

УДК 575;574.3;597.552.5

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЖИЛОЙ И ПРОХОДНОЙ НЕРКИ ПОЛУОСТРОВА КАМЧАТКА: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ СЦЕНАРИЙ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЖИЛОЙ НЕРКИ ОЗЕРА КРОНОЦКОЕ

© 2019 г. Л. А. Животовский^{1, *}, С. Д. Павлов², М. Ю. Ковалев³, В. А. Паренский³,
Е. В. Пономарева², М. Н. Мельникова², Т. В. Минеева², А. Л. Сенчукова², Т. А. Ракицкая¹,
Г. А. Рубцова¹, К. И. Афанасьев¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
Москва 119991, Россия

²Кафедра ихтиологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ),
Москва 119234, Россия

³Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток 690041, Россия

*e-mail: levazh@gmail.com

Поступила в редакцию 28.10.2018 г.

После доработки 09.01.2019 г.

Принята к публикации 07.02.2019 г.

Исследованы генетические различия между разными популяциями нерки п-ва Камчатка; по данным о микросателлитных маркерах оценено время дивергенции между жилой неркой, репродуктивно изолированной в оз. Кроноцкое, и проходной неркой. Выявлен слабый односторонний поток генов от жилой нерки к популяции проходной нерки, нерестящейся в протоке оз. Кроноцкое – р. Кроноцкая. Полученная точечная оценка времени дивергенции жилой и проходной форм нерки (около 10 тыс. лет) соответствует геологическим оценкам времени образования современного Кроноцкого озерно-речного бассейна. Сделан вывод, что жилая нерка оз. Кроноцкое происходит от проходной нерки Палеокроноцкого озера, сформировалась в условиях репродуктивной изоляции от остальных популяций нерки и утраты связи с морем. Обсуждается необходимость сохранения кроноцкой жилой нерки, в том числе недопустимость ее смешивания с проходной неркой.

Ключевые слова: жилая и проходная нерка, репродуктивная изоляция, микросателлиты, озеро Кроноцкое, время дивергенции, генный поток, генетический дрейф, редкая форма, охрана

DOI: 10.1134/S0134347519060111

Тихоокеанский лосось нерка (*Oncorhynchus nerka* Walbaum, 1792) имеет сложную популяционную структуру, выраженную в обилии экологических групп: ранней и поздней расы проходной формы, озерных и озерно-речных частей проходных популяций, карликовой жилой формы. Их наследственная подразделенность показана во многих исследованиях (Коновалов, 1980; Алтухов и др., 1983; Глубоковский, 1995; Варнавская, 2006; Beacham et al., 2006; Хрусталева и др., 2013; Пильганчук, 2014, и мн. др.). Тем не менее с генетической точки зрения остается малопонятным эволюционное происхождение одной редкой формы этого вида – жилой нерки оз. Кроноцкое (восточная часть Камчатки).

По бассейну нагула нерка как вид разделяется на проходную и жилую формы. Молодь проход-

ной нерки после одного–двух лет пребывания в пресной воде скатывается в морские воды и нагуливается в северной части Тихого океана от одного года до четырех лет, затем возвращается в родные водоемы на нерест. Жилая нерка не выходит в море и нагуливается в пресных озерах. Особи обеих форм погибают вскоре после нереста. Жилая форма нерки, называемая также “кокани”, достаточно редкая, а ее происхождение неясно. Как предполагал Риккер (Ricker, 1940), она является эволюционной производной проходной нерки – через карликовых особей или особей, остающихся в озере до нереста. На Камчатке большая естественная популяция жилой нерки встречается в оз. Кроноцкое. Согласно геологическим данным, в начале голоцена около 10–12 тыс. лет назад лавовый поток из вулкана Крашенинникова перегородил долину р. Палеокроноцкая, выте-

кавшей из Палеокроноцкого озера, что привело к образованию современного оз. Кроноцкое и протоки – р. Кроноцкая, соединяющей озеро с морем (Крохин, 1960; Бугаев, Кириченко, 2008, с. 105). После образования лавовой плотины оставшаяся в озере нерка оказалась отрезанной от остальных популяций каскадом порогов на р. Кроноцкая, непроходимых для возвращающихся с морского нагула производителей. В настоящее время жилая нерка оз. Кроноцкое репродуктивно изолирована от проходной нерки, в том числе от нерки, размножающейся в р. Кроноцкая. Однако молодь нерки может скатиться из озера вниз по реке: исследователи обнаружили половозрелую особь с чешуей жилой формы нерки в р. Кроноцкая (Бугаев, Кириченко, 2008, с. 106). Поэтому не исключен односторонний поток генов от жилой нерки оз. Кроноцкое к популяции проходной нерки р. Кроноцкая, если происходит скрещивание с проходной формой, но доказательства отсутствуют.

Несмотря на интерес к происхождению жилой нерки оз. Кроноцкое, ранее генетические исследования не проводились, за исключением работы Павлова с соавторами (2016), в которой показано значительное отличие жилой нерки от проходной формы. Однако имеется ряд теоретически важных вопросов, на которые еще предстоит ответить: 1) существовала ли жилая форма нерки в Палеокроноцком озере задолго до его перекрытия лавовой плотиной или же она произошла от проходной нерки, оставшейся в озере после извержения; 2) существует ли генный поток между жилой и проходной формами нерки Кроноцкого озерно-речного бассейна; 3) каков статус жилой нерки оз. Кроноцкое по сравнению с популяциями проходной нерки п-ва Камчатка? И практически важный вопрос: нужно ли охранять жилую нерку в оз. Кроноцкое от гибридизации с проходной неркой? Такая гибридизация может случиться, если построить рыбоход или каким-либо иным образом обеспечить доступ проходной нерки в оз. Кроноцкое.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследованы выборки проходной нерки из оз. Азабачье (рис. 1): поздняя форма из р. Бушуйка (выборка 1; объем выборки $N = 48$, отобрана в 2007 г.), из озера (2; $N = 30$, 2007 г.) и из зал. Ласковый (3; $N = 48$, 2007 г.); ранняя форма из ручьев Заводская чаша (4; $N = 26$, 2009 г.), Банный ключ (5; $N = 31$, 2009 г.), Тимофеевская чаша (6; $N = 48$, 2009 г.), Сновидовский ключ (7; $N = 14$, 2009 г.), Аришкин ключ (8; $N = 13$, 2009 г.) и выборки из р. Кроноцкая (9; $N = 42$, 2010 г.), р. Коль (10; $N = 41$, 2007 г.) и оз. Курильское (11; $N = 47$, 2011 г.), а также выборки жилой нерки, отобранные в оз. Кроноцкое, в зал. Узон (12; $N = 9$, 2011 г.), в устье р. Узон

(13; $N = 43$, 2011 г.) и у о-ва Конради (14; $N = 46$, 2010 г.; и 15; $N = 12$, 2010 г.). Выборки 1–8 были собраны М.Ю. Ковалевым и В.А. Паренским; выборки 9–15 взяты из генетических коллекций кафедры ихтиологии МГУ (сборщики К.В. Кузицин, М.А. Груздева, Е.А. Маслова, С.Д. Павлов, Г.Н. Маркевич).

Экстракцию ДНК, амплификацию и идентификацию аллелей проводили согласно Рубцовой с соавторами (2016) по 20 микросателлитным локусам. Из них 16 локусов были с тетрануклеотидными и 4 локуса – с динуклеотидными повторами. Число разных по размеру аллелей среди всех исследованных особей по локусам варьировало от 5 до 34 (табл. 1). Локусы подбирали из опубликованных протоколов по нерке или путем кросс-амплификации от близких видов лососевых, по некоторым локусам – с модификацией праймеров (см. табл. 1).

Популяционно-генетические статистики (ожидаемая гетерозиготность, оценки θ_p для F_{ST} -статистики популяционной дифференциации, генетическая дистанция Рейнолдса и др.) оценивали согласно руководству Вейра (Weir, 1996) с использованием программы GDA (Lewis, Zaykin, 2001). Для кластеризации выборок применяли метод главных координат (SPSS for Windows, 2002). Поправки на множественные сравнения проводили, как рекомендовано ранее (Benjamini, Hochberg, 1995), в каждой выборке отдельно: по 20 сравнений для однолокусных HW-тестов (на соотношения Харди-Вайнберга) и по 190 сравнений для тестирования двулокусных LD -статистик (тесты на равновесие по сцеплению). Для оценки времени дивергенции между жилой и проходной формами нерки оз. Кроноцкое использовали микросателлитную дистанцию $(\delta\mu)^2$ (Goldstein et al., 1995) по данным о тетрануклеотидных локусах, для которых средний эффективный темп мутирования считали равным $w = 0.00064$ (оценен ранее по 271 аутосомному тетрануклеотидному локусу (см.: Zhivotovsky et al., 2003); время дивергенции в числе поколений определяли как $\tau = (\delta\mu)^2/2w$. Локусы тестировали на селективную нейтральность по соотношению F_{ST} -статистик и гетерозиготности (Beaumont, Nichols, 1996) с помощью программного пакета LOSITAN (Antao et al., 2008) при доверительном интервале $P = 0.99$ и вероятности ложнопозитивных тестов $FDR = 0.01$. Тестировали наличие в выборке мигрантных особей по частотам мультилокусных генотипов согласно алгоритму (Paetkau et al., 2004) с использованием программного пакета GeneClass2 (Piry et al., 2004). Для проведения двух последних тестов в выборках оставляли особей, которые были генотипированы по 19 или всем 20 локусам.



Рис. 1. Места отбора нерки на п-ве Камчатка (1–15 – номера выборок, см. в разделе “Материал и методика”).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Стандартные генетические статистики. Значимых отклонений от соотношений Харди–Вайнберга в исследованных выборках не наблюдали ни по одному локусу, за исключением выборки из р. Бушуйка (оз. Азабачье). Однако это отклонение обнаружено лишь по трем локусам из 20 с уровнем значимости от 0.039 до 0.041 после поправки на множественность сравнения. Выборка нерки из р. Бушуйка – единственная из всех исследованных здесь выборок, в которой также выявлено значимое отклонение от равновесия по сцеплению. Однако, как и отклонение от соотношений Харди–Вайнберга, оно было невелико и обнаружено только для одной пары локусов из 190 пар с уровнем значимости 0.04 после поправки на множественность сравнения. Ожидаемая гетерозиготность в исследованных выборках оказалась практически одинаковой – от 0.62 до 0.66.

Генетическая дифференциация стад проходной нерки. Популяции проходной нерки исследованных водоемов п-ва Камчатка генетически заметно различаются. Наиболее дифференцирована нерка оз. Азабачье (рис. 2). Средние по выборкам и локусам генетические дистанции по Рейнольдсу между этой неркой и популяциями проходной нерки оз. Курильское, а также рек Кроноцкая и Коль составляют соответственно 0.0356 ± 0.0036 ,

0.0263 ± 0.0017 и 0.0222 ± 0.0020 . Нерка оз. Азабачье также внутренне гетерогенна: $\theta_{ST} = 0.0109$ с 99% доверительным интервалом [0.0045, 0.0215]; основные различия выявлены между выборками ранней (выборки 4–8) и поздней (1–3) нерки (рис. 1, 2). Нерка оз. Курильское приблизительно одинаково отстоит от проходной нерки р. Кроноцкая и от нерки р. Коль со средней генетической дистанцией 0.0110 ± 0.0004 .

Генетическая дифференциация разных выборок жилой нерки оз. Кроноцкое. Жилая форма нерки генетически подразделена: величина θ_{ST} между исследованными выборками из оз. Кроноцкое равна 0.0127 с 99% доверительным интервалом [0.0048, 0.0220]. Вероятно, в озере существует несколько субпопуляций жилой нерки, частично изолированных друг от друга. Тем не менее по сравнению с различиями между неркой из разных водоемов п-ва Камчатка эти субпопуляции близки друг к другу: по величинам θ_{ST} они кластеризуются вместе, далеко от всех исследованных нами популяций проходной нерки (рис. 2).

Дивергенция жилой и проходной форм нерки п-ва Камчатка. Жилая и проходная формы нерки генетически значительно различаются. Генетические дистанции по Рейнольдсу между жилой неркой оз. Кроноцкое и разными популяциями проходной нерки (оз. Азабачье, оз. Курильское и

Таблица 1. Характеристики исследованных микросателлитных локусов нерки (n – число генотипированных особей, A_p – число выявленных различных по размеру аллелей среди всех особей, H_e – ожидаемая гетерозиготность)

Локус	Источник	Длина мотива (п.н.) ¹	n	A_p	H_e
<i>One104G</i> ⁴	Olsen et al., 2000	4	483	26	0.917
<i>One105</i>	Olsen et al., 2000	4	492	9	0.440
<i>One106G</i> ⁵	Olsen et al., 2000	4	485	34	0.921
<i>One108G</i> ⁶	Olsen et al., 2000	4	478	26	0.910
<i>One109G</i> ²	Olsen et al., 2000	4	477	17	0.905
<i>One112</i>	Olsen et al., 2000	4	484	30	0.914
<i>One115G</i> ²	Olsen et al., 2000	4	480	23	0.927
<i>Ots3</i>	Small et al., 1998	2	495	10	0.573
<i>OtsG68</i>	Williamson et al., 2002	4	486	7	0.556
<i>OtsG85</i>	Williamson et al., 2002	4	479	21	0.923
<i>Ots107</i>	Nelson, Beacham, 1999	4	487	7	0.322
<i>Ots211</i>	Greig et al., 2003	4	454	11	0.797
<i>OtsG253b</i>	Williamson et al., 2002	4	471	17	0.815
<i>Oki1b</i>	Smith et al., 1998	4	498	7	0.538
<i>Oki1a</i>	Smith et al., 1998	4	498	6	0.533
<i>Oki6</i>	Smith et al., 1998	2	491	10	0.538
<i>Ogo2G-I</i> ³	Olsen et al., 1998	2	498	5	0.123
<i>Ogo2G-2</i> ³	Olsen et al., 1998	2	498	7	0.180
<i>Omm1037G</i> ²	Rexroad III et al., 2002	4	473	5	0.524
<i>Omm1070G</i> ⁷	Rexroad III et al., 2001	4	465	31	0.885

¹Длина мотива определена по результатам генотипирования как разница между ближайшими аллельными вариантами.

²⁻⁷Праймеры для приведенных локусов нами модифицированы по сравнению с авторскими (указано добавлением заглавной буквы *G* в конце основного обозначения локуса) для уменьшения размера ПЦР-продукта: ²праймеры модифицированы (см.: Рубцова и др., 2016); ³праймеры модифицированы (см.: Животовский и др., 2017), этой парой праймеров у нерки амплифицируются два локуса: *Ogo2G-1* и *Ogo2G-2*;

⁴F: 5'-gctactacaatcctagcttggatt, R: 5'-catcttctcagtgctgtagat;

⁵F: 5'-acagtgagagagaggccta, R: 5'-aaggagggtggaggaa;

⁶F: 5'-caactaacaaccagca, R: 5'-ggagagacaatgtgaacca;

⁷F: 5'-gttgtgcaatggagtctg, R: 5'-gtgactctaaatgaatcaatctctt.

р. Коль) весьма схожи друг с другом и по сравнению с генетическими дистанциями между разными популяциями проходной нерки, а также значительны по величине: 0.0584 ± 0.0022 , 0.0538 ± 0.0060 и 0.0543 ± 0.0051 соответственно. Средневзвешенная оценка генетических дистанций между жилой неркой и разными популяциями проходной нерки (без учета проходной нерки р. Кроноцкая) составляет 0.0558 ± 0.0020 .

В то же время генетическая дистанция по Рейнольдсу между жилой неркой оз. Кроноцкое и проходной неркой р. Кроноцкая (0.0395 ± 0.0058) заметно меньше, чем указанная средняя дистанция между жилой неркой оз. Кроноцкое и другими популяциями проходной нерки п-ва Камчатка.

Разница между ними составляет: $0.0558 - 0.0395 = 0.0163$, что в 2.6 раза больше общего стандартного отклонения $\sqrt{0.0020^2 + 0.0058^2} \approx 0.0062$ и формально указывает на статистическую значимость согласно критерию Стьюдента. Для подтверждения надежности этого вывода мы применили также суммарный критерий знаков по сравнению величин генетических дистанций между выборками жилой нерки и выборкой нерки из р. Кроноцкая, а также других исследованных нами популяций проходной нерки, который подтвердил высокую значимость этих различий: $P = 3.1 \times 10^{-8}$.

Эволюционные сценарии большей близости жилой нерки оз. Кроноцкое к проходной нерке р. Кроноцкая. Полученные выше оценки генетических

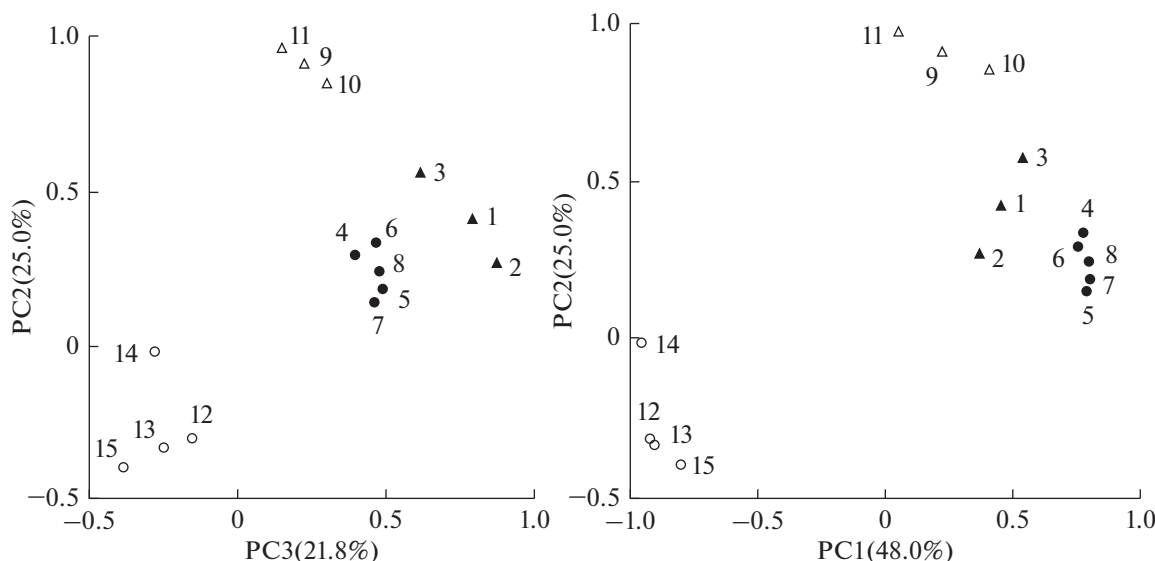


Рис. 2. Дифференциация выборок нерки в осях главных координат. Обозначение выборок: проходная нерка – оз. Азабачье (1–3 – юго-восточная часть озера, 4–8 – северо-западная часть), р. Кроноцкая (9), р. Коль (10) и оз. Курильское (11); жилая форма – оз. Кроноцкое (12–15).

дистанций показали бóльшую близость жилой нерки оз. Кроноцкое к проходной нерке р. Кроноцкая, чем к проходной нерке из других исследованных нами водоемов п-ва Камчатка. Такая ситуация могла возникнуть по одному из следующих сценариев: 1) использованные микросателлитные локусы не являются селективно нейтральными, вследствие этого отбор за многие сотни поколений привел к коррелированным ответам частот аллелей в разных популяциях; 2) в выборке производителей нерки из р. Кроноцкая присутствовали особи жилой нерки из оз. Кроноцкое, которые не смогли вернуться в озеро из-за непродоходимых порогов (сценарий механического смешивания производителей без включения генов жилой формы в генофонд проходной нерки р. Кроноцкая); 3) существует генный поток от жилой нерки оз. Кроноцкое в популяцию проходной нерки р. Кроноцкая, вследствие этого эволюционно частоты аллелей в них стали ближе друг к другу (данный сценарий предполагает, что в ряду поколений особи жилой нерки скрещивались с проходной неркой р. Кроноцкая и оставляли жизнеспособное плодовитое потомство).

Тестирование с помощью программы LOSITAN микросателлитных локусов выборки нерки из р. Кроноцкая и двух больших выборок жилой нерки (14 и 15, см. табл. 1) показало, что все 20 микросателлитных локусов не выходят из селективно нейтральной зоны параметров (рис. 3). Таким образом, первый сценарий можно отбросить, т.е. в различиях аллельных частот между этими популяциями нет явного следа прямых или ассоциативных процессов отбора. Чтобы выбрать

между двумя последними сценариями, мы оценили вероятность наличия взаимных миграций между проходной и жилой формами нерки Кроноцкого бассейна, используя программный пакет GeneClass2 (анализировали субпопуляции жилой нерки с наибольшими объемами выборок: выборки 14 и 15, см. табл. 1). Тестирование показало наличие особей на краю теоретических распределений частот мультилокусных генотипов в разных формах нерки. Однако они не могут рассматриваться как мигранты, ибо их генотипы тестируются как маловероятные одновременно для обеих форм нерки из-за наличия у данных особей редких аллелей. Но даже если предположить, что это мигранты, их удаление из выборок практически не изменяет генетическую дистанцию между проходной и жилой неркой (не больше чем на 0.002). Следовательно, второй сценарий не подтверждается генетическими данными. Поэтому из перечисленных трех сценариев для нерки Кроноцкого озерно-речного бассейна более реалистичен третий эволюционный сценарий: наличие слабого одностороннего генного потока из популяции жилой нерки в популяцию проходной нерки.

Время дивергенции между жилой и проходной формами камчатской нерки. Получены две оценки времени дивергенции (τ) с использованием микросателлитной дистанции ($\delta\mu$)²: между жилой неркой оз. Кроноцкое и проходной неркой р. Кроноцкая ($\tau_1 = 1698 \pm 791$ поколений), а также между жилой неркой оз. Кроноцкое и всеми исследованными выборками проходной нерки, за исключением выборки из р. Кроноцкая ($\tau_2 = 1968 \pm 881$ поколений).

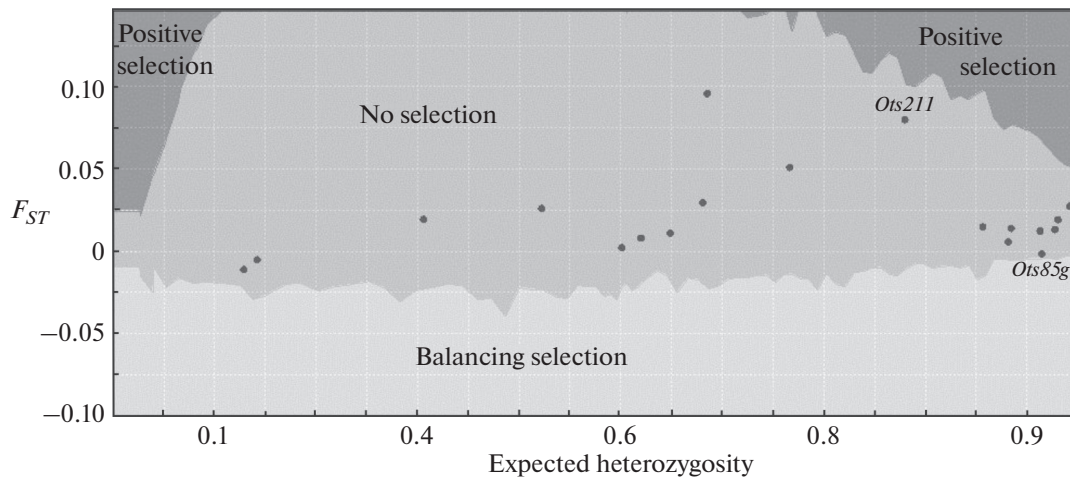


Рис. 3. Расположение микросателлитных локусов в координатах ожидаемой гетерозиготности и F_{ST} . Все исследованные локусы находятся в зоне нейтральности (локусы *Ots85g* и *Ots211* находятся вблизи зоны балансового и направленного отбора соответственно).

Первая оценка по величине оказалась меньше второй. Как показано ранее, вероятная причина этого — генный поток между жилой и проходной популяциями нерки Кроноцкого озерно-речного бассейна. Поэтому в качестве времени дивергенции жилой нерки оз. Кроноцкое и проходной нерки от общей предковой популяции возьмем вторую оценку. Из данных Куренкова (1974, цит. по: Бугаев, 1995) следует, что средний возраст половозрелых особей жилой нерки оз. Кроноцкое составляет 5.3 года (примерно такой же средний возраст у проходной нерки). Из оценок микросателлитной дистанции $(\delta\mu)^2$ получим время дивергенции этих двух форм нерки: 10.4 тыс. лет, что хорошо соответствует геологическим оценкам времени перекрытия оз. Кроноцкое лавовой дамбой.

Параллелизм частот аллелей у жилой и проходной нерки. У данных форм нерки п-ва Камчатка не наблюдалось альтернативной изменчивости ни по одному локусу, т.е. не было такого, чтобы у проходной нерки по какому-то локусу был бы фиксирован в популяциях один аллель (или одна группа аллелей), а у жилой формы — другой. Более того, наблюдался значительный параллелизм распределения частых и редких аллелей у обеих форм нерки: частые аллели любого локуса у одной формы были частыми и у другой формы; такое же соответствие отмечено по редким аллелям (рис. 4). Лишь в одном из 20 исследованных локусов (*Ots211*) по одному из его 11 аллелей обнаружено отдаленное подобие альтернативной изменчивости: этот аллель имел частоту 0.568 у жилой формы и частоту 0.045 в суммарной выборке проходной нерки (рис. 4).

Кроме этого, приватные аллели, обнаруженные в разных локусах, также оказались редкими у обеих форм. При сравнении выборки проходной

нерки из р. Кроноцкая ($N = 42$) и объединенной выборки жилой нерки ($N = 110$) среднелокусная суммарная частота взаимно приватных аллелей составила соответственно 0.030 и 0.041 (небольшое различие между оценками вызвано разными объемами выборок).

ОБСУЖДЕНИЕ

Статус жилой нерки оз. Кроноцкое. Согласно имеющимся данным, наиболее правдоподобный эволюционный сценарий происхождения и генетической дивергенции жилой нерки представляется следующим. Жилая нерка оз. Кроноцкое, скорее всего, производная от прапопуляции проходной нерки Палеокроноцкого озера. Это не древняя форма вида, существовавшая в Палеокроноцком озере задолго до его перекрытия лавовой дамбой, а сформировавшаяся после образования современного оз. Кроноцкое. Генетические различия между жилой и проходной неркой по использованным в работе микросателлитным маркерам эволюционно формировались под действием генетического дрейфа и, возможно, мутационного процесса. При этом популяция проходной нерки р. Кроноцкая связана с жилой неркой оз. Кроноцкое очень слабым односторонним генным потоком.

Изменчивость таксономических признаков у нерки мозаична (Черешнев и др., 2002), т.е. не найдено ни одного признака с альтернативно закреплёнными вариантами у экологических форм, в том числе у жилой и проходной форм камчатской нерки. Не обнаружены они и по исследованным нами микросателлитным маркерам. Поэтому нет оснований придавать кроноцкой жилой нерке более высокий таксономический статус (например, под-

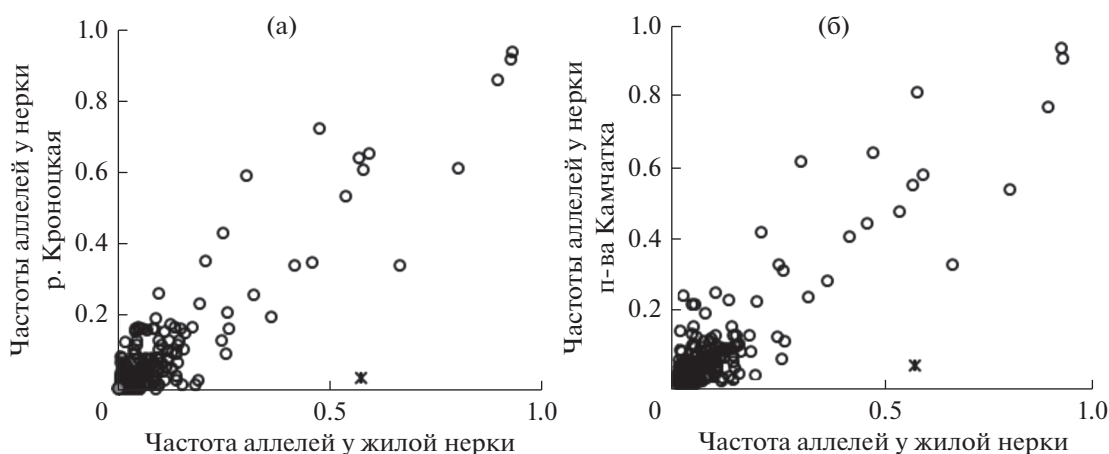


Рис. 4. Соответствие частот аллелей у жилой нерки оз. Кроноцкое и у проходной нерки р. Кроноцкая (а) и исследованных выборок проходной нерки п-ва Камчатка (без учета кроноцкой нерки) (б). Кružок – отдельный аллель одного из 20 локусов (всего суммарно по всем локусам обнаружено 312 аллелей); звездочка – редкий аллель локуса *Ots21* у проходной нерки, встречающийся с высокой частотой у жилой нерки из оз. Кроноцкое (см. текст).

вида *Oncorhynchus nerka kennerlyi* Suckley, 1861; см.: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=323400>); достаточно считать ее одной из популяций камчатской нерки.

Полученная точечная оценка времени дивергенции жилой и проходной форм нерки (в раннем голоцене – около 10 тыс. лет, что в нашей интерпретации означает время начала формирования кроноцкой жилой нерки) соответствует геологическим оценкам времени окончательного перекрытия оз. Кроноцкое лавовой дамбой. Оцененные пределы колебания размеров ледников п-ва Камчатка в голоцене (Barr, Solomina, 2013; Соломина, 2014), скорее всего, не могли повлиять на формирование кроноцкой нерки. Обозначенное время – это также начало позднплейстоценового потепления и поднятия океанических вод. В данное и последующее время популяционные группировки камчатской нерки могли сильно меняться вследствие изменения сети нерестилищ как в нижних озерах из-за значительных колебаний уровня вод Мирового океана, так и в верхних озерах в результате таяния/нарастания ледников (Бугаев, Кириченко, 2008).

Современная береговая линия материков начала стабилизироваться лишь 5–6 тыс. лет назад, а колебание уровня морских вод продолжалось и позже (Кондратов, 1984). Следовательно, популяционный состав нерки п-ва Камчатка значительно менялся вплоть до ближайшего времени: одни нерестилища и популяции исчезали, а другие возникали. Новые нерестилища заселялись особями из существовавших популяций, что обусловило сравнительно близкое родство и относительную генетическую близость современных популяций проходной нерки п-ва Камчатка. Вероятно, существующая сегодня популяционная структура

нерки п-ва Камчатка сформировалась недавно – несколько тысяч лет назад. Таким образом, стабилизация популяционной структуры и генетическая дивергенция современных популяций нерки начались намного позже, чем произошло отделение жилой нерки оз. Кроноцкое от проходной формы. Этим можно объяснить меньшие генетические дистанции между популяциями проходной нерки по сравнению с генетической дистанцией между ними и жилой неркой оз. Кроноцкое. Более того, даже мизерные по интенсивности генные потоки между разными стадами проходной нерки (теоретически достаточно одной особи на одно-два поколения) могли замедлить дивергенцию популяций по используемым в настоящей работе селективно нейтральным микросателлитным маркерам. В частности, это видно на примере ранней и поздней нерки оз. Азабачье, стада которой хоть и значимо отделены, но образуют общий генетический кластер (рис. 2).

Значимость генетических оценок. Наши заключения о “популяционном/эволюционном” статусе жилой нерки оз. Кроноцкое основаны на генетико-статистических оценках. Насколько они надежны? В первую очередь, это оценка времени дивергенции жилой и проходной нерки (около 10 тыс. лет), которая соответствует времени перекрытия оз. Кроноцкое лавовой дамбой. Едва ли стоит абсолютизировать столь точное соответствие генетической и геологической датировок, так как полученное по генетическим данным время дивергенции двух форм нерки – это лишь точечная оценка, ее стандартная межлокусная ошибка очень велика: 881 поколение (см. выше) или 4669 лет. Следовательно, реальное время дивергенции может быть как меньше, так и больше 10 тыс. лет. Необходимо отметить, что большая

междокусная статистическая ошибка обычна для эволюционных оценок. Это обусловлено стохастичностью генетико-эволюционных процессов по каждому из локусов: как вариабельностью темпов мутирования, так и значительной случайностью в динамике аллельных частот в каждом локусе вследствие генетического дрейфа в ряду многих сотен поколений.

Другими факторами, влияющими на оценку времени дивергенции, являются темпы мутирования и их междокусная вариабельность по микросателлитным локусам. Для расчетов был взят средний темп мутирования $w = 0.00064$, оцененный ранее по 271 тетрауклеотидному локусу у человека (Zhivotovsky et al., 2003). Отметим, что в опубликованной ранее работе (Steinberg et al., 2002) оценка скорости мутаций у горбуши в экспериментах по скрещиванию гораздо выше. Однако она основана на данных о двух экстрамутабельных локусах с числом аллелей 77 и 49, в то время как по остальным восьми микросателлитным локусам с меньшим аллельным размахом мутации не были обнаружены. Среднее число аллелей по исследованным нами локусам нерки – 15.1 (с междокусным размахом от четырех до 33 аллелей; см. табл. 1), поэтому для расчетов мы взяли указанный выше темп мутирования. Значение было получено по данным о популяциях человека, но это не должно смущать, так как микросателлитные мутации в основном определяются не видовой принадлежностью, а нуклеотидной структурой локуса (Шайхаев, Животовский, 2014).

Неопределенность в эволюционных оценках возникает также из-за возможности отбора по исследуемым маркерным локусам. В зависимости от того, подвержен ли данный локус отбору (балансирующему – стабилизирующему или направленному – позитивному) или он селективно нейтральный, генетические дистанции будут занижать, завышать либо отражать истинное время дивергенции популяций. Мы оценили, что характер межпопуляционных различий в аллельных частотах по исследованным локусам согласуется с гипотезой об их селективной нейтральности в рамках 99% доверительного интервала. Однако два локуса из 20 оказались вблизи границы “нейтральность/селективность” (рис. 3) и заходят за нее при 95% доверительном интервале, хотя проверка показала, что их исключение незначительно изменяет полученные оценки. Это говорит о том, что если отбор по ним действительно возможен, то он настолько слабый, что мало смещает полученные оценки.

И наконец, популяционно-генетические оценки могут быть смещены из-за того, что реальная популяционная структура не укладывается в упрощенные рамки популяционно-генетической модели, встроенной в компьютерные пакеты анализа

данных. Однако опыт показывает, что получаемые оценки довольно часто удовлетворительно описывают популяционно-генетические события.

Уникальность жилой нерки оз. Кроноцкое. Из наших данных следует, что наиболее реальный эволюционный сценарий для жилой нерки оз. Кроноцкое – это то, что она сформировалась от проходной нерки Палеокроноцкого озера после возникновения лавовой плотины в условиях полной репродуктивной изоляции от других популяций нерки. Подобное наблюдалось у нерки системы рек Колумбия–Фрезер (Британская Колумбия), где обнаружены две генетически разные популяции жилой формы, независимо возникшие от озерной формы (Beacham, Withler, 2017). Другой известный пример: в озерах Японии и Британской Колумбии сформировались разные формы так называемой черной жилой нерки (Moreira, Taylor, 2015).

Таким образом, несмотря на “рядовой” эволюционный статус жилой нерки оз. Кроноцкое, она является уникальной популяцией, прошедшей через многотысячелетний процесс отбора вне морской среды (Бугаев, 1995). Она является важной единицей запаса нерки – единицей охраны и воспроизводства. Можно предположить, что в данной популяции шли интенсивные процессы отбора против адаптаций к морской воде, механизмов навигации в открытом море и вблизи берегов и др., оказавшихся ненужными для жизни в пресном озере. Поэтому за тысячелетия независимой эволюции жилая нерка оз. Кроноцкое приобрела уникальные биологические особенности, которые предстоит выявить и генетически описать. Однако прошедших тысячелетий могло быть недостаточно для возникновения устойчивой репродуктивной изоляции между жилой неркой оз. Кроноцкое и проходной неркой. Поэтому до окончательного выяснения репродуктивного статуса жилой нерки поддержание ее изоляции от других популяций нерки и охрана оз. Кроноцкое как среды обитания жилой нерки – необходимые меры сохранения этой уникальнейшей формы камчатской нерки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках программы гостемы ГЗ 0112-2019-2 (подтема “Эколого-генетическая струк-

тура вида”), поддержана грантами РНФ 19-16-00101 (анализ ДНК-маркеров) и РФФИ 18-016-00033 (выделение популяционных единиц запаса вида).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы глубоко признательны сотрудникам Кроноцкого государственного природного биосферного заповедника за организацию и помощь в сборе материала на охраняемой природной территории, а также всем коллегам, собиравшим материал в сложных полевых условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алтухов Ю.П., Новосельская А.Ю., Салменкова Е.А. и др. Факторы дифференциации и интеграции генетической структуры системы субпопуляций нерки в озере Азабачьем (Камчатка) // Журн. общ. биол. 1983. Т. 44. № 3. С. 316–331.
- Бугаев В.Ф. Азиатская нерка (пресноводный период жизни, структура локальных стад, динамика численности). М.: Колос. 1995. 464 с.
- Бугаев В.Ф., Кириченко В.Е. Нагульно-нерестовые водоемы азиатской нерки. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2008. 277 с.
- Варнавская Н.В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 2006. 488 с.
- Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука. 1995. 343 с.
- Животовский Л.А., Рубцова Г.А., Никитин В.Д. и др. Генетическая дифференциация и вопросы сохранения популяций симы *Oncorhynchus masou* Brevoort, 1856 (Pisces: Salmonidae) // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 1. С. 70–78.
- Кондратов А.М. Великий потоп. Мифы и реальность. Л.: Гидрометеиздат. 1984. 152 с.
- Коновалов С.М. Популяционная биология тихоокеанских лососей. М.: Наука. 1980. 238 с.
- Крохин Е.М. Нерестилища красной *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Вопр. ихтиологии. 1960. Т. 16. № 1. С. 90–110.
- Павлов С.Д., Пономарева Е.В., Холодова М.В. и др. Генетическое разнообразие нерки *Oncorhynchus nerka* Walbaum Камчатки и Командорских островов на основании анализа вариативности микросателлитной ДНК // Изв. РАН. Сер. биол. 2016. № 1. С. 17–26.
- Пильганчук О.А. Генетическая структура нерки *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) полуострова Камчатка: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 2014. 23 с.
- Рубцова Г.А., Пономарева Е.В., Афанасьев К.И. и др. Выявление аллельных вариантов микросателлитных маркеров методами капиллярного и традиционного электрофорезов // Генетика. 2016. Т. 52. № 4. С. 482–487.
- Соломина О.Н. Колебания ледников в голоцене и возможное влияние на них орбитального сигнала, солнечной и вулканической активности и антропогенного воздействия // Лед и снег. 2014. Т. 54. № 3 (127). С. 81–90.
- Хрусталева А.М., Гриценко О.Ф., Кловач Н.В. Полиморфизм по однонуклеотидным заменам (SNP) в популяциях нерки *Oncorhynchus nerka* п-ва Камчатка // Генетика. 2013. Т. 49. № 11. С. 1322–1336.
- Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестакив А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука. 2002. 496 с.
- Шайхаев Е.Г., Животовский Л.А. Эволюция микросателлитных локусов лососевых рыб // Генетика. 2014. Т. 50. № 8. С. 967–974.
- Antao T., Lopes A., Lopes R.J. et al. LOSITAN: A workbench to detect molecular adaptation based on a F_{ST} outlier method // BMC Bioinf. 2008. V. 9. P. 323. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-323>
- Barr I.D., Solomina O. Pleistocene and Holocene glacier fluctuations upon the Kamchatka Peninsula // Global Planet. Change. 2013. V. 113. P. 110–120.
- Beacham T.D., Varnavskaya N.V., McIntosh B., MacConnachie C. Population structure of sockeye salmon from Russia determined with microsatellite DNA variation // Trans. Am. Fish. Soc. 2006. V. 135. № 1. P. 97–109.
- Beacham T.D., Withler R.E. Population structure of sea-type and lake-type sockeye salmon and kokanee in the Fraser River and Columbia River drainages // PLoS One. 2017. V. 12. № 9. P. e0183713. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183713>
- Beaumont M.A., Nichols R.A. Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure // Proc. R. Soc. B. 1996. V. 263. P. 1619–1626.
- Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing // J. R. Stat. Soc. Ser. B (Methodol.) 1995. V. 57. P. 289–300.
- Goldstein D.B., Ruiz Linares A., Cavalli-Sforza L.L., Feldman M.W. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1995. V. 92. P. 6723–6727.
- Greig C., Jacobson D.P., Banks M.A. New tetranucleotide microsatellites for fine-scale discrimination among endangered chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) // Mol. Ecol. 2003. V. 3. P. 376–379.
- Lewis P.O., Zaykin D. GDA (Genetic Data Analysis): Computer Program for the Analysis of Allelic Data. Versión 1.1, University of Connecticut, Storrs. 2001. <http://phylogeny.uconn.edu/software/> (дата посещения 20.08.2018 г.).
- Moreira A.L., Taylor E.B. The origin and genetic divergence of “black” kokanee, a novel reproductive ecotype of *Oncorhynchus nerka* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 2015. V. 72. P. 1584–1595.
- Nelson R.J., Beacham T.D. Isolation and cross species amplification of microsatellite loci useful for study of Pacific salmon // Anim. Genet. 1999. V. 30. P. 225–244.
- Olsen J.B., Bentzen P., Seeb J.E. Characterization of seven microsatellite loci derived from pink salmon // Mol. Ecol. 1998. V. 7. P. 1087–1089.
- Olsen J.B., Wilson S.L., Kretschmer E.J. et al. Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 2185–2187.

- Paetkau D., Slade R., Burden M., Estoup A.* Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power // *Mol. Ecol.* 2004. V. 13. P. 55–65.
- Piry S., Alapetite A., Cornuet J.-M. et al.* GENECLASS2: A Software for genetic assignment and first-generation migrant detection // *J. Hered.* 2004. V. 95. P. 536–539.
- Rexroad C.E. III, Coleman R.L., Martin A.M. et al.* Thirty-five polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // *Anim. Genet.* 2001. V. 32. P. 316–331.
- Rexroad C.E. III, Coleman R.L., Gustafson A.L. et al.* Development of rainbow trout microsatellite markers from repeat enriched libraries // *Mar. Biotechnol.* 2002. V. 3. P. 12–16.
- Ricker W.E.* On the origin of kokanee, a fresh-water type of sockeye salmon // *Trans. R. Soc. Can.* 1940. V. 34. Sect. 5. P. 121–135.
- Small M.P., Beacham T.D., Withler R.E., Nelson R.J.* Discriminating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations within Fraser River, British Columbia, using microsatellite DNA markers // *Mol. Ecol.* 1998. V. 7. P. 141–155.
- Smith C.T., Koop B.F., Nelson R.J.* Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids // *Mol. Ecol.* 1998. V. 7. P. 1614–1616.
- SPSS for Windows: Statistical Package for the Social Sciences*, Release 1150 for Windows, Standard version, SPSS Inc. 2002.
- Steinberg E.K., Lindner K.R., Gallea J. et al.* Rates and patterns of microsatellite mutations in pink salmon // *Mol. Biol. Evol.* 2002. V. 19. P. 1198–1202.
- Weir B.S.* Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data. Sunderland, MA. Sinauer Associates. 1996. 445p.
- Williamson K.S., Cordes J.F., May B.* Characterization of microsatellite loci in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and cross-species amplification in other salmonids // *Mol. Ecol. Notes.* 2002. V. 2. V. 17–19.
- Zhivotovsky L.A., Rosenberg N.A., Feldman M.W.* Features of evolution and expansion of modern humans, inferred from genomewide microsatellite markers // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. V. 72. P. 1171–1186.

Genetic Differentiation of the Resident and Anadromous Sockeye Salmon Populations of the Kamchatka Peninsula: An Evolutionary Scenario for the Origin of Resident Sockeye Salmon in Lake Kronotskoye

L. A. Zhivotovsky^a, S. D. Pavlov^b, M. Yu. Kovalev^c, V. A. Parensky^c, E. V. Ponomareva^b,
M. N. Mel'nikova^b, T. V. Mineeva^b, A. L. Senchukova^b, T. A. Rakitskaya^a,
G. A. Rubtsova^a, and K. I. Afanasyev^a

^a*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences,
Moscow 119991, Russia*

^b*Department of Ichthyology, Moscow State University,
Moscow 119234, Russia*

^c*Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Vladivostok 690041, Russia*

The genetic differences between the sockeye salmon populations of the Kamchatka Peninsula are studied. The time of divergence between the resident sockeye salmon, reproductively isolated in Lake Kronotskoye, and the anadromous sockeye salmon is estimated using data on microsatellite markers. A weak unidirectional gene flow is observed from resident sockeye salmon into the population of anadromous sockeye salmon spawning in the Kronotskaya River, a channel of Lake Kronotskoye. The obtained point estimate of the time of divergence between the resident and anadromous sockeye forms (ca. 10000 years) is consistent with the geological estimates for the time of formation of the modern Kronotsky lake–river drainage basin. A conclusion is made that the resident sockeye salmon of Lake Kronotskoye originated from the anadromous sockeye salmon of Lake Paleo-Kronotskoye and has formed under the conditions of the reproductive isolation from other sockeye populations and the loss of connection with the sea. The necessity for conservation of the Kronotsky resident sockeye salmon, which implies prevention of its mixing with anadromous sockeye salmon, is discussed.

Keywords: resident and anadromous sockeye salmon, reproductive isolation, microsatellites, Lake Kronotskoye, divergence time, gene flow, genetic drift, rare form, conservation