

УДК 575.174.015.3 + 599.745.31

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ (*PUSA SIBIRICA*)

© 2023 г. С. И. Мещерский¹, И. Г. Мещерский¹, М. А. Соловьёва¹, академик РАН В. В. Рожнов^{1,*}

Поступило 20.01.2023 г.
После доработки 03.03.2023 г.
Принято к публикации 05.03.2023 г.

Впервые исследовано разнообразие нуклеотидных последовательностей разных участков мтДНК (гена цитохрома *b* и контрольного региона) байкальской нерпы (*Pusa sibirica*) на основе нескольких пространственно-временных выборок. Показано, что популяция в эволюционном масштабе времени является молодой и находится в стадии демографического роста.

Ключевые слова: байкальская нерпа, *Pusa sibirica*, генетическое разнообразие, ген цитохрома *b*, контрольный регион мтДНК

DOI: 10.31857/S2686738923700245, **EDN:** JHSNDU

Байкальская нерпа (*Pusa sibirica* Gmelin, 1788) — эндемик озера Байкал, один из трех представителей рода *Pusa* семейства настоящих тюленей (Phocidae). Биология вида исследована достаточно подробно [1, 2], но особенности внутривидовой генетической изменчивости этого вида остаются неизученными. Из двух других видов рода *Pusa* каспийская нерпа (*P. caspica*) также обитает в замкнутом внутриматериковом водоеме, а кольчатая нерпа (*P. hispida*) широко распространена в арктических морях, но два ее подвида, сайменская (*P. h. saimensis*) и ладожская (*P. h. ladogensis*) нерпы, обитают в замкнутых пресных водоемах — Сайменском и Ладожском озерах. Для тюленей других родов, обитающих в Северном полушарии (п/сем. Phocinae), такой характер распространения не свойственен.

История возникновения байкальской и каспийской нерп, время и пути проникновения их предков во внутриматериковые водоемы остаются загадкой (обзор ранее выдвинутых гипотез см. [3]). Выдвигавшиеся предположения, основанные на анализе палеонтологических находок, морфологических данных и палеогеографических реконструкциях, остаются во многом умозрительными вследствие неполноты и противоречивости данных. С появлением молекулярно-генетических методов неоднократно предпринимались попытки реконструировать моле-

кулярную филогению рода *Pusa* и подсемейства Phocinae в целом, направленные, в том числе, и на выяснение истории возникновения байкальской и каспийской нерп [3–4, включая приводимые там обзоры других исследований]. Однако эти попытки также не привели к успеху — филогенетические отношения между видами рода *Pusa* остаются неразрешенными, несмотря на использование как митохондриальных, так и целого ряда ядерных маркеров. Следует отметить, что подавляющее большинство этих исследований было основано на анализе единичных нуклеотидных последовательностей каждого вида, в то время как важным показателем, отражающим, в том числе, историю становления видов, являются сложившиеся особенности внутривидовой генетической изменчивости.

Целью нашей работы было исследование особенностей разнообразия митохондриальной ДНК (мтДНК) байкальской нерпы (*Pusa sibirica*).

Были проанализированы 135 образцов, составивших пять независимых выборок: три выборки, собранные в предзимний период в центральной (Чивыркуйский залив, 29 особей), северной (район пгт. Нижнеангарска, 57 особей) и южной (устье р. Селенга, 8 особей) частях Байкала (образцы от нерп из промысловой пробы Байкальского филиала ВНИРО), и две выборки, собранные в летнее время в центральной части озера (архипелаг Ушканьи острова) (прижизненные образцы: 2019 г. — 21 особь, 2021 г. — 20 особей).

В качестве генетических маркеров мы использовали: 1) контрольный регион мтДНК (CR, праймеры PhdH: TACCAATGCATGACACCA-CAG [5] и PhdL: TTACCTTGGTCTTGTAAC-

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: sergeymeshcherskiy@gmail.com

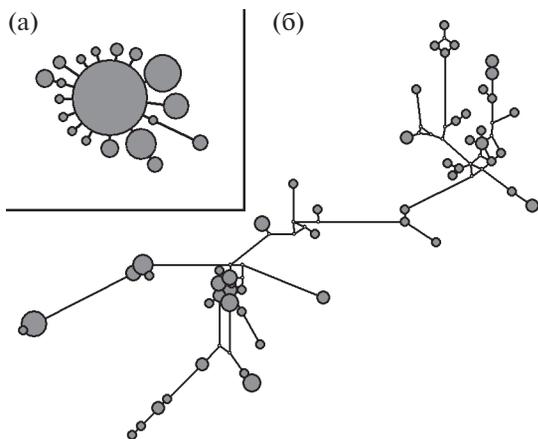


Рис. 1. Медианная сеть гаплотипов мтДНК байкальской нерпы. (а) *cytb*, (б) CR. Минимальное расстояние между кружками соответствует одной нуклеотидной замене, диаметр кружка отражает частоту гаплотипа в выборке.

СААААА, анализируемая последовательность длиной 535–543 пар нуклеотидов (п.н.), соответствующая 15373–15911 позициям полного митохондриального генома байкальской нерпы (GenBank AM181034) и 2) ген цитохрома *b* (*cytb*, праймеры *pusa_cbF*: TCATTATCCACATGGAATCT и *pusa_cbR*: GTCCSTCCATTTTTGGTTTACAА, участок длиной 1056 п.н., соответствие 14169–15224 позициям последовательности AM181034). Анализ нуклеотидных последовательностей проводили на секвенаторах 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher, USA) и Нанофор-05 (НПК СИНТОЛ, Россия) на основе набора реагентов BigDye Terminator v.3.1. Полученные варианты последовательностей депонированы в GenBank NCBI под номерами OQ106985-OQ107003 (*cytb*) и OQ107004-OQ107057 (CR). Обработку полученных данных проводили с использованием программ Arlequin 3.5. [6], Network 10.2 [7] и MEGA X [8].

Показатели генетического разнообразия (оценка в программе Arlequin), характеризующие популяцию в целом (объединение результатов анализа всех пяти выборок), представлены в таблице, а соответствующие двум участкам мтДНК медианные сети (метод MJ, программа Network) на рис. 1.

Дистанции между отдельными пространственными и временными выборками (показатель *Fst*, основанный на частотах гаплотипов, оценка в программе Arlequin), рассчитанные для *cytb* (0–5.58%), были в среднем выше, чем при оценке, выполненной для CR (0–0.49%), хотя в обоих случаях не являлись статистически достоверными.

Традиционно при исследовании внутривидовой структуры тюленей используется контрольный регион мтДНК, однако в нашем случае его изменчивость представляется слишком высокой для анализа эволюционной истории вида. Для 90 проанализированных по этому участку особей байкальской нерпы, численность популяции которой составляет 80–100 тыс. особей (здесь и далее использованы данные по численности, представленные на сайте www.iucnredlist.org), индекс гаплотипического разнообразия составил 0.982 (табл. 1), что соответствует значениям, отмечаемым как для исторически более многочисленной (180–200 тыс. особей на начало XX в.) балтийской кольчатой нерпы ($H = 0.98$, [9]), так и для менее многочисленной (20 тыс. особей на начало XX в.) ладожской нерпы ($H = 0.95$ [9]), популяции которых возникли не более 10–15 тыс. лет назад [9], а также для арктических популяций кольчатой нерпы ($H = 0.99–1$) [9–11] с высокой численностью, широким распространением и, очевидно, древней историей. Таким образом, полученное нами значение не позволяет выдвигать предположений об относительном возрасте популяции.

Нуклеотидное разнообразие контрольного региона байкальской нерпы, оцененное для гаплотипических выборок (2.994%), также является промежуточным по сравнению с балтийской (3.541%) и ладожской (2.619%) кольчатыми нерпами (анализ представленных в Генбанке последовательностей MW238550–MW238763, AY327902–AY327977, AY327988–AY328002, JX109799–JX109833, выравненных с полученными нами для участка, соответствующего 15440–15850 позициям последовательности AM181034), хотя для кольчатой нерпы, обитающей в Арктике, эти показатели являются более высокими: от 4.247% (Шпицберген, [9]) до 5.981% (море Бофорта и Берингово море, [11]). Медианная сеть гаплотипов CR байкальской нерпы соответствует относительно высокому уровню нуклеотидного разнообразия, но не позволяет делать заключений о

Таблица 1. Показатели генетического разнообразия байкальской нерпы

Участок мтДНК	n	h	H	π , %%	D	Fs
<i>cytb</i>	135	19	0.705	0.121	-1.934 ($p = 0.010$)	-13.037 ($p = 0.000$)
CR	90	54	0.982	2.305	0.749 ($p = 0.846$)	-22.765 ($p = 0.002$)

n – число полученных последовательностей, h – число гаплотипов, H – индекс гаплотипического разнообразия, π – индекс нуклеотидного разнообразия, D и Fs – индексы селективной нейтральности Tajima и Fu.

предковом характере отдельных гаплотипов. Варианты, встречающиеся чаще других, расположены не только в середине, но и по краям сети.

Напротив, медианная сеть гаплотипов *cytb* представляет собой четкую звездообразную структуру, что в общем виде соответствует эволюционно относительно молодой популяции [12]. Из 135 исследованных особей 53% несут один гаплотип гена, занимающий на сети центральное положение, и еще 33% особей имеют гаплотипы, отличающиеся от центрального на одну замену и оцениваемые как производные от него. Таким образом, наиболее массовый вариант представляется предковым. Отмеченные в нашем исследовании 19 гаплотипов *cytb* байкальской нерпы кодируют 7 вариантов аминокислотной последовательности, а соотношение несинонимичных и синонимичных замен (dN/dS , оценка произведена в программе MEGA) составило 0.16.

Сравнительный материал по разнообразию гена *cytb* у других тюленей трибы Phocini на уровне вида или крупной региональной группировки весьма ограничен. В исследовании [13] были определены нуклеотидные последовательности мтДНК гренландского тюленя (*Pagophilus groenlandicus*) – арктического вида, история которого насчитывает предположительно заметное большее время, чем история тюленей родов *Pusa* и *Phoca* [4], а численность оценивается в 4.5 млн особей. Исследованная выборка этого вида включала животных, обитающих почти на всей протяженности видового ареала. Для 53 гренландских тюленей был отмечен 41 вариант гена *cytb* (анализ последовательностей длиной 1056 п.н., входящих в состав митохондриального генома, Генбанк KP942529–KP942581), что соответствовало 12 вариантам белка ($dN/dS = 0.05$). Значения индексов гаплотипического ($H = 0.980$) и нуклеотидного ($\pi = 0.601\%$) разнообразия у гренландского тюленя существенно превышают отмеченные у байкальской нерпы, а гаплотипы *cytb* сколько-нибудь выраженной структуры на медианной сети не образуют.

Сниженное гаплотипическое ($H = 0.481$) и нуклеотидное ($\pi = 0.10\%$) разнообразие байкальской нерпы по сравнению с кольчатой нерпой ($H = 0.923$, $\pi = 0.39\%$ для вида в целом и $H = 0.836$, $\pi = 0.37\%$ для балтийского подвида, изолированного обитающего в Балтийском море) было показано и в единственной предыдущей работе, в которой генетические характеристики нерп рода *Pusa* изучались с учетом внутривидовой изменчивости [14]. Разнообразие нуклеотидных последовательностей митохондриального генома в этой работе было проанализировано методом ПДРФ, не разделяющим результаты, полученные для кодирующих и некодирующих участков, поэтому сниженное разнообразие у байкальской нерпы и в этом

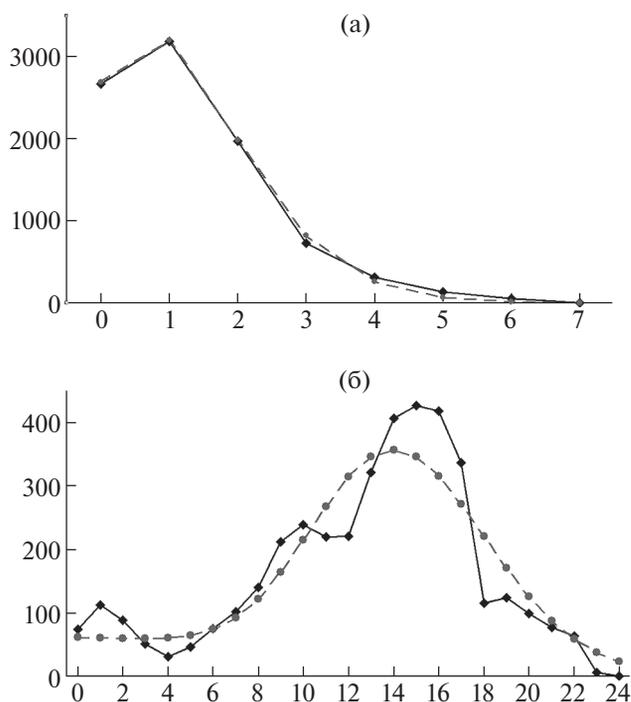


Рис. 2. Распределение частот попарных отличий между последовательностями гена цитохрома *b* (а) и контрольного региона (б). Сплошная линия, ромбы – наблюдаемые значения, пунктир, кружки – значения, соответствующие модели демографической экспансии (demographic expansion).

случае не может быть объяснено действием стабилизирующего отбора.

Таким образом, результаты анализа гена *cytb* свидетельствуют об относительно недавнем происхождении популяции байкальской нерпы. Достоверно отрицательные значения индексов селективной нейтральности (см. табл. 1) свидетельствуют, что в масштабе эволюционного времени популяция проходит стадию роста. Кривая распределения попарных отличий между гаплотипами гена *cytb* байкальской нерпы полностью (значение суммы квадратов отклонений составило $SSD = 0.0002$, $p = 0.863$) соответствует модели демографической экспансии (рис. 2а). Для CR также не отмечается отклонения от модели демографической экспансии ($SSD = 0.0037$, $p = 0.277$), хотя само по себе среднее значение числа попарных отличий для CR (12.656) существенно больше, чем для *cytb* (1.272) (рис. 2б).

Открытым остается вопрос о том, отражает ли наблюдаемая картина демографической экспансии процесс, продолжающийся с момента проникновения предков байкальской нерпы в Байкал, или же она соответствует восстановлению популяции, пережившей в относительно недавнем прошлом катастрофическое снижение численности (бутылочное горлышко).

Против гипотезы прохождения популяции байкальской нерпы через бутылочное горлышко свидетельствует отсутствие в выборке хотя бы одного сильно дистанцированного варианта *cytb*, что могло бы свидетельствовать о существовании предкового полиморфизма. Высокое гаплотипическое разнообразие CR, сопоставимое с известными данными для арктических популяций кольчатой нерпы, и отсутствие структуры на медианной сети этого фрагмента также не подтверждают сильного падения численности в недавнем эволюционном времени.

По одной из существующих гипотез [15], байкальская нерпа является эволюционно молодым видом, предки которого проникли в Байкал около 300 тыс. лет назад из Западносибирского ледникового озера, предположительно существовавшего и в период максимального оледенения в среднем плейстоцене. Авторы работы [14] пришли к выводу о правдоподобности этой датировки.

Наши данные также вполне согласуются с этим предположением, хотя и гипотеза о восстановлении популяции после прохождения бутылочного горлышка не может быть однозначно отвергнута. Для окончательного заключения о времени происхождения байкальской нерпы необходимы отсутствующие пока данные о скорости мутирования мтДНК у представителей подсемейства Phocinae.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят сотрудников ФГБНУ “ВНИРО” и Байкальского филиала ФГБНУ “ВНИРО” за помощь в сборе образцов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Генетический анализ образцов, собранных неинвазивным путем (прижизненно), профинансирован Фондом “Озеро Байкал”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Пастухов В.Д.* Нерпа Байкала. Новосибирск: Наука. 1993. 272 с.
2. *Пемпов Е.А.* Байкальская нерпа. Улан-Удэ: Экос. 2009. 176 с.
3. *Palo J.U., Väinölä R.* // Biol. J. Linnean Society. 2006. V. 88. P. 61–72.
4. *Fulton T.L., Strobeck C.* // J. Biogeogr. 2010. V. 37. P. 814–829.
5. *Stanley H.F., Casey S., Carnahan J.M., et al.* // Molecular Biology and Evolution. 1996. V. 13. P. 368–382.
6. *Excoffier L., Lischer H.E.L.* // Mol. Ecol. Resources. 2010. V. 10. P. 564–567.
7. *Bandelt H.J., Forster P., Röhl A.* // Mol. Biol. Evolution. 1999. V. 16. P. 37–48.
8. *Kumar S., Stecher G., Li M., et al.* // Mol. Biol. Evolution. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
9. *Palo J.* Genetic diversity and phylogeography of landlocked seals. Academic dissertation. Helsinki: University of Helsinki. 2003. 29 p.
10. *Martinez-Bakker M.E., Stephanie K., Bradley J., et al.* // PLoS ONE. 2013. V. 8 (10): e77125.
11. *Lang A.R., Boveng P., Quakenbush L., et al.* // Endangered species research. 2021. V. 44. P. 11–31.
12. *Avise J.C.* Phylogeography. The history and formation of species. MA, Cambridge: Harvard Univ. Press. 2000. 464 p.
13. *Carr S.M., Duggan A.T., Stenson G.B., et al.* // PLoS ONE. 2015. V. 10 (8): e0134207.
14. *Sasaki H., Numachi K., Grachev A.* // Zool. Sci. 2003. V. 20. P. 1417–1422.
15. *Repenning C.A., Ray C.E., Gricorescu D.* // In: Gray J., Boucot A.J., eds. Historical biogeography, plate tectonics, and the changing environment. OR, Corvallis: Oregon State Univ. Press. 1979. P. 357–369.

GENETIC CHARACTERISTICS OF THE BAIKAL SEAL POPULATION (*PUSA SIBIRICA*)

S. I. Meschersky^a, I. G. Meschersky^a, M. A. Solovyeva^a, and Academician of the RAS V. V. Rozhnov^{a, #}

^aA.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: sergeymeshcherskiy@gmail.com

For the first time, the diversity of nucleotide sequences of different mtDNA loci (the cytochrome *b* gene and the control region) of the Baikal seal (*Pusa sibirica*) based on of several spatio-temporal samples was studied. It is shown that in the evolutionary time scale the population formed recently and is in the stage of demographic expansion.

Keywords: Baikal seal, *Pusa sibirica*, genetic diversity, cytochrome *b* gene, mtDNA control region