

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Сенчукова Анна Леонидовна

**Генетическая дифференциация гольцов (род *Salvelinus*)
озерно-речной системы Кроноцкая (Камчатка)**

Специальность: 03.02.06 – ихтиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Кандидат биологических наук
С.Д. Павлов

МОСКВА – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Глава 1. Обзор литературы.....	7
1.1. Таксономическое положение гольцов рода <i>Salvelinus</i>	7
1.2. Гольцы озерно-речной системы Кроноцкая.....	9
1.3. Генетические исследования гольцов озерно-речной системы Кроноцкая.....	13
1.4. Особенности митохондриальной ДНК и микросателлитных локусов как молекулярно-генетических маркеров	15
Глава 2. Материал и методы исследования	19
Глава 3. Гольцы озерно-речной системы Кроноцкая	27
3.1. Генетическая дифференциация гольцов (род <i>Salvelinus</i>) озерно-речной системы Кроноцкая на основе анализа митохондриальной ДНК.....	27
3.2. Генетическая дифференциация гольцов (род <i>Salvelinus</i>) озерно-речной системы Кроноцкая на основе микросателлитного анализа	41
3.3. Новые формы глубоководных гольцов из озера Кроноцкое, выявленные в 2013 г.	55
Глава 4. Гольцы из озера Начикинское.....	61
Глава 5. Гольцы из озера Эльгыгытгын.....	74
5.1. Генетическая дифференциация гольцов из озера Эльгыгытгын на основе анализа митохондриальной ДНК.....	76
5.2. Генетическая дифференциация гольцов из озера Эльгыгытгын на основе микросателлитного анализа	80
Глава 6. Филогенетические отношения всех исследованных гольцов по вариабельности двух участков митохондриального генома (участку <i>D-loop</i> и гену <i>CytB</i>).....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
ВЫВОДЫ	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97

ВВЕДЕНИЕ

Гольцы рода *Salvelinus* – одна из наиболее интересных в микроэволюционном плане группа лососевых рыб (сем. Salmonidae), имеющая циркумполярное распространение, характеризующаяся значительным морфоэкологическим разнообразием, сложной популяционной структурой, высокой географической изменчивостью на огромном ареале и экологической пластичностью.

Наиболее сильно дивергенция у гольцов проявляется в изолированных водоемах, прежде всего, в озерах, где встречаются симпатричные группировки гольцов, иногда различного иерархического уровня.

Одним из ярких примеров симпатрического формообразования являются гольцы озера Кроноцкое. Кроноцкое озеро – крупнейший пресноводный водоем Камчатки; оно изолировано от проникновения проходной мальмы из реки Кроноцкая непреодолимыми порогами. Ихтиофауна озера долгое время формировалась в условиях изоляции. За это время гольцы в оз. Кроноцкое образовали сложную популяционную структуру.

По мнению разных авторов, в озере обитают от трёх до пяти различных форм гольцов, таксономический статус которых дискусионен (Викторовский, 1978; Савваитова, 1989; Глубоковский, 1995; Черешнев и др., 2002; Павлов и др., 2003, 2012).

По нашим данным в озере обитают носатый голец (голец Шмидта), длинноголовый голец, белый голец, речная мальма и карликовый голец.

Исследования морфологических особенностей гольцов Кроноцкого озера, пластических и меристических признаков (Павлов и др., 2013), краниологических особенностей (Салтыкова, 2011), выявили высокую пластичность большинства признаков у кроноцких гольцов и наличие особей с «промежуточными», «переходными» признаками между пятью описанными формами.

Генетические исследования гольцов из озера Кроноцкое начаты сравнительно недавно (Салменкова и др., 2005; Радченко и др., 2006; Ostberg et al.,

2009; Павлов и др., 2012; Олейник, 2013). Из всех исследованных ранее маркеров незначительная генетическая дифференциация между формами кроноцких гольцов была найдена только по аллозимным и микросателлитным локусам.

Этих данных оказалось недостаточно, чтобы судить о происхождении и генетической дифференциации гольцов Кроноцкого озера.

Цель работы: оценить генетическую дифференциацию гольцов озерно-речной системы Кроноцкая.

В рамках поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Изучить вариабельность митохондриального генома и его применимость для оценки популяционно-генетических отношений гольцов озерно-речной системы Кроноцкая (на примере участка *D-loop* и гена *CytB*).
2. Оценить генетическую дифференциацию и уровень репродуктивной изоляции у гольцов озерно-речной системы Кроноцкая с помощью микросателлитных локусов.
3. Изучить особенности происхождения кроноцких гольцов, исследовать отношения гольцов озерно-речной системы Кроноцкая с гольцами из других водоемов Камчатки на основании изменчивости митохондриального генома.
4. Сопоставить полученные результаты с результатами морфоэкологических исследований кроноцких гольцов и литературными данными, обсудить возможные механизмы изоляции форм.
5. Для сравнения отношений симпатрических группировок гольцов в разных озерных системах исследовать гольцов из озера Начикинское и озера Эльгыгытгын (Чукотка) с помощью сходных генетических маркеров.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Исследованные формы кроноцких гольцов имеют монофилетическое происхождение от общей небольшой популяции, существовавшей в реке на момент формирования озера.
2. Исследованные формы кроноцких гольцов принадлежат к генетической линии северной мальмы и незначительно отличаются от популяций мальмы из других водоемов Камчатки.
3. Изученные генетические отношения кроноцких гольцов указывают на неполную репродуктивную изоляцию форм и их низкую дифференциацию, что согласуется с существующим пониманием морфоэкологической структуры гольцов озерно-речной системы Кроноцкая как метапопуляции озерных форм и проходной мальмы из нижнего течения р. Кроноцкая, находящихся в квазистационарном состоянии.

Научная новизна. Впервые: на столь большом материале проведено исследование популяционно-генетической структуры гольцов озерно-речной системы Кроноцкая; исследовано пять форм кроноцких гольцов вместе с гольцами из реки Кроноцкая по сходным генетическим маркерам; исследовано 10 микросателлитных локусов у гольцов из озера Эльгыгытгын; секвенированы два участка митохондриального генома у гольцов из озера Начикинское и изучены отношения начикинских гольцов по новым генетическим маркерам.

Теоретическое и практическое значение работы. Подробно исследованы популяционно-генетические структура и отношения в симпатрических группировках различного иерархического статуса у гольцов рода *Salvelinus*. Показана корреляция генетической дивергенции гольцов в различных озерных системах с их микроэволюционным и историческим статусом.

Результаты работы могут быть включены в курсы лекций по генетике рыб, систематике рыб, зоогеографии рыб, читаемых на кафедре ихтиологии Биологического факультета МГУ.

Апробация работы. Материалы работы представлены на 7-м международном симпозиуме по гольцам «7th International Charr Symposium»

(Южно-Сахалинск, 2012) и на XV Школе-конференции молодых учёных «Биология внутренних вод» (Борок, Россия, 2013).

Публикации. По теме диссертации автором опубликовано 6 работ, из которых 3 – статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК, 1 – статья в сборнике, 2 – материалы научных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка литературы. Основное содержание работы изложено на 106 страницах печатного текста, включает 11 рисунков и 26 таблиц. Список литературы содержит 86 источников, в том числе 33 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает огромную благодарность научному руководителю Павлову Сергею Дмитриевичу. А так же Мюге Николаю Сергеевичу за ценные консультации, методическую поддержку и колоссальную помощь в обработке материала. Коллегам по научной группе: Мельниковой М.Н., Пономаревой Е.В., Пивоварову Е.А. за всестороннюю поддержку и участие в обсуждении работы, Шитовой М.В. за ценные советы по статистической обработке материала.

Сотрудникам Кроноцкого государственного природного биосферного заповедника за организацию и помощь в сборе материала; Карлу Остбергу, сотруднику USGS USA; директору ООО «Пурга» Коваленковой Л.А, Коновалову А.В. за организацию и помощь в сборе материала; сотрудникам кафедры ихтиологии МГУ: Маркевичу Г.Н., Кузищину К.В., Груздевой М.А., Малютиной А.М., Салтыковой А.А., Пивоварову Е.А., Осинovu А.Г. за помощь в сборе материала и предоставление части использованных выборок; сотрудникам лаборатории популяционной биологии ВНИРО Зелениной Д.А., Волкову А.А., Барминцевой А.Е., Толочковой М.Е. за помощь при проведении исследований молекулярно-генетическими методами. Отдельная благодарность директору ВНИРО Глубоковскому М.К. за помощь в организации и поддержку лабораторных работ, ценные консультации.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Таксономическое положение гольцов рода *Salvelinus*

Гольцы рода *Salvelinus* относятся к отряду лососеобразных (Salmoniformes), семейству лососевых (Salmonidae), имеют циркумполярное распространение. Южная граница их нерестового ареала проходит по водоемам Британских о-вов, Аппалачских гор, Калифорнии, о-ва Хонсю, п-ова Корея, Баргузинского хребта, Анабарского плоскогорья, плато Путорана, Сибирских увалов, Полярного Урала, Кольского п-ова, Карелии, Скандинавии; северная граница – по рекам и озерам Исландии, Гренландии, островов канадской Арктики, Аляски, Чукотки, Новосибирских о-вов, Таймыра, Новой Земли, Шпицбергена (Глубоковский, 1995).

Таксономическое положение гольцов рода *Salvelinus* до сих пор остается дискуссионным (Берг, 1948; Глубоковский и др., 1979; Behnke, 1972, 1980, 1984, 1989; Савваитова, 1961, 1976, 1983, 1989; Глубоковский, 1977а, 1977б, 1990, 1995; Решетников и др., 1997; Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России, 1998; Атлас пресноводных рыб России, 2003; Богуцкая, Насека, 2004; Мина и др., 2006 и др.). Основной причиной непрекращающихся дискуссий является высокое морфоэкологическое разнообразие гольцов на огромном ареале. В изучении разнообразия и определении таксономического статуса гольцов рода *Salvelinus* существуют две тенденции. В рамках первой, целый ряд морфологически хорошо различимых форм гольцов, зачастую без подтверждения уровня их генетической самостоятельности, описывается как самостоятельные виды (Берг, 1948; Глубоковский, 1977а, б, 1995; Викторовский, 1978; Глубоковский, Черешнев, 1981; Черешнев, 1982; Черешнев и др., 2002 и др.). В рамках второй, существующее многообразие форм гольцов объясняется проявлением внутривидовой изменчивости и, помимо так называемых «хороших» видов: *S.*

leucomaenis, *S. fontinalis* и *S. namaycush*, всех остальных гольцов относят к одному полнокомплексному виду *Salvelinus alpinus* complex (Савваитова, 1989) или к двум полнокомплексным видам *S. alpinus* complex и *S. malma* complex (Behnke, 1984, 1989).

Согласно Л.С. Бергу (1948 г.), на территории бывшего СССР и сопредельных стран было выделено 11 видов гольцов. Вслед за ним сторонниками «дробительства» описывается от 16 до 30 видов (Викторовский, 1978; Глубоковский, 1977, 1995; Черешнев, 1982; Богуцкая, Насека, 2004).

Р. Бенке (Behnke, 1980, 1989) внутри рода *Salvelinus* выделяет три подрода: *Baione* (*Salvelinus fontinalis*), *Christivomer* (*Salvelinus namaycush*), *Salvelinus* (*S. leucomaenis*, *S. confluentus*, *S. alpinus* complex и *S. malma* complex).

К.А. Савваитова (Савваитова, 1989), признавая такие далеко дивергировавшие виды, как *S. leucomaenis*, *S. fontinalis* и *S. namaycush*, остальные группировки объединяет в *Salvelinus alpinus* complex. В эту популяционную систему самого высокого иерархического уровня входят группировки разного ранга, вплоть до видового (Савваитова, 1989). Такие «полнокомплексные» (М.В. Мина, 1986) виды являются характерными для нестабильных, экстремальных условий высоких широт (Савваитова, 1989). В *Salvelinus alpinus* complex К.А. Савваитова выделяет три морфотипа – альпиноидный, мальмоидный и высокоарктический (по числу жаберных тычинок и пилорических придатков – основным диагностическим признакам, использующимся в систематике гольцов). При этом альпиноидный морфотип доминирует в Европе, мальмоидный – в бассейне Тихого океана, высокоарктический – на арктическом побережье Сибири и Северной Америки. Однако ареалы морфотипов значительно перекрываются.

Также, К.А. Савваитова выделяет следующие экотипы: проходные, речные, озерно-речные и озерные (Савваитова, 1989). При этом отмечаются существенные отличия в эволюционных возможностях озерных экотипов от остальных; в озерах наблюдается значительное разнообразие форм (Савваитова, 1989).

Более стабильные и разнообразные, чем в реках, условия существования в озерных биоценозах способствуют тому, что гольцы могут занимать здесь разные

экологические ниши. В результате чего возникают группировки различающиеся по биотопам, питанию, росту, срокам созревания, срокам и местам нереста, окраске, морфологии (Савваитова, 1989).

Классическими примерами формообразования в озерах являются популяции гольцов из различных озер Забайкалья, Чукотки и Таймыра (Савваитова, 1989; Савваитова и др., 1981; Гудков, 1993; Осинев и др., 1996; Павлов, 1997; Алексеев, Пичугин, 1998; Алексеев и др., 1997, 2000; Осинев, 2002; Гордеева и др., 2010 и др.).

Внутри проходной группировки также могут образовываться более или менее обособленные формы, но они появляются там, где есть разнообразные экологические ниши. Однако в условиях бореальных водоемов ниши непостоянны, они могут как возникать, так и исчезать, поэтому формы, образующиеся в таких условиях, зачастую непостоянны. В некоторых районах (например, бассейн р. Камчатки, р. Охота) наблюдается дифференциация проходного гольца по срокам хода в реках: ранней весной поднимаются многочисленные так называемые «тысячники» (мелкие неполовозрелые гольцы), летом начинается ход обычных гольцов, часть из них идет на нерест (Савваитова, 1989).

Ярким примером формообразования является возникновение в нижнем течении реки Камчатки гольца-хищника после вспышки трехиглой колюшки (*Gasterosteus aculeatus*), совершающей массовую нерестовую миграцию в среднее течение реки (Савваитова и др., 1992).

1.2. Гольцы озерно-речной системы Кроноцкая

Кроноцкое озеро – самый большой пресноводный водоём Камчатки; оно расположено на территории Кроноцкого заповедника, благодаря чему сохранило свою уникальную экосистему и вызывает значительный научный интерес. Оно находится в низине и окружено несколькими горными массивами вулканического

происхождения (Кроноцкая сопка, вулкан Крашенинникова, вулкан Шмидта). Его площадь составляет около 242 км². Имеет форму равнобедренного треугольника. Средняя глубина 51 м, максимальная глубина 148 м. Имеет пять крупных притоков – реки Узон, Унана, Лиственичная, Северная, Перевальная. Так же в озеро впадает ряд крупных ручьев. Из данного водоема вытекает одна крупная река с одноименным названием Кроноцкая, которая на протяжении 12 км верхнего течения имеет мощные пороги, препятствующие проходу лососей в озеро. Озеро образовалось около 12-14 тыс. лет назад в конце позднего плейстоцена в результате запруды долины реки Кроноцкая продуктами лавового извержения вулканов Кроноцкого и Крашенинникова (Шанцер, Мелекесцев, 1967).

Ихтиофауна озера формировалась в условиях изоляции, в видовом отношении небогата. Здесь обитают жилая форма нерки *Oncorhynchus nerka* – кокани и гольцы (род *Salvelinus*). Гольцы образуют в оз. Кроноцкое сложную популяционную структуру и представляют большой интерес для изучения процессов формообразования и механизмов микроэволюции (Викторовский, 1978; Савваитова, 1989; Салменкова и др., 2005; Радченко и др., 2006; Ostberg et al., 2009).

Первое крупное исследование гольцов Кроноцкого озера было проведено Викторовским в 1978 г. Им было описано три формы гольцов, симпатрично обитающих в озере: длинноголовый, носатый и белый. Длинноголовый голец, являющийся специализированным хищником, был описан Р.М. Викторовским как отдельный эндемичный вид – *S. kronocius* (Viktorovsky, 1978). Носатый голец, занимающий нишу специализированного прибрежного бентофага, описан как эндемичный подвид северной мальмы – *S. m. schmidtii* (Viktorovsky, 1978), белый голец, являющийся неспециализированным хищником, – как внутривидовая форма *S. malma* (Walbaum, 1792). Была предложена гипотеза о трех последовательных вселениях этих форм гольцов в озеро (Викторовский, 1978).

В последующих исследованиях разными авторами эти формы рассматривались как отдельные виды (Глубоковский, 1995; Олейник, 2013) или как формы одного вида (Савваитова, 1989).

К.А. Савваитова, описав в 1989 г. гольцов из Кроноцкого озера как формы одного вида, высказала гипотезу о том, что все гольцы Кроноцкого озера произошли от одного общего предка, а становление форм уже произошло внутри озера (Савваитова, 1989).

Позже, на основе морфологического и краниологического анализов, гольцы из озера Кроноцкое были рассмотрены как самостоятельные виды: *S. kronocius*, *S. schmidt*, *S. albus* (Glubokovsky, 1977) (Глубоковский, 1995; Черешнев и др., 2002).

В 2013 году опубликовано крупное исследование фенетического разнообразия и пространственной структуры гольцов озерно-речной системы Кроноцкая (Павлов и др., 2013). В данной работе выделено пять форм озерных гольцов (белый голец, носатый голец, длинноголовый голец, речная мальма, карликовый голец). Учитывая, что результаты этой работы легли в основу нашего понимания современной морфоэкологической структуры популяций и разнообразия гольцов в озере, рассмотрим их подробнее.

По данным авторов, носатый и белый голец являются массовыми формами, численность речной мальмы относительно невысока, длинноголовый голец является редкой формой, карликовой формы гольца было поймано всего 4 экз. в 2003 году.

По характеру питания носатый голец типичный бентофаг, основную часть его питания составляют беспозвоночные. Носатый голец обитает в прибрежной части озера на относительно небольших глубинах (до 8–10 м). Он ведёт стайный образ жизни, встречается у береговой линии озера, в том числе и возле островов.

Длинноголовый голец по образу жизни – одиночный хищник, встречается по всему озеру, как у берегов, так и в открытой части озера, над большими глубинами.

В процессе развития белого гольца происходят существенные изменения характера питания. Неполовозрелые и половозрелые особи ((АС) длина тела < 460

мм) питаются в основном бентосными беспозвоночными, по достижении этой длины белый голец переходит на питание рыбой, его основным кормовым объектом становится озёрная нерка-кокани. Белый голец – озёрная форма, большую часть жизненного цикла проводит в оз. Кроноцкое. Образует скопления, реже встречается поодиночке, совершает перемещения вдоль береговой линии. В озере встречается повсеместно: обычен вдоль берегов, вблизи островов, но в открытой части встречается реже.

Речная мальма обитает во всех впадающих в оз. Кроноцкое реках (Унана, Узон, Лиственичная) и в вытекающей из озера р. Кроноцкая от истока до порогов. Ведёт речной образ жизни, но в летнюю межень может покидать реки и выходить в прилегающие участки озера на нагул, при этом в озеро чаще выходят наиболее крупные экземпляры. В реках встречается, как правило, на плёсах и в подперекатных ямах. По характеру питания речная мальма – бентофаг; основу её питания составляют личинки амфибиотических насекомых – веснянок, подёнок, ручейников и хирономид. Состав пищевого комка значительно меняется в разные сезоны года, как правило, речная мальма поедает наиболее массовые и легко доступные кормовые объекты.

Наиболее сильные внешние различия наблюдаются в форме головы носатого и длинноголового гольцов.

У носатого гольца голова в среднем небольшая (длина головы (с) около 20% от длины тела (АС)), верхняя челюсть всегда длиннее нижней и нависает над ней. Одни особи имеют широкое, закруглённое рыло, другие – более вытянутое и приострённое. Верхнечелюстная кость прямая или изогнута выпуклостью книзу, не достигает или достигает заднего края глаза, но не заходит за него.

У длинноголового гольца голова длинная (длина головы (с) $> 23.2\%$ длины тела (АС)), конической формы, низкая, плоская сверху, заглазничное расстояние большое. Рыло длинное, челюсти равной длины. Рот большой, конечный, верхнечелюстная кость прямая или слабо изогнута выпуклостью вверх, далеко заходит за задний край глаза. На челюстях, нёбных костях, языке крупные клыковидные зубы.

Белого гольца по форме головы можно определить как промежуточный вариант между носатым гольцом (бентофагом) и длинноголовым гольцом (специализированным хищником).

Так же показана высокая пластичность кроноцких гольцов и наличие особей с «промежуточными», «переходными» признаками между пятью описанными формами. И высказано предположение о том, что все озерные формы (включая речную мальму из притоков озера) кроноцких гольцов представляют собой одну метопуляцию, в которой отсутствует полная генетическая изоляция. В настоящее время эти формы находятся в квазистационарном состоянии, когда обеспечивается эволюционный стазис озерных форм. Это равновесие легко может сместиться, как в сторону более полного обособления форм с достижением ими видового ранга, так и в противоположном направлении, когда может произойти стирание границ между формами (Павлов и др., 2013).

1.3. Генетические исследования гольцов озерно-речной системы Кроноцкая

Проводимые ранее молекулярно-генетические исследования гольцов Кроноцкого озера показали незначительную дивергенцию озёрных форм (Салменкова и др., 2005; Радченко и др., 2006; Ostberg et al., 2009; Oleinik, Skurikhina, 2010; Павлов и др., 2012; Олейник, 2013). Так, в 2005 г. были опубликованы результаты крупного исследования генетического разнообразия гольцов Кроноцкого озера – анализ аллозимных и микросателлитных локусов, миогенов, RAPD и рестрикционный анализ двух сегментов мтДНК (Салменкова и др., 2005). Из всех исследованных маркеров генетическая дифференциация между формами кроноцких гольцов была найдена только по аллозимным ($F_{ST}= 0.120$) и микросателлитным ($F_{ST}= 0.217$) локусам. Проведённый авторами рестрикционный анализ двух участков мтДНК общей длиной 2537 п.н. (сегмента *ATPase/ND4L*, включающего 6 генов, и сегмента гена цитохрома *b*) выявил изменчивость только по второму сегменту. Среди 4 форм (носатый голец, белый голец, длинноголовый

голец, речная мальма) гольцов Кроноцкого озера были найдены 2 гаплотипа (более частый соответствует гаплотипу северной мальмы (Радченко, 2002), а более редкий ранее был отмечен только у чукотских популяций (Радченко, 2002), качественные различия между формами выявлены не были.

Позднее, при продолжении исследования изменчивости гена цитохрома *b* у кроноцких гольцов (Радченко и др., 2006) с помощью секвенирования, было выявлено 11 гаплотипов, принадлежащие к 2 линиям мтДНК (2 группы гаплотипов), обнаруженным ранее с помощью рестриктного анализа (Салменкова и др., 2005). Авторы предполагают, что возраст возникновения этих линий (400 тыс. лет) значительно превышает возраст возникновения озера Кроноцкое, и считают, что озеро заселила предковая форма, несущая обе эти линии. Полученное значение уровня дивергенции гена цитохрома *b* среди кроноцких гольцов (0.48%) примерно равно уровню дивергенции среди гаплотипов северной мальмы из других регионов. К сожалению, авторы располагали выборкой лишь в 13 экз. кроноцких гольцов и не смогли провести сопоставление выявленной генетической вариабельности с фенетическим разделением на формы.

Остберг с соавторами (Ostberg et al., 2009), используя для рестриктного анализа мтДНК 33 рестриктазы, выявили 15 гаплотипов (11 среди 5 форм гольцов Кроноцкого озера: носатый голец, белый голец, длинноголовый голец, карликовый голец, речная мальма) на участке общей длиной 723 п.н., включающем *D-loop*, *ND2*, *ND3/ND4*, *ND5/ND6*. Общий уровень дивергенции среди форм гольцов, по мнению авторов, оказался довольно низким. Уровень попарной межвыборочной дифференциации в величинах F_{ST} варьирует от 0.002 до 0.217. При этом было показано отличие длинноголового гольца от остальных форм и выдвинуто предположение, что гольцы Кроноцкого озера имеют две предковые формы. Одна дала начало речной мальме, носатому, белому и карликовому гольцу, а другая – длинноголовому.

Для генетической идентификации карликового гольца по мтДНК Павлов с соавторами (2012) использовали 4 рестриктазы. По 3 рестриктазам дивергенция

среди 5 форм не выявлена, по одной – обнаружен уникальный гаплотип у карликового гольца.

Олейник (Олейник, 2013), исследовав с помощью рестриктного анализа 6 участков митохондриального генома озерных гольцов из озера Кроноцкое показала, что белый, носатый и длинноголовый гольцы дивергировали от *S. t. malma*, сохранив черты предкового полиморфизма (на полученных генеалогических деревьях для каждой из трех форм (видов) озерных гольцов в центре находится один из основных гаплотипов северной мальмы). Уровень дивергенции между симпатричными популяциями гольцов (0.0061–0.0289%) не превышает диапазон внутривидовой изменчивости *S. t. malma*, молекулярная дисперсия внутри популяций кроноцких гольцов составила 93%, а между популяциями – 7% (Олейник, 2013). На основе проведенного исследования сделан вывод, что низкие оценки дивергенции мтДНК отражают не уровень репродуктивной изоляции между озерными кроноцкими гольцами и *S. t. malma*, а небольшой временной период с момента расхождения предковых линий, и обусловлены с одной стороны предковым полиморфизмом, с другой – обменом гаплотипами между дивергировавшими группами в результате вероятной исторической интрогрессивной гибридизации (Oleinik, Skurikhina, 2010; Олейник, 2013).

1.4. Особенности митохондриальной ДНК и микросателлитных локусов как молекулярно-генетических маркеров

Для различных задач в популяционных исследованиях используется целый ряд молекулярно-генетических маркеров, основанных на вариабельности митохондриальной и ядерной ДНК. Остановимся на свойствах мтДНК и микросателлитных локусов, существенных для выяснения популяционно-генетических отношений лососевых рыб и других организмов.

Основные свойства мтДНК.

МтДНК можно отнести к типу повторяющейся ДНК, поскольку клетка может содержать сотни митохондрий, а каждая митохондрия от двух до десяти копий молекул ДНК. МтДНК позвоночных – это замкнутая кольцевая молекула. Ее размер относительно невелик – от 15700 до 19500 п.н., что в 2500 раз меньше наименьшей из геномной ДНК животных (Гречко, 2002). Определение полной нуклеотидной последовательности мтДНК человека и ряда других видов позвоночных животных показало существенную консервативность в порядке расположения некоторых уникальных генов. МтДНК содержит 37 различных генов, в том числе два рибосомальных гена, гены 22 транспортных РНК, 13 генов кодирующих белки, и имеют некодируемую область, называемую Д-петлей, участвующую в репликации (Ferris, Berg, 1987).

МтДНК является гаплоидной, т.е. все митохондрии особи содержат, как правило, только один тип ДНК, хотя есть и исключения, называемые гетероплазмией (Arnason, Rand, 1992; Bentzen et al., 1998).

Поскольку митохондрии наследуются цитоплазматически, а цитоплазма передается через яйцеклетку, мтДНК наследуется только по материнской линии.

Для большинства организмов не отмечено случаев рекомбинации митохондриальных геномов, т.е. наследование мтДНК происходит по клональному типу. Поэтому, несмотря на то, что мтДНК содержит более 30 различных генов, с позиций формальной генетики она рассматривается как один локус, а гаплотипы – как отдельные аллели (Алтухов, Салменкова, 2002). Вследствие этого эффективный размер популяции для мтДНК составляет $\frac{1}{4}$ от таковой для ядерных генов (Nei, Tajima, 1981). По этой причине изменчивость мтДНК в большей мере подвержена случайному дрейфу генов и эффекту «бутылочного горлышка» при резком сокращении численности популяции (Алтухов, Салменкова, 2002).

Еще одним отличительным свойством митохондриальной ДНК является высокая скорость нуклеотидных замен, примерно в 5-10 раз выше, чем в ядерной ДНК и в среднем составляет 1-2% за миллион лет (Brown et al., 1979; Avise, 1994).

Установлено, что скорость накопления мутаций в последовательностях мтДНК различается для разных областей молекулы (Churikov et al., 2001).

Важная особенность анализа мтДНК состоит в том, что в отличие от аллозимных и VNTR-аллелей (variable number tandem repeat loci – варьирующее число тандемных повторов), гаплотипы мтДНК можно связать друг с другом сетью последовательных эволюционных превращений (имеются в виду минимальное число пошаговых мутационных изменений, необходимых для взаимопревращений гаплотипов через появление или утрату рестрикционных сайтов или любые другие изменения первичной последовательности) (Алтухов, Салменкова, 2002). С учетом данных по всем исследованным рестриктазам или по нуклеотидным последовательностям можно построить генеалогическую сеть комплексных гаплотипов, на основе которой можно получить дополнительную информацию о генетическом родстве и исторических связях между популяциями и видами (Алтухов, Салменкова, 2002).

Основные свойства микросателлитных локусов.

В последнее время в качестве информативных популяционно-генетических маркеров широко применяются микросателлитные последовательности ядерной ДНК. Микросателлиты – короткие повторяющиеся последовательности (от 10 до 100 повторов) имеющие длину от 1 до 6 пар нуклеотидов (Tautz, 1989). Микросателлитам присущ ряд свойств, которые позволяют успешно использовать их в популяционно-генетических исследованиях: рассеянность в большом количестве по геному, локализация в некодирующих частях и, следовательно, селективная нейтральность, кодоминантное наследование (Estoup et al., 1993; Алтухов, 2003; Алтухов, Салменкова, 2002). Для этих локусов характерна быстрая эволюция (скорость спонтанного мутирования составляет $10^{-2} - 10^{-4}$ на локус за поколение) (Weber, Wong, 1993). Гетерозиготность по микросателлитам превышает аллозимную, что во многих случаях позволяет лучше дифференцировать популяции. Поскольку микросателлиты одинаковы у близких видов, представляется возможным использовать одни и те же праймеры (Алтухов,

Салменкова, 2002). Для анализа этих локусов требуется очень малое количество крови или какой-либо ткани организма, поэтому возможно как прижизненное взятие образцов, так и использование для анализа частично деградировавших элементов (Алтухов, Салменкова, 2002).

Следует отметить, что микросателлитные локусы непригодны для эволюционных построений (филогении) на межвидовом и более высоких уровнях, так как наблюдаемое сходство в величине аллелей может отражать не идентичность их происхождения, а явление гомоплазии, возникающее из-за высокой скорости мутирования, когда микросателлитные аллели одинакового размера образуются в результате конвергенции от разного числа прямых или обратных мутационных событий (Алтухов, Салменкова, 2002).

Еще одна проблема, с которой сталкиваются при анализе микросателлитов, – наличие нулевых аллелей, появляющихся вследствие мутаций в сайте связывания с праймером, что не позволяет точно идентифицировать генотипы; к тому же нулевые аллели могут различаться по происхождению (Алтухов, Салменкова, 2002).

Тем не менее, совокупность свойств микросателлитных локусов делает их популярными популяционно-генетическими маркерами.

Глава 2. Материал и методы исследования

Материалом данной работы послужили выборки от разных форм гольцов из озерно-речной системы Кроноцкая (Камчатка), собранные сотрудниками кафедры ихтиологии МГУ в 2001-2013 гг. Выборки гольцов из озера Эльгыгытгын собраны в 1996 г. И.А. Черешневым. Основным материалом для исследования служили выборки от пяти форм гольцов из озера Кроноцкое (носатый голец, белый голец, речная мальма, длинноголовый голец, карликовый голец), проходной мальмы из реки Кроноцкая (табл. 1, рис. 1). В качестве сравнительного материала были использованы выборки гольцов из наиболее крупных рек: Жупанова, Сопочная, Большая, Быстрая, Камчатка, Кавыча, Кимитина, Коль, Саван, а также из других водоемов Камчатки: озера Курильское, озера Азабачье и Олюторского залива, ручья Нижнекошелевский, озера Копылье (табл. 1, рис. 1).

Для изучения группировок гольцов, симпатрично обитающих в других озерных системах, были взяты две выборки гольцов вида *S. malma* и вида *S. alpinus* ssp. из оз. Начикинское (Камчатка), а также три выборки от видов гольцов из озера Эльгыгытгын (восточная Чукотка): *S. boganidae*, *S. elgyticus*, *Salvethymus svetovidovi* (табл. 1).

Выборка 2013 года из озера Кроноцкое, включившая новые глубоководные формы гольцов (малоротый голец и большеротый голец (Салтыкова, Маркевич, 2014, в печати; отчёты экспед. МГУ) дополнила наше исследование на последнем этапе (табл. 1).

Таблица 1. Выборки и формы голецов рода *Salvelinus*, включенные в исследование

Выбор-ка	Вид	Форма	Год сбора	Место сбора	Число образцов, исследованных по определенным участкам генома			
					<i>D-loop</i>	<i>CytB</i>	mst	Итого
1	<i>Salvelinus malma</i>	Носатый голец	2003	оз. Кроноцкое	24	24	28	76
2	<i>S. malma</i>	Носатый голец	2010	-“-	17	17	22	56
3	<i>S. malma</i>	Носатый голец	2011	-“-	39	39	40	118
4	<i>S. malma</i>	Белый голец	2003	-“-	45	45	57	147
5	<i>S. malma</i>	Речная	2003	притоки оз. Кроноцкое	28	28	37	93
6	<i>S. malma</i>	Белый голец	2011	оз. Кроноцкое	46	46	47	139
7	<i>S. malma</i>	Карликовый голец	2003	-“-	4	4	4	12
8	<i>S. malma</i>	Длинноголовый голец	2003	-“-	13	13	14	40
9	<i>S. malma</i>	Длинноголовый голец	2010	-“-	8	8	9	25
10	<i>S. malma</i>	Длинноголовый голец	2011	-“-	8	8	8	24
11	<i>S. malma</i>	Проходная	2004	р. Кроноцкая	24	24	29	77
12	<i>S. malma</i>	Проходная	2010	-“-	33	33	39	105
13	<i>S. malma</i>	Речная	2001	р. Жупанова	4	4		8
14	<i>S. malma</i>	Проходная	2001	р. Сопочная	4	4		8
15	<i>S. malma</i>	Проходная	2004	р. Большая	5	5		10
16	<i>S. malma</i>	Каменный голец	2004	р. Быстрая	3	3		6
17	<i>S. malma</i>	Речная	2004	-“-	5	5		10
18	<i>S. malma</i>	Речная	2004	р. Камчатка	4	4		8
19	<i>S. malma</i>	Речная	2004	р. Кавыча	5	5		10
20	<i>S. malma</i>	Речная	2004	р. Кимитина	5	5		10
21	<i>S. malma</i>	Проходная	2006	р. Коль	5	5		10
22	<i>S. malma</i>	Карликовые самцы	2006	-“-	5	5		10

Таблица 1. Окончание

Выбор- ка	Вид	Форма	Год сбора	Место сбора	Число образцов, исследованных по определенным участкам генома			
					<i>D-loop</i>	<i>CytB</i>	mst	Итого
23	<i>S. malma</i>	Проходная	2010	р. Саван	5	5		10
24	<i>S. malma</i>	Проходная	2011	оз. Курильское	5	5		10
25	<i>S. malma</i>	Карликовые самцы	2011	-“-	5	5		10
26	<i>S. malma</i>	Речная		притоки оз. Азабачье	8	8		16
27	<i>S. malma</i>	Проходная		Олюторский залив	9	9		18
28	<i>S. malma</i>	Речная	2012	руч. Нижнекошелевский (басс. р. Речка 3-я)	12	12		24
29	<i>S. sp.</i>	Озерная	2012	оз. Копылье	12	12		24
30	<i>S. malma</i>	Озерно-ручьевая	2012	оз. Начикинское	12	12		24
31	<i>S. alpinus</i> ssp.	Озерная	2012	-“-	12	12		24
32	<i>S. boganidae</i>	Озерная	1996	оз. Эльгыгытгын	18	18	20	56
33	<i>S. elgyticus</i>	Озерная	1996	-“-	14	14	14	42
34	<i>Salvethymus</i> <i>svetovidovi</i>	Озерная	1996	-“-	15	15	21	51
35	<i>S. malma</i>	Носатый голец	2013	оз. Кроноцкое	29	29		58
36	<i>S. malma</i>	Белый голец	2013	-“-	12	12		24
37	<i>S. malma</i>	Длинноголовый голец	2013	-“-	8	8		16
38	<i>S. malma</i>	Малоротый голец	2013	-“-	14	14		28
39	<i>S. malma</i>	Большеротый голец	2013	-“-	9	9		18
				Всего:	533	533	389	1455

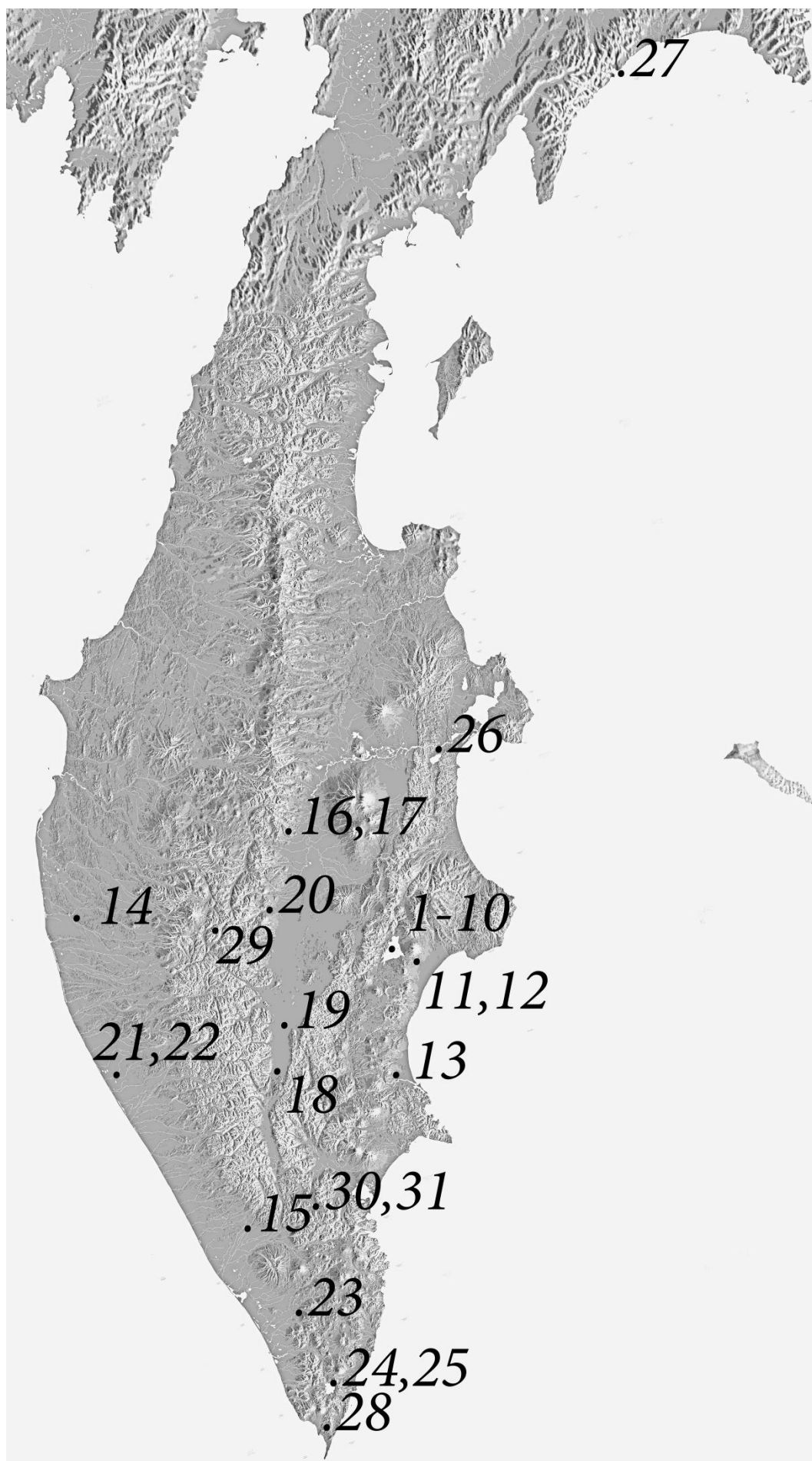


Рис. 1. Места сбора материала; 1–31 – номера выборок как в табл. 1.

Таблица 1 является сводной таблицей использованного материала, в которой представлены все выборки, использованные в работе, и число образцов, исследованных по определенным участкам генома. Частные таблицы материала, соответствующие конкретному виду анализа или использованному методу для удобства изложения и понимания результатов приводятся в главах, посвященных соответствующим исследованиям.

Всего исследовали 1455 образцов от 533 экз. гольцов. Для 533 образцов определена последовательность участка *D-loop* (559 п.н.), для 533 образцов определена последовательность гена *CytB* (1015 п.н.), для 334 образцов проведен анализ 9 микросателлитных локусов, для 55 образцов – 10 микросателлитных локусов.

Для исследования гольцов озерно-речной системы Кроноцкая нами были использованы два типа молекулярно-генетических маркеров: участки митохондриальной ДНК и микросателлитные локусы.

Для выяснения происхождения и оценки отношений Кроноцких гольцов, а так же их отношений на ареале нами были секвенированы два участка митохондриального генома: участок *D-loop*, длиной 559 п.н. и ген *CytB* длиной 1015 п.н.

Для дифференциации озерных форм в настоящем временном континууме был проведен анализ микросателлитных локусов.

ДНК выделяли стандартным солевым методом (Aljanabi, Martinez, 1997).

Секвенирование участка *D-loop* и гена *CytB*. Реакцию амплификации проводили в объёме 15 мкл: 1.5 мкл 10× ПЦР буфер (Sileks, Россия), 2.5 mM MgCl₂, 0.6 mM dNTP, 2 пМ каждого праймера, 100 нг ДНК и 1 единицу HotTaq ДНК полимеразы (Sileks).

Режим ПЦР (для *D-loop*). Прогрев при 94 °C – 2 мин (один цикл); основной режим (35 циклов): денатурация при 94°C 15 с, отжиг праймера 52°C – 40 с, синтез ДНК – 72°C 90 с. Достройка: 72°C в течение 10 мин.

Режим ПЦР (для *CytB*). Прогрев при 95 °C – 2 мин (один цикл); основной режим (35 циклов): денатурация при 94°C 15 с, отжиг праймера 58°C – 30 с, синтез ДНК – 72°C 90 с. Достройка: 72°C в течение 10 мин.

Для амплификации участка *D-loop* митохондриальной ДНК использовали олигонуклеотидные праймеры HN20 GTGTTATGCTTTAGTTAAGC и Tpro2 ACCCTTAACSTCCCAAAGC (Brunner et al., 2001), для амплификации гена *CytB* – праймеры L14795 TAATGGCCAACSTCCGAAAA и H15844 AGCTACTAGGGCAGGCTCATTT (Радченко, 2003). Для секвенирования участка *D-loop* использовали праймер Tpro2, для секвенирования гена *CytB* – оба праймера (L14795 и H15844). Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе ABI 3130 с использованием набора для секвенирования BigDye v.1.1.

Обработку продуктов секвенирования и множественное выравнивание осуществляли в пакете программы DNASTar (Lasergene Inc.). Для представления филогенетических отношений между гаплотипами использовали метод максимальной экономии (Templeton et al., 1992), реализованный в программе TCS (Clement et al., 2000); статистический и филогенетический анализы проводили в программе Mega 5.05 (Tamura et al., 2011) и Arlequin 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010).

Микросателлитный анализ. Реакции амплификации проводили в конечном объеме 15 мкл [1^X TaqBuffer pH 8.6 («Силекс»); 2,5 mM MgCl₂; по 100 мкМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата; 1,5 пкМ праймера (3 пкМ – для праймеров *Smm24*, *Sco218*), модифицированного на 5'-конце флуоресцентным красителем FAM, R6G или TAMRA; 1,5 пкМ обратного праймера (3 пкМ – для праймера *Smm24*); 10-50 нг ДНК и 1 единицу Taq-полимеразы («Силекс»)] по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК: 94 °C – 1 мин; синтез ПЦР-продуктов (30 циклов, в каждом из которых температура отжига праймеров снижалась на 0,2°C): плавление – 90°C – 20 сек, отжиг праймеров – 58 °C (в первом цикле) – 25 сек, синтез ДНК – 65 °C – 40 сек); синтез ПЦР-продуктов (7 циклов): плавление – 90°C – 20 сек, отжиг праймеров – 52 °C – 25 сек, синтез ДНК – 65 °C – 40 сек; 1 завершающий цикл для улучшения посадки флуоресцентно-

меченных зондов и окончательной достройки цепей: плавление – 94 °C – 30 сек, отжиг праймеров – 45 °C – 1 мин 30 сек, синтез ДНК – 65°C – 10 мин.

Таблица 2. Перечень микросателлитных локусов, тип флуоресцентной метки и последовательность праймеров, по которым приводятся данные анализа

№	Локус	Флуорес- центная метка	Последовательность праймера (5'-3')	Источник
1	<i>Smm3</i>	FAM	F: Tgg CTC AAA TTA AgA TCC TAC R: AgC CAT TAT gCA TTA CTT gTT C	Crane et al., 2004
2	<i>Smm22</i>	R6G	F: CCC AAT gCAgATAAg ACC TT R: TCT ATA ggC TTA TTT gAATgg AAT	Crane et al., 2004
3	<i>Smm5</i>	TAMRA	F: AgA TgT gTg ATA AAC TCA gCC TC R: AgT TgT TTA AAT Agg gCg gAT Ag	Crane et al., 2004
4	<i>Ssa 197</i>	R6G	F: GGG TTG AGT AGG GAG GCT TG R: TGG CAG GGA TTT GAC ATA AC	O'Reilly et al., 1996
5	<i>Sco204</i>	TAMRA	F: GCTAAGGATGGTCACTCAT R: GCAACACAGAAATGTAACTCT	Dehaan, Ardren, 2005
6	<i>Smm24</i>	FAM	F: CAT TgA TCA AgAAgCCAgTgC R: TgT ATT Tgg CCA ATA TAA CAC AgC	Crane et al., 2004
7	<i>SSOSL456</i>	R6G	F: CTT CCC AGG AGT CAT CAT AAA TCT R: TAA ACC CCA CTG CTT GTT GAG TGT	Slettan et al., 1997
8	<i>Smm21</i>	TAMRA	F: ggCTgT TCA CCA CAT AgAgTA AT R: TTA AgATgggATgCA TAT TCA gT	Crane et al., 2004
9	<i>Smm17</i>	FAM	F: AAggATggTgAggAC AAT ACA R: ACC TTgAgA AAT CTA TAT gTggTC TA	Crane et al., 2004
10	<i>Sco205</i>	R6G	F: GAGAGATGAGTGGATGGATAGA R: GATACCTGAAGGGGAGACAC	Dehaan, Ardren, 2005
11	<i>Sco218</i>	TAMRA	F: TTCTAACTGTTGGCACTCTG R: GTGTGGTTGGGTGGTAAG	Dehaan, Ardren, 2005

Для микросателлитного анализа использовали 11 микросателлитных локусов. Перечень микросателлитных локусов, тип флуоресцентной метки и последовательность праймеров представлены в табл. 2.

Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили с помощью системы капиллярного электрофореза «ABI3130 Genetic analyzer», определение длин аллелей осуществляли с применением программного обеспечения GeneMarker v.2.1 (SoftGenetics LLC). Статистический анализ микросателлитных локусов проводили в программах GENEPOP v.4.2. (Raymond, Rousset, 1995), FSTAT v. 2.9.3. (Goudet, 1995), GENALEX6 для MS-Excel (Peakall, Smouse, 2006), STRUCTURE 2.2 (Pritchard et al., 2000), Arlequin 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010).

Глава 3. Гольцы озерно-речной системы Кроноцкая

3.1. Генетическая дифференциация гольцов (род *Salvelinus*) озерно-речной системы Кроноцкая на основе анализа митохондриальной ДНК

Для исследования генетической дифференциации гольцов озерно-речной системы Кроноцкая с помощью митохондриальной ДНК были взяты выборки от пяти форм гольцов из озера Кроноцкое: носатый голец (80 экз.), белый голец (91 экз.), речная мальма (28 экз.), длинноголовый голец (29 экз.), карликовый голец (4 экз.); а также проходная мальма из реки Кроноцкая (57 экз.). Выборки некоторых форм были собраны в разных локальностях озера, но, учитывая цели и задачи работы, а также некоторую ограниченность материала, были объединены в пределах одной формы. Выборки, собранные в разные годы (носатого гольца, белого гольца, длинноголового гольца и проходной мальмы) также объединены в пределах формы. Учитывая, что не было выявлено генетических и четких морфологических различий между речной мальмой и белым гольцом, выборки белого гольца (выборки № 4 и № 6, табл. 3) и речной мальмы (выборка № 5, табл. 3) из озера Кроноцкое при анализе мтДНК были объединены в одну общую выборку (выборка № 4-6, табл. 5, 6, рис. 2). В качестве сравнительного материала были взяты выборки гольцов из наиболее крупных рек: Жупанова, Сопочная, Большая, Быстрая, Камчатка, Кавыча, Кимитина, Коль, Саван, а также из других водоемов Камчатки: озера Курильское, озера Азабачье и Олюторского залива.

Места сбора выборок и их обозначения приводятся на рис. 1 и в табл. 3.

Таблица 3. Выборки и формы гольцов рода *Salvelinus* из озёрно-речной системы Кроноцкая и других водоемов Камчатки, включенные в исследование

Выборка	Форма	Год сбора	Место сбора	Количество экз.
1	Носатый голец	2003	оз. Кроноцкое	24
2	Носатый голец	2010	-“-	17
3	Носатый голец	2011	-“-	39
4	Белый голец	2003	-“-	45
5	Речная мальма	2003	притоки оз. Кроноцкое	28
6	Белый голец	2011	оз. Кроноцкое	46
7	Карликовый голец	2003	-“-	4
8	Длинноголовый голец	2003	-“-	13
9	Длинноголовый голец	2010	-“-	8
10	Длинноголовый голец	2011	-“-	8
11	Проходная	2004	р. Кроноцкая	
12	Проходная	2010	-“-	
13	Речная	2001	р. Жупанова	4
14	Проходная	2001	р. Сопочная	4
15	Проходная	2004	р. Большая	5
16	Каменный голец	2004	р. Быстрая	3
17	Речная	2004	-“-	5
18	Речная	2004	р. Камчатка	4
19	Речная	2004	р. Кавыча	5
20	Речная	2004	р. Кимитина	5
21	Проходная	2006	р. Коль	5
22	Карликовые самцы	2006	-“-	5
23	Проходная	2010	р. Саван	5
24	Проходная	2011	оз. Курильское	5
25	Карликовые самцы	2011	-“-	5
26	Речная		притоки оз. Азабачье	8
27	Проходная		Олюторский залив	9
			Всего:	366

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Таблица 4. Вариабельные сайты в объединённой последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*) у разных форм гольцов рода *Salvelinus* из озёрно-речной системы Кроноцкая и гольцов из других водоемов Камчатки

Гапло- типы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																																																			
	1 8	3 7	8 2	2 9	2 6	2 7	3 5	3 5	4 0	6 1	6 3	6 8	7 6	7 0	7 5	8 1	8 2	8 3	8 6	9 1	9 0	9 9	9 1	9 4	9 8	9 5	1 5	1 4	1 8	1 9	1 7	1 2	1 1	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 2	1 3	1 3	1 3	1 3	1 3	1 4	1 4	1 5	1 5	1 5			
H1	A	C	G	A	G	G	A	G	T	G	G	G	A	T	G	C	C	G	A	A	A	C	G	G	T	A	C	G	A	G	T	G	T	G	G	G	G	A	A	A	G	A	G	C	G	G	C	A	G	C	A	C
H2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H4	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H7	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H8	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H11	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H12	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H13	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H14	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	A	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H15	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	
H16	.	.	.	A	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H17	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H18	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H19	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H20	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H21	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H22	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H23	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H24	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H25	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H26	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H27	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H28	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H29	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	
H30	G	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	
H31	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	
H32	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.
H33	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.

Таблица 4. Окончание

Гапло- типы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																																																				
	1 8	3 7	8 2	2 9	2 3 6	2 4 7	3 2 5	3 7 5	4 1 0	6 7 1	6 7 3	6 8 8	7 1 6	7 6 0	7 7 5	7 8 1	8 2 0	8 2 3	8 2 6	9 0 1	9 1 0	9 1 9	9 4 1	9 4 8	9 5 5	1 0 5	1 0 8	1 0 4	1 0 9	1 0 8	1 0 7	1 1 3	1 1 5	1 1 8	1 1 8	1 1 8	1 2 5	1 2 6	1 2 8	1 3 0	1 3 3	1 3 7	1 3 8	1 3 2	1 3 0	1 3 6	1 4 8	1 4 1	1 5 9	1 5 0	1 5 5		
H34	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
H35	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H36	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	
H37	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H38	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
H39	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
H40	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
H41	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	.	.	T	.	.	
H42	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
H43	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	
H51	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H52	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H53	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	A	.	C	A	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H54	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H55	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H56	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H57	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	
H58	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H59	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H60	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	
H61	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H62	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H63	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H64	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H65	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H66	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H67	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.			
H68	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H69	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H70	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.		
H71	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	A	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.		
H72	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H73	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.		
H74	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	C	.	.	T	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	

Таблица 5. Встречаемость гаплотипов у разных форм гольцов рода *Salvelinus* из озёрно-речной системы Кроноцкая и гольцов из других водоемов Камчатки

Выборка	Гаплотипы																																		
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33	H34	
1-3	5	9	1		1	3					37	1	3	3			1	1										1							
1	1	9			1	3					3			2			1												1						
2	1		1								5		3					1											1						
3	3										29	1		1																					
4-6	19	8		1		10	1	1	1		10	9		3	1	1	2		33	1		2	1	1				1							
4	5	1		1		3	1	1	1		3	4					1		20	1		1													
5	7	1				4					2	3			1	1			2			1	1	1				1							
6	7	6				3					5	2		3			1		11																
7						2																								1					
8-10	3					2					14	8							2																
8	1										10	2																							
9	1										3	3							1																
10	1					2					1	3							1																
11,12	2									3	7								5		1			7	1	1	1		3	1	7	1	1	4	
11	1									3	3								5		1			3			1			1					
12	1										4													4	1	1			3		7	1	1	4	
13																															1				
14																																			
15																																			
16																																			
17										1									3					1											
18	1										1																								
19																			1					1											
20											1													2					1						
21																																			
22										1																									
23	2																																		
24	1																																		
25	1																																		
26	3																		1					4											
27																			2					2											
Всего:	37	17	1	1	1	17	1	1	1	5	70	18	3	6	1	1	3	1	47	1	1	2	1	18	1	1	2	1	5	1	8	1	1	4	

Таблица 5. Окончание

Выборка	Гаплотипы																																
	H35	H36	H37	H38	H39	H40	H41	H42	H43	H51	H52	H53	H54	H55	H56	H57	H58	H59	H60	H61	H62	H63	H64	H65	H66	H67	H68	H69	H70	H71	H72	H73	H74
1-3					9	1	1						1	1	1																		
1					4																												
2					3	1	1																										
3					2								1	1	1																		
4-6					9				1			1				1	1																
4					2																												
5					2				1																								
6					5							1				1	1																
7					1																												
8-10																																	
8																																	
9																																	
10																																	
11,12	3	1	1	1	4			2																									
11	2	1	1	1				1																									
12	1				4			1																									
13					1														1		1												
14																						1					1		1	1			
15																						2						1		2			
16																														1	1	1	
17																																	
18																		2															
19																					3												
20											1																						
21																		2				1						1		1			
22																						1		1			1			1			
23																		1							1	1							
24																		2							2								
25																		2							1					1			
26																																	
27										3										1											1		
Всего:	3	1	1	1	24	1	1	2	1	3	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	4	4	1	1	4	1	1	1	2	1	8	1	1

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Всего исследовали 366 экз. гольцов.

По объединённой последовательности длиной 1574 п.н. (1–559 п.н. *D-loop* и 560–1574 п.н. *CytB*) для 366 экз. гольцов выявлены 52 переменных сайта и 67 разных гаплотипов (табл. 4, 5).

У гольцов озерно-речной системы Кроноцкая (289 экз.):

На участке *D-loop* митохондриальной ДНК выявлены 7 переменных сайтов (1.25% от всех сайтов) и 8 разных гаплотипов. Частота нуклеотидов: А = 30.95%, Т = 31.91%, С = 20.96% и G = 16.18%; трансверсии на участке *D-loop* митохондриальной ДНК не обнаружены.

На участке митохондриального гена *CytB* выявлены 36 переменных сайтов (3.55% от всех сайтов) и 38 разных гаплотипов. Частота нуклеотидов: А = 24.08%, G = 15.81%, Т = 29.08%, С = 31.03%; соотношение транзиций к трансверсиям – 6.18.

По объединённой последовательности длиной 1574 п.н. (1–559 п.н. *D-loop* и 560–1574 п.н. *CytB*) у голец озеро-речной системы Кроноцкая выявлены 43 переменных сайта и 49 разных гаплотипов (табл. 4, 5).

Таблица 6. Оценки попарной генетической дифференциации по объединённой последовательности (1-559 п.н. *D-loop*, 560-1574 п.н. ген *CytB*) между формами голец рода *Salvelinus* из озеро-речной системы Кроноцкая

Выборка	Форма	Выборка				
		1-3	4-6	7	8-10	11,12
1-3	Носатый голец		0.00279	0.00333	0.00203	0.00272
4-6	Белый голец	0.07621**		0.00320	0.00253	0.00282
7	Карликовый голец	0.14040*	0.00214		0.00329	0.00327
8-10	Длинноголовый голец	0.03394*	0.12275**	0.32623*		0.00246
11,12	Проходная	0.17000**	0.11931**	0.17174**	0.24011**	

Примечание. Ниже диагонали – F_{ST} , выше диагонали – генетические дистанции (Тамура, Nei, 1993); номер выборки как в табл. 1; * – значения F_{ST} достоверны при $p < 0.05$, ** – $p < 0.001$. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

При сравнении выборок одной формы, собранных в разные годы, по F_{ST} -критерию достоверные различия были найдены для носатого гольца и проходной мальмы. Для проходной мальмы эти различия можно объяснить гетерогенностью выборок, взятых в разные годы, что характерно для

анадромных рыб с высоким хомингом. Что касается носатого гольца, то эти различия обусловлены, главным образом, присутствием гаплотипа H2 (9 экз. из 27) в выборке 2003 г. при отсутствии этого гаплотипа в выборках 2010-2011 гг. Следует отметить, что в 2003 г. подавляющее число рыб с этим гаплотипом были отловлены в районе р. Лиственничная (7 особей из 9), а в 2010-2011 гг. сборы в этом районе не проводили. Таким образом, различия между выборками по гаплотипу H2, скорее всего, обусловлены разными районами вылова и возможной гетерогенностью распределения гаплотипов внутри озера. Из выборок носатого гольца выборка 2011 г. является наиболее однородной (34 из 39 экз. имеют гаплотип H11 или гаплотипы, отличающиеся от него на 1 мутацию). В то же время наличие гаплотипов H1, H11 и H39 в трех выборках носатого гольца (2003 г., 2010 г. и 2011 г.) (табл. 5) свидетельствует о генетическом сходстве выборок, собранных в разные годы.

По результатам анализа мтДНК был определен уровень попарной межвыборочной дифференциации. Для выборок озерно-речной системы Кроноцкая в величинах F_{ST} уровень дифференциации варьирует от 0.00214 до 0.32623 (табл. 6). Наибольший уровень отличий (0.32623) наблюдается между длинноголовым и карликовым гольцами, наименьший (0.00214) – между белым гольцом и карликовым гольцом. Отличия по F_{ST} между белым и носатым гольцами, белым и длинноголовым, а также отличия проходной мальмы от других популяций показывают высокий уровень достоверности ($p < 0.001$). Общий уровень дифференциации среди всех выборок составляет 0.115; значение молекулярной дисперсии (AMOVA) между популяциями – 11.51% ($p < 0.001$), а внутри популяций – 88.49%.

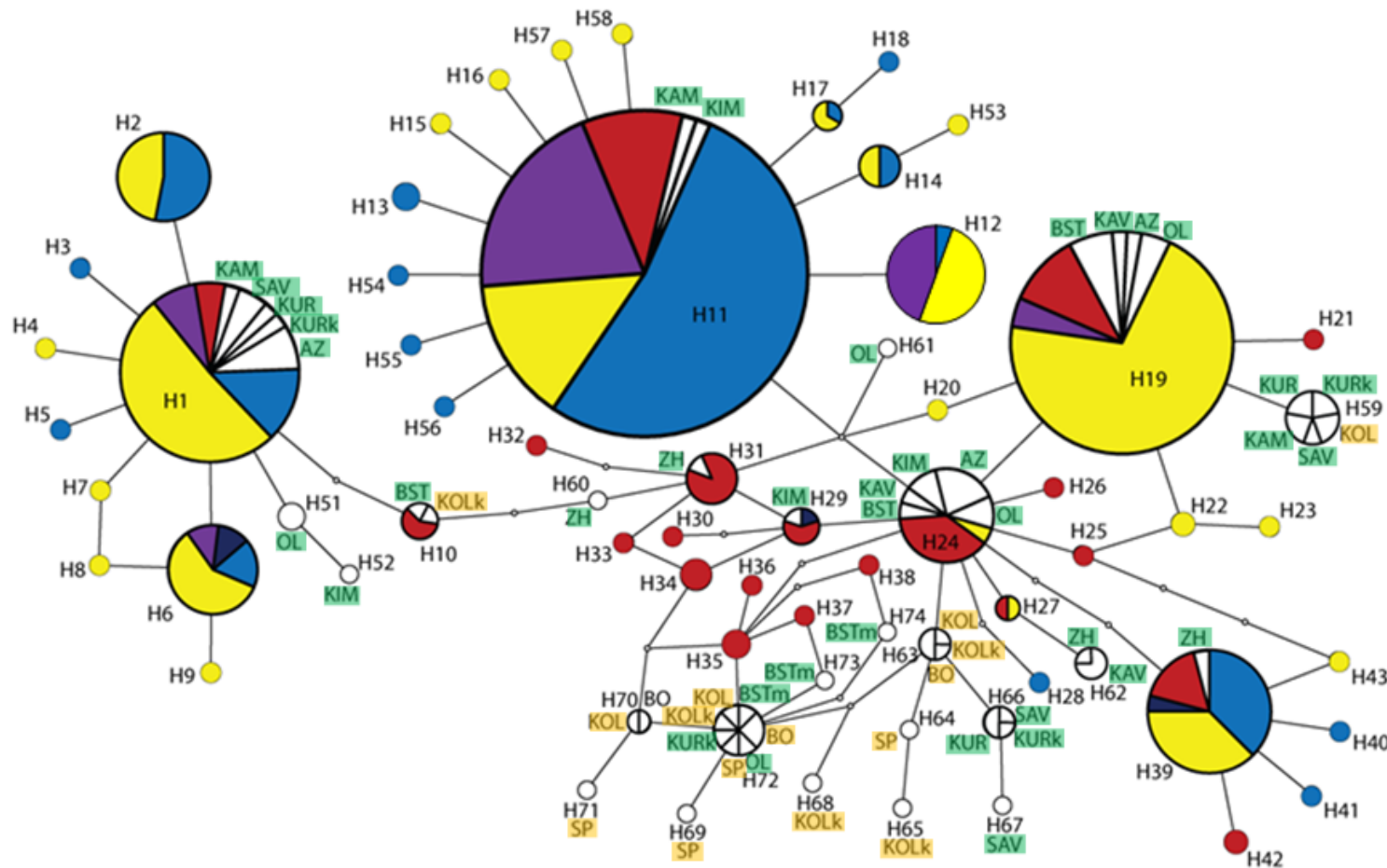


Рис. 2. Филогенетическая сеть гаплотипов участка *D-loop* мтДНК и гена *CytB* гольцов рода *Salvelinus* из озёрно-речной системы Кроноцкая и других водоемов Камчатки, построенная методом максимальной парсимонии (программа TCS). Размер кружков и секторов пропорционален частоте встречаемости гаплотипов; H1–H74 – гаплотипы как в табл. 4, 5. Обозначения выборки: ■ - 1-3 (носатый голец), ■ - 4-6 (белый голец), ■ - 7 (карликовый голец), ■ - 8-10 (длинноголовый голец), ■ - 11,12 (проходная мальма), ZH– 13 (р. Жупанова), SP– 14 (р. Сопочная), BO– 15 (р. Большая), BSTm – 16 (р. Быстрая, каменный голец), BST – 17 (р. Быстрая), KAM – 18 (р. Камчатка), KAV – 19 (р. Кавыча), KIM – 20 (р. Кимитина), KOL – 21 (р. Коль), KOLk – 22 (р. Коль, карликовые самцы), SAV – 23 (р. Саван), KUR – 24 (оз. Курильское), KURk – 25 (оз. Курильское, карликовые самцы), AZ – 26 (притоки оз. Азабачье), OL – 27 (Олюторский залив). ■ - водоемы с восточного и ■ - с западного побережий Камчатки. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Генетические дистанции (Tamura, Nei, 1993) показывают очень низкий уровень различий между формами – 0.00203–0.00333 (табл. 6). Наименьший уровень различий (0.00203) выявлен между носатым гольцом и длинноголовым гольцом, наибольший (0.00333) – между носатым и карликовым гольцами. Карликовый голец имеет наибольший уровень отличия от остальных форм (от 0.00320 до 0.00333), что, скорее всего, связано с маленькой выборкой – всего 4 экз.

Филогенетические отношения между гаплотипами исследуемых форм гольцов озёрно-речной системы Кроноцкая представлены на рис. 2. Видно, что гольцы Кроноцкого озера несут 4 массовых гаплотипа (Н1, Н11, Н19, Н39), причём каждый из них имеет и проходная форма мальмы из р. Кроноцкая. От каждого массового гаплотипа отходит небольшое число гаплотипов (в основном выявленных у единичных особей; но есть и гаплотипы – Н2, Н6, Н12, которые выявлены у 11–12 экз.), отличающихся на 1–2 мутации.

Пронализировав 24 экз. носатого гольца 2003 г., 17 экз. носатого гольца 2010 г. и 39 экз. носатого гольца, пойманного в 2011 году, мы видим, что ни один из них не имеет гаплотипа Н19 (табл. 5, рис. 2). Исследовав 80 экз. носатого гольца из Кроноцкого озера, мы можем предположить, что отсутствие у него гаплотипа Н19 указывает не на недостаточность выборки, а определяется некими генетическими различиями. При этом, учитывая, что проведен анализ только у взрослых особей разных форм, а также наблюдая большое количество гибридов носатого гольца с другими формами (научные отчеты Кроноцкого Заповедника), говорить о генетической изоляции носатого гольца мы пока не можем.

Часть экземпляров проходной формы мальмы несут массовые гаплотипы гольцов Кроноцкого озера, остальные образуют отдельную сеть, неперекрывающуюся с озёрными формами.

Гольцы из других водоемов Камчатки имеют гаплотипы, которые обнаружены у гольцов озёрно-речной системы Кроноцкая (Н1, Н11, Н19,

H39, H10, H24, H29, H31), а также гаплотипы, которые у гольцов озерно-речной системы Кроноцкая не выявлены (H51, H52, H59-H74). При этом гаплотипы гольцов из Кроноцкого озера встречаются только у гольцов из водоемов восточного побережья Камчатки. Однако у проходной мальмы из реки Кроноцкая выявлен гаплотип, обнаруженный у гольцов из реки Коль с западного побережья Камчатки. В основном гаплотипы гольцов с западного побережья Камчатки располагаются отдельно от восточнокамчатских, но есть и перекрывания. Все выявленные гаплотипы камчатских гольцов принадлежат к генетической линии северной мальмы.

Существуют две основные гипотезы образования разных форм гольцов Кроноцкого озера. Гипотеза, выдвинутая Викторовским (1978), предполагает три последовательные инвазии, давшие начало соответственно длинноголовому, носатому и белому гольцам. По мнению Савваитовой (1989), все гольцы Кроноцкого озера имеют одного общего предка, а становление форм произошло уже внутри озера.

Анализируя полученную сеть гаплотипов (рис. 2), можно предположить, что проходная форма мальмы из р. Кроноцкая является предковой по отношению к остальным озёрным формам, так как обладает всеми массовыми гаплотипами озёрных форм. Скорее всего, озёрные формы, получив от проходной мальмы исходные гаплотипы, в условиях изоляции начали формировать новые, отличающиеся на 1–2 мутации от исходных, но не встречающиеся у проходной формы. Можно предположить, что 4 массовых гаплотипа гольцов Кроноцкого озера присутствовали в водоёме на момент образования. Это говорит в пользу эффекта основателя при изоляции предковой популяции кроноцких гольцов и её исходно небольшой численности.

Кроноцкое озеро образовалось в конце позднего плейстоцена (Шанцер, Мелекесцев, 1967), примерно 12–14 тыс. лет назад. Принято считать, что средняя скорость нуклеотидных замен в мтДНК – 2–4% за млн. лет (Brown et al., 1979), однако в условиях озёр подобные процессы могут протекать

быстрее. Показано, что для популяций мизид (Mysidae), заселявших постледниковые озёра Скандинавии и проходивших через значительный рост численности при заселении новообразовавшихся озёр, скорость накопления мутаций может достигать 0.27% за 10 тыс. лет (Audzijonyte, Vainola, 2006). Эти показатели примерно соответствуют скорости образования новых гаплотипов в исследуемой озёрно-речной системе, и мы предполагаем изоляцию гольцов в озере примерно равной возрасту водоёма. Дополнительные крупные инвазии проходной мальмы в озеро, скорее всего, не происходили.

Проводимые ранее исследования митохондриального генома гольцов Кроноцкого озера показали незначительную дивергенцию на уровне озёрных форм. Так, в 2005 г. были опубликованы результаты крупного исследования генетического разнообразия гольцов Кроноцкого озера – анализ аллозимных и микросателлитных локусов, миогенов, RAPD и рестрикционный анализ двух сегментов мтДНК (Салменкова и др., 2005). Из всех исследованных маркеров генетическая дифференциация между формами кроноцких гольцов была найдена только по аллозимным ($F_{ST} = 0.120$) и микросателлитным ($F_{ST} = 0.217$) локусам. Проведённый авторами рестрикционный анализ двух участков мтДНК общей длиной 2537 п.н. (сегмента *ATPase/ND4L*, включающего 6 генов, и сегмента гена цитохрома *b*) выявил изменчивость только по второму сегменту. Среди 4 форм (носатый голец, белый голец, длинноголовый голец, речная мальма) гольцов Кроноцкого озера были найдены 2 гаплотипа (более частый соответствует гаплотипу северной мальмы (Радченко, 2002), а более редкий ранее был отмечен только у чукотских популяций (Радченко, 2002)), и качественные различия между формами не выявлены.

При исследовании изменчивости гена цитохрома *b* у кроноцких гольцов (Радченко и др., 2006) было выявлено 11 гаплотипов, принадлежащие к 2 линиям мтДНК (2 группы гаплотипов), обнаруженным ранее с помощью рестриктного анализа (Салменкова и др., 2005). Авторы

предполагают, что возраст возникновения этих линий (400 тыс. лет) значительно превышает возраст возникновения озера Кроноцкое, и считают, что озеро заселила предковая форма, несущая обе этих линии. Полученное значение уровня дивергенции гена цитохрома *b* среди кроноцких гольцов (0.48%) примерно равно уровню дивергенции среди гаплотипов северной мальмы из других регионов. К сожалению, авторы располагали выборкой лишь в 13 экз. кроноцких гольцов и не смогли провести сопоставление выявленной генетической вариабельности с фенетическим разделением на формы.

В нашей работе, исследовав гораздо больший объём материала, мы также выявили 2 линии мтДНК по гену *CytB*, выявленные ранее (Радченко и др., 2006 г.). Первую линию имеют 155 экз. (гаплотипы H11–H43, H53–H58), вторую – 47 экз. (гаплотипы H1–H9). Принадлежности этих линий к той или иной форме гольцов Кроноцкого озера мы, как и предыдущие исследователи (Радченко и др., 2006), не выявили. Поэтому, учитывая собственные и литературные данные (Салменкова и др., 2005; Радченко и др., 2006), мы не можем рассматривать несколько линий митохондриального генома современных форм кроноцких гольцов как факт, указывающий на их аллопатрическое происхождение.

Остберг с соавторами (Ostberg et al., 2009), используя для рестриктного анализа мтДНК 33 рестриктазы, выявили 15 гаплотипов (11 среди 5 форм гольцов Кроноцкого озера: носатый голец, белый голец, длинноголовый голец, карликовый голец, речная мальма) на участке общей длиной 723 п.н., включающем *D-loop*, *ND2*, *ND3/ND4*, *ND5/ND6*. Общий уровень дивергенции среди форм гольцов, по мнению авторов, оказался довольно низкий. Уровень попарной межвыборочной дифференциации в величинах F_{ST} варьирует от 0.002 до 0.217. Общий уровень $F_{ST} = 0.106$, что достаточно близко к полученному нами ($F_{ST} = 0.134$) несмотря на разные методы. При этом было показано отличие длинноголового гольца от остальных форм и выдвинуто предположение, что гольцы Кроноцкого озера имеют две предковые формы.

Одна дала начало речной мальме, носатому, белому и карликовому гольцу, а другая – длинноголовому. Ранее полученные нами данные (Сенчукова и др., 2012) также указывали на относительную обособленность длинноголового гольца от остальных гольцов озера вследствие его наиболее низкого генетического разнообразия. При этом предполагалась его дивергенция от общей с остальными кроноцкими гольцами предковой формы. Дополнив выборку длинноголового гольца сборами 2011 г., мы видим, что наименьшее генетическое разнообразие длинноголового гольца может объясняться относительно небольшой выборкой (рис. 2).

Для генетической идентификации карликового гольца по мтДНК Павлов с соавторами (2012) использовали 4 рестриктазы. По 3 рестриктазам дивергенция среди 5 форм не выявлена, по одной – обнаружен уникальный (по мнению авторов) гаплотип у карликового гольца (одна из четырёх особей в выборке 2003 г.). Полученные нами данные по последовательности изученных митохондриальных генов не позволяют сделать однозначный вывод о генетической обособленности карликовой формы, поскольку гаплотипы не формируют родственные кластеры (рис. 2).

Рестриктный анализ 6 участков митохондриального генома (*ND1/ND2*, *ND3/ND4L/ND4*, *ND5/ND6*, *COI/COII/A8*, *A8/A6/COIII/ND3*, и *Cytb/D-loop*) гольцов из озера Кроноцкое показал, что белый голец, носатый голец и длинноголовый голец имеют низкий уровень дивергенции и произошли от *S. m. malma*, сохранив черты предкового полиморфизма (на полученных генеалогических деревьях для каждого из трех форм (видов) озерных гольцов в центре находится один из основных гаплотипов северной мальмы) (Oleinik, Skurikhina, 2010; Олейник, 2013). Полученные нами данные также показывают низкий уровень дивергенции мтДНК среди форм гольцов Кроноцкого озера и позволяют предположить, что проходная мальма из р. Кроноцкая является предковой по отношению к остальным озерным формам.

Таким образом, обобщая собственные и литературные данные по митохондриальному геному гольцов озёрно-речной системы Кроноцкая, у

нас нет оснований говорить о происхождении каких-либо озёрных форм вследствие нескольких независимых вселений. Наиболее вероятно монофилетическое происхождение всех форм гольцов Кроноцкого озера от общей небольшой популяции, существовавшей в реке на момент формирования озера. Полученные нами данные подтверждают гипотезу, предложенную К.А. Савваитовой (1989), о том, что все гольцы Кроноцкого озера имеют одного общего предка, а становление форм произошло уже внутри озера.

Результаты наших исследований кроноцких гольцов позволяют заключить, что вариабельность митохондриального генома эффективна для выяснения происхождения и направленности дивергенции форм гольцов Кроноцкого озера, но не имеет достаточной мощности для использования в популяционно-генетических работах с гольцами внутри этой озёрно-речной системы. Для решения подобных задач, вероятно, следует использовать маркеры ядерной ДНК. Лучше всего для этого соответствуют микросателлитные локусы, т.к. имеют высокую скорость мутирования и обладают высоким аллельным разнообразием. Во многих сходных исследованиях мст-локусы используются для выявления дифференциации среди близкородственных популяций или экологических групп одного вида.

Поэтому на следующем этапе исследования мы использовали микросателлитные локусы для дифференциации гольцов озёрно-речной системы Кроноцкая.

3.2. Генетическая дифференциация гольцов (род *Salvelinus*) озёрно-речной системы Кроноцкая на основе микросателлитного анализа

Для исследования генетической дифференциации гольцов озёрно-речной системы Кроноцкая с помощью микросателлитных локусов были взяты выборки от пяти форм гольцов из озера Кроноцкое: носатый голец

(2003 г., 2010 г., 2011 г.) – 90 экз., белый голец (2003 г., 2011г.) – 104 экз., речная мальма (2003 г.) – 37 экз., карликовый голец (2003 г.) – 4 экз., длинноголовый голец (2003 г., 2010 г., 2011 г.) – 31 экз.; а также проходная мальма из реки Кроноцкая (2004 г., 2010 г.) – 68 экз. Всего было исследовано 334 экз., карта-схема сбора выборок и № экз. представлены на рис. 3 и в табл. 7.

Для микросателлитного анализа использовали 9 микросателлитных локусов (*Smm3*, *Smm5*, *Smm21*, *Smm22*, *Ssa197*, *SSOSL456*, *Smm24*, *Sco204*, *Sco205*) (табл. 2).

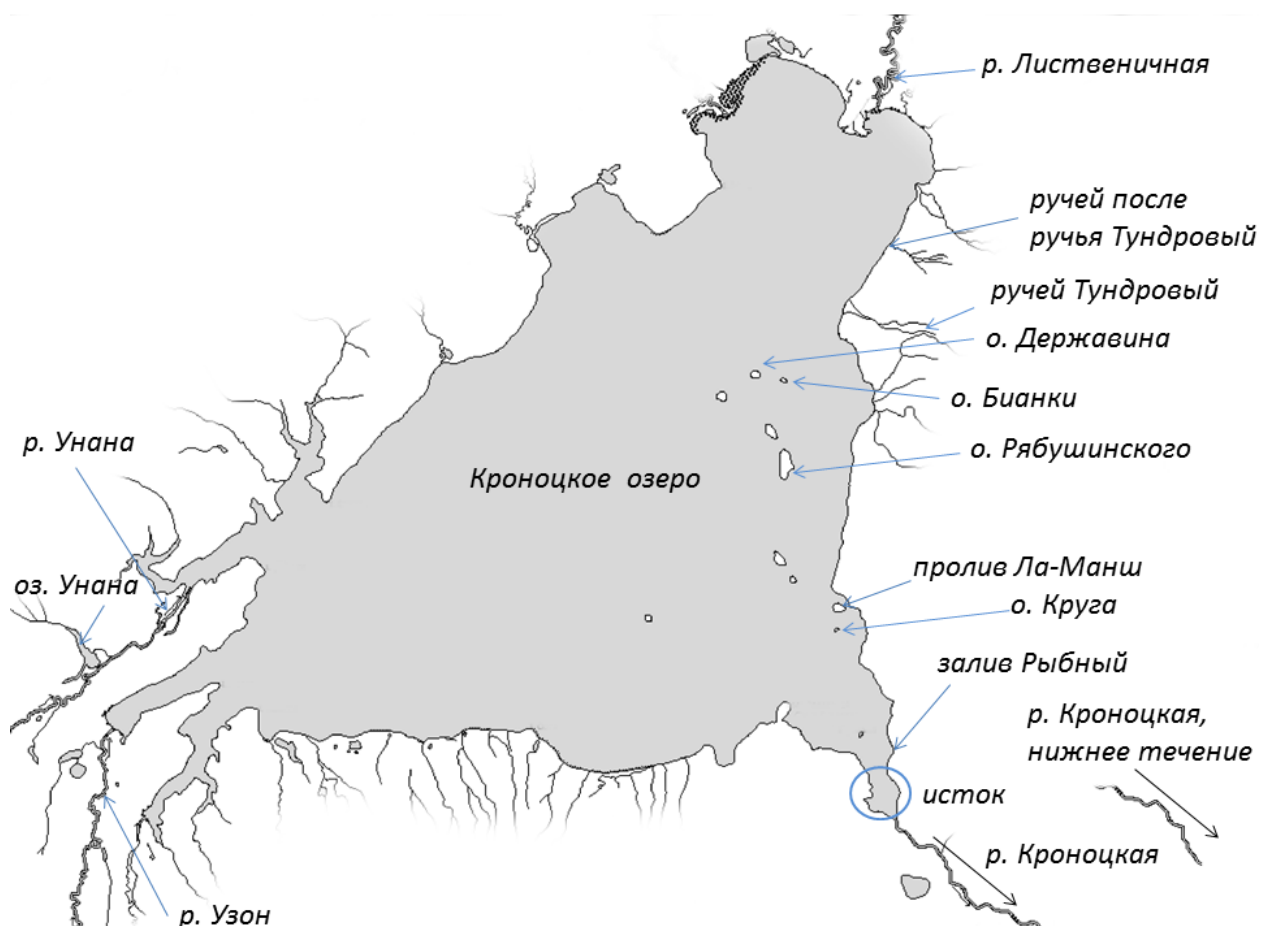


Рис. 3. Карта-схема сбора выборок гольцов оз. Кроноцкого

Таблица 7. № экз., выборка, форма, год и место сбора гольцов рода *Salvelinus* из озерно-речной системы Кроноцкая, включенных в исследование с помощью микросателлитных локусов

№ экз.	Выборка	Форма	Год сбора	Место сбора
1-7	1	Носатый голец	2003	исток
8-28	1	Носатый голец	2003	р. Лиственичная
29-32	2	Носатый голец	2010	исток
33-36	2	Носатый голец	2010	залив Рыбный
37,38	2	Носатый голец	2010	севернее о. Бианки
39-48	2	Носатый голец	2010	залив Рыбный
49	2	Носатый голец	2010	исток
50	2	Носатый голец	2010	
51-54	3	Носатый голец	2011	о. Державина
55-80	3	Носатый голец	2011	о. Круга
81-83	3	Носатый голец	2011	р. Узон
84-90	3	Носатый голец	2011	исток
91-120	4	Белый голец	2003	исток
121-126	4	Белый голец	2003	р. Узон
127-138	4	Белый голец	2003	р. Унана
139-147	4	Белый голец	2003	р. Лиственичная
148-154	5	Речная мальма	2003	исток
155-165	5	Речная мальма	2003	р. Унана
166-170	5	Речная мальма	2003	исток
171-174	5	Речная мальма	2003	р. Унана
175-184	5	Речная мальма	2003	р. Лиственичная
185-187	6	Белый голец	2011	р. Лиственичная
188-193	6	Белый голец	2011	ручей Тундровый
194-201	6	Белый голец	2011	р. Узон
202-204	6	Белый голец	2011	ручей после ручья Тундровый
205	6	Белый голец	2011	оз. Унана
206-210	6	Белый голец	2011	о. Державина
211-215	6	Белый голец	2011	о. Круга

Таблица 7. Окончание

№ экз.	Выборка	Форма	Год сбора	Место сбора
216-220	6	Белый голец	2011	Пролив Ла-Манш
221-226	6	Белый голец	2011	исток
227-231	6	Белый голец	2011	о. Рябушинского
232-235	7	Карликовый голец	2003	исток
236-239	8	Длинноголовый голец	2003	исток
240-249	8	Длинноголовый голец	2003	р. Лиственичная
250-252	9	Длинноголовый голец	2010	исток
253	9	Длинноголовый голец	2010	залив Рыбный
254	9	Длинноголовый голец	2010	
255	9	Длинноголовый голец	2010	
256	9	Длинноголовый голец	2010	
257,258	9	Длинноголовый голец	2010	устье ручья Тундровый
259-264	10	Длинноголовый голец	2011	исток
265	10	Длинноголовый голец	2011	Узон
266	10	Длинноголовый голец	2011	ручей после ручья Тундровый
267-295	11	Проходная мальма	2004	р. Кроноцкая, нижнее течение
296-334	12	Проходная мальма	2010	р. Кроноцкая, нижнее течение

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Результаты анализа изменчивости девяти микросателлитных локусов представлены в табл. 8. Восемь из девяти локусов оказались полиморфны, локус *Smm5* – мономорфным.

Число аллелей по разным локусам варьирует от 1 (локусы *Smm5* – у всех выборок и *SSOSL456* – у карликового гольца 2003 г., длинноголового гольца 2003г. и длинноголового гольца 2011 г.) до 35 (локус *Sco204* – у проходной мальмы 2010 г.), а величина гетерозиготности от 0 (локус *Smm5* – у всех, локус *SSOSL456* – у карликового гольца 2003 г., длинноголового гольца 2003г. и длинноголового гольца 2011 г.) до 0,961(локус *Sco204* – у проходной мальмы 2010 г.) (табл. 8).

Таблица 8. Основные показатели изменчивости 9 микросателлитных локусов у гольцов озерно-речной системы Кронецкая

Носатый голец 2003 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-248	116-120	150-330	194-326	176-182	116-134	219-239
N	28	28	28	27	27	26	28	27	26
A/A'	1	2/2	12/7.4	2/1.8	26/12.3	19/10.2	4/2.6	3/2	6/4.7
Ho	0,000	0,357	0,893	0,074	0,889	0,962	0,571	0,074	0,692
He	0,000	0,459	0,851**	0,137*	0,944	0,908	0,443	0,139*	0,674
Носатый голец 2010 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-260	116-120	170-330	202-310	176-182	116-134	219-247
N	21	21	22	22	21	22	22	22	19
A/A'	1	2/2	16/9.4	2/2	24/13	20/12	4/3	3/2.2	8/6
Ho	0,000	0,333	0,773	0,000	0,810	0,909	0,500	0,136	0,737
He	0,000	0,459	0,876***	0,236***	0,949*	0,940	0,563	0,206	0,798
Носатый голец 2011 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-236	116-120	162-362	210-334	170-182	116-128	219-243
N	40	40	40	40	40	38	40	39	40
A/A'	1	2/2	18/9.8	2/1.6	29/11.8	27/11.5	5/2.6	2/1.5	7/5.1
Ho	0,000	0,375	0,875	0,000	0,850	0,868	0,300	0,077	0,675
He	0,000	0,387	0,911*	0,095***	0,940	0,936	0,349	0,074	0,774***
Белый голец 2003 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-252	116-120	134-330	194-330	176-182	116-128	219-243
N	57	57	57	56	52	55	56	57	49
A/A'	1	2/2	16/8	2/2	35/11.3	32/12.3	3/1.6	2/2	7/5.2
Ho	0,000	0,246	0,807	0,196	0,750	0,945	0,089	0,316	0,735
He	0,000	0,266	0,823	0,384***	0,920**	0,953	0,086	0,332	0,758
Речная мальма 2003 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-248	116-120	146-326	194-350	176-188	116-128	219-251
N	37	37	37	37	36	35	37	36	35
A/A'	1	2/2	18/8.7	2/2	28/11.8	29/12.2	6/2.7	2/2	7/6.1
Ho	0,000	0,270	0,838	0,270	0,806	0,914	0,162	0,278	0,629
He	0,000	0,307	0,856	0,482**	0,942	0,947	0,245***	0,313	0,833
Белый голец 2011 г.									
Локус	Smm5	Smm3	Smm22	Ssa197	Sco204	Smm24	SSOSL456	Smm21	Sco205
	88	117-119	136-228	116-120	146-366	194-322	176-178	116-128	219-239
N	46	46	46	46	44	45	46	45	46
A/A'	1	2/2	16/7.5	2/2	35/12.7	26/11.4	2/2	2/2	6/5.5
Ho	0,000	0,413	0,717	0,217	0,932	0,867	0,130	0,356	0,630
He	0,000	0,375	0,789***	0,364**	0,956	0,941***	0,258***	0,346	0,793**

Таблица 8. Окончание

Карликовый голец 2003 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-119	136-216	116-120	178-326	202-294	176	116-134	219-247
N	4	4	4	4	4	4	4	4	4
A/A'	1	2	6	2	6	7	1	3	6
Ho	0,000	0,500	1,000	0,000	0,750	1,000	0,000	0,750	1,000
He	0,000	0,375	0,813	0,375*	0,813	0,844	0,000	0,531	0,813
Длинноголовый голец 2003 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-119	136-236	116-120	146-294	230-278	176	116-128	219-239
N	14	14	14	14	14	14	14	14	14
A/A'	1	2/1.8	10/8.1	2/2	13/10.1	10/8	1/1	2/2	6/5.1
Ho	0,000	0,000	0,786	0,286	0,929	0,929	0,000	0,571	0,714
He	0,000	0,133***	0,849	0,408	0,903	0,852	0,000	0,459	0,770
Длинноголовый голец 2010 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-119	136-224	116-120	146-306	206-314	176-178	116-128	219-239
N	9	9	9	9	9	9	9	9	9
A/A'	1	2/2	9/8.4	2/2	14/12.8	13/12	2/2	2/2	6/5.9
Ho	0,000	0,222	0,889	0,333	0,889	1,000	0,222	0,444	0,889
He	0,000	0,198	0,796	0,475	0,914	0,907	0,198	0,494	0,784
Длинноголовый голец 2011 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-119	136-232	116-120	146-314	206-298	176	116-128	219-239
N	8	8	8	8	8	8	8	8	8
A/A'	1	2/2	9/9	2/2	12/12	11/11	1/1	2/2	5/5
Ho	0,000	0,125	0,625	0,250	1,000	0,875	0,000	0,500	0,625
He	0,000	0,117	0,766	0,500	0,898	0,891	0,000	0,500	0,719
Проходная мальма 2004 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-121	148-244	120	126-378	198-314	168-186	116-134	223-251
N	29	29	29	29	29	29	29	28	22
A/A'	1	3/2.7	16/9.3	1/1	32/13.4	25/12	5/3.8	5/3.6	8/6.9
Ho	0,000	0,414	0,897	0,000	0,966	0,931	0,517	0,536	0,773
He	0,000	0,561	0,897	0,000	0,959**	0,941	0,559	0,656	0,842
Проходная мальма 2010 г.									
Локус	<i>Smm5</i>	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Sco205</i>
	88	117-119	136-256	116-128	138-342	194-334	168-184	116-134	219-243
N	39	38	39	36	36	37	39	39	35
A/A'	1	2/2	21/9.7	3/2.5	35/13.3	28/12.6	5/2.8	4/3.2	7/6.3
Ho	0,000	0,421	0,897	0,056	0,972	0,919	0,231	0,410	0,886
He	0,000	0,450	0,903	0,434***	0,961	0,954	0,275*	0,623**	0,842

Примечание: Min-max – диапазон размера аллелей в парах нуклеотидов; N–число образцов; A/A' – наблюдаемое число аллелей/ скорректированное число аллелей для минимального размера выборки (N=8); He и Ho – гетерозиготность, соответственно ожидаемая по Харди-Вайнбергу и наблюдаемая. Отклонения от равновесия Харди-Вайнберга достоверны при p: * - <0.05, ** - < 0.01, *** - < 0.001.

Во многих случаях (в 24 из 108 сопоставлений) отмечается отклонение равновесия от Харди-Вайнберга, вызванное дефицитом гетерозигот (табл. 8). Мы предполагаем, что отклонение от равновесия Харди-Вайнберга является следствием эффекта Валунда, наблюдающегося в выборках, которые представлены генетически различающимися популяциями одной формы.

Однако при проверке достоверности различий (оцененных с помощью критерия χ^2 (Хи-квадрат)) между выборками от разных форм гольцов озерно-речной системы Кронецкая наблюдаются значимые и высокосignимые различия (табл. 9).

Так, найдены достоверные различия между выборкой носатого гольца 2003 г. и выборками носатого гольца 2010 г. и 2011 г., между выборками носатого и белого гольцов разных лет сборов (кроме выборок носатого гольца 2003 г. и белого гольца 2011 г.) (табл. 9).

Выборка карликового гольца не имеет достоверных отличий от других выборок, что, скорее всего, связано с небольшой выборкой – всего 4 экз. (табл. 9).

Также выявлены достоверные различия между выборкой длинноголового гольца 2003 г. и всеми выборками носатого и белого гольцов (табл. 9).

Выборки длинноголового гольца 2010 и 2011 годов сбора достоверно отличаются только от выборок носатого гольца, что, возможно, также связано с малыми выборками – 9 и 8 экз. (табл. 9).

Между выборками белого гольца 2003 г., 2010 г. и речной мальмой (2003 г.) значимых различий не выявлено.

Выборки проходной мальмы имеют достоверные отличия от всех исследованных выборок, кроме выборки карликового гольца и выборок длинноголового гольца 2010 г. и 2011 г. (табл. 9).

Таблица 9. Значимость различий между выборками голецов озерно-речной системы Кроноцкая, оцененная с помощью критерия χ^2 (Хи-квадрат) (суммарно по 9 локусам с поправкой для множественных тестов)

Выборка	Форма, год сбора	Выборка											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	носатый голец, 2003 г.												
2	носатый голец, 2010 г.	***											
3	носатый голец, 2011 г.	***	ns										
4	белый голец, 2003 г.	***	***	***									
5	речная мальма, 2003 г.	***	**	***	ns								
6	белый голец, 2011 г.	ns	***	***	ns	ns							
7	карликовый голец, 2003 г.	ns	ns	ns	ns	ns	ns						
8	длинноголовый голец, 2003 г.	***	***	***	***	*	**	ns					
9	длинноголовый голец, 2010 г.	*	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns				
10	длинноголовый голец, 2011 г.	*	**	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns			
11	проходная мальма, 2004 г.	***	**	***	***	***	***	ns	***	***	***		
12	проходная мальма, 2010 г.	***	**	***	***	***	***	ns	**	ns	ns	***	

Примечание: p : * - < 0.05, ** - < 0.01, *** - < 0.001; ns – незначимые различия. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Таблица 10. Оценки попарной генетической дифференциации в величинах F_{ST} между формами гольцов рода *Salvelinus* из озёрно-речной системы Кроноцкая по 9 микросателлитным локусам

Выборка	Форма, год сбора	Выборка											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	носатый голец, 2003 г.	0.00000											
2	носатый голец, 2010 г.	0.14180	0.00000										
3	носатый голец, 2011 г.	0.22661	0.03621	0.00000									
4	белый голец, 2003 г.	0.05137	0.14535	0.24664	0.00000								
5	речная мальма, 2003 г.	0.04585	0.08559	0.18682	0.00885	0.00000							
6	белый голец, 2011 г.	0.01971	0.11905	0.21728	0.00468*	0.00787*	0.00000						
7	карликовый голец, 2003 г.	0.12999	0.05020*	0.16681	0.06854	0.02057*	0.06544	0.00000					
8	длинноголовый голец, 2003 г.	0.15774	0.09667	0.19537	0.07266	0.04083	0.07803	0.01369*	0.00000				
9	длинноголовый голец, 2010 г.	0.11192	0.07812	0.18033	0.04042	0.00830*	0.03706	-0.00616*	-0.00504*	0.00000			
10	длинноголовый голец, 2011 г.	0.11644	0.12722	0.24001	0.03226	0.01977*	0.03745	0.02565*	0.00725*	-0.02656*	0.00000		
11	проходная мальма, 2004 г.	0.20438	0.05131	0.11394	0.18859	0.13376	0.17019	0.03567*	0.10376	0.08905	0.12777	0.00000	
12	проходная мальма, 2010 г.	0.12589	0.06319	0.15048	0.08856	0.05136	0.08007	-0.01162*	0.03528	0.02352*	0.04444	0.03114	0.00000

Примечание. p : * - > 0.05 . Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Уровень попарной межвыборочной дифференциации в величинах F_{ST} для гольцов озерно-речной системы Кроноцкая варьирует от 0.00504 до 0.24664 (табл. 10). Наибольший уровень различий (0.24664) выявлен между выборкой носатого гольца 2011 г. и белого гольца 2003 г., наименьший (0.01971) между выборкой носатого гольца 2003 г. и белого гольца 2011 г. Уровень отличий выборок носатого и белого гольцов разных лет сборов варьирует от 0.01971 до 0.24664. Высокий уровень дифференциации найден между выборкой носатого гольца 2003 г. и выборками носатого гольца 2010-2011 гг. – 0.14180 и 0.22661, соответственно. Между выборками носатого гольца 2010-2011 гг. уровень дифференциации значительно ниже – 0.03621, но также достоверен.

Выборка белого гольца 2011 г. не имеет значимых отличий от выборок белого гольца 2003 г. и речной мальмы 2003 г. При этом низкий (0.00885), уровень различий выявлен между выборками белого гольца 2003 г. и речной мальмы 2003 г. Возможно, это свидетельствует о том, что в озере обитают озерно-речные популяции мальмы, при этом озерная часть этих популяций имеет морфотип, описанный ранее как белый голец.

Выборка карликового гольца практически не имеет достоверных отличий от остальных выборок кроноцких гольцов, что, вероятно, связано с небольшой выборкой. Также не выявлено значимых различий между выборками длинноголового гольца разных лет сбора, между выборками длинноголового гольца 2010-2011 гг. и речной мальмы 2003 г. и выборкой длинноголового гольца 2010 г. и проходной мальмой 2010 г. Уровень дифференциации проходной мальмы от остальных выборок варьирует от 0.01162 (карликовый голец) - 0.20438 (носатый голец 2003 г.).

С помощью программы STRUCTURE (использовали модель, допускающую гибридное происхождение особей в анализируемой выборке и корреляцию аллельных частот среди кластеров) проанализировали выборку гольцов из озерно-речной системы Кроноцкая при числе задаваемых кластеров (K) равном 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. С каждым предполагаемым числом кластеров проводили по 10 анализов с периодом «прогона» 1000000 повторностей MCMC,

периоде отжига 100000 повторов. Максимальная величина вероятности, соответствующая минимальной оценке лог-правдоподобия $\ln \text{Pr}(X/K)$ (табл. 11), была найдена для $K=4$ (-8787.6), т.е. наиболее вероятна принадлежность всех особей данной суммарной выборки к четырем кластерам (переходя к апостериорной вероятности – вероятность принадлежности всех особей к четырем кластерам равна 1).

Таблица 11. Анализ выборок гольцов озерно-речной системы Кроноцкая с помощью программы STRUCTURE

Число предполагаемых кластеров (K)	Оценки $\log$ -правдоподобия K
1	-9458.3
2	-9055.5
3	-8812.9
4	-8787.6
5	-8814.2
6	-9014.8
7	-8897.6
8	-8901.6

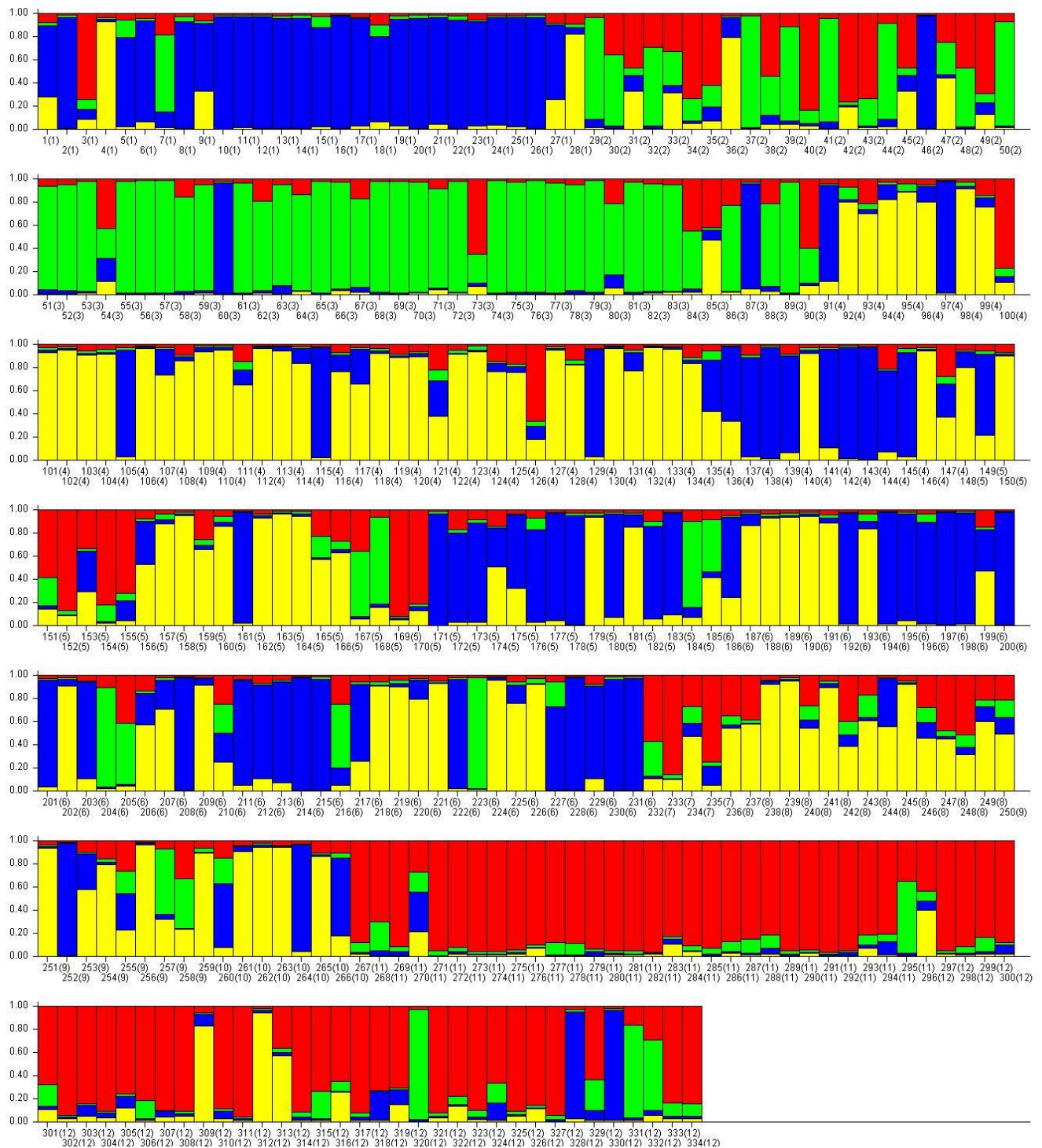


Рис. 4. Гистограмма, построенная с помощью программы STRUCTURE на основании данных микросателлитного анализа, отражающая вероятность принадлежности индивидуальных образцов к каждому из 4 предполагаемых кластеров. На оси абсцисс обозначены анализируемые образцы - № экз., в скобках - № выборки. По оси ординат представлена вероятность соответствия образца каждому из 4 предполагаемых кластеров. № экз. и выборки соответствует таковому в табл. 7. Обозначение кластеров: ■ - первый, ■ - второй, ■ - третий, ■ - четвертый.

Таблица 12. Вероятность принадлежности каждой выборки к одному из четырех кластеров, оцененная с помощью программы STRUCTURE

Вы- борка	Форма, год сбора	Предполагаемые кластеры				Количество экз.
		1	2	3	4	
1	Носатый голец, 2003 г.	0.063	0.114	0.055	0.768	28
2	Носатый голец, 2010 г.	0.351	0.144	0.408	0.097	22
3	Носатый голец, 2011 г.	0.115	0.037	0.776	0.072	40
4	Белый голец, 2003 г.	0.080	0.628	0.023	0.269	57
5	Речная мальма, 2003 г.	0.197	0.384	0.093	0.326	37
6	Белый голец, 2011 г.	0.048	0.369	0.098	0.485	47
7	Карликовый голец, 2003 г.	0.604	0.201	0.106	0.089	4
8	Длинноголовый голец, 2003 г.	0.207	0.657	0.061	0.074	14
9	Длинноголовый голец, 2010 г.	0.127	0.524	0.150	0.199	9
10	Длинноголовый голец, 2011 г.	0.059	0.611	0.047	0.284	8
11	Проходная мальма, 2004 г.	0.863	0.029	0.077	0.030	29
12	Проходная мальма, 2010 г.	0.684	0.115	0.114	0.087	39

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Вероятность принадлежности каждой проанализированной особи к одному из четырех кластеров отражена на гистограмме, представленной на рис. 4, и в табл. 12. Видно, что проходная мальма из реки Кроноцкая с вероятностью 0.68-0.86 относится к первому кластеру, носатый голец 2003 г. с вероятностью 0.77 относится к 4 кластеру, носатый голец 2011 г. с вероятностью 0.78 относится к третьему кластеру, носатый голец 2010 г. практически с равными вероятностями 0.35 и 0.41 относится к первому и третьему кластерам, соответственно. Белый голец 2003 г. с вероятностью 0.63 относится ко второму кластеру и 0.27 – к четвертому. Речная мальма и белый голец 2011 г.

практически с равными вероятностями относятся ко второму (0.38, 0.37) и четвертому (0.33, 0.49) кластерам. Выборки длинноголового гольца разных лет сборов практически с равными вероятностями относятся ко второму кластеру (0.66, 0.52, 0.61).

Выборки носатого гольца 2003 г. и носатого гольца 2011 г. имеют достоверные генетические различия по частотам микросателлитных локусов (табл. 10) и с высокой вероятностью относятся к разным кластерам (рис. 4). Такие различия могут быть связаны с разными местами сбора выборок 2003 г. и 2011 г. Однако, учитывая, что выборки собирались от сходных размерно-возрастных классов, нельзя исключать генетические различия между поколениями в популяциях носатого гольца. В выборках 2003 г. и 2010 г. единично встречалась новая морфа носатого гольца, имевшая морфологические отличия от обычного носатого гольца (отчёты экспед. МГУ 2010-2012 гг.). В 2011 г. данная морфа встречалась массово. Это может указывать на интенсивность микроэволюционных процессов в озере, протекающих в настоящее время как минимум у одной формы (носатого гольца) и, учитывая неполную генетическую изоляцию форм, предполагает динамичность популяционно-генетической структуры кроноцких гольцов.

Таким образом, выявленные различия по частотам микросателлитных локусов у разных форм кроноцких гольцов указывают на ограниченный генетический обмен между ними и неполную репродуктивную изоляцию.

Результаты нашего исследования изменчивости микросателлитных локусов у кроноцких гольцов согласуются с полученными ранее Е.А. Салменковой с соавторами (Салменкова и др., 2005, 2009), также показавшими отсутствие полной репродуктивной изоляции между формами. Однако уровень дифференциации форм кроноцких гольцов в данной работе был несколько выше, что, возможно, связано с меньшими выборками.

3.3. Новые формы глубоководных голец из озера Кроноцкое, выявленные в 2013 г.

В 2013 году в озере Кроноцком были выявлены две новые глубоководные формы голец: малоротый голец и большеротый голец (Салтыкова, Маркевич, 2014, в печати; отчёты экспед. МГУ). При этом нерест этих глубоководных форм, скорее всего, происходит в самом озере в отличие от остальных форм голец (носатый голец, белый голец, длинноголовый голец), которые нерестятся в мелких реках или ручьях, впадающих в озеро.

Для исследования отношений новых форм с другими гольцами из озера Кроноцкое в одном временном интервале из сборов 2013 года были взяты выборки от 5 форм кроноцких голец: носатый голец, белый голец, длинноголовый голец, малоротый голец и большеротый голец. Выборки и формы голец, включенные в исследование, представлены в табл. 13.

Таблица 13. Выборки разных форм голец рода *Salvelinus* из озера Кроноцкое (2013 г.), включенные в исследование

Выборка	Форма	Количество экз.
35	Носатый голец	29
36	Белый голец	12
37	Длинноголовый голец	8
38	Малоротый голец	14
39	Большеротый голец	9
	Всего:	72

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Определена последовательность контрольного региона (*D-loop*) мтДНК длиной 559 п.н. для 48 экз. и последовательность гена *CytB* длиной 1015 п.н. для 72 образцов гольцов.

Таблица 14. Вариабельные сайты в объединённой последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*) у разных форм гольцов рода *Salvelinus* из озера Кроноцкое (2013 г.)

Гаплотипы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																				
	2	4	6	6	7	7	7	8	8	9	9	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	8	4	1	2	8	0	6	9	2	2	0	4	3	8	9	7	8	9	0	0	7
	2	7	0	9	8	7	0	0	0	3	1	1	0	1	3	5	6	3	2	0	3
H1	G	G	T	G	G	C	T	G	C	G	A	G	C	A	T	G	T	A	G	A	G
H11	.	A	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H12	.	A	.	.	A	.	C	.	T	A	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H19	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.
H28	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.
H29	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.
H39	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	C	.	.	.	G	.	.	T
H40	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	C	.	.	.	G	A	.	T
H96	.	A	C	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H97	.	A	.	A	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H98	.	A	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
H99	.	A	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
H100	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H101	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	.	G	.	.	.	.	A	.
H102	A	.	.	.	A	.	C	A	T	A	.	.	.	C	.	.	.	G	.	.	T
H103	A	A	.	.	A	.	C	A	T	A	.	.	.	C	.	.	.	G	.	.	T
H104	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	.	C	.	G	.	G	.	.	T
H105	A	.	.	.	A	T	C	.	T	A	.	.	.	C	.	.	.	G	.	A	T
H106	A	.	.	.	A	.	C	.	T	A	.	.	T	.	C	A	.	.	G	.	T

Таблица 15. Встречаемость гаплотипов у разных форм гольцов рода *Salvelinus* из озера Кроноцкое (2013 г.).

Выборка	Форма	Гаплотипы															
		H1	H11	H12	H96	H97	H98	H99	H100	H19	H28	H29	H101	H39	H40	H102	H103
35	Носатый голец	7	12			1	1	1			1			5			1
36	Белый голец	2	3							5				1		1	
37	Длинноголовый голец	2	3	3													
38	Малоротый голец	4	1	1	1							1		2	3		
39	Большеротый голец			1					1			3	1	1			1
	Всего:	15	19	5	1	1	1	1	1	5	1	4	1	9	3	1	1

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

На участке *D-loop* митохондриальной ДНК выявлены 3 переменных сайта (0,54% от всех сайтов) и 5 разных гаплотипов.

На участке митохондриального гена *CytB* выявлены 22 переменных сайта (от 2,2% всех сайтов) и 15 разных гаплотипов.

По объединённой последовательности длиной 1574 п.н. (1–559 п.н. *D-loop* и 560–1574 п.н. *CytB*) выявлены 25 переменных сайтов и 19 разных гаплотипов (табл. 14, 15).

Филогенетические отношения между исследуемыми формами гольцов из озера Кроноцкое (2013 г.) представлены на рисунке 5. Были выявлены как ранее полученные (H1, H11, H12, H19, H28, H29, H39, H40) так и новые гаплотипы (H96–H106). При этом глубоководные малоротые гольцы имеют массовые гаплотипы кроноцких гольцов H1, H11 и H39. Глубоководные большеротые гольцы имеют из массовых гаплотипов только H39, а также гаплотип H12, отличающийся на 1 мутацию от массового гаплотипа H11. Таким образом, мы не обнаружили принципиально новых гаплотипов у глубоководных форм; они имеют либо массовые гаплотипы озерных гольцов, либо гаплотипы отличающиеся на 1–2 мутации от массовых. Наличие не всех массовых гаплотипов у глубоководных гольцов, скорее всего, связано с малыми выборками.

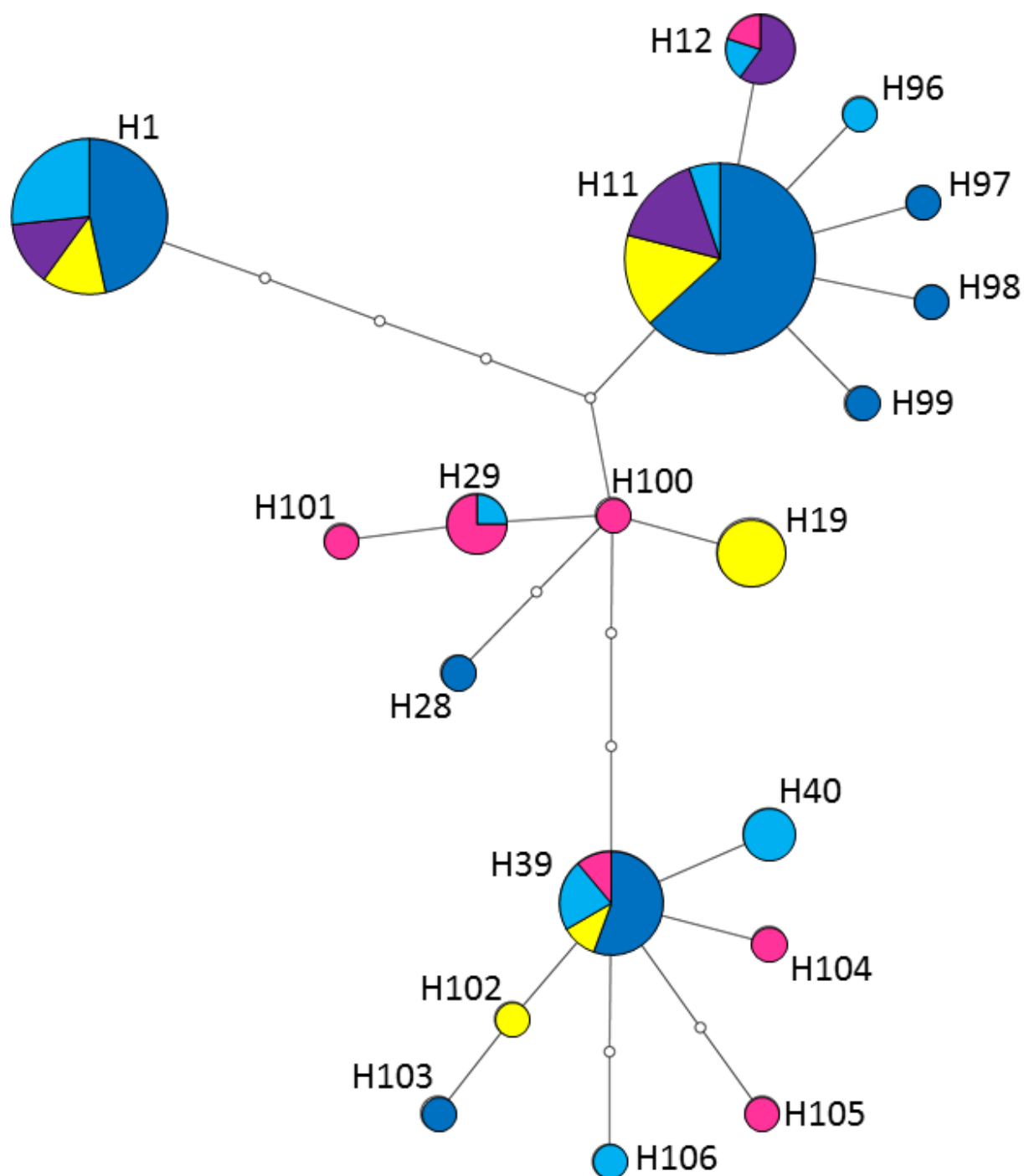


Рис. 5. Филогенетическая сеть гаплотипов участка *D-loop* мтДНК и гена цитохрома *b* гольцов рода *Salvelinus* из озера Кроноцкое, построенная методом максимальной парсимонии (программа TCS). Размер кружков и секторов пропорционален частоте встречаемости гаплотипов; H1–H106 – гаплотипы как в табл. 14, 15. Обозначения выборок: - 35. Носатый голец (2013 г.), - 36. Белый голец (2013 г.), - 37. Длинноголовый голец (2013 г.), - 38. Малоротый голец (2013 г.), - 39. Большеротый голец (2013 г.). Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Дополнив выборки кроноцких гольцов новыми глубоководными формами (малоротой и большеротой), выявленными в 2013 г., следует обратить внимание на гаплотип H29 (табл. 15, рис. 5), который был обнаружен у новых форм, а ранее у карликового гольца и проходной мальмы (Сенчукова и др., 2012). Присутствие данного гаплотипа у новых форм заставляет изменить суждение об уникальности карликового гольца. Учитывая морфологическое сходство, возможно, что форма, обозначенная в 2003 г. как карликовый голец (Павлов и др., 2012), идентична с формой малоротого глубоководного гольца выявленного в 2013 г. (Салтыкова, Маркевич, 2014, в печати; отчёты экспед. МГУ).

Озерно-речная система Кроноцкая достаточно уникальна благодаря наличию физического барьера (речные пороги), непреодолимого для проходной мальмы. Здесь сформировалась эндемичная ихтиофауна, представленная сетью форм, соединенных переходами, которые мы наблюдаем как по морфоэкологической структуре (Павлов и др., 2013), так и по генетическим данным.

Для того чтобы сравнить отношения гольцов Кроноцкого озера с отношениями в симпатрических группировках озерных гольцов различного иерархического статуса, а также с различной историей происхождения, мы исследовали два других водоема.

Один из них – Начикинское озеро, также располагается на Камчатке и находится в той же климатической зоне, что и Кроноцкое; имеет относительно недавнее происхождение, но является фактически открытой системой для проникновения проходной мальмы. Здесь мы наблюдаем совместное существование двух различных видов гольцов – *S. malma* и *S. alpinus*, имеющих различное происхождение (Савваитова, 1976; Савваитова, Васильев, 1976; Олейник, Скурихина, 2007).

Другой водоем – древнее озеро Эльгыгытгын, расположенное на Чукотке, где согласно имеющимся сведениям обитает три сильно дифференцированных формы, достигших как минимум видового статуса. Это *S. boganidae*, *S. elgyticus*, а также *Salvethymus svetovidovi* (длинноперая паляя Световидова, выделенная в отдельный род *Salvethymus*). Происхождение трех видов гольцов озера Эльгыгытгын обычно связывают с тремя вселениями их предковых форм в озеро (Черешнев, Скопец, 1990, 1993).

Глава 4. Гольцы из озера Начикинское

Гольцы рода *Salvelinus* из озера Начикинское (юго-восточная Камчатка) вызывают несомненный научный интерес, поскольку совместное обитание в этом водоёме популяций мальмы (*S. malma*) и арктического гольца (*S. alpinus*) еще раз подтверждает возможность устойчивого существования близкородственных видов в условиях симпатрии.

Впервые озёрный голец из озера Начикинское был выявлен К.А. Савvaitовой (Савvaitова, 1976). Было показано высокое сходство озёрных гольцов из оз. Начикинское и оз. Дальнее по меристическим признакам, окраске, характеру питания, зараженности паразитом (цестодой *Diphyllbothrium* sp.), возрастному составу и темпу роста, особенностям размножения. Голец из оз. Начикинское был отнесен к высокополиморфному виду *Salvelinus alpinus* (Савvaitова, 1976). После сравнения озёрного гольца и озёрно-речной формы мальмы из оз. Начикинского по размерам, темпам роста, питанию, размножению, морфологическим особенностям, окраске и кариотипу, был сделан вывод о репродуктивной изоляции и сильной дивергенции между ними (Савvaitова, Васильев, 1976; Савvaitова, 1989). Молекулярно-генетическое исследование гольцов озера Начикинское впервые проведено в 2007 г. (Олейник, Скурихина, 2007; Олейник, 2013). С помощью рестриктного анализа исследовали три участка митохондриальной ДНК (*ND1/ND2*, *ND5/ND6*, *CytB/D-loop*). По данным авторов, в оз. Начикинское обитает 2 вида гольцов – *Salvelinus malma* и *Salvelinus* sp. (озёрный голец), последний филогенетически близок к гольцу Таранца *S. taranetzi* (Kaganowsky, 1955) и гольцу Крогиус *S. krogiusae* (Glubokovsky et Chereshev, 1998).

Для подтверждения этих данных и более точного филогенетического анализа нами определены нуклеотидные последовательности двух участков митохондриального генома (участка *D-loop* и гена *CytB*) у симпатрично обитающих начикинских гольцов и проведено сравнение с последовательностями мтДНК, имеющимися в GenBank. Для сравнения с

другими популяциями гольцов Камчатки также определены нуклеотидные последовательности мтДНК у ранее не исследованных выборок гольцов из озера Копылье (центральная Камчатка) и из ручья Нижнекошелевский (южная Камчатка). Учитывая, что по данным коллекторов (Есин Е.В., Маркевич Г.Н.) голец из озера Копылье имеет морфотип, отличный от типичной озёрно-речной формы мальмы и более близкий к морфотипу многотычинковых форм озёрных гольцов из северного Охотоморья (Уегинские и Элекчанские озера), до проведения более подробных генетических исследований он будет именоваться *Salvelinus* sp. Гольцы из ручья Нижнекошелевский представлены жилой карликовой формой мальмы *S. malma*.

В исследование были включены выборки двух видов гольцов из оз. Начикинское, представленные озёрной жилой формой (в нашем исследовании рассматривается как *Salvelinus alpinus* ssp., далее – озёрный голец из оз. Начикинское, озёрный начикинский голец) и озёрно-ручьевой мальмой (аналог озерно-речной формы *Salvelinus malma* по Савваитовой (1989), далее – мальма из оз. Начикинское); *Salvelinus* sp. из оз. Копылье; *Salvelinus malma* из ручья Нижнекошелевский. Места сбора выборок и их обозначения приводятся в табл. 16.

Таблица 16. Выборки гольцов рода *Salvelinus*, включенные в исследование

Выборка	Вид	Место и год сбора	Количество экз.
31	<i>Salvelinus alpinus</i> ssp.	оз. Начикинское, 2012 г.	12
30	<i>Salvelinus malma</i>	оз. Начикинское, 2012 г.	12
29	<i>Salvelinus</i> sp.	оз. Копылье, 2012 г.	12
28	<i>Salvelinus malma</i>	руч. Нижнекошелевский (басс. р. Речка 3-я), 2012 г.	12
		Всего	48

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Таблица 17. Данные из GenBank, использованные в работе

GenBank №	Вид/форма (номер/гаплотип)	Локальность	Источник
DQ298796	<i>Salvelinus malma</i> (103chu)	р. Гетлянген, Чукотка	Радченко и др., 2006
DQ298799	<i>S. malma</i> (110chu)	»	»
DQ298800	<i>S. malma</i> (216chu)	р. Мариц, Чукотка	»
DQ298795	<i>S. malma</i> (630och)	р. Армань, северное Охотоморье	»
AY286029	<i>S. sp.</i> (279och)*	Элекчанские оз., Охотоморье	Радченко, 2004
AY286034	<i>S. sp.</i> (729och)*	оз. Хадды, Охотоморье	»
AY286033	<i>S. neiva</i> (465)	оз. Уегинское, Охотоморье	»
AY286027	<i>S. taranetzi</i> (195)	р. Утаатап, Чукотка	»
AY286028	<i>S. taranetzi</i> (197)	»	»
AY286025	<i>S. dryagini</i> (593)	оз. Лама, Таймыр	»
AY286023	Пучеглазка (588)**	»	»
AY286024	<i>S. boganidae</i> (592)	»	»
AY286026	Даватчан (736)**	оз. Фролиха, Забайкалье	»
AY286021	<i>S. alpinus</i> (586)	оз. Канес Ладу, Финляндия	»
AY286022	<i>S. alpinus</i> (583)	»	»
AY286035	<i>S. taranetzi</i> (66)	оз. р. Выквынайваам, Чукотка	»
AY286037	<i>S. boganidae</i> (737)	оз. Эльгыгытгын, Чукотка	»
AY286038	<i>S. boganidae</i> (738)	»	»
AY286036	<i>S. elgyticus</i> (734)	»	»
AY286039	<i>S. elgyticus</i> (775)	»	»
AY286040	<i>S. sp.</i> (602)**	оз. Макси, басс. р. Колыма	»
AY286041	<i>S. sp.</i> (603)**	»	»
AY286042	<i>S. sp.</i> (604)**	»	»
AY286043	<i>S. sp.</i> (650)**	оз. Джульетта, басс. р. Колыма	»
AY286044	<i>S. sp.</i> (660)**	»	»
AF298027	<i>S. boganidae</i> (ARC1)	оз. Эльгыгытгын, Чукотка	Brunner et al., 2001
AF298028	<i>S. elgyticus</i> (ARC2)	»	»
AF298029	<i>S. a. taranetzi</i> (ARC3)	р. Сеутакан, Чукотка	»

Таблица 17. Окончание

GenBank №	Вид/форма (номер/гаплотип)	Локальность	Источник
AF298030	<i>S. a. erythrinus</i> (ARC4)	оз. Свэн, о-в Кинг-Вильям, Канада	»
		оз. Амитук, о-в Корнуоллис, Канада	»
AF298031	<i>S. a. erythrinus</i> (ARC5)	оз. Горизон, Аляска	»
AF298032	<i>S. a. erythrinus</i> (ARC6)	оз. Холл, п-ов Мелвилл, Канада	»
AF298035	<i>S. a. erythrinus</i> (ARC9)	Авамуктулик, п-ов Мелвилл, Канада	»
		Иглулик, о-в Иглулик, Канада	»
AF298041	<i>S. a. alpinus</i> (ARC15)	река рядом с фьордом Изортог, Гренландия	»
AF298043	<i>S. malma</i> (ARC17)	оз. Галбрейт, Аляска	»
AF298003	<i>S. alpinus</i> (ATL13)	оз. Канес Ладу, Финляндия	»
AF298015	Пучеглазка (SIB7)**	оз. Лама, Таймыр	»
AF298016	Даватчан (SIB8)**	оз. Фролиха, Забайкалье	»
AF298017	<i>S. dryagini</i> (SIB9)	оз. Лама, Таймыр	»
AF298020	<i>S. malma</i> (BER3)	р. Сеутакан, Чукотка	»
AF298045	<i>S. a. oquassa</i> (ACD1)	Лак Санс Бае, Квебек, США	»
AB206973	<i>S. malma</i> (SM1)	о-в Хоккайдо, Япония	Yamamoto et al., 2006
		о-в Сахалин	Осинов, Мюге, 2008

Примечание. * - название дано по цитированному источнику, согласно анализу мтДНК, отнесены к *S. malma* complex,

** - название дано по цитированному источнику, отнесены к *S. alpinus* complex

Всего исследовали 48 экз. гольцов.

Для сравнительного анализа использовали данные из GenBank. Сравнительный материал, использованный в работе по гену *CytB* (Радченко, 2004; Радченко и др., 2006) и участку *D-loop* (Brunner et al., 2001; Yamamoto et al., 2006; Осинев, Мюге, 2008), представлен в таблице 17.

Определена последовательность контрольного региона (*D-loop*) мтДНК длиной 559 п.н. для 48 экз. и последовательность гена *CytB* длиной 1015 п.н. для 48 образцов гольцов. На участке *D-loop* митохондриальной ДНК выявлены 12 вариабельных сайтов (2.15% от всех сайтов) и 5 разных гаплотипов, на участке гена *CytB* выявлены 15 вариабельных сайтов (1.48%) и 10 разных гаплотипов. По объединённой последовательности длиной 1574 п.н. (1–559 п.н. *D-loop* и 560–1574 п.н. *CytB*) выявлены 27 вариабельных сайтов и 11 разных гаплотипов (табл. 18, 19).

Таблица 18. Вариабельные сайты в объединённой последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*) у гольцов рода *Salvelinus*

Гапло- типы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																										
	5	6	8	7	1	6	2	6	7	7	5	3	2	3	8	0	3	2	6	8	7	8	0	5	7	9	7
H72	-	C	G	T	T	C	A	G	G	C	G	T	C	A	A	C	A	A	A	A	A	T	G	G	G	A	G
H76	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
H63	-	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
H77	-	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
H78	A	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.
H29	-	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A	.	.
H59	-	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	T	.	.	.	.	G	G	.	.	.	.	.
H10	-	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	G	.	T	G	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
H75	-	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	.	G	G	T	G	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
H79	-	A	A	C	C	T	.	A	A	G	A	C	A	.	.	T	.	.	G	G	.	G	C	.	.	T	.
H80	-	A	A	C	C	T	.	A	A	G	A	C	A	.	.	T	.	.	G	G	.	G	C	A	.	T	.

Таблица 19. Встречаемость гаплотипов у гольцов рода *Salvelinus*

Выборка	Вид, место сбора	Гаплотипы										
		H72	H76	H63	H77	H78	H29	H59	H10	H75	H79	H80
31	<i>Salvelinus alpinus</i> ssp. (оз. Начикинское)					1					7	4
30	<i>Salvelinus malma</i> (оз. Начикинское)	5		2	1			1	3			
29	<i>Salvelinus</i> sp. (оз. Копылье)	12										
28	<i>Salvelinus malma</i> (руч. Нижнекошелевский)	4	1				5			2		

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Филогенетические отношения между исследуемыми гольцами рода *Salvelinus* представлены на рисунке 6. Видно, что исследуемые гольцы имеют две сильно отличающиеся (на 15 мутаций) группы гаплотипов. К первой группе (H10-H78) относятся мальма из оз. Начикинское и ручья Нижнекошелевский, а также гольцы из озера Копылье. Все они принадлежат к филогенетической группе северной мальмы. Ко второй группе (H79, H80) относится озёрный голец из оз. Начикинское. Также в первую группу входит один озёрный начикинский голец (H78), что, возможно, является результатом митохондриальной интрогрессии, говорит о неполной генетической изоляции и появлении гибридов между озёрным гольцом и мальмой в озере Начикинское.

Гольцы из озера Копылье оказались генетически однородны по участку *D-loop* и гену *CytB*, все исследованные 12 экз. имеют один гаплотип (H72) (широко представленный в линии северной мальмы). Столь низкое генетическое разнообразие, скорее всего, связано с эффектом основателя. Таким образом, гольцы из озера Копылье, имеющие внешне морфотип арктического гольца, по результатам секвенирования двух участков митохондриального генома принадлежат к филогенетической линии северной мальмы. Для определения статуса этой популяции требуется более полное



Рис. 6. Сеть гаплотипов объединенных участков *D-loop* и гена цитохрома *b* мтДНК гольцов рода *Salvelinus*, построенная методом максимальной парсимонии (программа TCS). Размер кружков и секторов пропорционален частоте встречаемости гаплотипов; H10–H80 – гаплотипы как в табл. 18, 19. Обозначения выборок: - 31. *Salvelinus alpinus* ssp. (оз. Начикинское), - 30. *Salvelinus malma* (оз. Начикинское), - 29. *Salvelinus* sp. (оз. Копылье), - 28. *Salvelinus malma* (ручей Нижнекошелевский). Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

исследование, включающее анализ ядерного генома. Жилые гольцы из ручья Нижнекошелевский интересны тем, что обитают на южной оконечности Камчатского полуострова и ранее генетически не исследовались. Поскольку граница распространения мальмы северной и южной линий точно не определена, эта выборка могла бы содержать элементы генома южной мальмы или даже относиться к южной филогенетической линии. Тем не менее, выявленные 4 гаплотипа у всех 12 исследованных экземпляров относят мальму из руч. Нижнекошелевский к северной линии.

Для выяснения отношений гольцов из озера Начикинское с другими представителями рода *Salvelinus* мы сравнили полученные нуклеотидные последовательности гена *CytB* и участка *D-loop* с данными по гольцам, имеющимися в GenBank (Радченко 2004 – *CytB*, Brunner et al. 2001, Yamamoto et al., 2006, Осинев, Мюге, 2008 – *D-loop*). Поскольку отсутствуют работы, в которых филогенетический анализ митохондриальной ДНК гольцов проводился бы по обоим исследованным нами последовательностям, сравнение осуществлялось отдельно для каждого изученного участка мтДНК.

При исследовании изменчивости гена *CytB* были выявлены две филогенетические линии гольцов комплекса *S. alpinus-S. malma* (Радченко, 2004). Первая – Колымско-Чукотская, состоящая из типов мтДНК озёрного гольца Таранца Чукотки, боганидской (*Salvelinus boganidae*) и малоротой (*Salvelinus elgyticus*) палий озера Эльгыгытгын, озёрных гольцов бассейна р. Колымы. Вторая линия разделилась на две группы. Охотская группа включила северную мальму, нейву *S. neiva* и озёрных гольцов Охотоморья. В неё же вошел проходной голец Таранца, несущий мальмоидный митотип (по данным Радченко, 2004), возникший в результате интрогрессии мтДНК от мальмы к гольцу Таранца. Другая, Сибирская группа, включила гольца Дрягина, глубоководного гольца-«пучеглазку», боганидскую палию из оз. Лама, даватчана из оз. Фролиха, арктического гольца Финляндии.

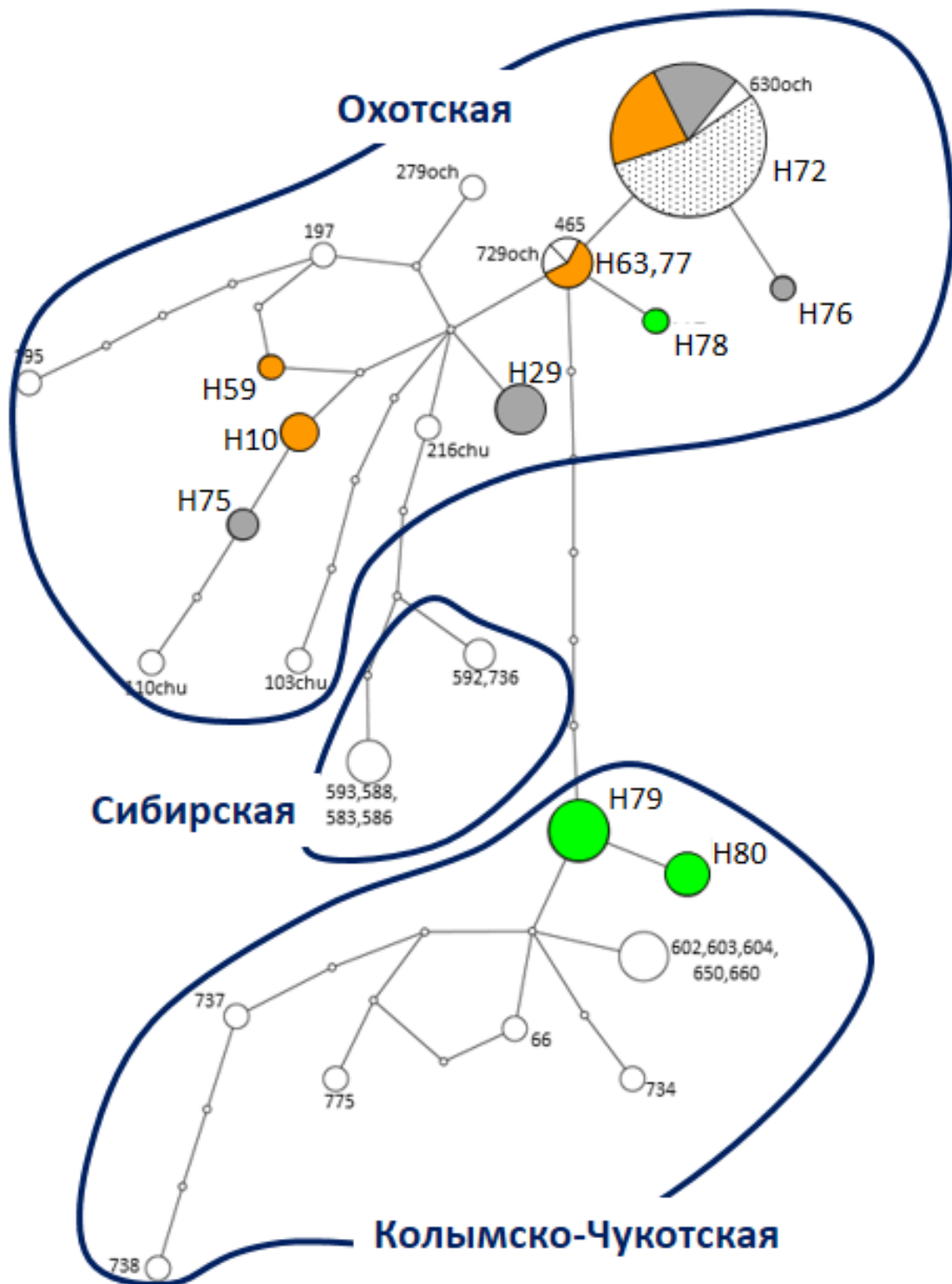


Рис. 7. Сеть гаплотипов гена цитохрома *b* гольцов рода *Salvelinus*, построенная с помощью программы TCS. Обозначения: 103chu, 110chu, 216chu, 630och, 279och, 729och, 465, 195, 197, 593, 588, 592, 736, 586, 583, 66, 737, 738, 734, 775, 602, 603, 604, 650, 660 – номера образцов по: Радченко, 2004; Радченко и др. 2006; ост. обозначения см. на рис. 6.

Филогенетические отношения по гену *CytB* между исследуемыми гольцами рода *Salvelinus*, и гольцами, взятыми из GenBank, представлены на рисунке 7. При сопоставлении наших данных с данными Радченко (Радченко, 2004) видно, что мальма из озера Начикинское, ручья Нижнекошелевский и голец из озера Копылье относятся к Охотской группе. При этом озёрный начикинский голец, имеющий гаплотипы Н79 и Н80, которые отличаются на 1 мутацию, относится к Колымско-Чукотской линии. Этот голец наиболее близок к озёрным гольцам *S. sp.* из бассейна реки Колымы (602,603,604,650,660) и *S. taranetzi* (66) из озера в бассейне реки Выквынайваам (Чукотка). Различия между ними составили 2 мутации. На 3, 4 и 4, 7 мутаций озёрный голец Начикинского озера отличается от *S. elgyticus* (734,775) и *S. boganidae* (737,738) из озера Эльгыгытгын (Чукотка) соответственно.

При исследовании изменчивости контрольного региона мтДНК, в 2001 году было выявлено пять филогенетических линий гольцов (Brunner et al., 2001). Арктическая (ARC), включающая гольца Таранца и эльгыгытгынских гольцов; Берингийская (BER), представленная северной мальмой; Сибирская (SIB), объединяющая популяции Таймыра и Забайкалья; Атлантическая (ATL), в которую входят гольцы Европы; Акадийская (ACD), включающая популяции южного Квебека и Новой Англии. Филогенетические отношения исследованных нами гольцов по контрольному региону (*D-loop*) и гольцов, относящихся к данным генетическим линиям (взятыми из GenBank), представлены на рисунке 8.

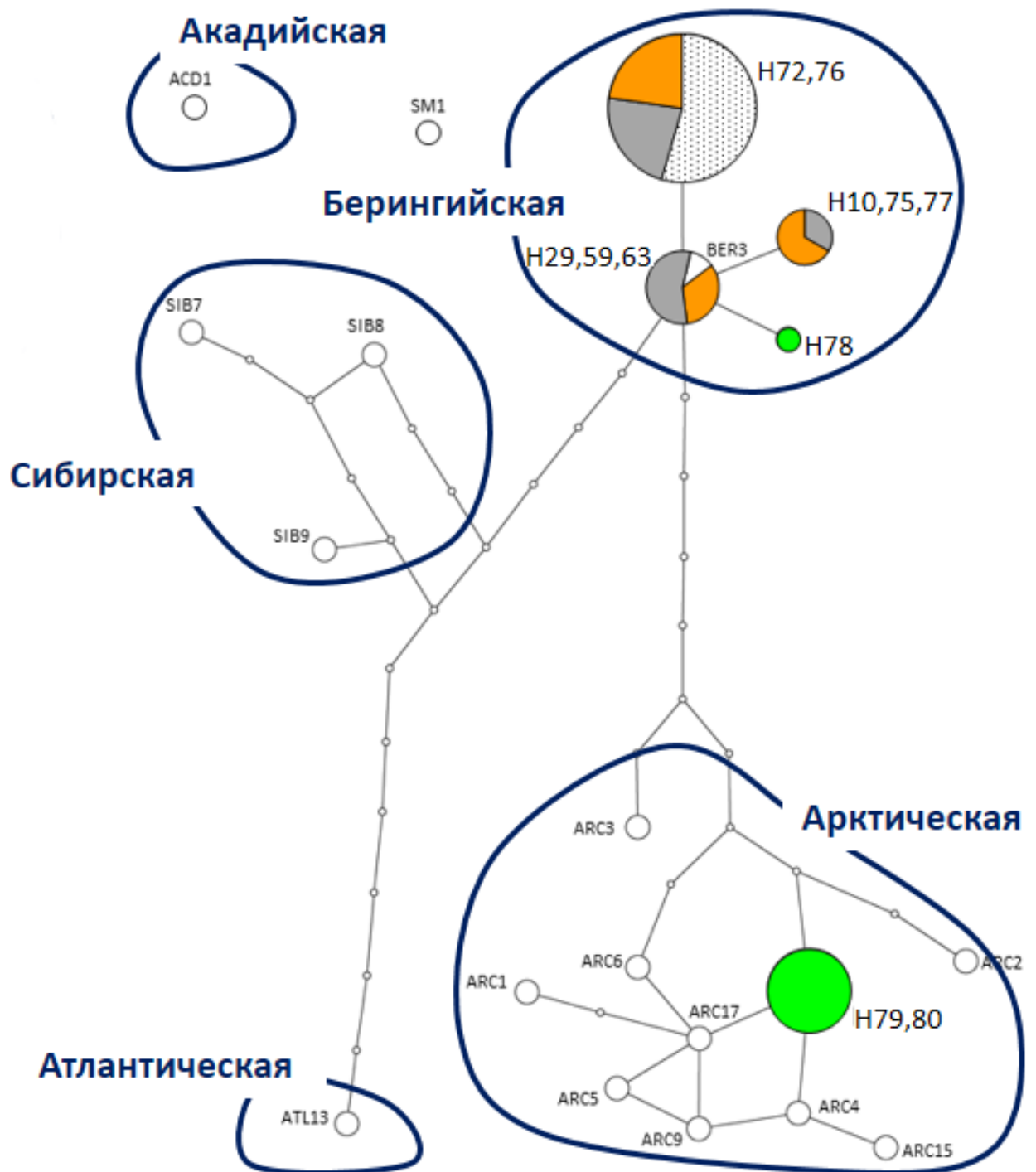


Рис. 8. Сеть гаплотипов участка *D-loop* гольцов рода *Salvelinus*, построенная с помощью программы TCS. Обозначения: ARC1, ARC2, ARC3, ARC4, ARC5, ARC6, ARC9, ARC15, ARC17, ATL13, SIB7, SIB8, SIB9, BER3, ACD1, SM1 – гаплотипы по: Brunner et al., 2001, Yamamoto et al., 2006, Осинев, Мюге, 2008; ост. обозначения см. на рис. 6.

Как видно из рисунка 8, мальма из озера Начикинское, ручья Нижнекошелевский и голец из озера Копылье относятся к Берингийской линии. Наличие гаплотипов северной мальмы в выборке из ручья Нижнекошелевский указывает на возможную ограниченность зоны контакта северной и южной линий только северо-курильским островом Шумшу (Омельченко, 2005) и отсутствие южной мальмы на Камчатском полуострове.

Озёрный голец из озера Начикинское относится к Арктической линии и имеет один гаплотип (H79,80) (рис. 8). Он оказался наиболее близок к *S. a. erythrinus* (оз. Свэн, о-в Кинг-Вильями и оз. Амитук, о-в Корнуоллис (Канада)) (ARC4) и *S. malma* (оз. Галбрейт, Аляска) (ARC17) – отличался от них на 1 мутацию. На 2 мутации озёрный начикинский голец отличается от ARC5 (*S. a. erythrinus*, оз. Горизон, Аляска), ARC6 (*S. a. erythrinus*, оз. Холл, п-ов Мелвилл, Канада), ARC9 (*S. a. erythrinus*, Авамуктулик, п-ов Мелвилл и Иглулик, о-в Иглулик, Канада), ARC15 (*S. a. alpinus*, фьорд Изортог, Гренландия). На 3 мутации гаплотип озёрного гольца из озера Начикинское отличается от *S. elgyticus* (ARC2) и *S. boganidae* (ARC1), симпатрически обитающих в озере Эльгыгытгын (Чукотка).

Также для сравнительного анализа по участку *D-loop* мтДНК был взят гаплотип южной формы мальмы (SM1), выявленный в популяциях с острова Хоккайдо (Япония) (Yamamoto et al., 2006) и острова Сахалин (Осинов, Мюге, 2008). На полученной филогенетической сети (рис. 8) гаплотип SM1 настолько сильно отличается от гаплотипов северной мальмы (BER), что не связан с ними (13 нуклеотидных замен). Следует учитывать, что для сравнения был взят только один гаплотип южной филогенетической линии. Возможно, при большем количестве гаплотипов отличия между северной и южной мальмой будут менее выражены, однако они вряд ли изменят филогенетический рисунок в целом. Так, при исследовании мтДНК от 23 экземпляров южной мальмы было выявлено 7 гаплотипов, отличающихся от группы гаплотипов северной линии на 10-12 нуклеотидных замен (Осинов, Мюге, 2008).

Появление у проходной формы гольца Таранца (66, рис. 7) мтДНК (по гену *CytB*) северной мальмы (Радченко, 2004) и наличие у мальмы с Аляски (ARC17, рис. 8) гаплотипа арктической линии (по участку *D-loop*) (Brunner et al., 2001) может объясняться встречной интрогрессией мтДНК в зонах симпатричного обитания представителей разных линий. Подобную ситуацию мы, скорее всего, наблюдаем и в озере Начикинское – наличие гаплотипа северной мальмы (H78) у одного экземпляра озёрного начикинского гольца (*S. alpinus* ssp.).

Таким образом, впервые показанное К.А. Савваитовой (Савваитова, 1976) и подтвержденное рестриктным анализом мтДНК (Олейник, Скурихина, 2007; Олейник, 2013) существование в Начикинском озере двух симпатрично обитающих видов гольцов – *S. malma* и *S. alpinus* ssp., подтверждено и нашим исследованием, включившим секвенирование участков митохондриального генома (*D-loop* и гена *CytB*). Уровень различий по двум участкам мтДНК у совместно обитающих мальмы и озёрного гольца оказался достаточно высоким (15–20 мутаций). Сравнение полученных последовательностей мтДНК с данными, имеющимися в GenBank, показало, что по гену *CytB* длиной 1015 п.н. озёрный начикинский голец филогенетически близок к озёрным гольцам из бассейна реки Колымы (*S. sp.*) и из озера в бассейне реки Выквынайваам, Чукотка, (*S. taranetzi*), относящихся к Колымско-Чукотской линии (Радченко, 2004). По участку *D-loop* мтДНК длиной 559 п.н. озёрный начикинский голец наиболее близок к *S. a. erythrinus* оз. Свэн, о-в Кинг-Вильям и оз. Амитук, о-в Корнуоллис (Канада)) (ARC4, рис. 8) и к гаплотипу ARC17 (оз. Галбрейт, Аляска; рис. 8), что позволяет отнести его к Арктической линии по классификации Бруннера с соавторами (Brunner et al., 2001). Полученные результаты коррелируют со сравнением по данным Радченко (2004) и подтверждают существование в озере Начикинское двух симпатрических форм гольца, принадлежащих к двум хорошо выраженным генетическим группам – арктического гольца *S. alpinus* (*S. alpinus* complex) и мальмы *S. malma* (*S. malma* complex).

Глава 5. Гольцы из озера Эльгыгытгын

Озеро Эльгыгытгын (в переводе с чукотского «озеро нетающего льда») расположено на Анадырском плоскогорье, в Анадырском районе (Чукотка), примерно в 390 километрах к северо-западу от Анадыря. Образовалось озеро примерно 3,6 миллионов лет назад в результате падения метеорита или взрыва эндогенного характера (возможно газовый вулканизм) (Белый, 1993). Озеро имеет почти правильную округлую форму, диаметр озера – около 12-14 километров. В чаше озера выделяют прибрежную отмель шириной 0,5-1,5 км и глубиной до 10 м, склон крутизной до 30°, глубиной от 10 до 100 м и глубоководную область диаметром около 10 км, в пределах которой дно полого (под углом до 3°) понижается к центру, глубиной до 169 м (Белый, 1993). Большую часть года поверхность озера покрыта льдом, в некоторые годы он не успевает растаять даже летом. В озеро впадает около 50 притоков, из озера вытекает одна река Энмываам (приток реки Белой, бассейн Анадыря).

Ихтиофауна озера крайне бедная. Она представлена тремя видами гольцовых рыб, постоянно обитающих в озере, а также некоторыми видами, периодически заходящими из реки Энмываам: хариус *Thymallus arcticus*, слизистый подкаменщик *Cottus cognatus*, кета *Oncorhynchus keta*, валец *Prosopium cylindraceum*, сиг-востряк *Coregonus anaulorum* (Черешнев, Скопец, 1993).

Сообщество гольцовых рыб озера представляет значительный научный интерес в эволюционном и зоогеографическом отношении, так как представлено уникальными видами: редким на Северо-Востоке Азии гольцом – боганидской палией *Salvelinus boganidae* (Berg, 1926) и двумя локальными эндемиками – малоротой *Salvelinus elgyticus* (Viktorovsky et Glubokovsky, 1981) и длинноперой *Salvethymus svetovidovi* (Chereshnev et Skopetz, 1990) палиями, последняя выделена в отдельный род *Salvethymus* (Черешнев, Скопец, 1990).

Боганидская палия является хищником и питается малоротой и длинноперой палиями. Длинноперая и малоротая палия питаются

зоопланктоном, однако их нагульные биотопы существенно различаются. Малоротая палия обитает в основном в районе подводного склона (свала глубин), тогда как длинноперая – у нижней части склона и на дне озерной котловины с большими глубинами.

Длинноперая палия Световидова по уровню морфологической и экологической специализации, несомненно, превосходит боганидскую и малоротую палии, а также в целом всех других представителей рода *Salvelinus*, что послужило основанием для ее выделения в отдельный род лососевых рыб, близких к гольцам (Черешнев, Скопец, 1993). Боганидская и малоротая палии – типичные гольцы, хотя малоротая обладает наибольшим в пределах рода числом жаберных тычинок, что, в свою очередь, наряду с другими морфологическими особенностями, резко отличает ее от боганидской палии. Уровень дивергенции между палиями озера Эльгыгытгын настолько значительный, что не позволяет рассматривать их в рамках единой филогенетической группы, т.е. исключает гипотезу о симпатрическом видообразовании этих гольцов (Черешнев, Скопец, 1993).

Скорее всего, самый древний вселенец – длинноперая палия, возраст возникновения которой может совпадать с возрастом озера (плиоцен). Позднее, вероятно, уже в плейстоцене, в озеро вселились предковая форма малоротой палии и боганидская палия (Черешнев, Скопец, 1993). При этом у первой в процессе эволюции произошло уникальное увеличение числа жаберных тычинок как вторичная адаптация к резкому снижению продуктивности и биомассы зоопланктона. Боганидская палия – по-видимому, самый поздний иммигрант, сохранивший видоспецифичные особенности экологии и даже сумевший расселиться за пределы озера в близлежащие озера Пенное и Баранье (Черешнев, Скопец, 1993).

5.1. Генетическая дифференциация гольцов из озера Эльгыгытгын на основе анализа митохондриальной ДНК

Для исследования генетической дифференциации гольцов из озера Эльгыгытгын с помощью митохондриальной ДНК были взяты выборки от трех видов гольцов: длинноперая паляя Световидова (*Salvethymus svetovidovi*) (15 экз.), выделенная в отдельный род; боганидская паляя (*Salvelinus boganidae*) (18 экз.) и малоротая паляя (*Salvelinus elgyticus*) (14 экз.) (табл. 1). Всего было исследовано 47 экз. гольцов из озера Эльгыгытгын.

На участке *D-loop* митохондриальной ДНК выявлены 22 вариабельных сайта (4.12% от всех сайтов) и 9 разных гаплотипов. Частота нуклеотидов: А = 31.16%, Т = 31.70%, С = 21.09%, G = 16.05%; соотношение транзиций к трансверсиям – 5.08.

На участке митохондриального гена *CytB* выявлены 37 вариабельных сайтов (3.65% от всех сайтов) и 11 разных гаплотипов. Частота нуклеотидов: А = 24.57%, Т = 29.08%, С = 30.46%, G = 15.89%; соотношение транзиций к трансверсиям – 7.14.

По объединённой последовательности длиной 1574 п.н. (1–559 п.н. *D-loop* и 560–1574 п.н. *CytB*) у гольцов из озера Эльгыгытгын выявлены 59 вариабельных сайтов и 15 разных гаплотипов (табл. 20, 21).

Таблица 20. Вариабельные сайты в объединённой последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*) у гольцов из озера Эльгыгытгын

Гаплогруппы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																																																										
	6	9	8	9	5	7	3	6	9	4	4	6	7	3	6	2	1	5	0	2	2	3	2	8	9	6	5	3	3	8	0	3	7	0	0	6	0	9	1	7	3	0	5	3	6	1	1	4	9	8	1	9	2	2	5	7	6	2	2
H81	A	A	A	A	G	G	A	C	G	A	T	A	T	C	C	T	A	T	G	G	G	A	G	T	A	G	A	C	C	A	C	T	C	A	G	A	A	A	G	C	C	A	G	A	A	G	A	C	G	G	T	A	C	C	C	G	A		
H82	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G		
H83	.	-	.	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G			
H84	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G		
H85	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G		
H86	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G			
H87	?	?	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G		
H88	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G			
H89	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	G		
H90	.	-	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G			
H91	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	G				
H92	C	.	G	.	A	T	.	T	.	G	C	G	.	A	T	T	.	G	.	A	A	C	C	.	C	.	T	G	T	T	.	T	C	T	G	A	G	G	G	A	T	G	.	A	G	.	A	.	.	A	A	C	.	T	T	T	.	A	G
H93	C	.	G	.	A	T	.	T	.	G	C	G	.	A	T	T	.	G	.	A	A	C	C	A	C	.	T	G	T	T	.	T	C	T	G	A	G	G	G	A	T	G	.	A	G	.	A	.	.	A	A	C	.	T	T	T	.	A	G
H94	C	.	G	.	A	T	.	T	A	G	C	G	.	A	T	T	.	G	.	A	A	C	C	.	C	.	T	G	T	T	.	T	C	T	G	A	G	G	G	A	T	G	.	A	G	.	A	.	.	A	A	C	.	T	T	T	.	A	G
H95	C	.	G	G	A	T	.	T	.	G	C	G	.	A	T	T	.	G	.	A	A	C	C	.	C	.	T	G	T	T	.	T	C	T	G	A	G	G	G	A	T	G	.	A	G	.	A	.	.	A	A	C	.	T	T	T	.	A	G

Таблица 21. Встречаемость гаплотипов у гольцов из озера Эльгыгытгын

Выборка	Гаплотипы														
	H81	H82	H83	H84	H85	H86	H87	H88	H89	H90	H91	H92	H93	H94	H95
32	18														
33		4	1	1	1	1	1	1	2	1	1				
34												7	4	2	2

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Филогенетические отношения между исследуемыми гольцами из озера Эльгыгытгын представлены на рис. 9. Видно, что длинноперая палия Световидова (H92-H95) настолько сильно отличается от боганидской и малоротой палий, что даже не соединена с ними (отличается на 45 мутаций). Все исследуемые 18 экз. боганидской палии генетически однородны по участку *D-loop* и гену *CytB* и представлены одним гаплотипом H81. Выборка малоротой палии имеет большее генетическое разнообразие, у исследуемых 14 экз. выявлено 10 гаплотипов. Отличие боганидской и малоротой палий составляет 4-9 мутаций.

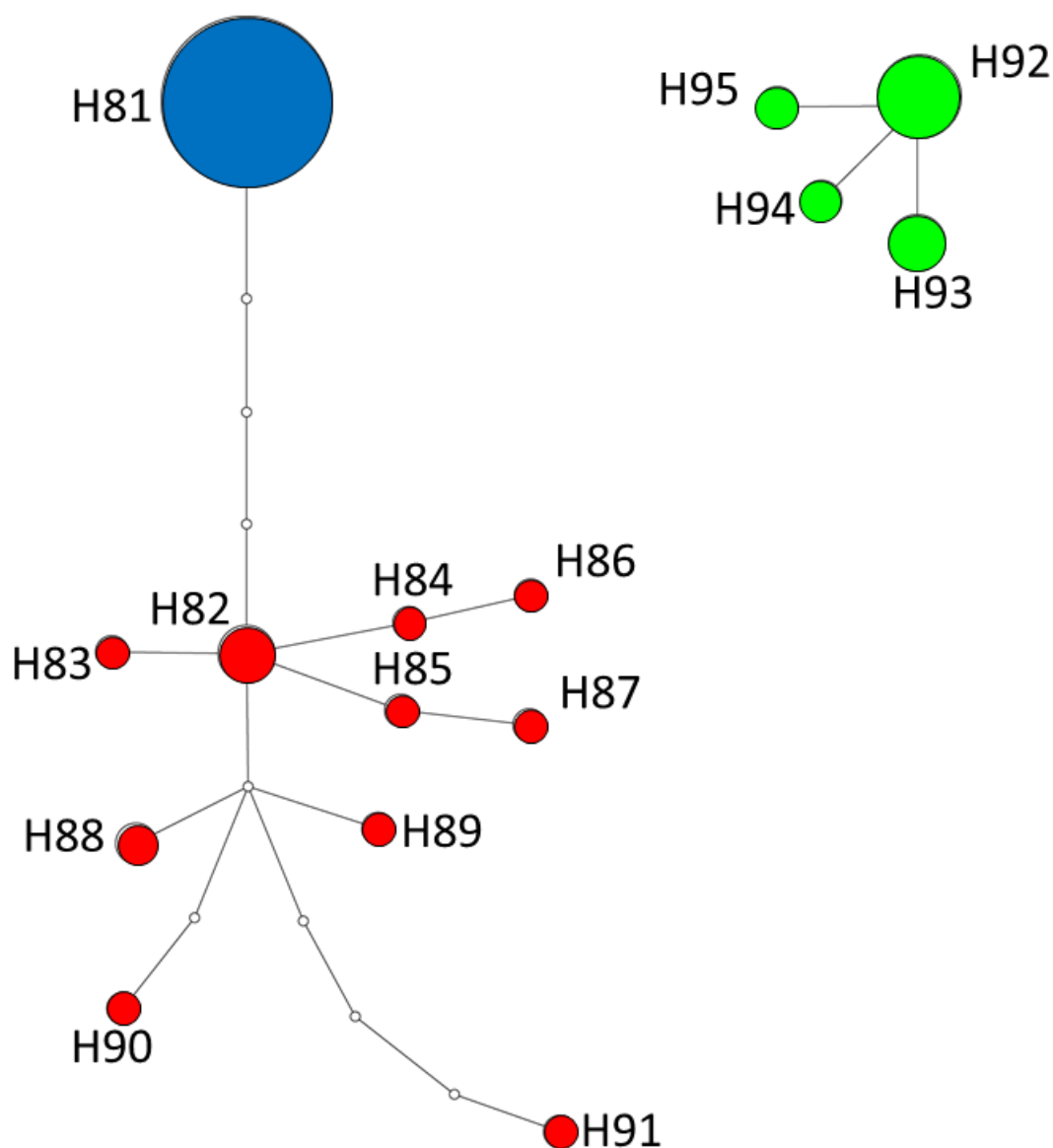


Рис. 9. Филогенетическая сеть гаплотипов участка *D-loop* мтДНК и гена цитохрома *b* гольцов из озёра Эльгыгытгын, построенная методом максимальной парсимонии (программа TCS). Размер кружков и секторов пропорционален частоте встречаемости гаплотипов; H81–H95 – гаплотипы как в табл. 20, 21. Обозначения выборок: ■ – 32. *Salvelinus boganidae*; ■ – 33. *Salvelinus elgyticus*; ■ – 34. *Salvethymus svetovidovi*. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

5.2. Генетическая дифференциация гольцов из озера Эльгыгытгын на основе микросателлитного анализа

Для исследования генетической дифференциации гольцов из озера Эльгыгытгын на основе микросателлитного анализа было взято 20 экз. *Salvelinus boganidae*, 14 экз. *Salvelinus elgyticus* и 21 экз. *Salvethymus svetovidovi* (табл. 1). Всего было исследовано 47 экз.

Для микросателлитного анализа использовали 10 микросателлитных локусов: *Smm3*, *Smm17*, *Smm21*, *Smm22*, *Ssa197*, *SSOSL456*, *Smm24*, *Sco204*, *Sco205*, *Sco218* (табл. 2).

Число аллелей по разным локусам варьирует от 1 (локусы *Smm21* – у малоротой и боганидской палий и *SSOSL456* – у боганидской палии) до 13 (локус *Smm24* – у длинноперой палии Световидова), а величина гетерозиготности от 0 (локус *Smm21* – у малоротой и боганидской палий, локус *SSOSL456* – у боганидской палии) до 0.890 (локус *Smm24* – у длинноперой палии Световидова) (табл. 22).

Палия Световидова не имеет перекрывания аллельного состава по 5 из 10 исследованным локусам (*Ssa197*, *Sco204*, *SSOSL456*, *Sco205*, *Sco218*) с малоротой и боганидской палиями. У боганидской палии в мономорфном локусе *SSOSL456* фиксирован аллель, который встретился лишь единожды в выборке малоротой палии.

Таблица 22. Основные показатели изменчивости 10 микросателлитных локусов у трех видов гольцов из озера Эльгыгытгын

<i>Salvelinus elgyticus</i> (малоротая палия)										
Локус	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Smm17</i>	<i>Sco205</i>	<i>Sco218</i>
Min-max	105-117	160-196	124-128	113-153	156-248	182-202	105	105-125	221-241	144-184
N	12	10	10	13	12	8	12	12	12	8
A/A'	3/2.6	9/8.2	2/2	10/8.4	12/9.8	6/6	1/1	7/6.5	6/5.8	8/8
Ho	0,250	0,800	0,400	0,692	0,667	0,500	0,000	0,667	0,750	0,625
He	0,226	0,860	0,320	0,867	0,878*	0,719	0,000	0,819	0,802	0,820**
<i>Salvelinus boganidae</i> (боганидская палия)										
Локус	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Smm17</i>	<i>Sco205</i>	<i>Sco218</i>
Min-max	105-115	176-220	124-128	121-157	200-228	182	105	107-117	221-229	152-188
N	19	19	20	19	19	20	19	20	19	17
A/A'	2/1.4	12/8.1	2/2	4/3.6	7/4.8	1/1	1/1	3/2.7	2/1.4	5/3.9
Ho	0,053	0,895	0,550	0,684	0,421	0,000	0,000	0,500	0,053	0,647
He	0,051	0,839	0,439	0,655	0,593	0,000	0,000	0,526	0,051	0,673
<i>Salvethymus svetovidovi</i> (длинноперая палия Световидова)										
Локус	<i>Smm3</i>	<i>Smm22</i>	<i>Ssa197</i>	<i>Sco204</i>	<i>Smm24</i>	<i>SSOSL456</i>	<i>Smm21</i>	<i>Smm17</i>	<i>Sco205</i>	<i>Sco218</i>
Min-max	105-109	160-204	112-120	106-162	152-244	152-158	105-109	105-117	232-236	137-193
N	20	19	20	21	20	19	21	17	20	20
A/A'	2/1.4	11/8.3	2/1.6	10/7.6	13/9	4/3.1	2/2	4/3.7	2/2	10/7.8
Ho	0,050	0,895	0,100	0,619	0,550	0,737	0,333	0,235	0,300	0,700
He	0,049	0,871	0,095	0,861*	0,890**	0,555	0,278	0,562***	0,255	0,868*

Примечание: Min-max – диапазон размера аллелей в парах нуклеотидов; N – число образцов; A/A' – наблюдаемое число аллелей/ скорректированное число аллелей для минимального размера выборки (N=8); He и Ho – гетерозиготность, соответственно ожидаемая по Харди-Вайнбергу и наблюдаемая. Отклонения от равновесия Харди-Вайнберга достоверны при p: * - < 0.05, ** - < 0.01, *** - < 0.001.

С помощью программы STRUCTURE проанализировали выборку гольцов из озера Эльгыгытгын при числе задаваемых кластеров (K) равном 1, 2, 3, 4. С каждым предполагаемым числом кластеров проводили по 10 анализов с периодом «прогона» 1000000 повторностей MCMC, периоде отжига 100000 повторов. Максимальная величина вероятности, соответствующая минимальной оценке лог-правдоподобия $\ln Pr(X/K)$, была найдена для K=3 (-

1330.8), т.е. наиболее вероятна принадлежность всех особей данной суммарной выборки к трем кластерам.

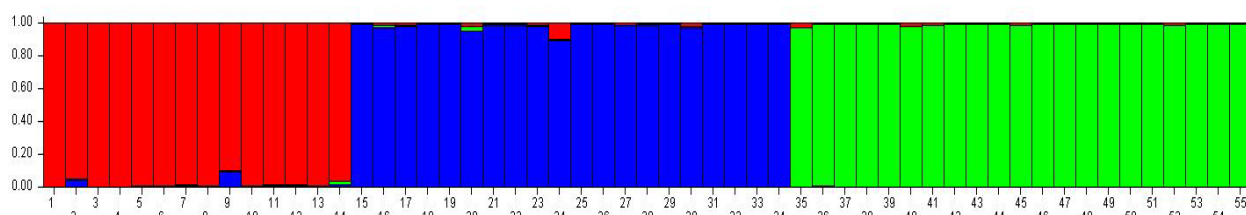


Рис. 10. Гистограмма, построенная с помощью программы STRUCTURE на основании данных микросателлитного анализа, отражающая вероятность принадлежности индивидуальных образцов к каждому из трех предполагаемых кластеров. На оси абсцисс обозначены анализируемые образцы. По оси ординат представлена вероятность соответствия образца каждому из трех предполагаемых кластеров. Обозначения: 1-14 *Salvelinus elgyticus*, 15-34 *Salvelinus boganidae*, и 35-55 *Salvethymus svetovidovi*. Обозначение кластеров: ■ - первый, ■ - второй, ■ - третий.

Таблица 23. Вероятность принадлежности каждого вида к одному из трех кластеров, оцененная с помощью программы STRUCTURE

Выборка	Вид	Предполагаемые кластеры			Количество экз.
		1	2	3	
33	<i>Salvelinus elgyticus</i>	0.016	0.977	0.007	14
32	<i>Salvelinus boganidae</i>	0.982	0.013	0.005	20
34	<i>Salvethymys svetovidovi</i>	0.003	0.007	0.990	21

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Вероятность принадлежности каждой проанализированной особи к одной из трех популяций отражена на гистограмме, представленной на рис. 10 и в табл. 23. Из гистограммы, где каждый столбик соответствует индивидуальному образцу, следует, что каждая из трех выборок является генетически однородной.

Как мы видим, три исследованных вида гольцов из озера Эльгыгьитгын имеют достоверные, в отдельных случаях фиксированные, генетические отличия по исследованным микросателлитным локусам.

Таким образом, различия, выявленные с помощью микросателлитных маркеров для гольцов из озера Эльгыгьитгын, подтверждают высокую разрешимость этого метода, достаточную и для дифференциации форм (видов) гольцов из других водоемов.

Для кроноцких гольцов, из-за отсутствия полной репродуктивной изоляции между формами в озере, мы не видим четких генетических различий, что хорошо соотносится с существующим пониманием морфоэкологической структуры популяций гольцов озерно-речной системы Кроноцкая (Павлов и др., 2013).

Глава 6. Филогенетические отношения всех исследованных гольцов по вариабельности двух участков митохондриального генома (участку *D-loop* и гену *CytB*)

Гаплотипы по объединенной последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*), выявленные у всех исследованных гольцов, представлены в объединенных таблицах (табл. 24, 25).

Филогенетические отношения гольцов по исследованным участкам мтДНК представлены на рисунке (рис. 11). Из рисунка видно, что палия Световидова из озера Эльгыгытгын, выделенная в отдельный род *Salvethymus*, расположена отдельно (отличается на 45 мутаций). Среди остальных исследованных гольцов рода *Salvelinus* выделяются две линии: арктическая, куда относятся малоротая и боганидская палии из озера Эльгыгытгын, и озерный голец из озера Начикинское. И линия северной мальмы, включившая всех исследованных гольцов вида *S. malma*. Это также подтверждается оценками попарной генетической дифференциации (Tamura, Nei, 1993) между всеми выборками гольцов, включенных в исследование (табл. 26). Наименьший уровень отличий выявлен внутри камчатской мальмы (0,0004 - 0,0045). Отличия между *S. alpinus*, *S. boganidae* и *S. elgyticus* варьируют от 0,0028 до 0,0039. Отличия *S. alpinus* от камчатской мальмы (*S. malma*) составляют от 0,0089 до 0,0115, отличия малоротой и боганидской палий от камчатской мальмы составляют от 0,0112 до 0,0149. Наибольший уровень отличий от всех исследованных гольцов имеет длинноперая палия Световидова (0,0284-0,0324).

Таблица 24. Вариабельные сайты в объединённой последовательности двух участков мтДНК (1–559 п.н. *D-loop*, 560–1574 п.н. *CytB*) у всех исследованных гольцов

Гаплотипы	Номер позиции в объединённом выравнивании участка <i>D-loop</i> и гена <i>CytB</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
	5	6	18	19	28	37	39	51	56	75	82	90	97	100	106	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	131	132	133	134	135	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494	1495	1496	1497	1498	1499	1500	1501	1502	1503	1504	1505	1506	1507	1508	1509	1510	1511	1512	1513	1514	1515	1516	1517	1518	1519	1520	1521	1522	1523	1524	1525	1526	1527	1528	1529	1530	1531	1532	1533	1534	1535	1536	1537	1538	1539	1540	1541	1542	1543	1544	1545	1546	1547	1548	1549	1550	1551	1552	1553	1554	1555	1556	1557	1558	1559	1560	1561	1562	1563	1564	1565	1566	1567	1568	1569	1570	1571	1572	1573

Таблица 24. Продолжение

[illegible]

Таблица 24. Продолжение

[illegible]

Таблица 24. Продолжение

[illegible]

Таблица 24. Продолжение

[illegible]

Таблица 24. Окончание

[illegible]

Таблица 25. Встречаемость гаплотипов у всех исследованных гольцов рода *Salvelinus*

Выборка	Гаплотипы																																											
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33	H34	H35	H36	H37	H38	H39	H40	H41	H42	H43	H51
1-3	5	9	1		1	3					37	1	3	3			1	1										1											9	1	1			
4-6	19	8		1		10	1	1	1		10	9		3	1	1	2		33	1		2	1	1			1											9				1		
7						2																							1										1					
8-10	3					2					14	8							2																									
11,12	2									3	7								5		1			7	1	1	1		3	1	7	1	1	4	3	1	1	1	4			2		
13																																1							1					
14																																												
15																																												
16																																												
17										1									3					1																				
18	1										1																																	
19																			1					1																				
20											1													2					1															
21																																												
22										1																																		
23	2																																											
24	1																																											
25	1																																											
26	3																		1					4																				
27																			2					2																				3
28																													5															
29																																												
30										3																																		
31																																												
32																																												
33																																												
34																																												
Всего:	37	17	1	1	1	17	1	1	1	8	70	18	3	6	1	1	3	1	47	1	1	2	1	18	1	1	2	1	10	1	8	1	1	4	3	1	1	1	24	1	1	2	1	3

Таблица 25. Окончание

Выборка	Гаплотипы																																															
	H52	H53	H54	H55	H56	H57	H58	H59	H60	H61	H62	H63	H64	H65	H66	H67	H68	H69	H70	H71	H72	H73	H74	H75	H76	H77	H78	H79	H80	H81	H82	H83	H84	H85	H86	H87	H88	H89	H90	H91	H92	H93	H94	H95				
1-3			1	1	1																																											
4-6		1				1	1																																									
7																																																
8-10																																																
11,12																																																
13									1		1																																					
14												1						1		1	1																											
15												2							1		2																											
16																				1	1	1																										
17																						1	1																									
18							2																																									
19											3																																					
20	1																																															
21							2					1							1		1																											
22												1		1			1				1																											
23							1								1	1																																
24							2								2																																	
25							2								1						1																											
26																																																
27										1											1																											
28																					4			2	1																							
29																					12																											
30							1					2									5					1																						
31																											1	7	4																			
32																																4	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1						
33																															18																	
34																																																
Всего:	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	4	6	1	1	4	1	1	1	2	1	29	1	1	2	1	1	1	7	4	18	4	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	7	4	2	2			

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

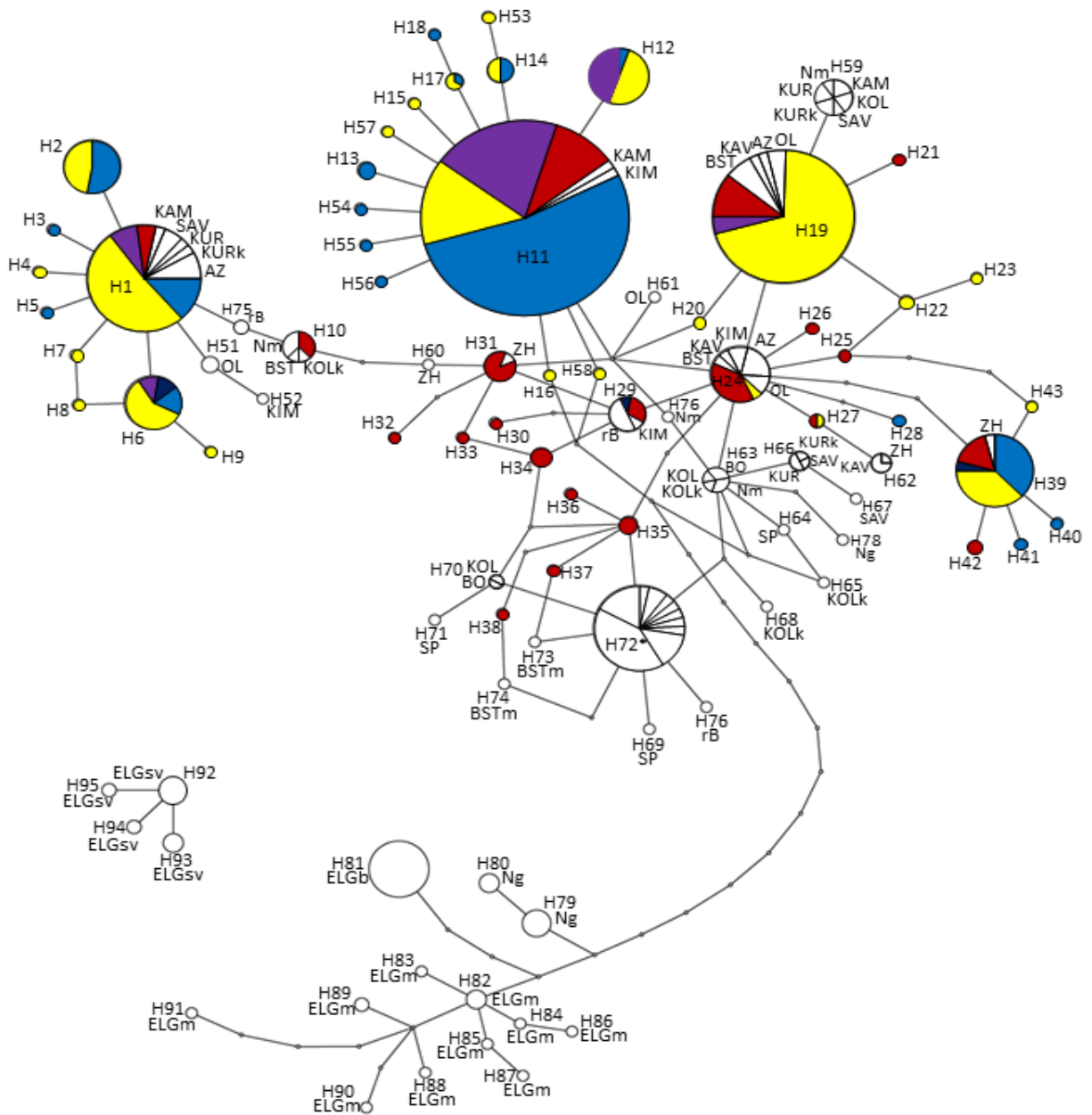


Рис. 11. Филогенетическая сеть гаплотипов участка *D-loop* мтДНК и гена цитохрома *b* всех исследованных голец, построенная с помощью TCS-алгоритма. Размер кружков и секторов пропорционален частоте встречаемости гаплотипов; H1–H95 – гаплотипы как в табл. 24, 25. Обозначения выборок: - 1-3 (носатый голец), - 4-6 (белый голец), - 7 (карликовый голец), - 8-10 (длинноголовый голец), - 11,12 (проходная мальма), Nm – 30 (*Salvelinus malma*, оз. Начикинское), Ng – 31 (*Salvelinus alpinus* ssp., оз. Начикинское), ELGb – 32 (оз. Эльгыгытгын, *Salvelinus boganidae*), ELGm – 33 (оз. Эльгыгытгын, *Salvelinus elgyticus*), ELGsv – 34 (оз. Эльгыгытгын, *Salvethymus svetovidovi*), ост. обозначения см. на рис. 2. * – H72 см. табл. 25. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

Таблица 26. Оценки попарной генетической дифференциации по объединенной последовательности (1-559 п.н. *D-loop*, 560-1574 п.н. ген *CytB*) между всеми выборками гольцов, включенных в исследование (Tamura, Nei, 1993).

Выборка	Вид	Выборка				
		1-23	24	25	26	27
1-23	<i>S. malma</i> (Камчатка)	0,00043-0,00452				
24	<i>S. alpinus</i> ssp. (оз. Начикинское)	0,00895-0,01148				
25	<i>S. boganidae</i> (оз. Эльгыгытгын)	0,01121-0,01372	0,00280			
26	<i>S. elgyticus</i> (оз. Эльгыгытгын)	0,01242-0,01496	0,00396	0,00321		
27	<i>Salvethymus</i> <i>svetovidovi</i> (оз. Эльгыгытгын)	0,02958-0,03236	0,02835	0,02953	0,02949	

Примечание. Номер выборки соответствует таковому в табл. 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с помощью сходных генетических маркеров нами изучены гольцы, симпатрично обитающие в трех крупных озерных системах и демонстрирующие три различных уровня популяционных отношений.

В озере Эльгыгытгын мы наблюдаем устойчивое симпатричное обитание трех видов гольцов, их происхождение обычно связывают с тремя вселениями предковых форм в озеро. Виды сильно дивергировали друг от друга и имеют хорошо выраженные генетические различия как по мтДНК, так и по микросателлитным маркерам.

В озере Начикинское мы наблюдаем сосуществование двух видов гольцов, принадлежащих к двум филогенетическим линиям *S. malma* и *S. alpinus*, а так же возможное наличие гибридов между ними.

Гольцы Кроноцкого озера представляют собой сложно устроенную систему частично обособленных, но постоянно взаимодействующих группировок популяционного уровня.

Существующее в настоящее время разнообразие форм гольцов в оз. Кроноцкое является результатом микроэволюционных процессов, направленных на формирование адаптаций к нестабильным флуктуирующим условиям среды. Тем самым формируется структура популяционных группировок, образующих формы и обеспечивающих виду максимальную устойчивость в пространстве и времени. Генетическая изоляция между такими формами либо отсутствует, либо является неполной. Наличие сложной системы связей между формами может обеспечить всей системе высокую степень устойчивости при воздействии на нее факторов внешней среды, в том числе за счет изменения соотношения в водоеме имеющихся форм, а также появления новых форм гольцов.

ВЫВОДЫ

1. Вариабельность митохондриального генома оказалась эффективной для выяснения происхождения и становления форм гольцов Кроноцкого озера, но не имеет достаточной мощности, чтобы судить об уровне дифференциации форм.
2. Исследование изменчивости микросателлитных локусов у гольцов озерно-речной системы Кроноцкая показало низкий уровень генетической дифференциации и отсутствие полной генетической изоляции между существующими формами.
3. Сравнение гольцов из разных водоемов Камчатки по вариабельности мтДНК выявило принадлежность кроноцких гольцов к генетической линии северной мальмы (*S. malma malma*). Исходя из проведенного анализа, наиболее вероятно монофилетическое происхождение всех форм кроноцких гольцов от общей небольшой популяции, существовавшей в реке на момент формирования озера.
4. Полученные результаты по вариабельности митохондриальной и ядерной ДНК в целом поддерживают существующее понимание морфоэкологической структуры гольцов озерно-речной системы Кроноцкая как метапопуляции озерных форм и проходной мальмы из нижнего течения р. Кроноцкая, находящихся в квазистационарном состоянии.
5. С помощью секвенирования участков митохондриального генома подтверждено существование в озере Начикинское двух филогенетических линий гольцов: арктического гольца *S. alpinus* (*S. alpinus* complex) и мальмы *S. malma* (*S. malma* complex).
6. Выявленные генетические различия по мтДНК и микросателлитным локусам у гольцов из озера Эльгыгытгын подтверждают их видовой статус.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев С.С., Пичугин М.Ю., Крысанов Ю.Е. Исследования гольцов *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) Забайкалья, внесенных в красную книгу РСФСР: симпатрические формы из озера Большой Намаракит (морфология, экология, кариология) // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37. № 3. С. 588-602.
2. Алексеев С.С., Пичугин М.Ю. Новая форма гольца *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) из озера Даватчан в Забайкалье и ее морфологические отличия от симпатрических форм // Вопросы ихтиологии. 1998. Т. 38. № 3. С. 328-337.
3. Алексеев С.С., Пичугин М.Ю., Самусенок В.П. Разнообразие арктических гольцов Забайкалья по меристическим признакам, их положение в комплексе *Salvelinus alpinus* и проблема происхождения симпатрических форм // Вопросы ихтиологии. 2000. Т. 40. № 3. С. 293-311.
4. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях // М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. 431 с.
5. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. 2002. Т. 38. № 9. С. 1173-1195.
6. Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России. Ю.С. Решетников (ред.). М.: Наука, 1998. 221 с.
7. Атлас пресноводных рыб России. В 2-х т. Ю.С. Решетников (ред.). М.: Наука, 2003. 379+253 с.
8. Белый В.Ф. Впадина озера Эльгыгытгын и некоторые, связанные с ней, геологические проблемы // Природа впадины озера Эльгыгытгын. Магадан: Северо-Восточный комплексный НИИ ДВО РАН. 1993. С. 10–25.
9. Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Ч. 1. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. 446 с.

10. Богуцкая Н.Г., Насека А.М. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. М: КМК, 2004. 389 с.
11. Викторовский Р.М. Механизмы видообразования у гольцов Кроноцкого озера. М.: Наука, 1978. 112 с.
12. Глубоковский М.К. Таксономические отношения гольцов рода *Salvelinus* в бассейне реки Камчатка // Биология моря. 1977а. № 3. С. 24-35.
13. Глубоковский М.К. Сравнительная остеология и дивергенция гольцов рода *Salvelinus* (Nilsson) Richardson // Основы классификации и филогении лососевидных рыб. Л.: Изд-во ЗИН АН СССР. 1977б. С. 38-44.
14. Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевидных рыб: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Владивосток. Институт биологии моря ДВО АН СССР, 1990. 48 с.
15. Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 1995. 343 с.
16. Глубоковский М.К., Черешнев И.А., Черненко Е.В., Викторовский Р.М. Распространение гольцов (*Salvelinus*, *Salmoniformes*) арктической группы на азиатском побережье Тихого океана // Систематика и экология рыб континентальных водоёмов Дальнего Востока. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1979. С. 86-98.
17. Глубоковский М.К., Черешнев И.А. Спорные вопросы филогении гольцов рода *Salvelinus* Голарктики. Изучение проходных гольцов бассейна Восточно-Сибирского моря // Вопросы ихтиологии. 1981. Т. 21. Вып. 5. С. 771-786.
18. Гордеева Н.В., Осинцов А.Г., Алексеев С.С., Матвеев А.Н., Самусенок В.П. Генетическая дифференциация арктических гольцов *Salvelinus alpinus* complex Забайкалья, выявленная по микросателлитным маркерам // Вопросы ихтиологии. 2010. Т. 50. № 3. С. 293-304.
19. Гречко В.В. Молекулярные маркеры ДНК в изучении филогении и систематики // Генетика. 2002. Т. №8. № 8. С. 1013-1033.

20. Гудков П.К. О симпатричных формах гольцов рода *Salvelinus* из некоторых озер Чукотского полуострова // Вопросы ихтиологии. 1993. Т. 33. № 5. С. 618-625.
21. Мина М.В. Микроэволюция рыб. М.: Наука, 1986. 297 с.
22. Мина М.В., Решетников Ю.С., Дгебуадзе Ю.Ю. Таксономические новшества и проблемы пользователей // Вопросы ихтиологии. 2006. Т. 46, № 4, с. 553-557.
23. Олейник А.Г. Молекулярная эволюция гольцов рода *Salvelinus*: филогенетические и филогеографические аспекты: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Владивосток: ИБМ ДВО РАН, 2013. 47 с.
24. Олейник А.Г., Скурихина Л.А. Генетическая дивергенция симпатричных гольцов рода *Salvelinus* из озера Начикинское (Камчатка) // Генетика. 2007. Т. 43. № 8. С. 1097–1106.
25. Омельченко В.Т. Гольцы рода *Salvelinus* Richardson (Salmoniformes, Salmonidae): генетическая дивергенция популяций Северо-Востока и Дальнего Востока России // Чт. Памяти В.Я. Леванидова. 2005. Вып. 3. С. 492–509.
26. Осинцов А.Г. Арктический голец *Salvelinus alpinus* Забайкалья и Таймыра: генетическая дифференциация и происхождение // Вопросы ихтиологии. 2002. Т. 42. № 2. С. 149-160.
27. Осинцов А.Г., Павлов С.Д., Максимов В.А. Аллозимная изменчивость и генетическая дифференциация популяций арктического гольца *Salvelinus alpinus* (L.) от Балтики до Таймыра // Генетика. 1996. Т. 32. № 4. С. 547-559.
28. Осинцов А.Г., Мюге Н.С. Изменчивость контрольного района митохондриальной ДНК в популяциях южной формы мальмы (*Salvelinus malma krascheninnikovi*) Сахалина // Генетика. 2008. Т. 44. № 12. С. 1668–1676.

29. Павлов С.Д. Симпатрические формы гольцов (род *Salvelinus*) из озера Аян (Таймырский полуостров) // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37. № 4. С. 465-474.
30. Павлов С.Д., Репин М.Ю., Пивоваров Е.А. Популяционное разнообразие гольцов (р. *Salvelinus*) оз. Кроноцкое. Морфобиологические особенности // Матер. IV науч. конф. «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей». 2003. С. 257–261.
31. Павлов С.Д., Пивоваров Е.А., Остберг К.О. Карликовый голец – новая форма гольцов (род *Salvelinus*) Кроноцкого озера // ДАН. 2012. Т. 442. № 2. С. 1–4.
32. Павлов С.Д., Кузищин К.В., Груздева М.А., Сенчукова А.Л., Пивоваров Е.А. Фенетическое разнообразие и пространственная структура гольцов (*SALVELINUS*) озерно-речной системы Кроноцкая (восточная Камчатка) // Вопросы ихтиологии. 2013. Т. 53. № 6. С. 645-670.
33. Радченко О.А. Генетическая дифференциация северной и южной форм мальмы по данным рестрикционного анализа митохондриальной ДНК // Генетика. 2002. Т. 38. № 4. С. 421–428.
34. Радченко О.А. Изменчивость митохондриальной ДНК гольцов рода *Salvelinus*: Дис. ... канд. биол. наук. Магадан: ИБПС ДВО РАН, 2003. 213 с.
35. Радченко О.А. Изменчивость нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК гольцов рода *Salvelinus* // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 322–333.
36. Радченко О.А., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Анализ изменчивости гена цитохрома *b* у симпатричных гольцов Кроноцкого озера (Камчатская область) // Генетика. 2006. Т. 42. № 2. С. 233–243.
37. Решетников Ю.С., Богуцкая Н.Г., Васильева Е.Д., Дорофеева Е.А., Насека А.М., Попова О.А., Савваитова К.А., Сиделева В.Г., Соколов Л.И. Список рыбообразных и рыб пресных вод России // Вопросы ихтиологии. 1997. Т. 37. N 6. С. 723-771.

38. Савваитова К.А. О внутривидовых биологических формах *Salvelinus alpinus* (L.) Камчатки // Вопросы ихтиологии. 1961. Т. 1. Вып. 4. С. 695-706.
39. Савваитова К.А. Гольцы (род *Salvelinus*) озера Начикинского (Камчатка) и некоторые проблемы систематики озерных гольцов Голарктики // Вопросы ихтиологии. 1976. Вып. 2 (97). С. 274–282.
40. Савваитова К.А. Формообразование и структура популяционных систем у лососевых рыб (на примере гольцов и камчатских благородных лососей): Дис. ... докт. биол. наук. М.: МГУ, 1983. 220 с.
41. Савваитова К.А. Арктические гольцы. М.: Агропромиздат, 1989. 224 с.
42. Савваитова К.А., Максимов В.А., Мережин В.К. Гольцы рода *Salvelinus* (Salmonidae, Salmoniformes) Куандо-Чарских горных озер Забайкалья // Эколого-фаунистические исследования. Биологические ресурсы территории в зоне строительства БАМ. М.: Изд-во МГУ, 1981. С. 119-166.
43. Савваитова К.А., Васильев В.П. О симпатрических популяциях у гольца рода *Salvelinus* (Salmoniformes, Salmonidae) из озера Начикинского (Камчатка) // Науч. докл. высш. шк. № 2. 1976. С. 80–87.
44. Салменкова Е.А., Омельченко В.Т., Радченко О.А. и др. Генетическая дивергенция гольцов рода *Salvelinus* Кроноцкого озера (полуостров Камчатка) // Генетика. 2005. Т. 41. № 8. С. 1096–1107.
45. Салменкова Е.А., Омельченко В.Т., Афанасьев К.И., Рубцова Г.А., Ковалев М.Ю. Генетическая дивергенция популяций белого гольца *Salvelinus albus*, северной и южной форм мальмы *S. malma* (Salmonidae) по микросателлитным локусам ДНК // Вопросы ихтиологии. 2009. Т. 49. № 6. С. 752-762.
46. Салтыкова Е.А. Дивергенция гольцов рода *Salvelinus* озера Кроноцкого по остеологическим признакам. Дипломная работа. МГУ имени М.В. Ломоносова. 2011. 90 с.

47. Салтыкова Е.А., Маркевич Г.Н. Фенетическое разнообразие бентосоядных гольцов (*SALVELINUS*) оз. Кроноцкое (Восточная Камчатка) // Вопросы ихтиологии. 2014. В печати.
48. Сенчукова А.Л., Павлов С.Д., Мельникова М.Н., Мюге Н.С. Генетическая дифференциация гольцов (род *Salvelinus*) из озера Кроноцкое на основе анализа митохондриальной ДНК // Вопросы ихтиологии. 2012. Т. 52. № 4. С. 489-499.
49. Черешнев И.А. К вопросу о таксономическом статусе симпатрических проходных гольцов рода *Salvelinus* (Salmonidae) Восточной Чукотки // Вопросы ихтиологии. 1982. Т. 22. Вып. 6. С. 922-936.
50. Черешнев И.А., Скопец М.Б. *Salvethymus svetovidovi* gen. et sp. nova - новая эндемичная рыба из подсемейства лососевых (Salmoninae) из озера Эльгыгытгын (Центральная Чукотка) // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. Вып. 2. С. 201-213.
51. Черешнев И.А., Скопец М.Б. Биология гольцовых рыб озера Эльгыгытгын // Сб. науч. тр.: Природа впадины озера Эльгыгытгын. Магадан: Северо-Восточный комплексный НИИ ДВО РАН, 1993. С. 105-127.
52. Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Севера-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2002. 496 с.
53. Шанцер А.Е., Мелекесцев И.В. Особенности древней и новейшей тектоники района Кроноцкого озера, состав и строение слагающих его молодых вулканогенных толщ. Петропавловск-Камчатский. Архив ИВ АН СССР ДВНЦ. 1967. № 37. 12 с.
54. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25(20). P. 4692-4693.

55. Arnason E., Rand D. Heteroplasmy of short tandem repeats in mitochondrial DNA of Atlantic cod, *Gadus morhua* // Genetics. 1992. V. 132. № 1. P. 211–220.
56. Audzijonyte A., Vainola R. Phylogeographic analyses of a circumarctic coastal and a boreal lacustrine mysid crustacean, and evidence of fast postglacial mtDNA rates // Mol. Ecol. 2006. V. 15. P. 3287–3301.
57. Avise J.C. Molecular Markers, Natural History and Evolution. N.Y.; London: Chapman and Hall. 1994. 511 p.
58. Behnke R.J. The systematics of salmonid fishes of recently glaciated lakes // J. Fish. Res. Bd. Canada. 1972. V. 29. № 6. P. 639–671.
59. Behnke R.J. A systematic review of the genus *Salvelinus* // Charrs, Salmonid fishes of the genus *Salvelinus*. W. Junk (ed.). Hague. 1980. P. 441–480.
60. Behnke R.J. 1984. Organizing the diversity of the Arctic charr complex // Biology of Arctic charr. Proc. Int. Symp. on Arctic charr, Winnipeg, Manitoba, May, 1981. Winnipeg: Univ. Manitoba. Press. P. 3–21.
61. Behnke R.J. Interpreting the phylogeny of *Salvelinus* // Physiol. Ecol. Japan. 1989. Spec. V. 1. P. 35–48.
62. Bentzen P., Wright J.M., Bryden L.T., Sargent M., Zwanenburg K.C.T. Tandem repeat polymorphism in the mitochondrial control region of redbfishes (*Sebastes*: *Scorpaenidae*) // J. Heredity. 1998. V. 89. P. 1–7.
63. Brown W.M., George M.Jr., Wilson A.C. Rapid evolution of mitochondrial DNA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. P. 1967–1971.
64. Brunner P.C., Douglas M.R., Osinov A.G. et al. Holarctic phylogeography of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences // Evolution. 2001. V. 55. № 3. P. 573–586.
65. Churikov D., Matsuoka M., Luan X., Gray A.K., Brykov V.A., Gharrett A.J. Assessment of concordance among genealogical reconstructions from various mtDNA segments in three species of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) // Mol. Ecol. 2001. V. 10. P. 2329–2339.

66. Clement M., Posada D., Crandall K.A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 1657–1659.
67. Crane P.A., Lewis C.J., Kretschmer E.J., Miller S.J., Spearman W.J., DeCicco A.L., Lisac M.J., Wenburg J.K. Characterization and inheritance of seven microsatellite loci from Dolly Varden, *Salvelinus malma*, and cross-species amplification in Arctic char, *S. alpinus* // Conservation Genetics 5. 2004. P. 737–741.
68. Dehaan P. W., Ardren W. R. Characterization of 20 highly variable tetranucleotide microsatellite loci for bull trout (*Salvelinus confluentus*) and cross-amplification in other *Salvelinus* species // Molecular Ecology Notes 5. 2005. P. 582-585.
69. Estoup A., Presa P., Krieg F., Viaman D., Guyomard R. // (CT)_n and (GT)_n microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout) Heredity. 1993. V. 71. P. 488–496.
70. 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.
71. Ferris S.D., Berg W.J. The utility of mitochondrial DNA in fish genetics and management // Population genetics and fishery management / Ed. N. Ryman, F. Utter. Seattle; L.: Univ. Wash, press. 1987. P. 277-301.
72. Goudet J. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics // J. Heredity. 1995. V. 86. P. 485–486.
73. Nei M., Tajima F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases // Genetics. 1981. V. 105. P. 207-217.
74. Oleinik A.G., Skurikhina L.A. Mitochondrial DNA diversity and relationships of endemic charrs of the genus *Salvelinus* from lake Kronotskoye (Kamchatka Peninsula) // Hydrobiologia. 2010. V. 650, № 1. P. 145–159.
75. O'Reilly P.T., Hamilton L.C., McConnell S.K., Wright J.M. Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of

- dinucleotide and tetranucleotide microsatellites // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1996. 53. P. 2292–2298.
76. Ostberg C.O., Pavlov S.D., Hauser L. Evolutionary relationships among sympatric life history forms of dolly varden inhabiting the landlocked Kronotsky lake, Kamchatka, and neighboring anadromous population // *Trans. Amer. Fish. Soc.* 2009. V. 138. P. 1–14.
 77. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol. Notes.* 2006. V. 6. P. 288-295.
 78. Pritchard J., Stephens K., Donnelly P. Inference of population structure from multilocus genotype data // *Genetics.* 2000. V. 155. P. 945-959.
 79. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism // *J. Heredity.* 1995. V. 86. P. 248-249.
 80. Slettan A., Olsaker I., Lie O. Segregation studies and linkage analysis of Atlantic salmon microsatellites using haploid genetics // *Heredity.* 1997. V. 78. P. 620-627.
 81. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // *Mol. Biol. and Evol.* 1993. V. 10. P. 512–526.
 82. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. and Evol.* 2011. V. 28. P. 2731–2739.
 83. Tautz D. Hypervariability of symple sequences as a general source for polymorphic DNA markers // *Nucl. Acids Res.* 1989. V. 17. P. 6463-6471.
 84. Templeton A.R., Crandall K.A., Sing C.F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation // *Genetics.* 1992. V. 132. P. 619–633.

85. Weber J.L., Wong C. Mutation of human short tandem repeats // Hum. Mol. Genet. 1993. V. 2. P. 1123–1128.
86. Yamamoto S., Kitano S., Maekawa K., Koizumi I., Morita K. Introgressive hybridization between Dolly Varden (*Salvelinus malma*) and white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenis*) on Hokkaido Island, Japan // J. Fish Biol. 2006.V. 68. P. 68–85.