

КРАТКИЕ
СООБЩЕНИЯ

УДК 575.17:597.552.3

МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ АЗИАТСКОЙ КОРЮШКИ
Osmerus dentex БЕЛОГО МОРЯ

© 2019 г. А. В. Семенова^{1, *}, А. Н. Строганов¹, Е. В. Пономарева¹, К. И. Афанасьев²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра ихтиологии, Москва, 119234 Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: anna.semenova@mail.bio.msu.ru

Поступила в редакцию 15.10.2018 г.

После доработки 03.12.2018 г.

Принята к публикации 12.12.2018 г.

Исследована генетическая изменчивость по десяти микросателлитным локусам азиатской зубастой корюшки в выборках из Кандалакшского и Мезенского заливов Белого моря. Средние оценки ожидаемой гетерозиготности по разным локусам варьировали от 0.116 до 0.640, в среднем 0.407. Корюшка из Кандалакшского залива характеризуется меньшими значениями генетического разнообразия ($H_E = 0.365–0.369$, $A_R = 3.1–3.15$) по сравнению с выборкой Мезенского залива ($H_E = 0.486$, $A_R = 4.02$). Показана достоверная ($P < 0.001$) генетическая дивергенция между корюшкой Кандалакшского и Мезенского заливов, общая оценка генетической дифференциации $\theta = 7.8\%$, с 95%-ным доверительным бутстреп-интервалом [2.8–13.6%].

Ключевые слова: популяционно-генетическая структура, микросателлиты, азиатская зубастая корюшка, *Osmerus dentex*, Белое море.

DOI: 10.1134/S001667581906016X

Азиатская зубастая корюшка *Osmerus dentex* [1, 2] является одним из наиболее массовых видов рыб семейства Osmeridae. Она распространена в северо-западной части Тихого океана и в арктических морях — Белом, юго-восточной части Баренцева, Карском. В Белом море азиатская корюшка встречается в краевой части ареала и обитает симпатрично с родственным видом — европейской корюшкой *O. eperlanus* [3, 4].

Азиатская корюшка Белого и юго-восточной части Баренцева морей характеризуется высокой морфоэкологической изменчивостью: по скорости роста и созревания, меристическим и морфометрическим показателям, и в зависимости от местообитания у корюшки выделяют несколько локальных стад или даже географических рас: кандалакшскую, онежскую, двинскую, чешскую [5, 6].

Данные о популяционно-генетической структуре азиатской корюшки на Европейском Севере чрезвычайно скудны. На основании полиморфизма белковых локусов показаны генетические различия между выборками корюшки из Онежского и Двинского заливов Белого моря и юго-восточной части Баренцева моря, трактуемые авторами как несущественные [7]. Также не было обнаружено значительной генетической гетерогенности среди корюшки Белого, Баренцева и Карского морей по маркерам митохондриальной ДНК [8–10].

В данной работе приведены результаты изучения генетической изменчивости корюшки из двух заливов Белого моря — Кандалакшского и Мезенского на основании изменчивости микросателлитных локусов ядерной ДНК.

Материал для исследований был собран в двух близко расположенных (расстояние около 2 км) локальностях в Ругозерской губе Кандалакшского залива: в проливе Великая Салма (июль 2015 г., $N = 44$) и в губе Никольской (июнь 2016 г., $N = 21$); а также в Мезенском заливе (декабрь 2016 г., $N = 42$). Все образцы были генотипированы по 10 микросателлитным локусам, приведенным ранее в работе Семеновой с соавт. [11]. Экстракцию ДНК, амплификацию и идентификацию аллелей проводили также по [11].

Для проверки качества данных и наличия неамплифицируемых нуль-аллелей использовали программу Micro-Cheker [12]. Популяционно-генетические статистики (аллельное разнообразие, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность и др.) получены с использованием программ GDA, Genepop, FSTAT [13–15]. Для оценки возможного влияния демографических изменений (снижения эффективной численности, так называемое “горлышко бутылки”) на генетическое разнообразие в популяциях корюшки использовали программу BOTTLENECK со стандартными параметрами.

Таблица 1. Генетическая изменчивость азиатской корюшки Белого моря по микросателлитным локусам

Локус	Показатели	Пролив Великая Салма, Кандалакшский залив, $N = 44$	Губа Никольская, Кандалакшский залив, $N = 21$	Мезенский залив, $N = 42$	Среднее на локус
<i>MGPL-Omo1</i>	A/A_R	5/4.25	4/4	5/4.02	4.66/4.3
	H_E/H_O	0.627/0.642	0.565/0.714	0.602/0.707	0.598/0.688
<i>MGPL-Omo2</i>	A/A_R	2/2	2/2	6/4.74	5.33/4.27
	H_E/H_O	0.225/0.209	0.284/0.238	0.449/0.523	0.320/0.323
<i>MGPL-Omo3</i>	A/A_R	5/3.5	4/4	5/4.48	4.66/4.27
	H_E/H_O	0.368/0.380	0.391/0.476	0.469/0.523	0.409/0.460
<i>MGPL-Omo4</i>	A/A_R	5/4.63	6/6	4/3.86	5/4.73
	H_E/H_O	0.538/0.571	0.627/0.666	0.557/0.761	0.574/0.665
<i>MGPL-Omo5</i>	A/A_R	5/4.86	5/5	7/6.92	5.66/5.30
	H_E/H_O	0.543/0.476	0.586/0.476	0.790/0.916	0.640/0.623
<i>MGPL-Omo9</i>	A/A_R	3/2.5	2/2	5/4.8	3.33/3.9
	H_E/H_O	0.448/0.452	0.470/0.523	0.440/0.381	0.453/0.452
<i>MGPL-Omo15</i>	A/A_R	2/2	2/2	2/2	2/2
	H_E/H_O	0.441/0.404	0.371/0.285	0.402/0.500	0.405/0.396
<i>MGPL-Omo16</i>	A/A_R	5/3.54	3/3	5/4.6	4.33/3.99
	H_E/H_O	0.389/0.414	0.354/0.428	0.487/0.595	0.410/0.479
<i>Tpa119</i>	A/A_R	2/1.75	2/2	3/2.76	2.33/2.57
	H_E/H_O	0.047/0.047	0.047/0.047	0.341/0.365	0.145/0.153
<i>HtrG107</i>	A/A_R	2/1.5	1/1	2/2	1.66/1.98
	H_E/H_O	0.023/0.023	0.00/0.00	0.326/0.404	0.116/0.142
Среднее в выборке	A/A_R	3.6/3.15	3.1/3.1	4.4/4.02	3.7/3.9
	H_E/H_O	0.365/0.362	0.369/0.385	0.486/0.568	0.407/0.438

Примечание. A — число аллелей; A_R — аллельное разнообразие, скорректированное на размер выборки; H_E — ожидаемая гетерозиготность; H_O — наблюдаемая гетерозиготность; N — объем выборки.

Была тестирована гипотеза об избытке гетерозиготности, поскольку в процессе уменьшения размера популяции потеря числа аллелей происходит быстрее, чем уменьшение гетерозиготности [16].

Программа Micro-Cheker не выявила ошибок генотипирования или присутствия нуль-аллелей ни в одном из локусов. Достоверных отклонений от равновесия Харди–Вайнберга не обнаружено.

Всего в 10 микросателлитных локусах обнаружено 52 аллеля, из которых 11 были выявлены только у корюшки Мезенского залива. Все локусы были полиморфны, за исключением локуса *HtrG107* мономорфного в выборке губы Никольской Кандалакшского залива. Число аллелей в каждом полиморфном локусе варьировало от 2

(*HtrG107*, *MGPL-Omo2*, *MGPL-Omo9*, *MGPL-Omo15*, *Tpa119*) до 7 (*MGPL-Omo5*), оценки ожидаемой гетерозиготности (H_E) изменялись в выборках от 0.023 до 0.790 (табл. 1).

Средние оценки ожидаемой гетерозиготности и аллельного разнообразия (H_E и A_R) во всех изученных выборках варьировали от 0.365 до 0.486 и от 3.1 до 4.02 соответственно. Корюшка из Кандалакшского залива характеризуется меньшими значениями генетического разнообразия ($H_E = 0.365$ и 0.369 , $A_R = 3.1$ и 3.15) по сравнению с особями из Мезенского залива ($H_E = 0.486$, $A_R = 4.02$).

Глобальная оценка генетической дифференциации, рассчитанная по всем локусам, достоверна: $\theta = 0.078$ с 95%-ным бутстреп-интервалом

[2.8–13.6%]. Наибольший вклад в оценку θ вносят локусы *MGPL-Omo15* ($\theta = 0.249$), *HtrG107* ($\theta = 0.157$), *MGPL-Omo4* ($\theta = 0.135$), *Tpa119* ($\theta = 0.117$). Оценки генетической дифференциации достоверны по каждому из изученных локусов, за исключением *MGPL-Omo1* и *MGPL-Omo16*.

Попарные оценки генетической дифференциации F_{ST} составили от -0.008 до 0.106 . Оценки F_{ST} недостоверны для корюшек из двух участков Кандалакшского залива ($F_{ST} = -0.008$, $P > 0.05$) и достоверны при сравнениях корюшки Кандалакшского и Мезенского заливов ($F_{ST} = 0.099$ – 0.106 , $P < 0.001$).

Генетическая изменчивость корюшки в Белом море значительно ниже, чем на тихоокеанском ареале, в водах Охотского и Берингова побережий Камчатки [11]. Так, при использовании того же набора микросателлитных локусов средние оценки аллельного разнообразия корюшки на Камчатке составили $A = 6.05$, а средняя ожидаемая гетерозиготность $H_E = 0.553$, в то время как у беломорской корюшки средние значения $A = 3.7$ и $H_E = 0.407$ (табл. 1). Снижение молекулярного разнообразия корюшек Арктического региона по сравнению с тихоокеанскими показано и на основе изменчивости митохондриальной ДНК [9, 10].

Уменьшение генетического разнообразия может быть следствием колонизации корюшкой арктических морей, во время которой предковая популяция могла подвергнуться редукции эффективной численности (эффект основателя) [10]. Это показано для многих видов рыб, заселяющих новые акватории [17–20]. В том числе снижение генетического разнообразия по ядерным и митохондриальным маркерам отмечено и у беломорской сельди тихоокеанского происхождения, которая имеет сходную с корюшкой филогенетическую историю [21, 22]. Предполагают, что заселение морей Европейского Севера видами рыб из Тихого океана произошло сравнительно недавно в геологической шкале исчисления — предположительно во время голоценового климатического оптимума (около 5–8 тыс. лет назад), после открытия Берингова пролива и установления в арктических водах условий, подходящих для расселения представителей бореального зоогеографического комплекса [2, 21, 23, 24]. Кроме того, была выдвинута гипотеза, что азиатская корюшка могла проникнуть в Белое море значительно раньше, более 75 тыс. лет назад, а наступившие затем оледенения пережить в рефугиуме, расположенном предположительно в Мезенском заливе Белого моря [10].

Меньшее генетическое разнообразие корюшки в Белом море, по сравнению с тихоокеанской, может быть следствием обитания на краю ареала, в суровых и нестабильных климатических условиях Арктики, что периодически может приво-

дить к значительному снижению эффективной численности популяции, так называемому “горлышку бутылки” [25].

Тем не менее тестирование выборок корюшки на сокращение численности популяции в недавнем прошлом не выявило достоверного избытка гетерозиготности ($0.461 < P < 0.993$) и, соответственно, свидетельств о прохождении популяциями “горлышка бутылки”. Наоборот, в выборках из Великой Салмы и Мезенского залива было показано отклонение от мутационно-дрейфового равновесия (sign-тест; $P < 0.003$ – 0.018) и достоверный дефицит гетерозиготности (тест Вилкоксона, $P < 0.003$ – 0.009), что может свидетельствовать о недавней экспансии или притоке редких аллелей от мигрантов [26].

При этом между корюшкой Кандалакшского и Мезенского заливов выявлен значительный уровень генетической дивергенции: $\theta = 0.078$, который соответствует показателям дифференциации группировок с умеренной генетической структурой [27]. Оценки генетической дифференциации между выборками корюшки Восточной (Берингово море) и Западной (Охотское море) Камчатки, полученные на основании тех же микросателлитных локусов, составили $\theta = 0.028$, что меньше, чем различия между корюшкой в пределах Белого моря [11].

Полученные показатели дифференциации по микросателлитным локусам противоречат данным о генетической однородности азиатской корюшки в Белом и Баренцевом морях [7, 9, 10]. Отсутствие внутривидовой структурированности по маркерам мтДНК, показанные в работах [9, 10], не является основанием считать азиатскую корюшку на арктическом ареале репродуктивно единой популяцией, поскольку маркеры мтДНК малоинформативны для исследований внутривидовой структурированности и потока генов [28]. Также следует отметить, что результаты аллозимного анализа, приведенные в работе [7], свидетельствуют о наличии генетической дифференциации корюшки на исследованном ареале, несмотря на то, что авторы делают вывод о несущественности генетических различий. Так, в работе [7] обнаружены высокодостоверные различия по четырем аллозимным локусам между исследованными выборками корюшки Белого и Баренцева морей. Кроме того, была показана значительная генетическая обособленность корюшки Онежского залива Белого моря, с одной стороны, и Двинского залива и юго-восточной части Баренцева моря, с другой (попарные значения F -статистики составили 0.046 – 0.102 , достоверность оценок не приведена) [7].

Можно предполагать, что генетической обособленности и репродуктивной изоляции корюшки в заливах способствует ее приуроченность

к рекам и опресненным участкам моря и отсутствие дальних миграций [5, 29].

Полученные результаты позволяют предполагать значительную популяционно-генетическую дифференциацию корюшки Белого моря, вплоть до наличия группировок, возможно, даже подвидового статуса. Границы распространения, популяционно-генетическая структура, состав локальных популяций, причины наблюдаемой дифференциации корюшки требуют дальнейшего исследования с привлечением современных методик молекулярно-генетического анализа.

Авторы выражают благодарность за помощь в сборе материала к. б. н. О.И. Малютину (биологический факультет МГУ).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00244, а также по части анализа ДНК-маркеров: №18-016-00033 и ГЗ 0112-2019-2 (под-тема “эколого-генетическая структура вида”)). Закупка реактивов для проведения исследований произведена при поддержке Российского научного фонда (грант “Научные основы создания национального банка-депозитария живых систем” № 14-50-00029).

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Nellbring S.* The ecology of smelts (genus *Osmerus*): A literature review // *Nordic J. Freshwater Res.* 1989. V. 65. P. 116–145.
2. *Taylor E.B., Dodson J.J.* A molecular analysis of relationships and biogeography within a species complex of Holarctic fish (genus *Osmerus*) // *Mol. Ecol.* 1994. V. 3. № 3. P. 235–248.
3. *Клюканов В.А.* Происхождение, расселение и эволюция корюшковых (*Osmeridae*) // *Основы классификации и филогении лососевидных рыб.* Л.: ЗИН АН СССР, 1977. С. 13–27.
4. Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России / Под ред. Решетникова Ю.С. М.: Наука, 1998. 218 с.
5. *Кирпичников В.С.* Биолого-систематический очерк корюшки Белого моря, Чешской губы и р. Печоры // *Тр. ВНИРО.* 1935. Т. 2. С. 103–194.
6. *Алтухов К.А., Ерастова В.М.* Биологическая характеристика корюшки *Osmerus eperlanus* L. Карельского берега Белого моря // *Вопр. ихтиологии.* 1974. Т. 14. № 1. С. 83–94.
7. *Сендек Д.С., Студенов И.И., Шерстков В.С. и др.* Генетическая дифференциация корюшковых рыб рода *Osmerus* (*Osmeridae*, *Salmoniformes*) на Европейском севере России // *Лососевидные рыбы Восточной Фенноскандии.* Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2005. С. 148–157.
8. *Ковпак Н.Е., Скурихина Л.А., Кухлевский А.Д. и др.* Генетическое разнообразие и родственные взаимоотношения корюшек рода *Osmerus* российских вод // *Генетика.* 2011. Т. 47. № 8. С. 1081–1096.
9. *Скурихина Л.А., Олейник А.Г., Кухлевский А.Д. и др.* Генетическая дифференциация тихоокеанской корюшки *Osmerus mordax dentex* по данным анализа митохондриальной ДНК // *Генетика.* 2015. Т. 51. № 12. С. 1410–1422.
10. *Skurikhina L.A., Oleinik A.G., Kухlevsky A.D. et al.* Phylogeography and demographic history of the Pacific smelt *Osmerus dentex* inferred from mitochondrial DNA variation // *Polar Biol.* 2018. V. 41. № 5. P. 877–896. doi 10.1007/s00300-018-2250-4
11. *Семенова А.В., Строганов А.Н., Бугаев А.В. и др.* Анализ изменчивости микросателлитных локусов в популяциях азиатской зубастой корюшки *Osmerus dentex* Восточной и Западной Камчатки // *Генетика.* 2019. Т. 55. № 1. С. 70–80.
12. *Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P.* Micro-Checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // *Mol. Ecol. Notes.* 2004. V. 4. P. 535–538. doi 10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x
13. *Lewis P.O., Zaykin D.* Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). 2001. Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewis/home/software.html>.
14. *Rousset F.* Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux // *Mol. Ecol. Resources.* 2008. V. 8. P. 103–106.
15. *Goudet J.* FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). 2001. Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
16. *Piry S., Luikart G., Cornuet J.M.* Computer note. BOT-TLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data // *J. Heredity.* 1999. V. 90. № 4. P. 502–503.
17. *Hewitt G.M.* Some genetic consequences of ice ages and their role in divergence and speciation // *Biol. J. Linn.* 1996. V. 58. P. 247–276.
18. *Grant W.S., Bowen B.W.* Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation // *J. Hered.* 1998. V. 89. P. 415–426.
19. *Limborg M.T., Pedersen J.S., Hemmer-Hansen J. et al.* Genetic population structure of European sprat, *Sprattus sprattus*: differentiation across a steep environmental gradient in a small pelagic fish // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2009. V. 379. P. 213–224.
20. *Costello A.B., Down T.E., Pollard S.M. et al.* The influence of history and contemporary stream hydrology on the evolution of genetic diversity within species: an examination of microsatellite DNA variation in bull trout, *Salvelinus confluentus* (Pisces: Salmonidae) // *Evolution.* 2003. V. 57. № 2. P. 328–344.
21. *Laakkonen H.M., Lajus D.M., Strelkov P., Väinölä R.* Phylogeography of amphiboreal fish: tracing the history of the Pacific herring *Clupea pallasii* in North-East European seas // *BMC Evol. Biol.* 2013. V. 13. P. 67. doi 10.1186/1471-2148-13-67

22. *Semenova A.V., Stroganov A.N., Afanasiev K.I., Rubtsova G.A.* Population structure and variability of Pacific herring (*Clupea pallasii*) in the White Sea, Barents and Kara seas revealed by microsatellite DNA analyses // *Polar Biol.* 2015. V. 38. № 7. P. 951–965. doi 10.1007/s00300-015-1653-8
23. *Андрияшев А.П.* Очерк зоогеографии и происхождения фауны рыб Берингова моря и сопредельных вод. Л.: ЛГУ, 1939. 184 с.
24. *Гладенков А.Ю., Гладенков Ю.Б.* Начало формирования межокеанических связей Пацифики и Арктики через Берингов пролив в неогене // *Стратиграфия. Геологическая корреляция.* 2004. Т. 12. № 2. С. 72–89.
25. *Nei M., Maruyama T., Chakraborty R.* The bottleneck effect and genetic variability in populations // *Evolution.* 1975. V. 29. № 1. P. 1–10.
26. *Luikart G., Cornuet J.M.* Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data // *Conserv. Biol.* 1998. V. 12. № 1. P. 228–237.
27. *Животовский Л.А.* Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 253 с.
28. *Allendorf F.W.* Genetics and the conservation of natural populations: allozymes to genomes // *Mol. Ecol.* 2017. V. 26. № 2. P. 420–430. doi 10.1111/mec.13948
29. *Алтухов К.А., Михайловская А.А., Мухомедияров Ф.Б. и др.* Рыбы Белого моря. Петрозаводск: Гос. изд-во Карельск. АССР, 1958. 162 с.

Microsatellite Variability of the Arctic Rainbow Smelt *Osmerus dentex* from the White Sea

A. V. Semenova^{a,*}, A. N. Stroganov^a, E. V. Ponomareva^a, and K. I. Afanas'ev^b

^a*Lomonosov Moscow State University, Department of Ichthyology, Moscow, 119234 Russia*

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

*e-mail: anna.semenova@mail.bio.msu.ru

Genetic variability of 10 microsatellite loci of Arctic rainbow smelt in samples from the Kandalaksha and Mezen bays of the White Sea was investigated. Average estimates of expected heterozygosity at different loci ranged from 0.116 to 0.640, with an average of 0.407. Smelt from Kandalaksha Bay is characterized by lower values of genetic diversity ($H_E = 0.365–0.369$, $A_R = 3.1–3.15$) compared to the sample of Mezen Bay ($H_E = 0.486$, $A_R = 4.02$). The high significant genetic divergence between the smelt of Kandalaksha and Mezen bays, the overall estimates of genetic differentiation $\theta = 7.8\%$, with 95% confidence bootstrap interval [2.8–13.6%].

Keywords: population genetic structure, microsatellites, Arctic rainbow smelt, *Osmerus dentex*, White Sea.