Последний локализован в гене гормона роста *GH2*, который является ключевым белком, ответственным за регуляцию соматического роста и многие аспекты метаболизма у позвоночных животных [Akerman et al., 2011; Панькова, Брыков, 2013]. Хорошо известно, что средние размеры и пропорции тела особей данного вида обнаруживают устойчивую связь с географической широтой места расположения устья реки обитания [Бугаев, 1995].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ изменчивости 45 локусов ОНП нерки четырёх крупнейших популяций северо-

восточного побережья Камчатки и Чукотки показал, что исследованные выборки объединяются в две региональные группы: популяцию бассейна р. Камчатка, включающую в себя многочисленные локальные субпопуляции и сезонные расы; и северную группировку рек, впадающих в Берингово море, в которой относительно обособлена нерка Мейньпильгынской озёрно-речной системы. Пространственная генетическая организация данного вида на исследованной части ареала (исключая Командорские о-ва) удовлетворительно описывается моделью изоляции расстоянием. Наибольшая генетическая дивергенция обнаружена между островной (оз. Саранное, о. Беринга) и «континентальными» популяциями. Очевидно, что внутри- и межпопуляционная дифференциация нерки по частотам однонуклеотидных замен во многом обусловлена различиями в направлении и силе локального отбора в популяциях и внутрипопуляционных группировках из обследованных рек западно-берингоморского побережья.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают свою искреннюю признательность д-ру Дж. Сибу (School of Aquatic & Fishery Sciences, University of Washington, Seattle) за всестороннюю помощь и поддержку, организацию и финансирование работ, предоставленные методики, реактивы и оборудование. Авторы глубоко благодарны всем сотрудникам лаборатории экологической геномики факультета гидробиологии и рыболовства Университета штата Вашингтон, к.б.н. М.В. Шитовой (ИОГЕН РАН) и к.б.н. П.К. Афанасьеву (ВНИРО) за помощь в лабораторной обработке материала, а также д.б.н. В.Ф. Бугаеву (КамчатНИРО), к.б.н. Е.Д. Павлову (ИПЭЭ РАН), В.И. Рою (ВНИРО), принимавшим участие в сборе материала.

ЛИТЕРАТУРА

- Алтухов Ю.П. 1983. Генетические процессы в популяциях. М.: Наука. 279 с.
Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. 2002. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. Т. 38. №. 9. С. 1173–1195.
Аминева В.А., Яржомбек А.А. 1984. Физиология рыб. М.: Легкая и пищевая пром-сть. 200 с.
Брыков В.А., Полякова Н.Е., Подлесных А.В. 2003.

- Дивергенция митохондриальной ДНК в популяциях нерки (*Oncorhynchus nerka* Walbaum) озера Азабачьего (Камчатка) // Генетика. Т. 39. № 12. С. 1687–1692.
- Брыков В.А., Полякова Н.Е., Подлесных А.В., Голубь Е.В., Голубь А.П., Жданова О.А. 2005. Влияние биотопов размножения на генетическую дифференциацию популяций нерки (*Oncorhynchus nerka*) // Генетика. Т. 41. № 5. С. 635–645.
- Бугаев В.Ф. 2010. Нерка реки Камчатки: биология, численность, промысел. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 232 с.
- Бугаев В.Ф., Кириченко В.Е. 2008. Нагульно-нерестовые озера азиатской нерки (включая некоторые другие водоемы ареала). Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 280 с.
- Бугаев В.Ф. 1995. Азиатская нерка: пресноводный период жизни, структура локальных стад, динамика численности. М.: Колос. 464 с.
- Бугаев В.Ф. 2011. Азиатская нерка-2: биологическая структура и динамика численности локальных стад в конце XX — начале XXI вв. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 380 с.
- Варнавская Н.В. 2006. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей. Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамчатНИРО. 488 с.
- Горбачев В.В. 2011. Новое ограничение микросателлитных маркеров для их применения в популяционных исследованиях (на примере панмиктических популяций) // Вавиловский журнал генетики и селекции. Т. 15. № 4. С. 746–749.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. 1984. Молекулярное клонирование. М.: Мир. 480 с.
- Новосельская А.Ю., Новосельский Ю.И., Алтухов Ю.П. 1982. Физико-химические характеристики нерестилищ и наследственная гетерогенность стада нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), оз. Азабачьего // Генетика. Т. 43. № 6. С. 1004–1011.
- Остроумов А.Г. 2007. Озера Камчатки и Корякского нагорья — места нереста тихоокеанских лососей // Вопросы рыболовства. Т. 8. № 3 (31). С. 387–575.
- Панькова М.В., Брыков В.А. 2013. Дивергенция интронов в паралогичных генах гормона роста у лососевых рыб выявляет эффект отбора // Доклады Академии наук. Т. 451. № 3. С. 351–354.
- Пильганчук О.А. 2014. Генетическая структура нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), полуострова Камчатка. Дисс. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский. 135 с.
- Пильганчук О.А., Шпигальская Н.Ю. 2013. Популяционно-генетическая дифференциация нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum, 1792) восточного побережья Камчатки // Биология моря. Т. 39. № 5. С. 371–379.
- Погодаев Е. Г. 2013. Пространственное распределение и динамика численности локальных стад нерки северных рыбопромысловых районов Камчатского края // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Вып. 30. С. 28–38.
- Пустовойт С.П. 1993. Генетическая гетерогенность нерестового стада нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walb.), р. Камчатка // Генетика. Т. 29. № 5. С. 808–819.
- Пустовойт С.П. 1994. Внутривидовая генетическая изменчивость и межпопуляционная дифференциация азиатской нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Генетика. Т. 30. № 1. С. 101–106.
- Пустовойт С.П., Макоедов А.Н. 1992. Генетическая и фенетическая изменчивость нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), р. Камчатка // Генетика. Т. 28. № 6. С. 141–149.
- Салменкова Е.А. 2013. Молекулярно-генетические основы процессов адаптации и подходы к их анализу // Генетика. Т. 49. № 1. С. 94–102.
- Хрусталева А.М. 2010. Вариабельность размерно-возрастных показателей и генетическая изменчивость нерки *Oncorhynchus nerka* западного побережья Камчатки: сравнительный анализ методов дифференциации локальных популяций // Вопросы ихтиологии. Т. 50. № 3. С. 305–317.
- Хрусталева А.М., Волков А.А., Стоклицкая Д.С., Мюге Н.С., Зеленина Д.А. 2010. Сравнительный анализ изменчивости STR и SNP локусов в популяциях нерки (*Oncorhynchus nerka*) восточной и западной Камчатки // Генетика. Т. 46. № 11. С. 1544–1555.
- Хрусталева А.М., Гриценко О.Ф., Кловач Н.В. 2013. Полиморфизм по однонуклеотидным заменам (SNP) в популяциях нерки *Oncorhynchus nerka* п-ва Камчатка // Генетика. Т. 49. № 11. С. 1322–1336.
- Шпигальская Н.Ю., Шапоров Р.А., Збоева Е.Н., Варнавская Н.В. 2005. Генетическая дифференциация по аллозимным локусам локальных популяций нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), в бассейне р. Камчатка (п-ов Камчатка) // Популяционная биология, генетика и систематика гидробионтов. Т. 1. С. 97–113.
- Ackerman M.W., Habicht C., Seeb L.W. 2011. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) under diversifying selection provide increased accuracy and precision in mixed-stock analyses of sockeye salmon from the Copper River, Alaska // Trans. Amer. Fish. Soc. V. 140 (3). P. 865–881.
- Beacham T.D., McIntosh B., MacConnachie C., Miller K.M., Withler R.E., Varnavskaya N.V. 2006 a. Pacific Rim population structure of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) as determined from microsatellite analysis // Trans. Amer. Fish. Soc. V. 135. P. 174–187.
- Beacham T.D., Varnavskaya N.V., McIntosh B., MacConnachie C. 2006 b. Population structure of sockeye

- salmon (*Oncorhynchus nerka*) from Russia determined with microsatellite DNA variation // *Trans. Amer. Fish. Soc.* V. 135. P. 97–109.
- Cornuet J.M., Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data // *Genetics*. V. 144. P. 2001–2014.
- Elfstrom C.M., Smith C.T., Seeb J.E. 2006. Thirty-two single nucleotide polymorphism markers for high-throughput genotyping of sockeye salmon // *Mol. Ecol. Notes*. V. 6 (4). P. 1255–1259.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evolutionary Bioinformatics Online*. V. 1. P. 47–50.
- Gomez-Uchida D., Seeb J.E., Smith M.J., Habicht C., Quinn T.P., Seeb L.W. 2011. Single nucleotide polymorphisms unravel hierarchical divergence and signatures of selection among Alaskan sockeye salmon populations // *BMC Evolutionary Biology*. V. 11. 48 p. HYPERLINK "<http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/48>" <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/11/48> (проверено 07.06.2015)
- Goudet J. 1995. FSTAT (vers. 1.2): A computer program to calculate F-statistics // *J. Heredity*. V. 86. P. 485–486.
- Habicht C., Seeb L.W., Myers K.W., Seeb J.E. 2010. Summer–fall distribution of stocks of immature sockeye salmon in the Bering Sea as revealed by single-nucleotide polymorphisms // *Trans. Amer. Fish. Soc.* V. 139 (4). P. 1171–1191.
- Langella O. 2002. Population genetic software, POPULATIONS 1.2.30. HYPERLINK "<http://bioinformatics.org/~tryphon/populations>" <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations> (проверено 07.06.2015)
- Raymond M., Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism // *J. Heredity*. V. 86. P. 248–249.
- Rice W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests // *Evolution*. V. 43. P. 223–225.
- Seeb J.E., Pascal C.E., Ramakrishnan R., Seeb L.W. 2009. SNP genotyping by the 5'-nuclease reaction: Advances in high throughput genotyping with non-model organisms // *Methods in Molecular Biology, Single Nucleotide Polymorphisms* / Ed. A. Komar. Humana Press. P. 277–292.
- Smith C.T., Elfstrom C.M., Seeb J.E., Seeb L.W. 2005. Use of sequence data from rainbow trout and Atlantic salmon for SNP detection in Pacific salmon // *Molecular Ecology*. V. 14. P. 4193–4203.
- Varnavskaya N.V., Wood C.C., Everett R.J. 1994 a. Genetic variation in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) populations of Asia and North America // *Can. J. Fish Aquat. Sci.* V. 51 (Suppl.). P. 132–146.
- Varnavskaya N.V., Wood C.C., Everett R.J. 1994 b. Genetic differentiation of subpopulations of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) within lakes of Alaska, British Columbia and Kamchatka // *Can. J. Fish Aquat. Sci.* V. 51 (Suppl.). P. 147–157.

Поступила в редакцию 15.06.2015 г.
Принята после рецензии 08.07.2015 г.

Population structure of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* from north-east Kamchatka coast, Chukotka and Commander Islands

A.M. Khrustaleva, N.V. Klovach

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI “VNIRO”, Moscow)

The spatial genetic structure of sockeye salmon from East and North-East Kamchatka and some rivers of the West Coast of Bering Sea was studied. Variability of 45 single nucleotide polymorphism loci (SNP) was analyzed in 7 collections from 5 largest populations of the region. Population structure of East Kamchatka and Chukotka sockeye salmon inferred from single nucleotide polymorphism was roughly in accordance with those previously obtained by microsatellite analysis. Sockeye salmon samples from North-East Kamchatka and Chukotka were combined into the two regional groups: the first one was represented by local populations from the Kamchatka River drainage, the second one — by the North grouping of populations from the rivers of the West Coast of Bering Sea. Frequencies of alleles and genotypes of SNP loci didn't differ reliably in the samples from Olutorsky Bay rivers (Apuka River and Pakhacha River) and from the lower course of Kamchatka River. A significant divergence was revealed between the island population (Sarannoe Lake, Bering Island) and the “continental” populations. The results presented showed that the spatial genetic structure of the species on the area studied (except for the Commander Islands) is adequately described by the isolation by distance model.

Key words: sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*, single nucleotide polymorphism, SNP, population structure, North-East Kamchatka.