

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ И ПРОИСХОЖДЕНИЯ МАЛОРОТОЙ КОРЮШКИ (*Hypomesus*, Osmeridae) – НОВОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ ФАУНЫ БАРЕНЦЕВА МОРЯ

© 2019 г. Л. А. Скурихина^{1,*}, А. Г. Олейник¹, А. Д. Кухлевский^{1,2},
А. П. Новоселов^{3,4}, Д. С. Сендек⁵

¹Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, 690041 Россия

²Дальневосточный федеральный университет, кафедра клеточной биологии и генетики, Владивосток, 690090 Россия

³Северный филиал Полярного научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии им. Н. М. Книповича, Архангельск, 163002 Россия

⁴Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика Н. П. Лаверова Российской академии наук, Архангельск, 163000 Россия

⁵Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства, Санкт-Петербург, 199053 Россия

*e-mail: skurikhina@gmail.com

Поступила в редакцию 23.12.2018 г.

После доработки 04.02.2019 г.

Принята к публикации 11.02.2019 г.

Исследованы родственные связи и происхождение популяции малоротых корюшек рода *Hypomesus*, недавно обнаруженной на значительном удалении от западной границы ареала этого рода в Баренцевом море. Проведенный анализ свидетельствует о принадлежности исследованной популяции к обыкновенной малоротой корюшке *H. olidus*, а также о ее филогенетической близости и общей демографической истории с *H. olidus* из бассейна Берингова моря. Показатели генетической дифференциации указывают на длительную изоляцию популяций, относящихся к тихоокеанскому и баренцевоморскому бассейнам. Статистические оценки исторических демографических процессов, соотнесенные с палеогеографическими данными арктических районов России, допускают вероятность выживания отдельных популяций *H. olidus* в ледовых рефугиумах Полярного Урала. *H. olidus* могла неоднократно проходить через “бычью горлышко” как в прошлом на рефугиальной стадии, так и в современное время из-за суровых условий обитания в арктическом регионе.

Ключевые слова: Osmeridae, обыкновенная малоротая корюшка, *Hypomesus olidus*, mtДНК, CoI, Суtb, арктические рефугиумы.

DOI: 10.1134/S0016675819070130

Hypomesus olidus (Pallas, 1814) обыкновенная малоротая корюшка относится к циркумполярным видам, пережившим в своем прошлом глобальные климатические изменения. Исследование таких видов может не только пролить свет на ряд аспектов их эволюции, но одновременно дать более полное представление о роли оледенений и связанных с ними изменениях гидрографического режима на обширных территориях в формировании современной генетической структуры северных морских и эстuarных видов рыб и расселении их по ареалу. В настоящее время это направление вызывает большой научный интерес [1–5 и др.]. *H. olidus*, которая представлена озерно-речной и проходной формами, широко распространена в прибрежьях северной части Тихого

океана и арктических морей, омывающих берега России и Северной Америки [6–9]. Недавно малоротые корюшки были обнаружены за пределами западной границы ареала в юго-восточной части Баренцева моря [10]. Цель данного исследования заключается в генетическом анализе выборки малоротых корюшек из Варандейской губы Баренцева моря для установления родственных связей и происхождения популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на оригинальном материале из коллекции авторов. В анализ включены как опубликованные ранее [11], так и новые результаты. Данные о географической локализации попу-

ляций, распределении по ареалу и объеме выборок приведены в табл. 1. Для более полного представления об уровне дивергенции были использованы данные по нуклеотидным последовательностям из GenBank: *H. japonicus* (FJ205564/FJ010863, FJ205565/FJ010864), *H. nipponeensis* (FJ205569/FJ010868), *Osmerus dentex* (KP257674/KP257752, KP257626/KP257704, KP257650/KP257728).

Фрагменты mtДНК амплифицировали методом полимеразной цепной реакции, используя следующие праймеры: для *Cytb* – 5'-ACC ACC GTT GTT ATT CAA CTA CAA GAA C-3', 5'-AAC CTC CGA CAT CCG GCT TAC AAG ACC G-3' [12]; для *CoI* – 5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3', 5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-3' [13]. Затем ампликоны очищали и секвенировали в прямом и обратном направлениях с использованием набора BigDye Terminator v. 3.1 (Applied Biosystems, США). Последовательности нуклеотидов определяли в автоматическом анализаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems). Первичную обработку и множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программах SeqScape v. 3 (Applied Biosystems) и Geneious v. 8.1 (www.geneious.com). Новые нуклеотидные последовательности депонированы в базу данных GenBank/NCBI под номерами доступа *CoI*: MK038781–MK038807, *Cytb*: MK038813–MK038836.

Статистический анализ объединенных последовательностей, включая расчет основных показателей разнообразия выборок, *p*-дистанций [14], числа мигрантов *Nm* между популяциями [15] проводили в программе DnaSP v. 6 [16]. Степень генетической дифференциации между парами популяций определяли на основе критерия *F_{ST}* [17, 18], методом одноуровневой и многоуровневой AMOVA [19], используя пакет программ Arlequin vers. 3.5 [20]. Существенность иерархических компонентов дисперсии и соответствующих Ф-статистик оценивали из непараметрического распределения псевдовероятностного теста [19].

Исторические демографические процессы тестировали по распределению нуклеотидных замен между всеми парами гаплотипов (*mismatch*-распределение) [21, 22] в Arlequin vers. 3.5. Соответствие между наблюдаемым частотным распределением парных различий и ожидаемым распределением при модели “взрывной” экспансии (быстрого расширения ареала) [23] определялось для каждого тестируемого набора данных из непараметрического распределения вероятностей [19]. Достоверность модели оценивалась при сравнении сумм квадратов отклонений (*SSD*) между наблюдаемым распределением и распределением, полученным для каждого итерационного набора данных. Кроме того, рассчитывался *rag-*

gedness-индекс Харпендинга (*Rag*) [24], показывающий равновесие *mismatch*-распределения на основе различий между стабильной популяцией и популяцией, увеличивающей численность. Для индекса определялась вероятность появления более высоких величин по сравнению с наблюдаемыми значениями при нулевой гипотезе демографической или пространственной экспансии *P(Rag)*. Для распределений, которые несущественно отличаются от модели (*P* > 0.05), рассчитывали параметр времени экспансии (*τ*) [25]. Значения *τ* переводили в оценки времени экспансии через уравнение *τ* = 2*ut*, где *u* – скорость мутаций на поколение, *t* – время с момента экспансии, выраженное в поколениях. В свою очередь, *u* = 2 μ *k*, где μ – скорость мутации на нуклеотид, *k* – число нуклеотидов в анализируемых гаплотипах. При расчетах использовали значение скорости нуклеотидных замен в 1% [26] и 1.77% [27] за 1 млн лет; средний возраст поколения 3.8, вычисленный ранее для корюшковых рыб [28].

Для представления филогенетических отношений между гаплотипами использовали метод медианных сетей (алгоритм MJ) [29], реализованный в пакете DnaSP v. 6. Дополнительно были построены дендрограммы – NJ и ML, с тестированием топологии при помощи бутстрэп-анализа (1000 реплик) [30]. В качестве оптимальной на основе AIC-критерия была выбрана TrN93 + G модель нуклеотидных замещений [31]. Статистический и филогенетический анализы проводили в программе MEGA7 [32]. В качестве внешней группы использовали *Osmerus dentex*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе исследовано 122 особи малоротых корюшек, в том числе 119 экз. *H. olidus* из девяти популяций (табл. 1). Общая длина нуклеотидных последовательностей mtДНК составила 1668 пн. В объединенной последовательности (1–588 пн *CoI* и 589–1668 пн *Cytb*) у малоротых корюшек рода *Hopromesus* выявлены 344 вариабельных сайта (241 информативных) и 46 гаплотипов mtДНК. Для филогруппы *H. olidus* выявлены 57 вариабельных сайтов (35 информативных) и 43 гаплотипа.

На исследованном участке mtДНК в выборке из Варандейской губы обнаружено пять гаплотипов, четыре из которых уникальные. Особенностью данной выборки является наличие двух гаплотипов (V01, V39), встречающихся с высокой частотой. Гаплотип V01 также доминирует в выборках из оз. Азабачьего (п-ов Камчатка) и р. Саранной (Командорские о-ва). На NJ-дереве (рис. 1) все выявленные в Баренцевом море гаплотипы формируют общий кластер *H. olidus* с высокой степенью поддержки (100%). При этом уровень внутривидовой дивергенции mtДНК *H. olidus* достаточно низкий

Таблица 1. Данные об исследованных выборках из популяций *Nyromesus olidus*

Популяция, выборка	Объем выборки	Место сбора	Широта/долгота	Гаплотипы и их количество (<i>n</i>) в выборках	Ссылка
1. Варандейская губа, HolVar	18	Баренцево море, юго-восточная часть	68°48' N/58°16' E	V01 (8), V39 (5), V40 (3), V41 (1), V42 (1)	Новые данные
2. Оз. Азабачье, HolAz	20	Берингово море, п-ов Камчатка, восточное побережье	56°10' N/161°47' E	V01 (12), V06 (3), V10 (2), V11 (2), V17 (1)	[11]
3. Р. Саранная, HolSar	21	Берингово море, Командорские о-ва	55°32' N/166°13' E	H1 = V01 (15), H2 = V43 (6)	[36]
4. Оз. Глухое, HolGlu	11	Охотское море, северное побережье	59°44' N/149°55' E	V02 (8), V18 (1), V19 (1), V20 (1)	[11]
5. Устье р. Амур, HolAm	5	Японское море, северо-западная часть	52°59' N/141°02' E	V14 (1), V16 (1), V36 (1), V37 (1), V38 (1)	[11], новые данные
6. Оз. Карасевое, HolKa	14	Охотское море, о-в Сахалин, северо-восточное побережье	53°01' N/143°07' E	V04a (4), V05 (3), V09 (1), V12 (2), V21 (1), V22 (1), V23 (1), V24 (1)	[11]
7. Набильский зал., HolNab	8	Охотское море, о-в Сахалин, восточное побережье	51°35' N/143°17' E	V04b (1), V05 (1), V25 (1), V26 (1), V27 (1), V28 (1), V29 (1), V30 (1)	[11]
8. Р. Погиби, HolPo	15	Японское море, о-в Сахалин, северо-западное побережье	52°13' N/141°39' E	V03 (6), V05 (1), V07 (4), V09 (1), V31 (1), V32 (1), V33 (1)	[11]
9. Р. Самарга, HolSa	7	Японское море, западное побережье, северный район Приморского края	59°44' N/149°55' E	V08 (3), V13 (2), V34 (1), V35 (1)	[11]
Общее число	119				43

Таблица 2. Основные показатели изменчивости mtДНК *Hypomesus olidus*

Популяция	<i>N</i>	<i>n</i>	Число полиморфных сайтов (<i>S</i>)	Оценка различий между гаплотипами (θ_π)	Гаплотипическое разнообразие (<i>h</i>)	Нуклеотидное разнообразие (π)
1. Баренцево море	18	5	4	1.0392 ± 0.7252	0.7320 ± 0.0732	0.0024 ± 0.0019
2. Берингово море	41	6	6	0.6829 ± 0.5311	0.5476 ± 0.0848	0.0016 ± 0.0014
3. Охотское море	53	29	44	5.8229 ± 2.8285	0.9514 ± 0.0150	0.0138 ± 0.0075
4. Японское море	7	4	6	2.7619 ± 1.6584	0.8095 ± 0.1298	0.0065 ± 0.0045
По ареалу	119	43	57	4.5347 ± 2.2461	0.9004 ± 0.0225	0.0107 ± 0.0059

N – объем выборки; *n* – число гаплотипов.

Таблица 3. Индексы генетической дифференциации объединенных выборок *Hypomesus olidus*: критерий F_{ST} [17, 18], поток мигрантов Nm [15], среднее число нуклеотидных различий на сайт между группами [14]

Пара сравнения	F_{ST}	Nm	$D_{xy} \pm SE$
Баренцево–Берингово	0.2277***	1.90	0.0007 ± 0.0002
Баренцево–Охотское	0.3433***	0.68	0.0036 ± 0.0004
Баренцево–Японское	0.7320***	0.24	0.0035 ± 0.0009
Берингово–Охотское	0.3932***	0.67	0.0034 ± 0.0005
Берингово–Японское	0.8040***	0.23	0.0033 ± 0.0009
Охотское–Японское	0.1719**	1.60	0.0034 ± 0.0005

Уровни значимости различий между выборками: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

($D_{xy} = 0.0001 \pm 0.0001$ – 0.0024 ± 0.0010). В то же время выборка из Варандейской губы показывает одинаковые оценки дивергенции с другими выборками *H. olidus* относительно маркерных препаратов *H. japonicus* ($D_{xy} = 0.1331 \pm 0.0076$), *H. nipponensis* ($D_{xy} = 0.1277 \pm 0.0071$) и внешней группы *O. dentex* ($D_{xy} = 0.1323 \pm 0.0080$). Полученные оценки соответствуют уровням внутри- и межвидовой изменчивости корюшковых рыб [33, 34].

Для *H. olidus*, как и для других корюшковых рыб [34, 35], характерны высокие показатели молекулярного разнообразия mtДНК. Средние значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия *H. olidus* на исследованном ареале оказались равны 0.9004 ± 0.0225 и 0.0107 ± 0.0059 соответственно. Оценки гаплотипического разнообразия в выборке из Варандейской губы ($h = 0.7320 \pm 0.0732$) несколько ниже средних по ареалу, показатели нуклеотидного разнообразия достоверно ниже ($\pi = 0.0024 \pm 0.0019$). Анализ объединенных выборок *H. olidus* свидетельствует, что показатели нуклеотидного разнообразия выборок Охотского и Японского морей на порядок выше, чем соответствующие значения для выборок Баренцева и Берингова морей (табл. 2).

Оценка подразделенности полиморфизма mtДНК с помощью критерия F_{ST} подтвердила дифференциацию между выборками *H. olidus*. Минимальные существенные различия наблюда-

ются между выборками *H. olidus* из Варандейской губы и оз. Азабачьего ($0.1966, P < 0.01$). Попарные F_{ST} -оценки статистически значимы ($P < 0.01$), за исключением нескольких пар сравнений выборок из бассейна Охотского моря, в которых отсутствие гетерогенности, вероятно, определяется ошибкой выборочности. Для объединенных выборок, представляющих бассейны морей, все попарные F_{ST} -оценки статистически значимы ($P < 0.01$) (табл. 3). Тем не менее значения параметров F_{ST} и Nm подтверждают прекращение современных генетических потоков между выборками географических регионов (табл. 3).

Согласно AMOVA [19], для тестируемых выборок *H. olidus* характерны не только высокое генетическое разнообразие внутри популяций (57% дисперсии, $P < 0.001$), но и высокая структурированность между популяциями (43%) (вариант I, табл. 4). В то же время объединение выборок по принадлежности к бассейнам морей существенно не изменило распределения компонентов дисперсии (вариант II, табл. 4). Разложение молекулярной изменчивости mtДНК на три иерархических уровня, согласно принадлежности к географическим регионам, подтвердило выявленные характерные особенности распределения: 1) высокая внутрипопуляционная доля дисперсии (51%) и высокое разнообразие (38%) между группами (вариант III, табл. 4). Все компоненты дисперсии статистически высоко существенны ($P < 0.001$), что

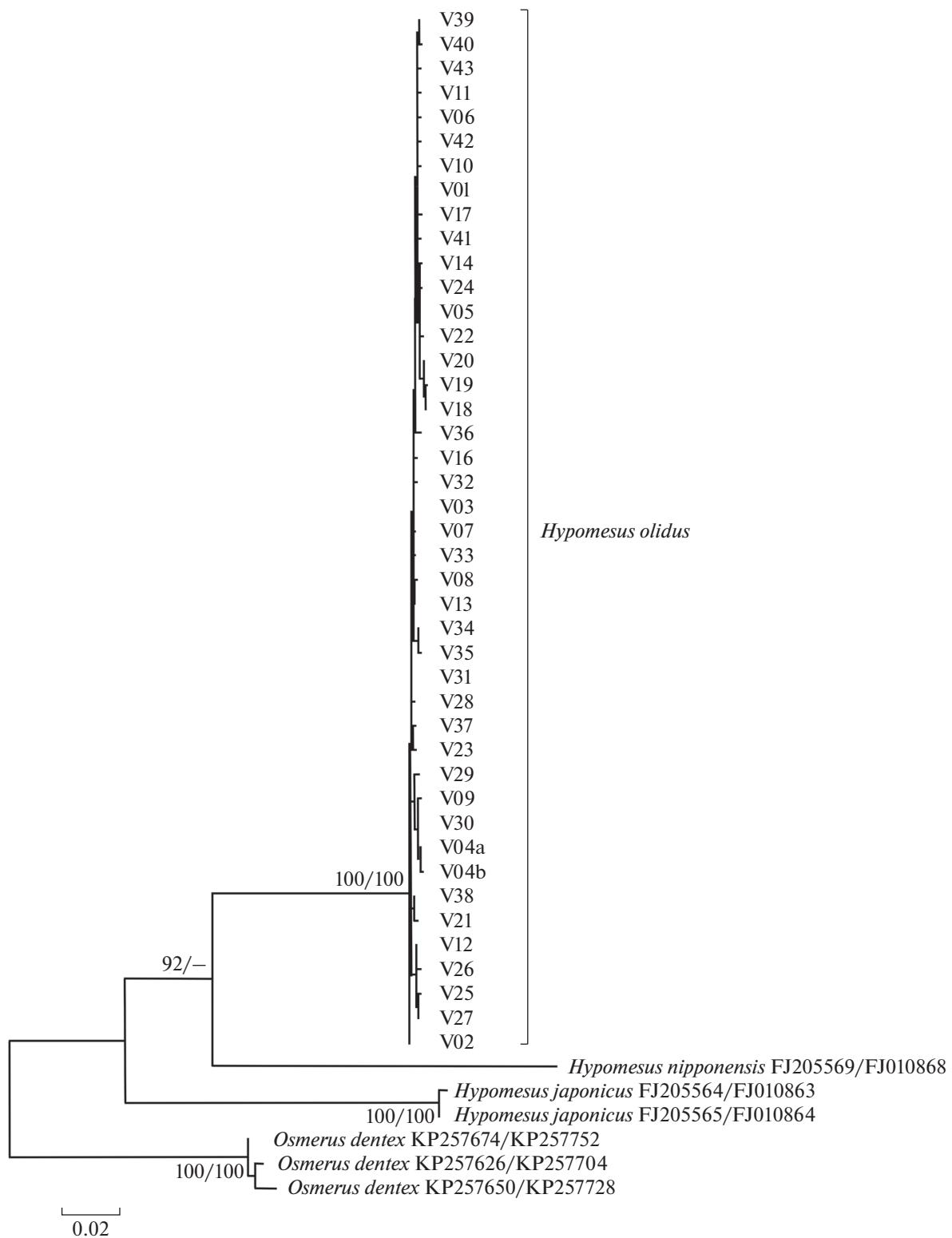


Рис. 1. Филогенетические отношения (ML-дерево) гаплотипов комбинированных нуклеотидных последовательностей генов *CoI* и *Cytb* мтДНК корюшковых рыб рода *Hypomesus*. Цифры в узлах соответствуют значениям бутстрэп-поддержки (BS > 80%) для ML- и NJ-деревьев соответственно. Внешняя группа – *Osmerus dentex*.

Таблица 4. Иерархический анализ межпопуляционных и внутрипопуляционных гаплотипических различий *Hypomesus olidus* на основе комбинированных нуклеотидных последовательностей генов *CoI* и *Cytb* mtДНК

Уровень разнообразия	<i>d.f.</i>	Дисперсия, %	<i>P</i>
Вариант I (популяции)			
Между популяциями	8	43.22	<0.001
Внутри популяций	110	56.78	
Вариант II (объединенные выборки: Баренцево, Берингово, Охотское, Японское моря)			
Между группами	3	39.44	<0.001
Внутри групп	115	60.56	
Вариант III (объединенные выборки: Баренцево, Берингово, Охотское, Японское моря)			
Между группами	3	38.21	<0.002
Между популяциями внутри групп	7	11.14	<0.001
Внутри популяций	133	50.66	<0.001

свидетельствует о наличии у *H. olidus* географической структурированности.

Реконструированная генеалогия гаплотипов объединенных нуклеотидных последовательностей генов *CoI* и *Cytb* *H. olidus* имеет радиальную структуру с тремя филогруппами (рис. 2). Особенностями MJ-сети *H. olidus* являются небольшая протяженность, которая определяется низким нуклеотидным разнообразием выборок, и наличие нескольких центров радиации гаплотипов. Такая генеалогия соответствует опубликованным ранее результатам [11, 36]. Внутреннее положение занимает филогруппа с центральным гаплотипом V03, объединяющая восемь гаплотипов, обнаруженных в выборках пролива Невельского и Японского моря. Обращает внимание, что все гаплотипы малоротых корюшек из Баренцева и Берингова морей формируют самостоятельный центр радиации. Внутренним гаплотипом этой филогруппы является V01, доминирующий в трех популяциях (оз. Азабачье, р. Саранная, Варандейская губа) и не встречающийся в выборках из Охотского и Японского морей. Гаплотип V01 также связан с гаплотипами из выборок северной части о. Сахалин и устья р. Амур. Гаплотипы, обнаруженные в выборках из Охотского моря, входят в разные структуры MJ-сети, генеалогические расстояния между которыми оказываются очень большими.

Распределения попарных различий [21] между 43 гаплотипами mtДНК, выявленных в суммарной выборке *H. olidus*, статистически существенно отклоняются от унимодального распределения (рис. 3). Присутствие нескольких пиков, разделенных значительными разрывами, указывает на высокую генетическую гетерогенность географ-

ических выборок. Подобного рода кривые распределения наблюдаются и для выборок малоротых корюшек Охотского и Японского морей (не показаны на рисунке). В то же время *mismatch*-распределения для объединенных выборок бассейна Баренцева и Берингова морей близки к унимодальному (рис. 3) и соответствуют модели исторической “взрывной” демографической экспансии или пространственной экспансии с высоким уровнем миграции между соседними популяциями ($P(Rag) > 0.05$; $P(SSD) > 0.05$) (табл. 5). Наличие основных пиков в области минимальных различий между сайтами свидетельствует об историческом уменьшении эффективной численности предковых популяций и/или эффекте основателя.

Обращает на себя внимание совпадение величин τ у двух пар объединенных выборок, дающих приблизительную оценку времени начала предполагаемой экспансии (табл. 5). При этом самые высокие значения τ наблюдаются у *H. olidus* из Охотского и Японского морей, а самые низкие – из Баренцева и Берингова морей. В пересчете на временные характеристики это означает, что наиболее ранняя экспансия *H. olidus* имела место в историческом прошлом в южных регионах, в то время как филогеографические группы *H. olidus* северных участков ареала вида пережили период, соответствующий его расширению, позднее. Временные границы демографических процессов *H. olidus* для Баренцева и Берингова морей, полученные при использовании разных констант в уравнении трансформации показателей τ при оценке времени экспансии, отличаются, но не выходят за границы позднего плейстоцена (табл. 5). В соответствии с принятыми допущениями демо-

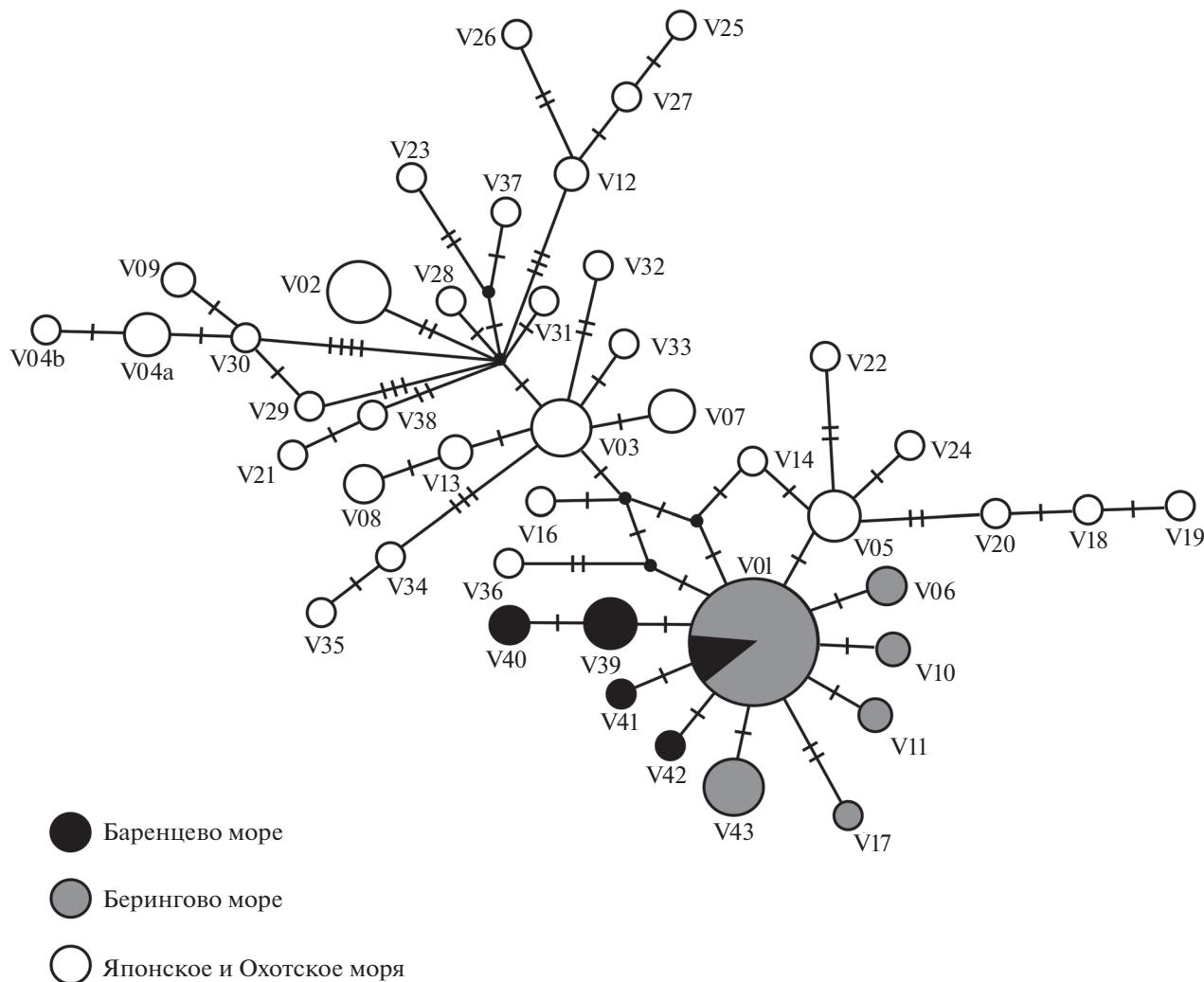


Рис. 2. Генеалогическая сеть (MJ-анализ) гаплотипов комбинированных нуклеотидных последовательностей генов *CoI* и *Cytb* мтДНК *Hypomesus olidus*. На ветвях штрихами указано число нуклеотидных замен; размер окружностей пропорционален абсолютным частотам гаплотипов. Все мутации имеют равный вес, интервал поиска медианных векторов (черные кружки в узлах) ε равен нулю. Обозначение гаплотипов приведено согласно первому описанию [11, 36].

графическая экспансия для Баренцева и Берингова морей датируется одним временем 34000 (95%-ный доверительный интервал: 14000–85000) – 59370 (24000–148000) лет назад и, согласно нашим данным, предшествует пространственной экспансии.

Сравнительные характеристики основных показателей генетической изменчивости малоротых корюшек, включающих выборку из Баренцева моря, подтверждают ее несомненную принадлежность к виду *H. olidus*. Результаты генеалогического анализа сопряженного географического распространения и *mismatch*-распределения гаплотипов мтДНК указывают на филогенетическую близость и общую демографическую историю обыкновенной малоротой корюшки Баренцева и Берингова морей (рис. 2, 3). Высокое генетическое сходство между выборками *H. olidus* наблю-

дается на фоне значительной географической удаленности популяций.

Следует отметить, что для *H. olidus* в последнее время границы распространения были откорректированы [9, 37]. При этом западную границу видового ареала по-прежнему определяло оз. Круглое (бассейн р. Кара, Байдарацкая губа Карского моря) [8, 38, 39]. Относительно недавно в бассейне р. Байдарата были обнаружены новые популяции *H. olidus* [40–42], а в 2016 г. на значительном удалении от западной границы – в районе выхода протоки оз. Песчанка-То в Баренцево море и непосредственно в акватории Ваандейской губы юго-восточной части Баренцева моря [10]. Логично, что сразу возник вопрос о происхождении популяций в этой части ареала.

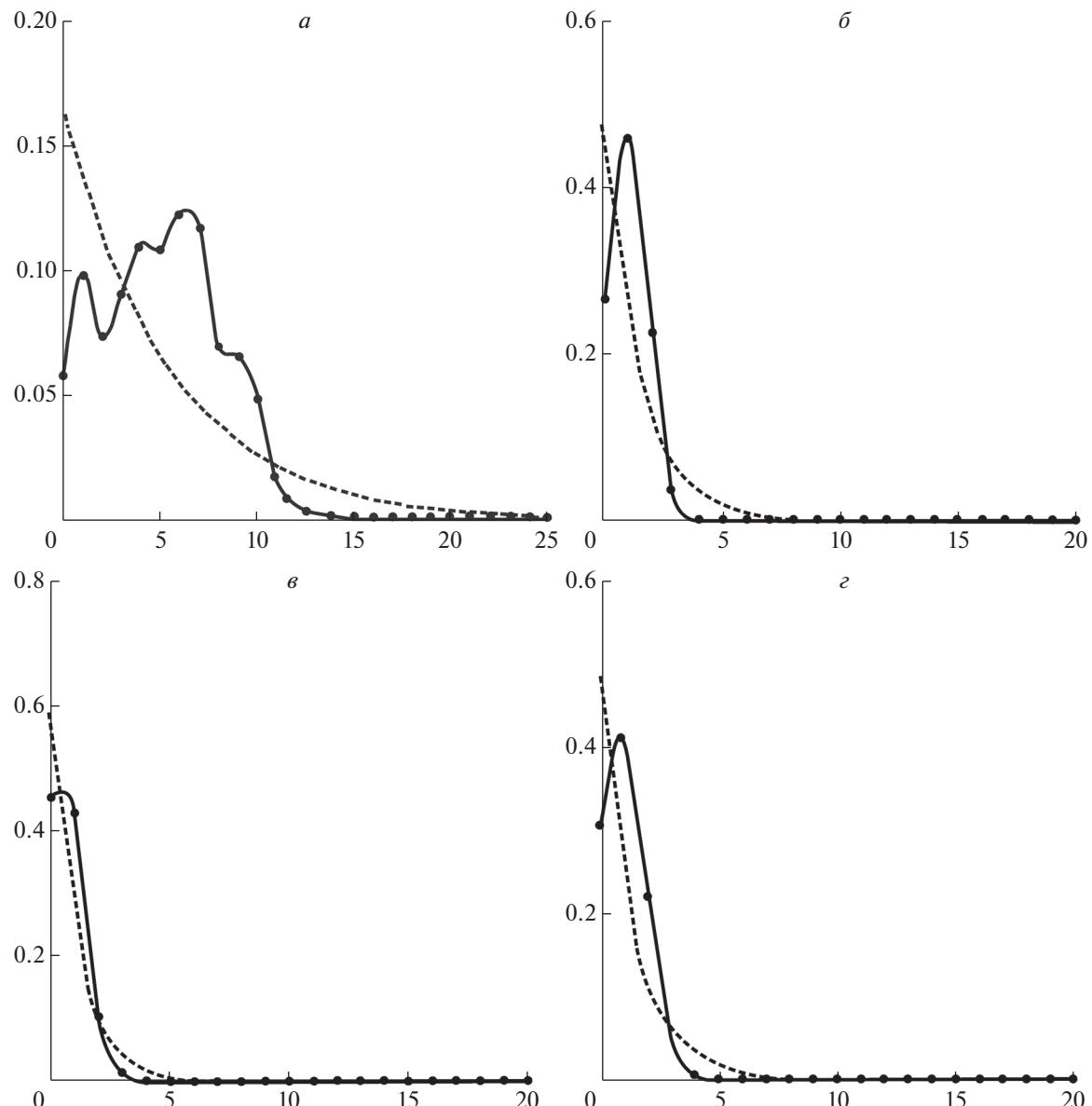


Рис. 3. Распределение числа нуклеотидных замен между гаплотипами комбинированных нуклеотидных последовательностей генов *CoI* и *Cytb* mtДНК *Hypomesus olidus* в выборках: суммарно по ареалу (*а*), Баренцева моря (*б*), Берингова моря (*в*), в объединенной выборке из Баренцева и Берингова морей (*г*). По оси абсцисс – число попарных различий. Сплошная линия – наблюдаемая частота [21–23].

Изучению вклада арктических рефугиумов в сохранение и последующее расселение видов в настоящее время придается все большее значение [4, 43], в том числе и в отношении корюшковых рыб [44]. По мнению ряда ихтиологов [38, 39, 45, 46], во время последнего ледникового периода, 15–22 тыс. лет назад [47], обыкновенная малоротая корюшка могла выжить не только в Берингийском рефугиуме, но и в небольших рефугиумах Полярного Урала. Согласно гипотезе [48], опирающейся на анализ литературных источников, *H. olidus* относится к видам, обладающим способ-

ностью к высокой скорости расселения. Тем не менее существенным препятствием, затрудняющим объяснение постледникового распространения *H. olidus* вдоль арктического побережья, является наличие на ее ареале двух протяженных разрывов: около 3000 км на североазиатской части ареала от р. Алазея до водоемов Полярного Урала [39] и 1100 км на североамериканской части [49].

Генетико-статистическая оценка демографических процессов *H. olidus* соответствует модели демографической экспансии и пространственной

Таблица 5. Параметры *mismatch*-распределения для объединенных выборок *Hypomesus olidus*

Группа	Тестирование модели демографической экспансии [23]							
	τ	θ_0	θ_1	t_1	t_2	$P(SSD)$	<i>Rag</i>	$P(Rag)$
1. Баренцево море	1.0	0	3407	59370	34000	0.2235	0.1313	0.2147
2. Берингово море	1.0	0	3407	59370	34000	0.4177	0.1138	0.3855
3. Охотское море	6.6	0.16	25.84	391880	224000	0.5210	0.0139	0.4625
4. Японское море	6.4	0	4.36	380000	217100	0.2659	0.1904	0.4948
Общее по ареалу	6.6	0.02	12.56	391870	224000	0.9355	0.0069	0.9593
Группа	Тестирование модели пространственной экспансии [22]							
	τ	θ_0	M	t_1	t_2	$P(SSD)$	<i>Rag</i>	$P(Rag)$
1. Баренцево море	0.7	0.71	5099	41560	23750	0.07165	0.1312	0.25076
2. Берингово море	0.7	0.01	3655	53440	30540	0.09218	0.1138	0.3855
3. Охотское море	5.0	1.38	18	296880	169640	0.68324	0.01398	0.79776
4. Японское море	4.4	2.15	1	261250	149300	0.19971	0.19048	0.69424
Общее по ареалу	3.5	2.75	11	207800	118750	0.64547	0.00689	0.98100

Примечание. τ – возраст экспансии; θ_0 , θ_1 – мутационные параметры на начальном и конечном этапах роста численности популяции; $P(SSD)$ – вероятность максимального отклонения между наблюдаемым и ожидаемым *mismatch*-распределением при нулевой гипотезе, постулирующей экспансию; *Rag* – значение индекса Харпендинга [24]; $P(Rag)$ – вероятность появления более высоких величин индекса Харпендинга по сравнению с наблюдаемыми значениями при нулевой гипотезе демографической или пространственной экспансии; M – число мигрантов; t_1 – время экспансии при скорости нуклеотидных замен 1% за 1 млн лет; t_2 – время экспансии при скорости нуклеотидных замен 1.77% за 1 млн лет.

экспансии из Берингова в Баренцево море (табл. 5). Временные границы расширения ареала имеют большой доверительный интервал, но превышают датировки окончательного открытия Берингова пролива (около 11000 лет назад) [50]. Большая статистическая ошибка обычна для подобного рода оценок, что связано со стохастичностью генетических процессов. В целом проведенный нами анализ и сопоставление полученных результатов с палеогеологическими данными не отвергают возможности выживания обыкновенной малоротой корюшки во время последнего ледникового периода в рефугиумах Полярного Урала. Пока на территории от Байдарацкой губы Карского моря до р. Алазея не обнаружены популяции *H. olidus*, огромный разрыв в современном ареале вида также служит фактическим подтверждением переживания малоротой корюшкой неблагоприятных условий существования в приледниковых убежищах на стыке Азии и Европой.

Палеогеографические данные свидетельствуют о том, что предпоследний ледовый покров прибрежных территорий Евразии полностью растаял 60–45/41 тыс. лет назад [47, 51]. Затем наступил теплый межстадиал, во время которого *H. olidus* могла широко расселиться вдоль арктических побережий. Последнее оледенение начало зарождаться в Скандинавии около 30 тыс. лет назад и на территории России достигло своего максимума 21 тыс. лет назад. К этому времени произошло слияние Скандинавского ледового покрова с Ба-

ренцевоморско-Карским, восточное крыло которого достигло Таймыра. Следствием этих процессов стало разделение западных и восточных популяций корюшек. Однако юго-восточную часть Баренцева моря и юго-западную часть Карского моря ледники не закрыли, и район оказался изолированным от сибирских морей. Полярный Урал этими ледниками также не был захвачен. Последние исследования [52] показали, что после 50–60 тыс. лет назад сплошного покровного оледенения на Урале не было, а основные речные долины и озера были свободными ото льда начиная с 45–40 тыс. лет назад. В совокупности эти данные подтверждают существование морских и пресноводных полярных рефугиумов в обсуждаемом регионе во время последнего максимального оледенения.

Таким образом, сравнительный анализ малоротых корюшек на основе данных об изменчивости нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов свидетельствует о том, что экземпляры корюшек, выловленные в Варандейской губе Баренцева моря, относятся к *H. olidus*. Результаты генеалогического анализа гаплотипов mtДНК подтверждают филогенетическую близость малоротых корюшек Баренцева и Берингова морей. Тем не менее практическое отсутствие современных генных потоков и результаты AMOVA указывают на длительную изоляцию удаленных географических популяций *H. olidus*. Форма *mismatch*-распределения и пониженный уровень разнообразия

мтДНК малоротых корюшек Баренцева и Берингова морей, по сравнению с южными популяциями, могут быть связаны как с историческими, так и с современными суровыми климатическими условиями существования в северной части ареала вида. Популяции *H. olidus* могли неоднократно проходить через “бытическое горлышко” как в прошлом на рефугиальной стадии, так и в современное время из-за сложных условий обитания в Заполярье. Статистические оценки исторических демографических процессов у *H. olidus* также допускают вероятность выживания отдельных популяций в ледовых рефугиумах Полярного Урала, наличие которых подтверждается палеогеографическими исследованиями.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы “Дальний Восток” 2018–2020 (проект № 18-4-042) и программы Минобрнауки (проект № АААА-А19-119011500368-9).

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weider L.J., Hobæk A. Phylogeography and Arctic biodiversity: a review // Ann. Zool. Fennici. 2000. V. 37. P. 217–231.
2. Hewitt G.M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. 2004. V. 359. P. 183–195. doi 10.1098/rstb.2003.1388
3. Mecklenburg C.W., Møller P.R., Steinke D. Biodiversity of arctic marine fishes: taxonomy and zoogeography // Mar. Biodiv. 2011. V. 41. P. 109–140. doi 10.1007/s12526-010-0070-z
4. Hardy S.M., Carr C.M., Hardman M. et al. Biodiversity and phylogeography of Arctic marine fauna: insights from molecular tools // Mar. Biodiv. 2011. V. 41. P. 195–210. doi 10.1007/s12526-010-0056-x
5. Layton K.K.S., Corstorphine E.A., Hebert P.D.N. Exploring Canadian echinoderm diversity through DNA barcodes // PLoS One. 2016. V. 11. № 11. e0166118. doi 10.1371/journal.pone.0166118
6. Клюканов В.А. Происхождение, расселение и эволюция корюшковых (Osmeridae) // Основы классификации и филогении лососевидных рыб. Л.: Изд-во Зоол. ин-та АН СССР, 1977. С. 13–27.
7. Lee D.S., Gilbert C.R., Hocutt C.H. et al. Atlas of North American Freshwater Fishes. North Carolina Biological Survey: Raleigh, NC, 1980. 868 p.
8. Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2002. 496 с.
9. Sawatzky C.D., Michalak D., Reist J.D. et al. Distributions of Freshwater and Anadromous Fishes from the Mainland Northwest Territories, Canada. Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquat Sci. 2793, 2007. 239 p.
10. Новоселов А.П., Кондаков А.В., Гофаров М.Ю., Болотов И.Н. Обыкновенная малоротая корюшка *Nypomesus olidus* (Osmeridae) – новый вид для фауны Баренцева моря // Вопр. ихтиологии. 2019. Т. 59. № 1. С. 25–30. doi 10.1134/S0042875219010090
11. Скурихина Л.А., Кухлевский А.Д., Железнова К.О., Ковалев М.Ю. Анализ изменчивости митохондриальной ДНК обыкновенной малоротой корюшки *Nypomesus olidus* (Osmeridae) // Генетика. 2012. Т. 48. № 7. С. 844–854.
12. Sevilla R.G., Diez A., Noren M. et al. Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome *b* and nuclear rhodopsin genes // Mol. Ecol. Not. 2007. V. 7. Iss. 5. P. 730–734.
13. Ward R.D., Zemlak T.S., Innes B.H. et al. DNA barcoding Australia’s fish species // Philosoph. Trans Royal Soc. B. Biological Sci. 2005. V. 360. № 1462. P. 1847–1857.
14. Nei M., Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics. N.Y.: Oxford Univ. Press, 2000. 333 p.
15. Hudson R.R., Slatkin M., Maddison W.P. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data // Genetics. 1992. V. 132. № 2. P. 583–589.
16. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C. et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets // Mol. Biol. Evol. 2017. V. 34. P. 3299–3302.
17. Cockerham C.C. Analysis of gene frequencies // Genetics. 1973. V. 74. P. 679–700.
18. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating *F* statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. P. 1358–1370.
19. Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. V. 131. P. 479–491.
20. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Res. 2010. V. 10. P. 564–567.
21. Rogers A.R., Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences // Mol. Biol. Evol. 1992. V. 9. P. 552–569.
22. Excoffier L. Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion: lessons from the infinite-island model // Mol. Ecol. 2004. V. 13. P. 853–864.
23. Rogers A. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion // Evolution. 1995. V. 49. P. 608–615.
24. Harpending R.C. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution // Hum. Biol. 1994. V. 66. № 4. P. 591–600.
25. Schneider S., Excoffier L. Estimation of demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: Application to human mitochondrial DNA // Genetics. 1999. V. 152. P. 1079–1089.

26. *Smith G.R.* Introgression in fishes: significance for paleontology, cladistics, and evolutionary rates // *Syst. Biol.* 1992. V. 41. P. 41–57.
27. *Ilves K.L., Taylor E.B.* Evolutionary and biogeographical patterns within the smelt genus *Hypomesus* in the North Pacific Ocean // *J. Biogeogr.* 2008. V. 35. № 1. P. 48–64. doi 10.1111/j.1365-2699.2007.01782.x
28. *Dodson J.J., Tremblay S., Colombani F. et al.* Trans-Arctic dispersals and the evolution of a circumpolar marine fish species complex, the capelin (*Mallotus villosus*) // *Mol. Ecol.* 2007. V. 16. Iss. 23. P. 5030–5043. doi 10.1111/j.1365-294X.2007.03559.x
29. *Bandelt H.-J., Foster P., Rohl A.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.
30. *Felsenstein J.* Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap // *Evolution*. 1985. V. 39. P. 783–791.
31. *Tamura K., Nei M.* Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // *Mol. Biol. Evol.* 1993. V. 10. P. 512–526.
32. *Kumar S., Stecher G., Tamura K.* MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol. Biol. Evol.* 2016. V. 33. P. 1870–1874. doi 10.1093/molbev/msw054
33. *Skurikhina L.A., Kukhlevsky A.D., Kovpak N.E.* Relationships of osmerid fishes (Osmeridae) of Russia: divergence of nucleotide sequences of mitochondrial and nuclear genes // *Genes Genom.* 2013. V. 35. P. 529–539. doi 10.1007/s13258-013-0099-z
34. *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.
35. *Скурихина Л.А., Олейник А.Г., Kovpak Н.Е.* Изменчивость митохондриальной ДНК тихоокеанской мойвы (*Mallotus villosus catervarius*) Охотского моря по данным PCR-RFLP-анализа // Генетика. 2008. Т. 44. № 7. С. 929–937.
36. *Мельникова М.Н., Сенчукова А.Л., Павлов С.Д., Малютина А.М.* Новые данные о вариабельности mtДНК обыкновенной малоротой корюшки *Hypomesus olidus* (Osmeridae) с Командорских островов в сравнении с другими популяциями вида // Изв. РАН. Сер. Биол. 2018. № 1. С. 16–21. doi 10.1134/S1062359018010089
37. *Черешнев И.А., Шестаков А.В., Фролов С.В.* К систематике малоротых корюшек рода *Hypomesus* (Osmeridae) залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2001. Т. 27. № 5. С. 340–346.
38. *Иванова Е.И.* О нахождении малоротой корюшки на Европейском Севере // Тр. Всесоюз. гидробиол. об-ва. 1952. № 4. С. 252–259.
39. *Клюканов В.А.* Систематика и родственные отношения корюшек родов *Osmerus* и *Hypomesus* (Osmeridae) и их расселение // Зоол. журн. 1975. Т. 54. № 4. С. 590–595.
40. *Богданов В.Д., Богданова Е.Н., Гаврилов А.Л. и др.* Биоресурсы водных экосистем Полярного Урала. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 168 с.
41. *Мельниченко И.П., Богданов В.Д.* Ихтиофауна малых рек приуральского берега Байдарацкой губы // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хозяйство. 2016. № 1. С. 30–35.
42. *Богданов В.Д., Мельниченко И.П., Кижеватов Я.А., Богданова Е.Н.* Структура населения рыб бассейна р. Байдаратаихи // Вестник АГТУ. Сер. Рыбное хоз-во. 2017. № 2. С. 33–44.
43. *Stewart J.R., Lister A.M., Barnes I., Dalén L.* Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time // Proc. R. Soc. B. 2010. V. 277. P. 661–671. doi 10.1098/rspb.2009.1272
44. *Skurikhina L.A., Oleinik A.G., Kukhlevsky A.D. et al.* Phylogeography and demographic history of the Pacific smelt *Osmerus dentex* inferred from mitochondrial DNA variation // Pol. Biol. 2018. V. 41. P. 877–896. doi 10.1007/s00300-018-2250-4
45. *McPhail J.D., Lindsey C.C.* Freshwater fishes of Northwestern Canada and Alaska // Fish. Res. Board Canada Bull. 1970. V. 173. 381 p.
46. *Кудерский Л.А.* Пути формирования северных элементов ихтиофауны севера европейской территории СССР // Труды ГосНИОРХ. 1987. Вып. 258. С. 102–121.
47. *Svendsen J.I., Alexanderson H., Astakhov V.I. et al.* Late Quaternary ice sheet history of northern Eurasia // Quat. Sci. Rev. 2004. V. 23. P. 1229–1271. doi 10.1016/j.quascirev.2003.12.008
48. *Махров А.А., Лайус Д.Л.* Последниковое вселение рыб и миноги из Тихого океана в моря севера Европы // Сиб. экол. журн. 2018. Т. 11. № 3. С. 265–279. doi 10.1134/S1995425518030071
49. *Degraaf D.A.* Aspects of the life history of the pond smelt (*Hypomesus olidus*) in the Yukon and Northwest Territories // Arctic. 1986. V. 39. № 3. P. 260–263.
50. *Jakobsson M., Pearce C., Cronin T.M. et al.* Post-glacial flooding of the Bering Land Bridge dated to 11 cal ka BP based on new geophysical and sediment records // Clim. Past. 2017. V. 13. P. 991–1005. doi 10.5194/cp-13-991-2017
51. *Hughes A.L.C., Gyllencreutz R., Lohne Ø.S. et al.* The last Eurasian ice sheets – a chronological database and time-slice reconstruction, DATED-1 // Boreas. 2016. V. 45. P. 1–45. doi 10.1111/bor.12142
52. *Svendsen J.I., Faærseth L.M.B., Gyllencreutz R. et al.* Glacial and environmental changes over the last 60 000 years in the Polar Ural Mountains, Arctic Russia, inferred from a high-resolution lake record and other observations from adjacent areas // Boreas. 2018. doi 10.1111/bor.12356

Molecular Genetic Analysis of the Relationships and Origin of Smelt (*Hypomesus*, Osmeridae), a New Component of the Fauna of the Barents Sea

L. A. Skurikhina^{a,*}, A. G. Oleinik^a, A. D. Kukhlevsky^{a,b}, A. P. Novoselov^{c,d}, and D. S. Sendek^e

^aZhirmunsky Institute of Marine Biology, National Scientific Center of Marine Biology,
Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041 Russia

^bFar East Federal University, Vladivostok, 690600 Russia

^cKnipovich Polar Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography Polar Research,
Northern Branch, Arkhangelsk, 163002 Russia

^dFederal Center for Integrated Arctic Research, Arkhangelsk, 163000 Russia

^eState Research Institute of Lake and River Fisheries, St. Petersburg, 199053 Russia

*e-mail: skurikhina@gmail.com

This study examines the relationships and origin of a population of smelt (genus *Hypomesus*) that was recently found in the Barents Sea at a significant distance from the western boundary of its geographic range. Genetic analysis clearly identified this species as being the pond smelt *H. olidus*, showed its phylogenetic closeness and shared demographic history with *H. olidus* from the basin Bering Sea. Genetic differentiation indices suggest long isolation of populations belonging to the Pacific and Barents Sea basins. The statistical estimates of historical demographic events, coupled with the paleographic data for the Arctic areas of Russia, show that certain populations of *H. olidus* might have survived in ice refugia of the Polar Ural region. *H. olidus* might have passed repeatedly through a bottleneck in past glacial refugia, as well as in the recent time because of the harsh Arctic conditions.

Keywords: Osmeridae, pond smelt, *Hypomesus olidus*, mitochondrial DNA, mtDNA, *CoI*, *Cytb*, Arctic refugia.