

УДК 575.17:597.553.1

## АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ У СЕЛЬДЕЙ (*Clupea pallasii marisalbi*) БЕЛОГО МОРЯ

© 2013 г. А. В. Семенова<sup>1</sup>, А. П. Андреева<sup>1</sup>, А. К. Карпов<sup>1</sup>, А. Н. Строганов<sup>1</sup>,  
Г. А. Рубцова<sup>2</sup>, К. И. Афанасьев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра ихтиологии, Москва 119992  
e-mail: anna.semenova@mail.bio.msu.ru

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва 119991  
e-mail: afanasiev@vigg.ru

Поступила в редакцию 17.10.2012 г.

Исследовано генетическое разнообразие нерестовых группировок сельдей из различных районов Белого моря на основании 10 микросателлитных локусов. Все локусы были полиморфны, оценки ожидаемой гетерозиготности варьировали от 12.7 до 94.1% (в среднем 59.5%). Степень генетической дифференциации беломорских сельдей была достоверно значима ( $\theta = 2.03\%$ ). Уровень попарной генетической дифференциации  $F_{ST}$  варьировал от 0 до 0.085 и был достоверно значим во многих парах сравнения. Иерархический анализ (AMOVA) выявил достоверно значимую дифференциацию сельдей Белого моря. 96.59% генного разнообразия распределены в пределах выборок, а 3.41% приходится на межпопуляционные различия. Основная компонента межпопуляционного генного разнообразия (1.85%) приходится на различия между двумя экологическими формами сельдей – весенне- и летненерестующими. В пределах весенненерестующей формы показано наличие локальных стад в Кандалакшском, Онежском и Двинском заливах.

DOI: 10.7868/S0016675813060106

Беломорские сельди *Clupea pallasii marisalbi* [1] являются реликтовой группировкой сельдей Тихого океана *Clupea pallasii*. По мнению исследователей, сельди проникли в Белое море в период послеледниковой литориновой трансгрессии не более 8–10 тыс. лет назад [2–4].

За сравнительно небольшой в эволюционном масштабе период времени, прошедший с момента заселения в Белое море, сельди образовали сообщество, характеризующееся сложной популяционной структурой. На ареале они представлены различными группировками: стаями, локальными стадами, расами, которые различаются местами и сроками нереста, размерно-возрастной структурой, темпом роста, плодовитостью, морфологическими и биологическими особенностями и другими признаками [5–16].

Важнейшими являются различия между группировками сельдей в Белом море по времени нереста. В период гидрологической весны при температуре около 0°C происходит нерест весенненерестующих сельдей, календарные сроки которого изменяются на отдельных нерестилищах с апреля до середины июня. Кроме того, в Кандалакшском заливе и в районе Соловецких островов в конце июня–начале июля при более высокой температуре (от 8°C) размножаются летненерестующие беломорские сельди [11, 12, 17, 18]. Помимо различий в сроках нереста группировки сельдей дифференцируются по размерно-возрастной структуре стада. Общепринято разделение сельдей на “крупных” – быстрорастущих и “мелких” – медленнорастущих; в одном и том же возрасте “мелкие” сельди в несколько раз меньше “крупных” [6, 8, 9, 19]. “Мелкие” сельди являются весенненерестующими и населяют все заливы Белого моря. “Крупные” летненерестующие сельди сосредоточены в центральной части Белого моря и Кандалакшском заливе, у Соловецких островов, вдоль Карельского и Терского берегов, Летнего берега Двинского залива [9, 20, 21].

Помимо вышеперечисленных наиболее контрастных различий сельди на каждом нерестилище характеризуются своими специфическими чертами: размерно-возрастным составом, темпом роста, меристическими признаками, структурой чешуи, временем наступления половозрелости, плодовитостью и многими другими. Эти особенности постоянны у нерестовых группировок из года в год. Большинству из таких нерестовых стад исследователями или местным населением даже присвоено собственное название (“егорьевские”, “ивановские” и т.д.) [9, 22].

За десятилетия исследований вопрос о популяционной структуре беломорских сельдей так и остается открытым. Были предложены разнообразные гипотезы, варьирующие от самостоятельности и репродуктивной изолированности стад в

каждом из заливов или даже на отдельных нерестилищах [6, 9–12, 23–25] до полного репродуктивного единства беломорских сельдей [18, 26]. Не исключалось даже различное филогенетическое происхождение группировок в Белом море — от атлантических и тихоокеанских сельдей [27–29]. Очевидно, что для выяснения популяционной структуры и репродуктивных взаимоотношений беломорских сельдей необходимы исследования генетической изменчивости нерестовых группировок.

Ранее нами были проведены исследования генетической изменчивости беломорских сельдей на основании полиморфизма аллозимных локусов [30, 31]. Были показаны единство происхождения всех беломорских сельдей от тихоокеанских, а также генетическая дифференциация между двумя экологическими формами: “мелкими” весеннерестующими и “крупными” летнерестующими сельдями. Внутри каждой экологической формы локальные группировки сельдей, обитающие в различных заливах, являются генетически однородными. Однако, несмотря на обширный материал, использованный в вышеупомянутых работах, аллозимные маркеры позволяют выявить лишь небольшую долю существующей генетической изменчивости. Возможно, изучение микросателлитных локусов ДНК, характеризующихся высоким уровнем генетического разнообразия у атлантических и тихоокеанских сельдей [32, 33], предоставит новые возможности для исследований внутривидовой дифференциации сельдей в Белом море. Целью данной работы было исследование популяционно-генетической структурированности сельдей Белого моря на основании микросателлитных локусов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы выборки сельдей из разных районов Белого моря, собранные в период с 2001 по 2008 г. в основном во время нереста сельдей на нерестилищах. В период с конца марта по май были собраны выборки весеннерестующих сельдей на нерестилищах в Онежском (губа Сорокская, губа Нюхча, устье р. Онеги, о-в Кий), Двинском (губа Яндовая) и Кандалакшском (губы Чупа, Колвица, Жемчужная) заливах. В июне на нерестилище в губе Ругозерской Кандалакшского залива взяты выборки летнерестующих сельдей. Выборка из губы Сосновой в районе Соловецких островов состояла из особей имеющих в основном IV стадию зрелости гонад (т.е. перед нерестом). В районе бухты Благополучия Соловецких островов сельди были пойманы уже после нереста (стадия зрелости гонад VI–II).

Все особи подвергались общему биологическому анализу. По размерно-возрастным параметрам сельдей из района Соловецких островов

(как из бухты Благополучия, так и губы Сосновой) можно характеризовать как “крупных”. Также к группе “крупных” быстрорастущих сельдей можно отнести выборки летнерестующих сельдей из губы Ругозерской, в то время как весеннерестующие сельди в наших пробах являются “мелкими” (подробнее см. [30, 31]). Место и время взятия проб, объем исследованного материала, обозначения выборок представлены в табл. 1 и на рис. 1.

Для анализа ДНК использовали образцы ткани (грудных плавников, белых скелетных мышц, глаза), фиксированные в 96%-ном этаноле, или высушенную чешую. Тотальную ДНК выделяли по стандартной методике, с помощью набора реактивов Diatom DNA Prep фирмы ООО “ИзоГен” (Россия). Для ПЦР-амплификации использовали наборы GenePak PCR Core (ООО “Лаборатория ИзоГен”, Россия). Инкубационная смесь 20 мкл содержала буфер для ПЦР, 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеотида (dTTP, dCTP, dATP, dGTP), 1.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 нг геномной ДНК и 100 нг специфического праймера. Амплификацию микросателлитных локусов проводили в термоциклере MJ Research PTC-100 при следующем режиме: денатурация в течение 2 мин при 94°C, затем восемь циклов, включающих 1 мин денатурации ДНК-матрицы при температуре 94°C, 30 с отжига праймеров при X°C и синтез новых цепей в течение 30 с при 72°C; затем следовал 21 цикл, включающий 30 с при 94°C, 30 с – X°C и 15 с при 72°C; элонгация 3 мин при 72°C. Температура отжига для индивидуальной пары праймеров дана в табл. 2. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 6%-ном неденатурирующем полиакриламидном геле в 0.5× TBE буфере при 300 В в течение 2–3 ч, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в УФ-свете. В качестве маркеров длины фрагментов использовали ДНК плазмиды pBr322, обработанную рестриктазами *Hae*III или *Hpa*II. Размеры аллелей по каждому локусу определяли в соответствии с электрофоретической подвижностью полос с использованием программы 1D Image Analysis Software Version 3.5 фирмы “Кодак”.

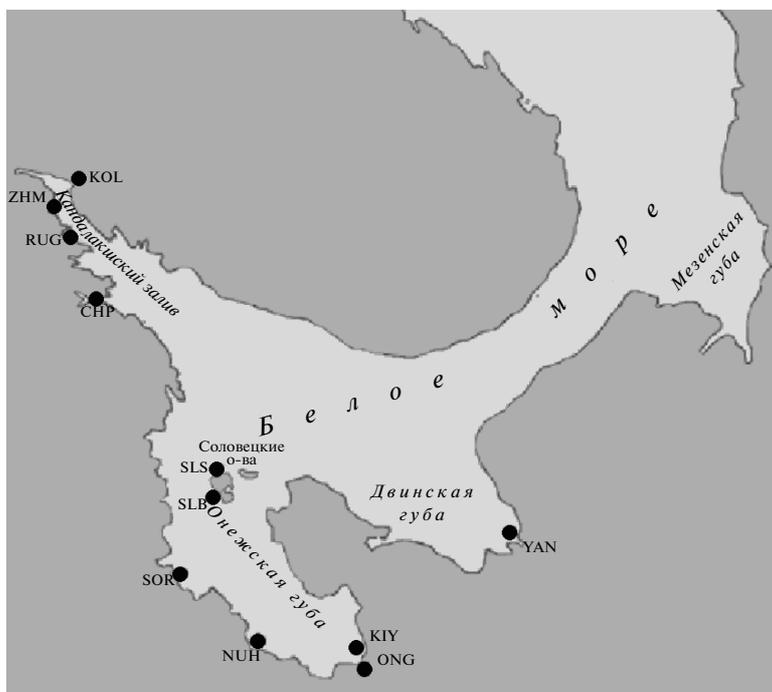
Изменчивость сельдей оценивалась по 10 тетра-нуклеотидным микросателлитным локусам: *Cpa110*, *Cpa113*, *Cpa4*, *Cpa7*, *Cpa27*, *Cha1059*, *Cha1020*, *Her28*, *Her71*, *Her140*, характеристики которых приведены в табл. 2. Из литературных источников [35] известно, что повторяющаяся последовательность локуса *Cpa7* – (GATA)<sub>n</sub>, т.е. разница в размере между аллелями должна быть кратна четырем нуклеотидам. Однако нами были обнаружены аллели, различающиеся на 2 нуклеотида, поэтому размер аллелей в этом локусе мы определяли с интервалом в 2 нуклеотида.

**Таблица 1.** Характеристика исследованного материала

Район сбора	Дата сбора	Эколого-физиологический статус	Координаты		Объем выборки	Обозначение выборки
			широта	долгота		
<i>Двинской залив</i> губа Яндовая	май, 2002	Нерестящиеся	64°37.8' с.ш.	39°48.3' в.д.	51	YAN
<i>Онежский залив</i> губа Сорокская	май, 2001	»	64°31.5' с.ш.	34°51.6' в.д.	41	SOR
губа Нюхча	май, 2001	»	63°58.9' с.ш.	36°17.7' в.д.	12	NUH
устье р. Онеги	март, 2006	»	63°56.3' с.ш.	37°57.9' в.д.	50	ONG
о-в Кий	май, 2002	»	63°59.6' с.ш.	37°53.6' в.д.	15	KIY
Соловецкие острова (губа Сосновая)	май, 2007	Преднерестовые	65°07.9' с.ш.	35°36.3' в.д.	30	SLS
Соловецкие острова (бухта Благополучия)	июнь, 2007	Нагуливающиеся	65°02.1' с.ш.	35°40.3' в.д.	28	SLB
<i>Кандалакшский залив</i> губа Чупа	апрель, 2001	Нерестящиеся	66°21.9' с.ш.	33°42.9' в.д.	18	CHP1
	апрель, 2008	»			50	CHP2
губа Жемчужная	апрель, 2002	»	67°07.5' с.ш.	32°12.8' в.д.	32	ZHM
губа Колвица	май, 2002	»	67°04.5' с.ш.	32°52.2' в.д.	10	KOL
губа Ругозерская	июнь, 2000	»	66°33.3' с.ш.	33°05.3' в.д.	51	RUG1
	июнь, 2002	»			38	RUG2

В тех пробах, ДНК которых была выделена из чешуи, не для всех экземпляров удалось удовлетворительно интерпретировать результаты по не-

которым локусам. Так, в ряде выборок отсутствуют данные по локусам *Sra113*, *Sra7*, *Sra27*. Характеристики общих показателей генетической



**Рис. 1.** Карта сбора выборок сельдей.

**Таблица 2.** Характеристика исследованных микросателлитных локусов

Локус	Повторяющаяся последовательность	Последовательность праймеров (5'-3')	Температура отжига, °C	Интервал размеров аллелей, пн	Источник информации о последовательности праймеров
<i>Spa110</i>	(TAGA) <sub>n</sub>	F: CTGACAACCCTCGACATACAT R: ACAATTTGCACTGGTTTGTAGTAG	52	138–162	[34]
<i>Spa113</i>	(ATCT) <sub>n</sub>	F: TGTCCATCTGTCCATTCAGC R: ACCACACAGCACATTTACAGG	50	120–204	[34]
<i>Spa4</i>	(GACA) <sub>n</sub>	F: CTTATCTGTCTGACTGCCTATTTG R: GTTTCTTCTCTGCTCCACCCAGAA	52	104–172	[35]
<i>Spa7</i>	(GATA) <sub>n</sub>	F: GGTATTGTGTTTGACAAACT R: GTTTGTAAGTGATAAGCTACTA	52	110–240	[35]
<i>Spa27</i>	(GACA) <sub>n</sub>	F: CACATTTATCAATTTCTTTG R: GTTTCAGAAAGAGAATCTAACCTCT	52	120–352	[35]
<i>Cha1059</i>	(GACA) <sub>n</sub>	F: CATCTACCACCTCCGACTCC R: AATCTAAAGGAAGCCCCTC	52	70–94	[36]
<i>Cha1020</i>	(GACA) <sub>n</sub>	F: CCTGGAGAGACAGATAGAAAA R: GAGTTTAGCAGACGCTTTA	52	165–245	[36]
<i>Her28</i>	(CTGT) <sub>n</sub>	F: CATTATCCATCTCATCCCTAAC R: GAGGAGATATGGAGACTCAGGG	51	77–117	[37]
<i>Her71</i>	(AGGC) <sub>n</sub>	F: ACATCACCCGACTGCTAACCC R: GTGGCTCTGGATGATGGTCT	51	85–109	[37]
<i>Her140</i>	(GATA) <sub>n</sub>	F: TTATGTAATGCACATTCAGATTATTTT R: TGTCCATCTCTATCTATCTGCCG	51	110–150	[37]

изменчивости приведены на основании данных по всем 10 изученным локусам, но для анализа генетической дифференциации сельдей локусы *Spa113*, *Spa7*, *Spa27* не использовались.

Оценку частот аллелей, аллельного разнообразия, ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности, статистические тесты на соответствие наблюдаемых по каждому локусу генотипических распределений равновесию Харди–Вайнберга (внутрипопуляционные коэффициенты инбридинга  $f$ ) [38] осуществляли с использованием программы GDA [39]. Оценки аллельного разнообразия, скорректированные по минимальному размеру выборки, были получены в программе FSTAT 2.9.3 [40]. Программный пакет GENEPOP 3.4 [41] был использован для проверки неравновесия по сцеплению, степени дифференциации популяций  $F_{ST}$ , расчета генетических дистанций Нея [42], значимости попарной генетической дифференциации между выборками с использованием критерия  $\chi^2$ . Все вероятностные тесты были основаны на алгоритме цепей Маркова [43]. Уровень статистической значимости для множественных вероятностных тестов корректировали с помощью последовательной процедуры Бон-

феррони [44]. Значимость величин  $F_{ST}$  оценивали с использованием программного пакета Arlequin 3.11 [45]. Также в программе Arlequin 3.11 проводили иерархический анализ молекулярной варьансы (AMOVA) [46]. В рамках этого анализа проводилось разделение общей генетической изменчивости на структурные иерархические компоненты, для каждого из них рассчитывались соответствующие индексы  $F$ -статистики ( $F_{ST}$ ). Были выбраны следующие уровни иерархии: между группами, между выборками внутри групп и внутри выборок. Исходя из предположений о популяционной структуре беломорских сельдей, в группы были объединены сельди либо в соответствии со сроками нереста (весенне- или летне-нерестующие), либо в соответствии с локализацией мест их нереста по заливам (Двинской, Онежский, Кандалакшский).

Степень дифференциации популяций оценивали также величиной  $\theta$  (аналога  $F_{ST}$ -статистики [38]) с использованием программы GDA. Построение UPGMA-дендрограмм и оценку бутстреп-поддержки осуществляли с помощью программы PHYLIP 3.9 [47] с последующей визуализацией в TREE VIEW 1.6.6. [48]. Значимость корреляции

генетических  $F_{ST}/(1 - F_{ST})$  и географических (по кратчайшему водному пути, км) дистанций между группировками проверяли с помощью Мантель-теста [49] в программе GENEPOP 3.4 с использованием 1000 пермутаций.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Все исследованные микросателлитные локусы были полиморфны, число аллелей в локусе варьировало от пяти (*Cpa110*, *Her71*) до 36 (*Cpa7*), в среднем 7.7 аллелей ( $A$ ), всего обнаружено 161 различных аллелей (табл. 3). Наибольшая изменчивость у сельдей наблюдалась по локусам *Cpa7* ( $A = 36$ ,  $H_E = 0.941$ ) и *Cha1020* ( $A = 21$ ,  $H_E = 0.929$ ). Наименее полиморфными оказались локусы *Her71* ( $A = 5$ ,  $H_E = 0.127$ ), *Her140* ( $A = 8$ ,  $H_E = 0.231$ ) и *Cpa110* ( $A = 5$ ,  $H_E = 0.461$ ).

Распределение генотипов в локусах *Cpa113*, *Cpa4*, *Cpa7*, *Cha1020*, *Her71*, *Her140* во всех выборках сельдей соответствовало теоретическому распределению Харди–Вайнберга. В некоторых выборках обнаружены достоверно значимые отклонения от равновесного распределения ( $p < 0.05$ ) в локусах *Cpa110*, *Cpa27*, *Cha1059* и *Her28* (18 из 115 тестов). В двух выборках выявлен статистически значимый избыток гетерозигот по локусу *Cpa110*; две выборки неравновесны в связи с дефицитом гетерозигот по локусу *Cpa27*; по локусам *Cha1059* и *Her28* обнаружена неравновесность, связанная как с недостатком, так и с избытком гетерозигот, в восьми и шести выборках соответственно. Однако после проведения коррекции Бонферрони достоверно значимыми оказались шесть оценок из 18 (табл. 3). Поскольку отклонения от равновесия Харди–Вайнберга вызваны как недостатком, так и избытком гетерозигот, сложно предполагать какую-то одну причину наблюдаемых отличий (эффект Валунда, присутствие неамплифицирующихся ноль-аллелей и т.д.). При проверке неравновесия по сцеплению для каждой выборки были достоверно значимы 12 тестов из 585, после проведения коррекции для множественных тестов достоверной корреляции между генотипами ни по одному из локусов не обнаружено.

Величина ожидаемой гетерозиготности в выборках сельдей изменялась в пределах от 0.02 до 0.981; кроме того, сельди из губ Колвица, Чупа (СНР1) и Ругозерская (RUG1) оказались мономорфными по локусу *Her71*. Оценки генетического разнообразия в выборках сельдей были довольно близкими. Так, средняя ожидаемая гетерозиготность, рассчитанная по семи локусам, варьировала между выборками от 0.493 (губа Жемчужная) до 0.624 (устье р. Онеги), скорректированные оценки аллельного разнообразия варьировали от 2.5 (губа Чупа, СНР1) до 4.1 (губа Сорокская, устье р. Онеги). Помимо наи-

больших оценок генетического разнообразия, в выборке сельдей из устьевой части р. Онеги обнаружено наибольшее число персональных аллелей (12) (табл. 3).

Множественный  $\chi^2$ -тест на генную дифференциацию выявил статистически значимые различия между всеми выборками сельдей ( $p < 0.001$ , после введения поправки на множественность тестов). Парные сравнения выборок по частотам генотипов (точный метод Фишера) в 59 случаях из 78 сравнений показывают высокодостоверные ( $p < 0.001$ – $0.01$ ) различия между парами исследованных локальностей. Недостоверны различия между выборками сельдей разных лет из губы (далее – г.) Чупа (СНР1 и СНР2), г. Ругозерской (RUG1 и RUG2), пробами из района Соловецких островов (SLS и SLB), а также еще в нескольких парах сравнения. После введения поправки Бонферрони 12 оценок из 59 следует считать недостоверными, результаты этого анализа представлены в табл. 4. Помимо временной стабильности генетических показателей у сельдей на нерестилищах можно отметить отсутствие различий между весеннерестующими сельдями Онежского залива (выборки из устьевого участка р. Онеги, г. Сорокской, г. Нюхча, о. Кий), а также весеннерестующими сельдями Кандакшского залива (г. Чупа, г. Жемчужная, г. Колвица).

Глобальная оценка  $F_{ST}$  по изменчивости микросателлитных локусов составила 0.026. Уровень попарной межвыборочной дифференциации в величинах  $F_{ST}$  изменялся от 0 до 0.085. 29 оценок попарной  $F_{ST}$  были достоверно значимы после коррекции уровня значимости на множественность тестов (табл. 4). При этом наблюдаемую генетическую дифференциацию нельзя объяснить географическими расстояниями между нерестилищами. Корреляции между генетическими дистанциями и географическим расстоянием по результатам Мантель-теста у выборок не обнаружено ( $p = 0.297$ ).

Используя формулу Райта  $F_{ST} = 1/(1 + 4 N_e m)$ , можно приблизительно оценить число мигрантов на поколение среди всех беломорских сельдей. Это значение составляет около 9 экз. на поколение.

Степень генетической дифференциации среди всех исследованных выборок сельди в величинах  $\theta$  была достоверно значимой ( $\theta = 2.03\%$  с 95%-ным доверительным бутстреп-интервалом {0.012; 0.03}). Наибольший вклад в дифференциацию вносят локусы *Cpa110* и *Her71*, значения  $\theta$  по этим локусам достигают 6.36 и 5.27% соответственно.

Иерархический анализ (AMOVA) мы проводили в нескольких вариантах с учетом гипотез о структурированности беломорских сельдей.

Анализ 1 проводился исходя из предположения об однородности сельдей, либо из предполо-

Таблица 3. Генетическая изменчивость популяций сельди по микросателлитным локусам

Локус	Показатели	Выборки													
		YAN	ONG	SOR	KIY	NUH	CHP1	CHP2	ZHM	KOL	SLS	SLB	RUG1	RUG2	
Cpa110	<i>n</i>	50	50	41	15	12	18	50	29	9	30	28	53	38	
	<i>A</i>	2	4	3	2	2	2	5	2	2	2	2	3	2	
	<i>Ar</i>	1.99	2.81	2.38	1.99	2.00	1.99	2.37	1.99	1.99	1.74	1.82	2.31	1.88	
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.503	0.579	0.454	0.480	0.518	0.500	0.498	0.506	0.470	0.209	0.249	0.373	0.304	
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.940	0.520	0.414	0.733	0.750	0.389	0.540	0.862	0.444	0.233	0.285	0.339	0.368	
	<i>f</i>	-0.884	0.102	0.088	-0.555	-0.477	0.227	-0.084	-0.724	0.058	-0.115	-0.148	0.009	-0.213	
	<i>P</i>	<b>0.00*</b>	0.100	0.06	0.076	0.249	0.368	0.519	<b>0.00*</b>	1.000	1.000	1.000	0.175	0.328	
Cpa113	<i>n</i>	н.д.	50	41	н.д.	12	18	48	н.д.	н.д.	30	22	53	н.д.	
	<i>A</i>		14	14		11	10	13			14	13	13		
	<i>Ar</i>		10.3	10.44		11.00	11.09	9.16			10.00	10.41	8.91		
	<i>H<sub>E</sub></i>		0.909	0.891		0.898	0.906	0.883			0.853	0.891	0.869		
	<i>H<sub>O</sub></i>		0.880	0.829		0.916	1.000	0.854			0.833	0.863	0.886		
	<i>f</i>		0.032	0.071		-0.021	-0.106	0.033			0.024	0.031	-0.020		
	<i>P</i>		0.054	0.053		0.168	0.610	0.711			0.281	0.197	0.061		
Cpa4	<i>n</i>	14	50	41	13	12	18	50	25	9	30	28	53	28	
	<i>A</i>	10	15	16	9	11	13	15	10	9	13	12	16	11	
	<i>Ar</i>	6.17	6.88	6.83	5.65	7.23	6.32	6.20	4.73	6.08	6.34	6.07	6.46	5.87	
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.873	0.907	0.902	0.836	0.927	0.876	0.872	0.764	0.882	0.884	0.840	0.887	0.859	
	<i>H<sub>O</sub></i>	1.000	0.960	0.878	1.000	1.000	1.000	0.940	1.000	1.000	0.933	0.892	0.867	0.892	
	<i>f</i>	-0.151	-0.058	0.027	-0.201	-0.081	-0.146	-0.078	-0.317	-0.142	-0.056	-0.026	0.022	-0.039	
	<i>P</i>	0.604	0.748	0.622	0.657	1.000	0.931	0.059	0.153	0.936	0.514	0.500	0.919	0.62	
Cpa7	<i>n</i>	н.д.	49	41	н.д.	12	18	49	н.д.	н.д.	29	27	53	н.д.	
	<i>A</i>		25	24		19	19	24			16	17	25		
	<i>Ar</i>		13.69	13.11		19.00	14.33	13.76			12.73	12.63	14.45		
	<i>H<sub>E</sub></i>		0.939	0.932		0.981	0.941	0.934			0.938	0.934	0.950		
	<i>H<sub>O</sub></i>		0.979	0.975		1.000	0.944	0.898			1.000	0.925	1.000		
	<i>f</i>		-0.043	-0.043		-0.019	-0.003	0.038			-0.067	0.009	-0.052		
	<i>P</i>		0.744	0.895		1.000	0.807	0.466			0.488	0.542	0.880		

Таблица 3. Продолжение

Лocus	Показатели	Выборки													
		YAN	ONG	SOR	KIY	NUH	CHP1	CHP2	ZHM	KOL	SLS	SLB	RUG1	RUG2	
<i>Spa27</i>	<i>n</i>	н.д.	50	41	н.д.	12	18	50	н.д.	н.д.	н.д.	30	27	53	н.д.
	<i>A</i>		24	16	7	4	4	8				8	8	13	
	<i>Ar</i>		11.06	8.18	7.00	3.99	3.99	5.15				6.11	5.70	5.77	
	<i>H<sub>E</sub></i>		0.857	0.787	0.753	0.753	0.767	0.767				0.741	0.708	0.647	
	<i>H<sub>O</sub></i>		0.700	0.756	0.750	0.777	0.900	0.900				0.500	0.629	0.528	
	<i>f</i>		0.184	0.040	0.005	-0.03	-0.174	-0.174				0.329	0.113	0.184	
	<i>P</i>		0.009*	0.256	0.811	0.872	0.148	0.148				0.003*	0.157	0.051	
<i>Cha1059</i>	<i>n</i>	51	50	41	14	12	18	49	24	10	29	27	52	35	
	<i>A</i>	5	5	5	4	4	5	5	4	4	4	4	6	5	
	<i>Ar</i>	3.41	4.09	4.04	3.10	3.65	3.80	3.92	3.23	3.71	3.82	3.82	4.06	3.82	
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.636	0.769	0.757	0.632	0.742	0.714	0.752	0.600	0.736	0.761	0.761	0.761	0.705	
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.882	0.600	0.487	1.000	0.583	0.666	0.448	0.833	0.900	0.586	0.703	0.596	0.514	
	<i>f</i>	-0.392	0.221	0.358	-0.617	0.222	0.068	0.406	-0.400	-0.236	0.233	0.076	0.218	0.273	
	<i>P</i>	<b>0.00*</b>	0.005*	0.03*	0.002*	0.693	0.870	<b>0.00*</b>	0.065	0.028*	0.284	0.446	0.006*	0.003*	
<i>Cha1020</i>	<i>n</i>	32	50	41	8	12	18	50	17	6	30	26	53	32	
	<i>A</i>	13	21	19	9	11	14	19	10	7	18	13	19	16	
	<i>Ar</i>	5.77	7.19	7.14	7.05	7.13	7.14	7.83	6.25	6.59	7.69	7.07	7.29	6.71	
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.840	0.901	0.916	0.925	0.920	0.915	0.944	0.884	0.924	0.939	0.920	0.923	0.897	
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.968	0.960	0.951	1.000	0.916	0.888	0.920	1.000	1.000	0.933	1.000	0.962	0.937	
	<i>f</i>	-0.155	-0.065	-0.038	-0.087	0.004	0.030	0.025	-0.135	-0.090	0.006	-0.088	-0.042	-0.045	
	<i>P</i>	0.389	0.478	0.556	1.000	0.713	0.731	0.389	0.209	1.000	0.056	0.526	0.909	0.694	
<i>Her28</i>	<i>n</i>	51	50	41	15	12	17	50	31	10	30	28	53	37	
	<i>A</i>	2	5	5	3	2	2	3	2	2	2	2	6	3	
	<i>Ar</i>	1.99	2.88	2.59	2.32	1.99	1.99	2.07	1.99	2.00	1.99	1.99	2.45	2.13	
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.501	0.580	0.551	0.503	0.507	0.470	0.421	0.489	0.512	0.506	0.477	0.526	0.504	
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.882	0.560	0.439	0.733	0.833	0.705	0.320	0.806	0.700	0.333	0.250	0.415	0.675	
	<i>f</i>	-0.771	0.033	0.206	-0.480	-0.692	-0.523	0.242	-0.667	-0.365	0.345	0.480	0.213	-0.345	
	<i>P</i>	<b>0.00*</b>	0.050	0.03*	0.087	0.063	0.050	0.050	<b>0.00*</b>	0.522	0.077	0.016*	0.025*	0.039*	

Таблица 3. Окончание

Локус	Показатели	Выборки												
		YAN	ONG	SOR	KIY	NUH	CHP1	CHP2	ZHM	KOL	SLS	SLB	RUG1	RUG2
<i>Her71</i>	<i>n</i>	51	49	41	15	12	18	50	32	9	30	28	53	38
	<i>A</i>	2	3	3	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2
	<i>Ar</i>	1.66	1.81	1.36	1.33	1.41	1.00	1.10	1.15	1.00	1.91	1.88	1.18	1.43
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.178	0.219	0.094	0.066	0.083	0.000	0.020	0.031	0.000	0.325	0.298	0.037	0.101
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.196	0.204	0.097	0.066	0.083	0.000	0.020	0.031	0.000	0.400	0.357	0.037	0.105
	<i>f</i>	-0.098	0.070	-0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-0.234	-0.200	-0.009	-0.042
	<i>P</i>	1.00	0.530	1.00	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.546	0.555	1.000	1.000
<i>Her140</i>	<i>n</i>	49	46	40	12	12	16	40	32	5	30	24	53	38
	<i>A</i>	4	7	6	3	3	5	7	3	2	2	3	5	3
	<i>Ar</i>	1.49	3.01	2.51	1.83	2.23	2.69	2.93	1.79	2.00	1.16	1.41	1.93	1.64
	<i>H<sub>E</sub></i>	0.099	0.413	0.296	0.163	0.300	0.340	0.409	0.176	0.200	0.033	0.082	0.209	0.149
	<i>H<sub>O</sub></i>	0.102	0.369	0.275	0.166	0.333	0.312	0.400	0.187	0.200	0.033	0.083	0.207	0.157
	<i>f</i>	-0.025	0.108	0.073	-0.023	-0.113	0.085	0.024	-0.062	0.000	0.000	-0.010	0.008	-0.059
	<i>P</i>	1.00	0.204	0.066	1.000	1.000	0.328	0.381	1.000	1.000	1.000	1.000	0.108	1.000
Среднее	<i>n</i>	42.57	49.4	40.9	13.14	12	17.7	48.7	27.14	8.3	29.8	26.5	52.9	35.1
	<i>A<sup>7</sup></i> ( <i>A<sup>10</sup></i> )	5.42	12.3 (8.6)	11.1 (8.2)	4.57	7.2 (5.0)	7.7 (6.0)	10.3 (8.1)	4.7	3.9	8.1 (6.1)	7.6 (5.4)	10.8 (8.1)	6
	<i>Ar<sup>7</sup></i> ( <i>Ar<sup>10</sup></i> )	3.22	4.1 (6.4)	4.1 (5.9)	3.38	3.7 (6.3)	2.5 (5.4)	3.8 (5.5)	3.37	3.38	3.3 (5.2)	3.2 (5.1)	3.7 (5.5)	3.6
	<i>Apr</i>	—	12	5	—	—	—	5	—	—	2	—	4	1
	<i>H<sub>E</sub><sup>7</sup></i>	0.518	0.624	0.567	0.515	0.571	0.545	0.559	0.493	0.533	0.522	0.522	0.531	0.503
	<i>H<sub>E</sub><sup>10</sup></i>	—	0.707	0.658	—	0.663	0.641	0.651	—	—	0.619	0.619	0.618	—
	<i>H<sub>O</sub><sup>7</sup></i>	0.710	0.596	0.506	0.671	0.642	0.566	0.512	0.674	0.606	0.493	0.510	0.489	0.521
<i>H<sub>O</sub><sup>10</sup></i>	—	0.673	0.610	—	0.716	0.668	0.624	—	—	0.578	0.599	0.584	—	

Примечание. *n* — объем выборки; *A* — число аллелей; *A<sup>7</sup>* — среднее число аллелей, рассчитанное по семи локусам; *A<sup>10</sup>* — среднее число аллелей, рассчитанное по десяти локусам; *Ar* — аллельное разнообразие, скорректированное на размер выборки; *Ar<sup>7</sup>* — рассчитанное по семи локусам; *Ar<sup>10</sup>* — рассчитанное по десяти локусам; *Apr* — число персональных аллелей; *H<sub>E</sub>* — ожидаемая гетерозиготность; *H<sub>E</sub><sup>7</sup>* — рассчитанная по семи локусам; *H<sub>E</sub><sup>10</sup>* — рассчитанная по десяти локусам; *H<sub>O</sub>* — наблюдаемая гетерозиготность; *H<sub>O</sub><sup>7</sup>* — рассчитанная по семи локусам; *H<sub>O</sub><sup>10</sup>* — рассчитанная по десяти локусам; *f* — внутривидовой коэффициент инбридинга; *P* — вероятность соответствия равновесию Харди-Вайнберга; \* — статистически значимое отклонение от равновесия Харди-Вайнберга, жирным шрифтом выделены значения, достоверные после коррекции Бонферрони; н.д. — нет данных.

**Таблица 4.** Оценки показателей попарной генетической дифференциации  $F_{ST}$  (под диагональю) и попарного сравнения по частотам генотипов (точный метод Фишера) (над диагональю)

	YAN	ONG	SOR	KIY	NUH	CHP1	CHP2	ZHM	KOL	SLS	SLB	RUG1	RUG2
YAN	----	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
ONG	<b>0.036*</b>	----	+/-	+/-	–	+/-	+	+	–	+	+	+	+
SOR	<b>0.037*</b>	0.007	----	–	–	–	–	+	–	+	–	+/-	+/-
KIY	0.023*	0.025*	0.011	----	+/-	–	–	–	–	+	+	+	–
NUH	0.026*	0.005	0.006	<b>0.039*</b>	----	+/-	+	+	–	+	+	+	+
CHP1	0.03*	0.009	0.006	0.003	0.015	----	–	–	–	+	+	+/-	+/-
CHP2	0.043*	0.014*	0.008	0.003	<b>0.024*</b>	0.001	----	–	–	+	+	+	+
ZHM	<b>0.023*</b>	0.034*	0.034*	0.003	<b>0.043*</b>	0.012	0.027	----	+/-	+	+	+	+
KOL	0.029	0.010	–0.001	0.016*	0.016	–0.008	0.011	0.028	----	+/-	+/-	–	–
SLS	<b>0.069*</b>	<b>0.028*</b>	0.014*	<b>0.052*</b>	<b>0.037*</b>	<b>0.033*</b>	<b>0.032*</b>	<b>0.085*</b>	0.025	----	–	+	+
SLB	<b>0.07*</b>	<b>0.025*</b>	0.009	<b>0.050*</b>	<b>0.039*</b>	0.028*	<b>0.027*</b>	<b>0.082*</b>	0.026	–0.01	----	+	+
RUG1	<b>0.052*</b>	<b>0.017*</b>	0.007	0.035*	<b>0.027*</b>	0.020*	<b>0.020*</b>	<b>0.061*</b>	0.014	0.009	0.007	----	–
RUG2	<b>0.04*</b>	<b>0.040*</b>	0.017	0.026*	<b>0.062*</b>	0.029*	<b>0.026*</b>	<b>0.049*</b>	0.015	0.024*	0.027*	0.012	----

Примечание. Над диагональю: “–” – различия недостоверны, “+/-” – различия достоверны ( $\alpha = 0.05$ ), “+” – различия достоверны после коррекции Бонферрони ( $\alpha = 0.05, k = 78$ ); под диагональю: “\*” – оценки достоверны, жирным шрифтом выделены значения, достоверные после коррекции Бонферрони.

жения об изолированности стад в каждом из заливов. Общее генетическое разнообразие было разложено на три иерархических уровня: между заливами Белого моря, между выборками в каждом из заливов и внутри выборок. Таким образом, все выборки распределены в три группы: сельдей Двинского, Онежского и Кандалакшского заливов, без разделения их по срокам нереста. В группу Онежского залива были включены выборки из районов Соловецких островов, губ Сорокская, Нюхча, устьевой части р. Онеги, о. Кий. Кандалакшский залив представлен выборками из губ Чупа, Жемчужная, Колвица, Ругозерская. Из Двинского залива в нашем распоряжении только одна выборка из г. Яндовая.

В Анализе 2 производилось разделение на иерархические уровни с учетом сроков нереста сельдей. Были представлены уровни иерархии: между весеннерестующими и летнерестующими сельдями, между выборками в пределах этих группировок и внутри выборок. Весеннерестующие сельди из Двинского (г. Яндовая), Онежского (г. Сорокская, г. Нюхча, устье р. Онеги, о. Кий) и Кандалакшского (г. Чупа, г. Жемчужная, г. Колвица) заливов, летнерестующие из Кандалакшского залива (г. Ругозерская) и Соловецких островов. В рамках этого анализа проводили также оценки иерархии как у летнерестующих, так и у весеннерестующих сельдей отдельно (анализ 2.1 и 2.2 соответственно). Результаты представлены в табл. 5.

Основная доля генетического разнообразия беломорских сельдей заключена внутри выбо-

рок – 97.3% (анализ 1) и 96.59% (анализ 2). По результатам анализа 1 дифференциация между отдельными заливами оказывается незначимой (0.5%,  $p > 0.05$ ), а между выборками в пределах каждого из заливов генетическая дифференциация статистически достоверна ( $p < 0.001$ ) и составляет 2.19% от общего генетического разнообразия. Анализ 2 показывает достоверные различия между весеннерестующими и летнерестующими сельдями ( $p < 0.001$ ), на долю которых приходится 1.85% генетического разнообразия. Как среди весеннерестующих, так и среди летнерестующих группировок внутривыборочная компонента одинакова и составляет 98.5% (анализ 2.1 и 2.2 соответственно). Однако среди летнерестующих сельдей генетическая дифференциация незначима как между нерестилищами, так и между выборками на каждом нерестилище (анализ 2.1), тогда как у весеннерестующих сельдей дифференциация между выборками внутри заливов достоверно значима (1.19%,  $p < 0.001$ ).

На основании попарных генетических дистанций Нея было построено бескорневое NJ-дерево (рис. 2). Распределение выборок на филограмме довольно однородное. Высокий (более 60%) уровень бутстреп-поддержки показан для ветви, состоящей из выборок из г. Ругозерской и Соловецких островов. Можно также отметить 100%-ную кластеризацию сельдей из района Соловецких островов.

Таблица 5. Иерархический анализ молекулярной вариации (AMOVA) у беломорских сельдей

	Уровень иерархии	Индексы F-статистики	Доля в общей изменчивости, %
Анализ 1: Белое море	Между отдельными заливами	0.005	0.5
	Между выборками в каждом заливе	0.022*	2.19
	Внутри выборок	0.026*	97.3
Анализ 2: Белое море	Между группами весенненерестующих и летненерестующих	0.0185*	1.85
	Между выборками внутри каждой группы	0.0159*	1.56
	Внутри выборок	0.034*	96.59
Анализ 2.1: летненерестующие	Между сельдями Соловецких островов и г. Ругозерской	0.010	0.998
	Между выборками внутри каждой группы	0.005	0.5
	Внутри выборок	0.0149*	98.5
Анализ 2.2: весенне-нерестующие	Между заливами	0.0075	0.75
	Между выборками внутри заливов	0.012*	1.19
	Внутри выборок	0.019*	98.5

\*  $p < 0.001$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень генетического разнообразия у беломорских сельдей ( $H_E = 0.127–0.941$ , в среднем 0.595), полученный на основании 10 микросателлитных локусов, оказался ниже, чем у группировок сельдей *Clupea pallasii* на ареале. Так, по дан-

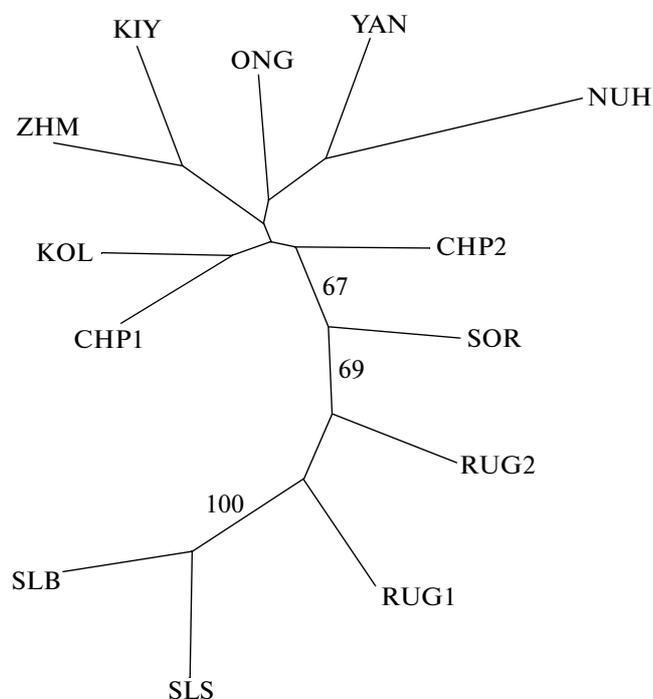


Рис. 2. Бескорневая NJ-дендрограмма, построенная по дистанциям Нея; в узлах указаны индексы бутстреп-поддержки более 60%, 1000 итераций.

ным литературы оценки средней ожидаемой гетерозиготности у тихоокеанских сельдей составляют 0.815–0.945 [32, 50–52]. Прежде всего оценки генетического разнообразия связаны с набором маркерных локусов, использованных для исследования. В настоящей статье мы использовали несколько новых локусов (*Her28*, *Her71*, *Her140*), разработанных недавно [37]; работ по генетической дифференциации сельдей с их использованием пока нет. Также нет данных об изменчивости тихоокеанских сельдей по локусам *Cpa110* и *Cpa7*. По тем маркерам, сведения о которых имеются в литературе и которые применялись и в настоящей работе (*Cpa4*, *Cpa113*, *Cpa27*, *Cha1020*, *Cha1059*), оценки генетического разнообразия довольно сходны у беломорских и тихоокеанских сельдей. Поэтому нет оснований предполагать более низкий уровень генетического разнообразия сельдей Белого моря по сравнению с сельдями на ареале. В пределах Белого моря наибольший уровень генетического разнообразия по сравнению со всеми остальными выборками отмечен у сельдей, размножающихся в кутовой части Онежского залива (ONG).

В нашем распоряжении имелись по две выборки из г. Чупа и г. Ругозерской, собранные на нерестилищах в разные годы, а также две выборки из района Соловецких островов, взятые с интервалом в две недели. Для всех этих выборок отмечена временная стабильность генетических параметров сельдей на основании микросателлитных локусов. Ранее на более обширном материале из Белого и юго-восточной части Баренцева моря нами была показана стабильность частот аллелей аллозимных локусов в течение ряда лет (от 2 до 8) у не-

рестовых группировок на всех локальных нерестилищах, а также и в поколениях сельдей [30, 31]. Постоянство генетических показателей нерестовых группировок сельдей в Белом море представляет, на наш взгляд, значительный интерес, поскольку у тихоокеанских и атлантических сельдей в ряде случаев отмечена достоверная генетическая дифференциация между выборками разных лет или даже в течение нерестового хода, как по аллозимным [53], так и по микросателлитным маркерам [54–61].

По результатам мечения у тихоокеанских сельдей уровень “хоминга” (возврата на нерест на нерестилища, откуда произошли) может достигать 75–95% [62–67]. Постоянство морфо-биологических показателей нерестовых группировок беломорских сельдей на отдельных нерестилищах из года в год, а также выявленная нами временная стабильность генетических параметров [30, 31, данное исследование] также косвенно свидетельствуют о высоком уровне “хоминга” у сельдей Белого моря.

Значительная генетическая дифференциация показана между беломорскими сельдями по всем изученным локусам ( $p < 0.001$ ). Парные оценки генетической дифференциации на основании  $\chi^2$ -критерия также являются высокодостоверными для большинства локальностей, что позволяет говорить о существовании репродуктивной изоляции между нерестовыми группировками сельдей из различных районов Белого моря. Степень генетической дифференциации среди всех исследованных выборок сельди в величинах  $\theta$  достоверно значима ( $\theta = 2.03\%$  с 95%-ным доверительным бутстреп-интервалом {0.012; 0.03}), что также свидетельствует о том, что беломорские сельди не представляют собой единую панмиктическую популяцию.

Значения генетической дифференциации между группировками беломорских сельдей оказались весьма значительными ( $F_{ST}$  от 0.001 до 0.086, в среднем 0.026), принимая во внимание относительно небольшую акваторию Белого моря (наибольшее расстояние между участками сбора выборок в Кандалакшском и Двинском заливах составляет около 400 км) и высокий уровень миграций и обмена генами между популяциями, свойственный морским пелагическим видам, таким как сельдь [68, 69]. Среди тихоокеанских сельдей средний уровень генетической дифференциации по микросателлитным локусам в оценках  $F_{ST}$  ( $\theta$ ) составляет от 0.002–0.003 [50, 51, 70] до 0.036 [32], среди атлантических сельдей — от 0.001–0.01 [33, 54, 56, 71–73] до 0.065 [74]. Последняя оценка отражает дифференциацию на огромном ареале между сельдями восточной и западной части Атлантического океана.

По нашим оценкам число мигрантов на поколение у беломорских сельдей приблизительно равно 9. Для сельдей северо-восточной части Тихого океана оно составляет 78 [51].

Результаты иерархического анализа (AMOVA) показывают несостоятельность предположений о генетической однородности беломорских сельдей. Нет оснований также предполагать репродуктивное единство сельдей в каждом отдельном заливе, без разделения их по срокам нереста. Так, при объединении в каждом заливе сельдей с различными сроками нереста дифференциация в пределах каждого залива оказывается высокодостоверной ( $p < 0.001$ ) (анализ 1, табл. 5). Оценка генетической дифференциации между сельдями с различным сроком нереста из Кандалакшского залива также достоверно значима и составляет  $\theta = 2.06\%$  (95%-ный бутстреп-интервал {1.19; 3.04}).

При иерархическом анализе сельдей с учетом сроков нереста основная компонента межпопуляционного генетического разнообразия приходится на различия между весенненерестующими и летненерестующими сельдями (1.85%,  $p < 0.001$ ) (AMOVA, анализ 2, табл. 5). Эти результаты согласуются с данными генетической дифференциации сельдей в Белом море, полученными на основании аллозимных локусов: наибольшая величина межпопуляционного генетического разнообразия оказалась между весенненерестующими и летненерестующими сельдями и составила 0.98% [30]. По всей вероятности основным механизмом поддержания генетической дифференциации между двумя экологическими формами сельдей являются различия в сроках нереста. Многими исследователями одним из важнейших изолирующих механизмов между популяциями тихоокеанских и атлантических сельдей предполагаются различия в сроках нереста локальных группировок [50, 51, 53, 75].

Исследования аллозимного полиморфизма не выявили генетических различий как среди весенненерестующих, так и среди летненерестующих сельдей Белого моря [30, 31]. Однако данные по изменчивости микросателлитных локусов показывают генетическую неоднородность как среди весенненерестующих, так и среди летненерестующих сельдей.

Так, в ряде случаев достоверны парные оценки генетической дифференциации ( $F_{ST}$  и  $\chi^2$ ) между выборками весенненерестующих сельдей (табл. 4), достоверны и показатели межпопуляционной дифференциации при иерархическом анализе (AMOVA, анализ 2.2, табл. 5). Уровень генетического разнообразия весенненерестующих сельдей в оценках  $\theta$  достоверно значим,  $\theta = 1.55\%$  (95%-ный бутстреп-интервал {0.99; 2.12}).

В пределах заливов также обнаруживаются достоверные различия между выборками различных нерестилищ: дифференциация весенненерестующих сельдей в Кандалакшском заливе  $\theta = 0.85\%$  {0.014; 1.48}, в Онежском заливе  $\theta = 1.01\%$  {0.57; 1.52}. Однако по результатам попарного сравнения у весенненерестующих сельдей Кандалакшского залива различий не обнаружено ни на основании критерия  $\chi^2$ , ни по  $F_{ST}$ -показателю (после введения поправки на множественность тестов). У сельдей из Онежского залива достоверные попарные различия показаны только между выборками из г. Нюхча и о. Кий по  $F_{ST}$ -показателю (табл. 4).

Группировка летненерестующих сельдей по сравнению с весенненерестующими генетически более однородна. Не обнаружено дифференциации между выборками сельдей ни на основании иерархического анализа (AMOVA, анализ 2.1, табл. 5), ни по оценкам попарной  $F_{ST}$  (табл. 4). Статистически недостоверна оценка генетического разнообразия  $\theta = 0.67\%$  (95%-ный бутстреп-интервал {-0.00; 1.57}). Достоверные различия выявлены только при попарном сравнении по критерию  $\chi^2$  между выборками губы Ругозерской и Соловецких островов (табл. 4).

Таким образом, данные микросателлитной изменчивости у беломорских сельдей опровергают гипотезу о репродуктивном единстве стада сельдей в Белом море [18, 26]. Подтверждаются предположения исследователей о существовании в Белом море репродуктивно изолированных группировок сельдей с различным временем нереста: “крупных” летненерестующих и “мелких” весенненерестующих [5–7, 19]. Различные сроки и условия нереста, а также специфические морфобиологические характеристики сельдей свидетельствуют о различной жизненной стратегии этих группировок: весенненерестующие сельди осваивают прибрежные акватории, питаются мелким зоопланктоном и “нацелены” на быстрое созревание, в то время как летненерестующие осваивают открытые части моря, совершая миграции, питаются крупным зоопланктоном и созревают на 2–3 года позже [31]. Обнаруженная генетическая дифференциация между весенне- и летненерестующими сельдями по аллозимным и микросателлитным локусам подтверждает их репродуктивную обособленность.

Кроме того, наши данные показывают обоснованность выделения в пределах весенненерестующей группировки локальных стад сельдей в каждом из заливов Белого моря (Кандалакшском, Онежском, Двинском) [6, 7, 10–12]. Не исключена возможность существования частичной репродуктивной изоляции весенненерестующих сельдей также и на отдельных нерестилищах в пределах одного залива [9]. Для более детального

описания репродуктивных взаимоотношений группировок весенненерестующих сельдей отдельных нерестилищ, как и для более полного представления о популяционно-генетической структуре летненерестующих сельдей необходимо проведение дальнейших исследований с привлечением дополнительного материала.

Таким образом, сельди Белого моря характеризуются сложной популяционно-генетической структурой. Наибольшие генетические различия существуют между экологическими формами сельдей с различными сроками нереста: весенненерестующими и летненерестующими. Не исключено, что изоляция между этими группировками сформировалась еще до их вселения в Белое море [31].

Экологическая пластичность, свойственная морским сельдям рода *Clupea*, в специфических условиях Белого моря способствует формообразовательным процессам, что приводит к образованию в пределах одной экологической формы сельдей из разных заливов или даже отдельных нерестилищ частично репродуктивно изолированных стад. Прежде всего это касается весенненерестующей формы – многочисленной, имеющей подходящие условия для нереста в каждом из заливов Белого моря. Возникновению и поддержанию репродуктивной изоляции между такими нерестовыми группировками в заливах способствуют, вероятно, гидрологические особенности Белого моря, ограничивающие распространение личинок с нерестилищ [76–78]. Авторы на основании многолетних исследований распределения личинок беломорской сельди в каждом из заливов, с привлечением современных данных о гидрологической структуре вод Белого моря [79, 80], убедительно обосновали отсутствие обмена личинками между стадами сельдей, нерестящихся в Кандалакшском, Онежском и Двинском заливах. Удержанию личинок в пределах мелководий Кандалакшского залива способствует система двуслойной циркуляции вод, существующая в районах нереста сельдей. Вынос личинок за пределы Онежского и Двинского заливов может ограничиваться присутствием фронтальных разделов на их границах с Бассейном Белого моря. Предполагается также, что и во время мальковой фазы развития сельди остаются вблизи нерестилищ [78]. Несмотря на то что для нагула сельди могут расходиться по акватории Белого моря, где происходит смешение локальных стад, уже в осенний период стада сельдей возвращаются в губы заливов и на нерест они с высокой долей вероятности приходят на свои нерестилища [81–84]. Однако уровень обнаруженного генетического разнообразия беломорских сельдей не позволяет полностью исключить генный обмен между соседними нерестилищами.

Для описания популяционно-генетической структурированности атлантических сельдей была предложена концепция локальных популяций, основанная на существовании обособленных “личиночных ареалов” с ограниченными возможностями для их рассеивания [85, 86]. Согласно этой концепции популяции сельдей в одном районе могут состоять из нескольких самостоятельных субпопуляций, использующих различные нерестилища, но имеющих частично перекрывающиеся личиночные ареалы и даже полностью совпадающие нагульные области. Эти субпопуляции показывают высокий уровень общности (“хоминга”) и поэтому остаются дискретными. Некоторые исследователи также принимают эту концепцию при описании структуры тихоокеанских сельдей [51], однако допуская некоторый уровень стрейнга между соседними нерестилищами. В общих чертах концепция “локальных популяций” согласуется и с картиной популяционно-генетической структурированности беломорских сельдей.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 13-04-00247-а), Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы, госконтракт 16.740.11.0489, а также грантов Программ Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология” и “Живая природа. Динамика генофондов” (руководитель Л.А. Животовский).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Берг Л.С. Рыбы пресных вод России. Изд. 2. Ч. 1. М., 1923. 501 с.
2. Дерюгин К.М. Фауна Белого моря и условия ее существования // Исследования фауны морей ГГИ. 1928. Вып. 7–8. 510 с.
3. Берг Л.С. Об амфибореальном распространении морской фауны в Северном полушарии // Изв. Всесоюз. геогр. об-ва. 1934. Т. 16. С. 71–79.
4. Андрияшев А.П. Некоторые вопросы амфибореального распространения с замечаниями о возможном происхождении наваги и малопозвонковой сельди // Материалы по комплексному изучению Белого моря. 1957. Т. 1. С. 117–125.
5. Рабинерсон А.И. Материалы по исследованию беломорской сельди // Труды НИИ по изучению Севера. Вып. 25. М., 1925. 146 с.
6. Аверинцев С.В. Сельди Белого моря // Труды НИИ рыбного хозяйства и океанографии. 1927. Т. 2. Вып. 1. С. 41–47.
7. Аверинцев С.В. Сельди Белого моря // Труды НИИ рыбного хозяйства и океанографии. 1928. Т. 3. Вып. 4. С. 73–112.
8. Алтухов К.А. Рыбы Белого моря. М.; Л.: Наука, 1958. 150 с.
9. Дмитриев Н.А. Биология и промысел сельди в Белом море. М.: Пищепромиздат, 1946. С. 1–88.
10. Мухомедияров Ф.Б. О динамике и структуре локальных популяций сельдей в заливах Белого моря // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 38–52.
11. Тамбовцев В.М. Особенности распределения, размножения и состояния запасов мелкой кандалакшской сельди // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 185–226.
12. Алтухов К.А., Ерастова В.М. Сравнительная характеристика расы Кандалакшского и Онежского заливов // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 26–37.
13. Артемьева К.Ф. Об элементарных популяциях беломорской сельди // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 82–94.
14. Артемьева К.Ф. К вопросу изучения нерестовых стад сельди *Clupea harengus pallasi*, n. *marisalbi* Berg Белого моря // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 95–103.
15. Световидов А.Н. Фауна СССР. Рыбы. Сельдевые. М.; Л., 1952. Т. 2. Вып. 1. 331 с.
16. Layus D.L. White Sea herring (*Clupea pallasi maris-albi* Berg) population structure: interpopulation variation of frequency of chromosomal rearrangement // Cytium. 1996. V. 20 (3). P. 279–294.
17. Марти Ю.Ю. Семейство сельдевых // Промысловые рыбы Белого и Баренцева морей. Л., 1952. С. 42–75.
18. Лапин Ю.Е. Общая характеристика сельди Белого моря // Экология рыб Белого моря. М.: Наука, 1978. С. 37–52.
19. Рабинерсон А.И. О систематическом положении беломорской сельди // Изв. гос. ин-та опытной агрономии. 1923. Т. 1. Вып. 3. С. 54–59.
20. Чепракова Ю.И. Биологическая характеристика мелкой малопозвонковой сельди Кандалакшского залива и особенности размножения // Закономерности динамики численности рыб Белого моря и его бассейна. М.: Наука, 1966. С. 12–16.
21. Алтухов К.А. Размножение сельди в губе Чупа Кандалакшского залива // Материалы по комплексному изучению Белого моря. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963. Вып. 2. С. 100–113.
22. Аверинцев С.В. О сельдях Белого моря и их промысле // За рыбную индустриализацию Севера. 1934. № 2–3. С. 12–15.
23. Лайус Д.Л. Популяционная структура беломорской сельди, данные кариологического анализа // Труды Зоол. ин-та АН СССР. 1990. Т. 227. С. 4–15.
24. Лайус Д.Л. О популяционной структуре беломорской сельди // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря: Материалы докл. Л., 1995. С. 25–27.
25. Krixunov E.A. Population dynamics of the White Sea herring stocks // Proc. Intern. Herring Symp., Anchorage, Alaska, USA, 1990. P. 361–372.
26. Надежин В.М. Значение течений в жизни беломорской сельди // Вопр. ихтиологии. 1963. Т. 3. Вып. 4 (29). С. 618–624.
27. Скворцова Т.А. Хромосомные комплексы беломорской сельди *Clupea harengus pallasi* n. *marisaibi* Berg

- и салаки *Clupea harengus harengus n. membras* L. // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 15–18.
28. Кулачкова В.Г., Груздилова Т.А. О популяционной структуре стада беломорской сельди (на основе различий в зараженности трематодами) // Проблема изучения, рац. использования и охраны природных ресурсов Белого моря: Тез. докл. Архангельск, 1985. С. 239–240.
  29. Душкина Л.А. Пигментация морских сельдей рода *Clupea* как один из возможных показателей их происхождения // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 227–254.
  30. Семенова А.В., Андреева А.П., Карпов А.К. и др. Генетическая изменчивость сельдей рода *Clupea* Белого моря // Вопр. ихтиологии. 2004. Т. 44. № 2. С. 207–217.
  31. Семенова А.В., Андреева А.П., Карпов А.К., Новиков Г.Г. Анализ аллозимной изменчивости у сельдей *Clupea pallasii* Белого и Баренцева морей // Вопр. ихтиологии. 2009. Т. 49. С. 354–371.
  32. O'Connell M., Dillon M.C., Wright J.M. Development of primers for polymorphic microsatellite loci in the Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*) // Mol. Ecol. 1998. V. 7. P. 358–360.
  33. Shaw P.W., Turan C., Wright J.M. et al. Microsatellite DNA analysis of population structure in Atlantic herring (*Clupea harengus*), with direct comparison to allozyme and mtDNA RFLP analysis // Heredity. 1999. V. 83. P. 490–499.
  34. Olsen J.B., Lewis C.J., Kretschmer E.J. et al. Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from Pacific herring // Mol. Ecol. Notes. 2002. № 2. P. 101–103.
  35. Miller K.M., Laberee K., Schulze A.D., Kaukinen K.H. Development of microsatellite loci in Pacific herring (*Clupea pallasii*) // Mol. Ecol. Notes. 2001. № 1. P. 131–132.
  36. McPherson A.A., O'Reilly P.T., McParland T.L. et al. Isolation of nine novel tetranucleotide microsatellites in Atlantic herring (*Clupea harengus*) // Mol. Ecol. Notes. 2001. № 1. P. 31–32.
  37. Teacher A.G.F., Kähkönen K., Merilä J. Development of 61 new transcriptome-derived microsatellites for the Atlantic herring (*Clupea harengus*) // Conserv. Gen. Res. 2011. Open access. DOI: 10.1007/s12686-011-9477-5.
  38. Вейр Б. Анализ генетических данных. М.: Мир, 1995. 399 с.
  39. Lewis P.O., Zaykin D. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d 16c). 2001. Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.unconn.edu/lewishome/software.html>
  40. Goudet J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). 2001. Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
  41. Raymond M., Rousset F. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenism // J. Heredity. 1995. V. 8. P. 248–249.
  42. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1973. V. 70. P. 3321–3323.
  43. Guo S., Thompson E.A. Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles // Biometrics. 1992. V. 48. P. 361–372.
  44. Rice W.R. Analyzing tables of statistical tests // Evolution. 1989. V. 43. P. 223–225.
  45. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinform. Online. 2005. V. 1. P. 47–50.
  46. Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. V. 131. P. 479–491.
  47. Felsenstein J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package), Version 3.5. Seattle, WA: Univ. Washington, 1993.
  48. Page R.D.M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers // Computer Applicat. Biosci. 1996. V. 12. P. 357–358.
  49. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach // Cancer Research. 1967. V. 27. P. 209–220.
  50. Beacham T.D., Schweigert J.F., MacConnachie C. et al. Population structure of herring (*Clupea pallasii*) in British Columbia determined by microsatellites, with comparisons to southeast Alaska and California // Department of Fisheries and Oceans, Science Advisory Secretariat, Research Document 2002/109. Available: [http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/sci/psarc/ResDocs/pelagics\\_02htm\\_e.htm](http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/sci/psarc/ResDocs/pelagics_02htm_e.htm)
  51. Small M.P., Loxterman J.L., Frye A.E. et al. Temporal and spatial genetic structure among some Pacific herring (*Clupea pallasii*) populations in Puget Sound and the southern Strait of Georgia // Trans. Amer. Fish. Soc. 2005. V. 134. P. 1329–1341.
  52. Sugaya T., Sato M., Yokoyama E. et al. Population genetic structure and variability of Pacific herring *Clupea pallasii* in the stocking area along the Pacific coast of northern Japan // Fish. Sci. 2008. V. 74. P. 579–588.
  53. Kornfield I., Sidell B.D., Gagnon P.S. Stock definition in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.): genetic evidence for discrete fall and spring spawning population // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1982. V. 39. P. 1610–1621.
  54. Jørgensen H.B.H., Hansen M.M., Loeschcke V. Spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.) in the Southwestern Baltic Sea: do they form genetically distinct spawning waves? // ICES J. Mar. Sci. 2005. V. 62. № 6. P. 1065–1075.
  55. Jørgensen H.B.H., Hansen M.M., Bekkevold D. et al. Marine landscapes and population genetic structure of herring (*Clupea harengus* L.) in the Baltic Sea // Mol. Ecol. 2005. V. 14. № 10. P. 3219–3234.
  56. McPherson A.A., Stephenson R.L., Taggart C.T. Genetically different Atlantic herring (*Clupea harengus*) spawning waves // Mar. Ecol. 2003. V. 247. P. 303–309.
  57. Seeb J.E., Merkouris S.E., Seeb L.W., Olsen J.B. Genetic discrimination of Prince William Sound herring populations // Exxon Valdez Oil Spill Restoration Project Final Report 97165. 1999. Alaska Department

- of Fish and Game, Genetics Laboratory, Anchorage, Alaska.
58. Schweigert J.F., Whithler R.E. Genetic differentiation of Pacific herring based on enzyme electrophoresis and mitochondrial DNA analysis // Amer. Fish. Soc. Symp. 1999. V. 7. P. 459–469.
  59. Bentzen P., Olsen J., Britt J., Hughes K. Molecular genetic polymorphism in Alaskan herring (*Clupea pallasii*) and its implications for population structure // Report submitted to Alsk. Dep. Fish Game, Anchorage, Alaska, 1998. P. 43.
  60. Wright J.M., Dillon M.C. Temporal stability of microsatellite markers in Prince William Sound herring populations // Report submitted to Alsk. Dep. Fish Game, Anchorage, AL, 1997. P. 48.
  61. O'Connell M., Dillon M.C., Wright J.M. et al. Genetic structuring among Alaskan Pacific herring populations identified using microsatellite variation // J. Fish Biol. 1998. V. 53. P. 150–163.
  62. Hart J.L., Tesler A.L., McHugh J.L. The tagging of herring (*Clupea pallasii*) in British Columbia: insertions and recoveries during 1940–41 // Report B.C. Prov. Fish. Dept. 1941. P. 47–74.
  63. Stevenson J.C., Hourston A.S., Jackson K.J., Outram D.N. Results of the West Coast of Vancouver Island herring investigation, 1951–52 // Report B.C. Prov. Fish. Dept. 1952. P. 57–87.
  64. Hourston A.S. Homing by Canada's west coast herring to management units and divisions as indicated by tag recoveries // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1959. V. 16. P. 1414–1422.
  65. Stobo W.T. Tagging studies on Scotian shelf herring // NAFO SCR Doc. 82/IX/108. Ser. No. 617. 1982. P. 16.
  66. Wheeler J.P., Winters G.H. Homing of Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) in Newfoundland waters as indicated by tagging data // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1984. V. 41. P. 108–117.
  67. Wheeler J.P., Winters G.H. Migrations and stock relationships of east and southeast Newfoundland herring *Clupea harengus*, as shown by tagging studies // J. NW Atl. Fish. Sci. 1984. V. 5. P. 121–129.
  68. Shaklee J.B., Bentzen P. Genetic identification of stocks of marine fish and shellfish // Bull. Mar. Sci. 1998. V. 62. P. 589–621.
  69. Waples R.S. Separating the wheat from the chaff: patterns of genetic differentiation in high-gene flow species // Genetics. 1998. V. 89. P. 438–450.
  70. Wildes S.L., Vollenweider J.J., Nguyen H.T., Guyon J.R. Genetic variation between outer-coastal and fjord populations of Pacific herring (*Clupea pallasii*) in the eastern Gulf of Alaska // Fish. Bull. 2011. V. 109. P. 382–393.
  71. McPherson A.A., Stephenson R.L., O'Reilly P.T. et al. Genetic diversity of coastal Northwest Atlantic herring populations: implications for management // J. Fish Biol. 2001. V. 59. Suppl. A. P. 356–370.
  72. Mariani S., Hutchinson W.F., Hatfield E.M. et al. North Sea herring population structure as revealed by microsatellite analysis // Marine Ecology Progress Series. 2005. V. 303. P. 245–257.
  73. Larsson L.C., Laikre L., Andre C. et al. Temporally stable genetic structure of heavily exploited Atlantic herring (*Clupea harengus*) in Swedish waters // Heredity. 2010. V. 104 (1). P. 40–51.
  74. McPherson A.A., O'Reilly P.T., Taggart C.T. Genetic differentiation, temporal stability, and the absence of isolation by distance among Atlantic herring populations // Trans. Amer. Fish. Soc. 2004. V. 133. P. 434–446.
  75. Beacham T.D., Schweigert J.F., MacConnachie C. et al. Population structure of herring (*Clupea pallasii*) in British Columbia: an analysis using microsatellite loci // Department of Fisheries and Oceans, Science Advisory Secretariat, Research Document 2001/128. Available: <http://www.dfo-mpo.gc.ca/csas/>
  76. Евсеенко С.А., Андрианов Д.П., Мишин А.В., Наумов А.П. Видовой состав и распределение ихтиопланктона Белого моря в июле 2003 г. // Вопр. ихтиологии. 2006. Т. 46. № 5. С. 672–685.
  77. Мишин А.В., Евсеенко С.А., Евдокимов Ю.В. О видовом составе и распределении летнего ихтиопланктона губы Чупа (Кандалакшский залив Белого моря) // Вопр. ихтиологии. 2008. Т. 48. № 6. С. 844–850.
  78. Евсеенко С.А., Мишин А.В. О распределении личинок и локализации нерестовых стад беломорской сельди *Clupea pallasii marisalbi* // Вопр. ихтиологии. 2011. Т. 51. № 6. С. 809–821.
  79. Pantyulin A.N. Hydrological system of the White Sea // Oceanology. 2003. V. 43. P. 1–14.
  80. Перцова Н.М., Пантюлин А.Н. Связь фауны веслоногих рачков (Copepoda, Calanoida) Белого и Баренцева морей и механизмы независимости беломорских популяций // Зоол. журн. 2005. Т. 8. № 8. С. 948–956.
  81. Вильсон А.П. Биология и промысел сельди Кандалакшского залива // Материалы по комплексному изучению Белого моря. М.: Изд-во АН СССР, 1957. Т. 1. С. 103–116.
  82. Алтухов К.А., Ерастова В.М. Результаты мечения сельди в карельских водах Белого моря // Рыбное хозяйство. 1962. № 5. С. 19–22.
  83. Мухомедиаров Ф.Б. Миграционные пути беломорских сельдей на основе их мечения // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 109–125.
  84. Алтухов К.А. Биология ранних стадий развития кандалакшской сельди // Исследования фауны морей. 1975. Т. 16. С. 185–226.
  85. Smedbol R.K., Stephenson R.L. The importance of managing within-species diversity in cod and herring fisheries of the north-western Atlantic // J. Fish Biol. 2001. V. 59 (Suppl. A). P. 109–128.
  86. Stephenson R.L., Melvin G.D., Power M.J. Population integrity and connectivity in Northwest Atlantic herring: a review of assumptions and evidence // ICES J. Mar. Sci. 2009. V. 66. P. 1733–1739.

**Analysis of Microsatellite Loci Variations in Herring  
(*Clupea pallasii marisalbi*) from the White Sea**

**A. V. Semenova<sup>a</sup>, A. P. Andreeva<sup>a</sup>, A. K. Karpov<sup>a</sup>, A. N. Stroganov<sup>a</sup>,  
G. A. Rubtsova<sup>b</sup>, and K. I. Afanas'iev<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*Department of Ichthyology of Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119992 Russia*

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

<sup>b</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

*e-mail: afanasiev@vigg.ru*

The genetic diversity among spawning groups of herring from different parts of the White Sea was assessed using ten microsatellite loci. All loci were polymorphic with the expected heterozygosity estimates varying in the range of 12.7–94.1% (mean was 59.5%). The degree of genetic differentiation displayed by White Sea herring was statistically significant ( $\theta = 2.03\%$ ). The level of pairwise genetic differentiation  $F_{ST}$  was 0–0.085, and it was statistically significant in most of the comparison pairs between the herring samples. A hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) revealed the statistically significant differentiation of White Sea herring. 96.59% genetic variation was found within the samples and 3.41% variation was found among the populations. The main component of interpopulation diversity (1.85%) falls at the differences between two ecological forms of herring, spring- and summer-spawning. Within the spring-spawning form, the presence of local stocks in Kandalaksha Gulf, Onega Bay, and Dvina Bay was demonstrated.