

СОХРАНЕНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ КАМЧАТКИ И ПРИЛЕГАЮЩИХ МОРЕЙ

Материалы IV научной конференции.
Петропавловск-Камчатский, 17-18 ноября 2003 г.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ В ГРУППЕ ГОЛЬЦОВ КРОНОЦКОГО ОЗЕРА (П-ОВ КАМЧАТКА)

Genetic divergence in chars of Kronotskoye Lake (Kamchatka Peninsula)

Е.А.Салменкова*, В.Т.Омельченко**, О.А.Радченко***, Н.С.Романов**, Г.А.Рубцова*

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

**Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток

***Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан

В бассейне Кроноцкого озера обитают 5 форм (видов) гольцов рода *Salvelinus* (Викторовский, 1978). Помимо кунджи и мальмы, обнаруженных только в вытекающей из озера реки Кроноцкая, Викторовский впервые описал три формы озерных гольцов - длинноголового (ДГ), носатого (НГ) и белого (БГ). ДГ - экологически и кариологически наиболее обособленная и специализированная форма, была описана как самостоятельный вид *S. kronocius*, эндемик озера. Носатый голец, по предположению Викторовского, - это подвид мальмы, обозначенный им как *S. malma schmidtii*, хотя Черешневым и др. (2002) он рассматривается как самостоятельный эндемичный вид. По мнению Викторовского, БГ - это одна из форм или локальных популяций мальмы; Глубоковский (1995) же идентифицировал эту форму с белым гольцом, описанным им ранее из реки Камчатка. Исследовав особенности морфологии, остеологии, кариологии и экологии трех эндемичных кроноцких гольцов, Викторовский предложил схему их эволюционных взаимоотношений, предполагая, что происхождение этих симпатричных ныне форм связано с тремя последовательными вселениями в озеро. ДГ, наиболее отличный от других сравниваемых форм и обладающий рядом предковых признаков, очевидно, был самым древним вселенцем, который ранее других отделился от филетической линии мальмы. Последующими вселенцами, вероятно, стали НГ, а затем БГ. Каждая из трех форм характеризуется своей специфической системой адаптаций к бедному видами биоценозу озера; адаптации поддерживаются за счет выработки определенных механизмов репродуктивной изоляции, препятствующих смешению форм (Викторовский, 1978).

Задача настоящей работы - исследовать с помощью анализа белковых маркеров генов и сегментов митохондриальной ДНК (мтДНК) степень генетической изменчивости и дивергенции трех озерных форм гольцов и мальмы бассейна Кроноцкого озера.

Выборки гольцов, собранные в бассейне Кроноцкого озера в 2003 г., были использованы для электрофоретического анализа полиморфизма белков тканей мышц и печени, и для анализа рестрикционного полиморфизма двух ПЦР-амплифицированных участков мтДНК. Один из участков - сегмент ATPase6/ND4L длиной 2162 пн, включающий 6 генов (рестрикция с помощью эндонуклеаз HaeIII, MspI, HhaI, MvaI), другой - ген цитохрома b длиной 375 пн (рестрикция с помощью эндонуклеаз HaeIII, HinfI, MspI, RsaI).

Исследованы 20 ферментных систем, кодируемых как минимум 33 генетическими локусами, и спектры водорастворимых мышечных белков (миогены). В совокупности всех выборок изменчивыми оказались 10 ферментных локусов: *ADH*, *sIDHP-1,2*, *G3PDH-1*, *FDHG*, *GPI-3*, *MEP-2*, *PEPB*, *PGDH*, *sSOD-2*. Статистически значимое соответствие генотипических распределений равновесию Харди-Вайнберга наблюдалось по большинству локусов, за исключением локуса *PEPB* в выборке НГ и локуса *PGDH* в выборке БГ. У мальмы обнаружен максимальный уровень генетического полиморфизма среди других форм гольцов, почти столь же полиморфным оказался и НГ, тогда как соответствующие величины у БГ и ДГ заметно меньше (табл. 1).

Для всех выборок характерно превышение величины ожидаемой средней на locus гетерозиготности над фактически найденной, что обусловлено дефицитом гетерозигот в основном по наиболее полиморфным локусам *GPI-3*, *PEPB*, *sSOD-2*.

Среди 4 исследованных выборок гольцов найдена высоко достоверная гетерогенность по аллельным частотам локусов *sIDHP-1,2*, *FDHG*, *GPI-3*, *PEPB*, *sSOD-2* (псевдовероятностный тест хи-квадрат на однородность, Zaykin, Pudovkin, 1993). Это свидетельствует о наличии генетических различий между отдельными формами кроноцких гольцов, что в условиях их симпатрического обитания возможно только при существенном ограничении обмена генами, т.е. достаточно выраженной (хотя и не абсолютной) репродуктивной изоляции между формами. Последнее подтверждается также тем, что в совокупной выборке обнаружены проявления значительного эффекта Валунда (дефицит гетерозигот) и высоко достоверного неравновесия по сцеплению в парах ряда локусов. Межвыборочное генетическое разнообразие, оцененное величиной *Fst*, равно 0,113, что сопоставимо с разнообразием среди пространственно изолированных популяций у лососевых (Алтухов и др., 1997). Кластеризация исследованных выборок гольцов на основе попарных генетических расстояний показывает наибольшее сходство между мальмой и БГ, к кластеру которых присоединяется кластер пары НГ и ДГ, генетическое расстояние между которыми существенно больше.

Таблица 1. Показатели генетической изменчивости по ферментным локусам у кроноцких гольцов (в скобках стандартная ошибка)

Вид (форма)	Размер выборки	Среднее число аллелей на locus	Процент полиморфных локусов из 33 исследованных	Средняя гетерозиготность по 10 полиморфным локусам	
				Фактическая	Ожидаемая
Мальма (речная)	9	2.1 (0.2)	24.2 (7.5)	0.196 (0.049)	0.267 (0.068)
Носатый голец	40	2.1 (0.2)	24.2 (7.5)	0.165 (0.046)	0.217 (0.064)
Белый голец	50	2.1 (0.2)	24.2 (7.5)	0.114 (0.034)	0.141 (0.047)

Длинноголовый голец	12	1.6 (0.2)	18.2 (6.7)	0.111 (0.042)	0.141 (0.046)
---------------------	----	-----------	------------	---------------	---------------

По спектрам общих водорастворимых белков мышц, которые считаются видоспецифичными для многих лососевых (Tsuyuki et al., 1965, 1966), четко разграничить исследованные формы оказалось невозможным.

Анализ рестрикционного полиморфизма двух участков мтДНК - сегмента *ATPase6/ND4L* и гена цитохрома *b* - не выявил различий между изучаемыми формами. По первому участку изменчивости не обнаружено, тогда как по гену цитохрома *b* в каждой выборке было найдено два варианта с преобладанием основного характерного для северной мальмы типа (табл. 2). Интересно, что второй, более редкий вариант гена цитохрома *b*, найденный у кроноцких голец, ранее встречался только в чукотских популяциях мальмы (Радченко, 2002), что позволяет сделать первые предположения о возможных источниках заселения озера.

Таблица 2. Частота рестрикционных типов двух сегментов мтДНК

Вид (форма)	N	Митотип (ATPase6/ND4L/цитохром b)	
		AAAA/ACCC	AAAA/ACDC
Мальма речная	7	85.72%	14.28%
Носатый голец	15	86.67%	13.33%
Длинноголовый голец	12	83.33%	16.67%
Белый голец	20	60%	40%
Мальма (Чукотка)	33	80%	20%

Вся совокупность полученных генетических данных, в особенности по белковым маркерам, подтверждает результаты исследования Викторовского (1978):

- 1) наличие в той или иной степени выраженной репродуктивной изоляции среди форм кроноцких голец, проявляющейся в их значимых различиях по аллельным частотам ряда локусов;
- 2) наибольшую обособленность ДГ от БГ и мальмы;
- 3) существенную близость БГ к мальме;
- 4) относительно недавнюю дивергенцию кроноцких голец, в связи с этим несовершенство их репродуктивной изоляции, т.е. сохранившуюся возможность скрещивания между отдельными формами (Викторовский указывает на вероятное наличие примерно 5-10% гибридов среди НГ и БГ); об этом свидетельствует в целом невысокая степень генетических различий, а именно: отсутствие фиксации альтернативных аллелей по каким-либо ферментным локусам, отсутствие специфических миогеновых спектров и дифференциации по исследованным сегментам мтДНК у сравниваемых форм.

Работа выполнена согласно договору о научном сотрудничестве между Институтом биологии моря ДВО РАН и Кроноцким государственным природным биосферным заповедником. Сбор материала осуществлен при финансовой поддержке гранта ДВО РАН № 03-3-E-06-031 по

инициативе и при участии С.В.Фролова, которому авторы искренне признательны. Экспериментальная часть работы выполнена в Институте общей генетики РАН при поддержке гранта РФФИ № 02-04-49224 и Госконтракта № 10002-251/П-12/151-154/140503-103 по Программе фундаментальных исследований Президиума РАН, а также в Институте биологических проблем Севера ДВО РАН при поддержке гранта ДВО РАН № 03-3-Г-06-100.

Список литературы

Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. 1997. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука. 288 с.

Викторовский Р.М. 1978. Механизмы видообразования у гольцов Кроноцкого озера. М.: Наука. 106 с.

Глубоковский М.К. 1977. *Salvelinus albus* sp. из бассейна реки Камчатки // Биол. моря. №4. С.49-56.

Радченко О.А. 2002. Генетическая дифференциация северной и южной форм мальмы по данным рестрикционного анализа митохондриальной ДНК // Генетика. Т.38. С.32-34.

Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. 2002. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука. 496 с.

Tsuyuki H., Roberts E., Vanstone W.E. 1965. Comparative zone electrophoregrams of muscle myogens and blood hemoglobins of marine freshwater vertebrates and their application biochemical systematics // J. Fish. Res. Bd. Canada. Vol.22, №1. P.203-213.

Tsuyuki H., Uthe J.F., Roberts E., Clarke L.W. 1966. Comparative electrophoregrams of *Coregonus clupeaformis*, *Salvelinus namaycush*, *S. alpinus*, *S. malma* and *S. fontinalis* // J. Fish. Res. Bd. Canada. Vol.24, №2. P.299-304.

Zaykin D.V., Pudovkin A.I. 1993. Two programs to estimate significance of chi-square values using pseudo-probability tests // J. Heredity. Vol.84. P.152.