

Командор может быть свидетельством расширения ареала тихоокеанского белобокого дельфина в высокие широты, связанного с глобальными макроклиматическими явлениями последних лет.

Список использованных источников / References

Артюхин Ю. Б., Бурканов В. Н., Никулин В. С. 2010. Прилов морских птиц и млекопитающих на дрейферном промысле лососей в северо-западной части Тихого океана. Российская академия наук Дальневосточное отделение Камчатский филиал Тихоокеанского института географии. М.: Скорость цвета, 264 стр. [Artukhin Yu. B., Burkanov V. N., Nikulin V. S. 2010. Accidental by-catch of marine birds and mammals in the salmon gillnet fishery in the Northwestern Pacific Ocean. Russian Academy of Sciences Far Eastern Branch, Kamchatka Branch of Pacific Geographical Institute. Moscow: Skorost' tsveta, 264 pp. IN RUSSIAN]

Ashe E. and Braulik G. 2018. *Lagenorhynchus obliquidens*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T11145A50361866. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T11145A50361866.en>.

Seger K. D. and Miksis-Olds J. L. 2019. Acoustic documentation of temperate odontocetes in the Bering and Chukchi Seas. *Mar Mam Sci*. doi:10.1111/mms.12577

---

Филатова О.А. <sup>1</sup>, Мещерский И.Г. <sup>2</sup>, Бутрим А.В. <sup>1</sup>, Федутин И.Д. <sup>1</sup>, Титова О.В. <sup>3</sup>, Бурдин А.М. <sup>3</sup>, Хойт Э. <sup>4</sup>

## Генетическая характеристика нагульных скоплений горбатых китов северо-западной части Тихого океана

1. Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия
2. Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), Москва, Россия
3. Камчатский филиал Тихоокеанского института географии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Петропавловск-Камчатский, Россия
4. Общество охраны китов и дельфинов, Вилтшир, Великобритания

---

Filatova O.A. <sup>1</sup>, Meschersky I.G. <sup>2</sup>, Butrim A.V. <sup>1</sup>, Fedutin I.D. <sup>1</sup>, Titova O.V. <sup>3</sup>, Burdin A.M. <sup>3</sup>, Hoyt E. <sup>4</sup>

## Genetic analysis of humpback whales on the feeding grounds in the western North Pacific

1. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia
2. A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
3. Kamchatka branch of the Pacific Geographical Institute, Far-Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, Petropavlovsk-Kamchatsky, Russia
4. Whale and Dolphin Conservation (WDC), Wiltshire, UK

DOI: 10.35267/978-5-9904294-0-6-2019-1-360-365

Горбатые киты (*Megaptera novaeangliae*) совершают ежегодные сезонные миграции, летом откочевывая в более высокие широты для нагула, а на зиму возвращаясь в теплые воды низких широт для размножения (спаривания и рождения детенышей). В северной ча-

Humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) migrate seasonally from the higher latitudes, where they feed in the summer, to warm waters of the lower latitudes, where they mate and give birth in winter. There are several breeding grounds in the North Pacific: Asian

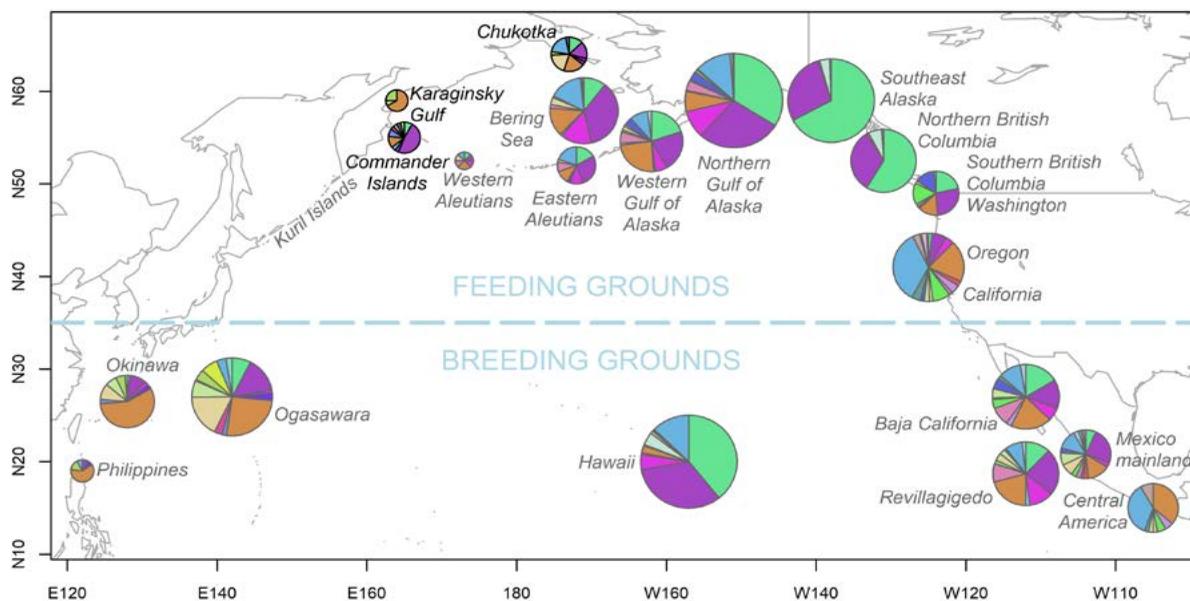


Рис. 1. Частоты гаплотипов митохондриальной ДНК горбатых китов в нагульных и репродуктивных районах северной Пацифики. Площадь круга пропорциональна числу проб.

Fig. 1. Frequencies of mitochondrial DNA haplotypes for humpback whales in the feeding and breeding regions of the North Pacific. The circle size is proportional to the number of individuals sampled.

сти Тихого океана известно несколько районов размножения: азиатский (Огасавара, Окинава и Филиппины), гавайский и мексиканский (острова Ревильяхихедо, район у побережий Калифорнийского полуострова и материковой Мексики) и центральноамериканский (Calambokidis et al., 2008; см. Рисунок 1). Районы нагула представлены более или менее дискретными нагульными скоплениями по всей северной Пацифике: от Калифорнии на юго-востоке и северных Курильских островов на юго-западе до Чукотки на севере. Для горбачей, как и для многих других китообразных, характерна привязанность к определенным местам размножения и нагула: то есть один и тот же кит чаще всего ежегодно мигрирует между одними и теми же районами нагула и размножения (хотя бывают и исключения, особенно среди самцов). При этом животные из одного района размножения могут мигрировать в разные районы нагула и наоборот. Все это создает достаточно сложную и запутанную популяционную структуру (Calambokidis et al., 2008). Целью данной работы было прояснить с помощью генетических методов отношения между тремя нагульными скоплениями в российских водах: Командорские острова, Карагинский залив и восточная Чукотка – и сравнить их с другими нагульными скоплениями северной части Тихого океана, а также с районами размножения китов.

(Ogasawara, Okinawa, and the Philippines), Hawaiian, Mexican (Revillagigedo Islands, Baja California, and mainland Mexico), and Central American (Calambokidis et al. 2008; see Figure 1). These feeding grounds are represented by more or less discrete feeding aggregations across the entire North Pacific, from California in the southeast to Chukotka in the north and the northern Kuril Islands in the southwest. Humpback whales, as well as many other cetaceans, have high site fidelity to feeding and breeding regions, i.e. a whale most likely migrates annually between the same feeding and breeding grounds (with some exceptions such as males, being less constant). Whales from the same breeding ground migrate to different feeding grounds, and vice versa. This creates a complicated and intricate population structure (Calambokidis et al. 2008). In this study we aimed to clarify, through a genetic analysis, the relationships between three feeding grounds in Russian waters (the Commander Islands, Karaginsky Gulf, and eastern Chukotka) and compare them to the other North Pacific feeding and breeding grounds.

Skin biopsy samples were collected from humpback whales on the feeding grounds near the Commander Islands ( $N = 25$ ), in Karaginsky Gulf ( $N = 12$ ), and in the Senyavin Strait ( $N = 31$ ) from 2014 to 2017. During

Образцы кожи китов были собраны методом дистанционной биопсии в нагульных скоплениях возле Командорских островов ( $N = 25$ ), в Карагинском заливе ( $N = 12$ ) и в проливе Сенявина в водах восточной Чукотки ( $N = 31$ ) в период с 2014 по 2017 гг. При взятии биопсии мы фотографировали каждого кита для последующей индивидуальной идентификации и чтобы избежать повторного взятия пробы.

Генетический анализ проводился в кабинете методов молекулярной диагностики Института проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова РАН на автоматическом анализаторе Applied Biosystems 3500 с использованием методов секвенирования (терминирующая реакция – BigDye Terminator v.3.1) и фрагментного анализа. В качестве генетических маркеров были выбраны: участок контрольного региона митохондриальной ДНК (мтДНК) – фрагмент длиной 667 пн, традиционно используемый в исследованиях горбатого кита (Baker et al., 2013, праймеры MT4 [5'cctcctaagactcaaggaag 3'] и H00034 [5'taccaaatgtatgaaacctcag 3']) и 11 микросателлитных локусов ядерной ДНК: Ev14, Ev37, Ev96 (Valsecchi, Amos, 1996), GATA417, GATA28, GATA53 (Palsbøll et al., 1997), GT211, GT23, GT575 (Berube et al., 2000), rw4-10, rw48 (Waldick et al., 1999).

Уровень различий по частотам отмеченных в выборках гаплотипов мтДНК между исследованными регионами и другими нагульными скоплениями и районами размножения в северной части Тихого океана (данные Baker et al., 2013) оценивали на основе  $F_{st}$ -критерия с помощью пакета strataG (Archer et al. 2016) в R (R core team 2017). Данные об аллельном составе микросателлитных локусов в исследованных районах анализировали методом кластеризации (программа Structure v.2.3.4, Pritchard et al., 2000) с использованием модели «admixture».

Анализ частот гаплотипов контрольного региона митохондриальной ДНК выявил значимые различия между всеми тремя исследованными регионами, при этом наиболее выраженным было отличие двух географически близких нагульных скоплений – Командорских островов и Карагинского залива ( $F_{st} = 0.277, p < 0.001$ ), в меньшей степени скопление Карагинского залива отличалось от пролива Сенявина ( $F_{st} = 0.173, p < 0.01$ ) и наименее различными оказались скопления Командорских островов и пролива Сенявина ( $F_{st} = 0.078, p < 0.01$ ). При этом нагульное скопление у Командорских островов достоверно не отличалось по частоте присутствующих здесь гаплотипов от двух близлежащих – в Беринговом море и у западных Алеутских островов (Таблица 1, Рисунок 1). Эти районы экологически похожи и вполне возможно, что они, все три, составляют единую нагульную аквато-

each biopsy, photographs were taken for subsequent individual identification and to avoid re-sampling of the same animals.

Genetic analysis was performed in the Molecular Diagnostics Laboratory, Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, using an Applied Biosystems 3500 genetic analyzer, based on the sequencing (terminating reaction, on a BigDye Terminator v.3.1) and fragment analysis methods. We used the fragment of mtDNA control region of 667 bp, which is a popular marker in humpback whale research (Baker et al., 2013, primers MT4 [5'cctcctaagactcaaggaag 3'] and H00034 [5'taccaaatgtatgaaacctcag 3']), and 11 microsatellite loci of nuclear DNA: Ev14, Ev37, Ev96 (Valsecchi, Amos, 1996), GATA417, GATA28, GATA53 (Palsbøll et al., 1997), GT211, GT23, GT575 (Berube et al., 2000), rw4-10, and rw48 (Waldick et al., 1999).

We estimated the level of difference between the study regions, the other feeding aggregations and breeding grounds in the North Pacific (data of Baker et al., 2013) in terms of frequency of mtDNA haplotypes found in the samples using  $F$ -statistics ( $F_{st}$ ) in the strataG package (Archer et al. 2016) of the R environment (R Core Team 2017). Allele composition of microsatellite loci in the study regions was analyzed by clustering in Structure v.2.3.4 (Pritchard et al., 2000), using the “admixture” model.

The analysis of haplotype frequency of the mtDNA control region showed significant differences between all three study regions. Two geographically close feeding grounds—the Commander Islands and Karaginsky Gulf—proved to be most different from one another ( $F_{st} = 0.277, p < 0.001$ ). The differences were less pronounced between Karaginsky Gulf and the Senyavin Strait ( $F_{st} = 0.173, p < 0.01$ ) and between the Commander Islands and the Senyavin Strait ( $F_{st} = 0.078, p < 0.01$ ). The feeding grounds off the Commander Islands had no significant differences from two feeding regions nearby, in Bering Sea and off the western Aleutians, in terms of the frequency of haplotypes present here (Table 1, Fig. 1). These regions are ecologically similar and all three are likely to comprise a single feeding ground. Senyavin Strait had no significant differences from the three feeding regions: the eastern and the western Aleutians, and in western Gulf of Alaska. The rest of comparisons of these two regions with the other feeding grounds and all the comparisons for Karaginsky Gulf showed significant differences.

Таблица 1. Уровень различий в частоте гаплотипов митохондриальной ДНК между исследованными регионами и другими нагульными и репродуктивными районами северной Пацифики, Fst-критерий ( $*p < 0.05$ ,  $**p \leq 0.01$ ,  $***p \leq 0.001$ ).

Table 1. Level of difference in frequency of mtDNA haplotypes between the studied regions and the other feeding and breeding grounds in the North Pacific, Fst ( $*p < 0.05$ ,  $**p \leq 0.01$ ,  $***p \leq 0.001$ ).

|   | N   | Командоры /<br>Commanders, N=25 | Карагинский /<br>Karaginsky, N=12 | Сенявина /<br>Senyavin, N=31 |
|---|-----|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <b>Районы нагула / Feeding grounds</b>                                    |     |                                 |                                   |                              |
| Западные Алеутские о-ва / Western Aleutians                               | 8   | 0.053                           | 0.120*                            | 0.000                        |
| Берингово море / Bering Sea   | 114 | 0.025                           | 0.230***                          | 0.032*                       |
| Восточные Алеутские о-ва / Eastern Aleutians                              | 36  | 0.039*                          | 0.228***                          | 0.008                        |
| Запад залива Аляска Western / Gulf of Alaska                              | 96  | 0.049*                          | 0.147***                          | 0.014                        |
| Север залива Аляска / Northern Gulf of Alaska                             | 233 | 0.069**                         | 0.272***                          | 0.058**                      |
| Юго-восточная Аляска / Southeast Alaska                                   | 183 | 0.283***                        | 0.514***                          | 0.277***                     |
| Север Британской Колумбии / Northern British Columbia                     | 104 | 0.194***                        | 0.453***                          | 0.207***                     |
| Юг Британской Колумбии, Вашингтон Southern British / Columbia, Washington | 51  | 0.036*                          | 0.218***                          | 0.054**                      |
| Калифорния, Орегон / California, Oregon                                   | 123 | 0.152***                        | 0.182***                          | 0.035*                       |
| <b>Районы размножения / Breeding grounds</b>                              |     |                                 |                                   |                              |
| Огасавара / Ogasawara   | 159 | 0.074***                        | 0.107**                           | 0.006                        |
| Окинава / Okinawa   | 72  | 0.199***                        | 0.005                             | 0.113***                     |
| Филиппины / Philippines   | 13  | 0.207***                        | 0.000                             | 0.108**                      |
| Гавайи / Hawaii   | 227 | 0.084**                         | 0.331***                          | 0.088***                     |
| о-ва Ревильяхихедо / Mexico – Revillagigedo                               | 106 | 0.042**                         | 0.155***                          | 0.016                        |
| Калифорнийский п-ов / Mexico - Baja California                            | 110 | 0.067***                        | 0.142***                          | 0.015                        |
| Мексика материковая / Mexico – mainland                                   | 62  | 0.030*                          | 0.170***                          | 0.002                        |
| Центральная Америка / Central America                                     | 36  | 0.212***                        | 0.141*                            | 0.057*                       |

рию. Для скопления в проливе Сенявина статистически достоверных отличий не было обнаружено при сравнении с нагульными районами у восточных и западных Алеут и в западной части залива Аляска. Все остальные отличия двух данных скоплений от других нагульных районов и все – для Карагинского залива – были статистически значимыми.

Сравнение распределения частот гаплотипов в исследованных нагульных скоплениях с данными по разным районам размножения показало, что киты из пролива Сенявина имели наибольшее сходство (отсутствие статистически значимых различий) с тремя мексиканскими

Comparisons of the haplotype frequencies in the studied feeding regions with the data from the breeding grounds showed that the Senyavin Strait had the highest similarity with (no significant differences from) four breeding grounds: Ogasawara and all three Mexican regions. Karaginsky Gulf did not differ significantly from Okinawa and the Philippines in composition of mitochondrial lineages. Whales from the Commander Islands differed significantly from all the known breeding grounds in haplotype composition. However, the lowest level of difference was also found in comparison between whales from the Commander Islands and the three Mexican (Fst = 0.030–0.067)

районами, но, одновременно, и с районом Огасавары. Состав митохондриальных линий китов из Карагинского залива меньше всего отличался от известного для двух районов в западной Пацифике – Окинавы и Филиппин. Для китов же из нагульного скопления у Командорских островов сходства по составу гаплотипов с какими-либо районами размножения найти не удалось – все отличия были статистически значимы (Таблица 1, Рисунок 1). Однако и в этом случае наименьший уровень различий был отмечен при сравнении с тремя мексиканскими районами размножения ( $F_{st} = 0.030–0.067$ ), а также с районом Огасавара ( $F_{st} = 0.074$ , Таблица 1, Рисунок 1). При этом сами мексиканские районы размножения отличаются от района Огасавары на величину  $F_{st} = 0.020–0.032$ , которая является статистически достоверной (Baker et al., 2013). В то же время отличия центральноамериканского района размножения как от близкорасположенных мексиканских, так и от района Огасавары значительно больше ( $F_{st} = 0.071–0.096$ , там же).

Полученные результаты дополняют картину, сформированную ранее на основе сравнения фотокаталогов китов из разных районов (Titova et al., 2018). По этим данным, наиболее обособленным российским нагульным скоплением является Карагинский залив, в нем подавляющее большинство составляют киты из азиатских репродуктивных скоплений, что и подтверждается генетическими данными. На Командорские острова приходят нагуливаться киты из всех районов размножения, кроме центральноамериканского (Titova et al., 2018), поэтому командорское скопление, являясь смешанным, значимо отличается от каждого из районов размножения в отдельности.

Из каких районов размножения киты приходят в пролив Сенявина, пока неизвестно, но отсутствие различий с одним азиатским и тремя мексиканскими районами указывает на смешанное происхождение. Отсутствие отличий между скоплением пролива Сенявина и нагульными районами на Алеутах и в западной части залива Аляска, возможно, указывает на то, что пролив Сенявина (в котором горбачи начали регулярно появляться лишь после 2010 года) был колонизирован китами, ранее проводившими лето в этих регионах.

Анализ данных о частотах аллелей микросателлитных локусов в трех исследованных нагульных скоплениях методом кластеризации показывает генетическое единство всех трех выборок – наиболее вероятным результатом является принадлежность особей всех трех российских нагульных скоплений к одному общему кластеру. Отсутствие выраженной подразделенности

and Ogasawara ( $F_{st} = 0.074$ ) regions (Table 1, Fig. 1). Herewith, the Mexican regions differ from Ogasawara by statistically significant values of  $F_{st} = 0.020–0.032$  (Baker et al., 2013). At the same time, the difference of the Central American breeding ground both from the closely located Mexican regions and from Ogasawara is much greater ( $F_{st} = 0.071–0.096$ , *ibid.*).

Our results complement the pattern obtained earlier through comparison of the photo-catalogs across the regions (Titova et al. 2018). The most Russian feeding ground with the most uniform composition is Karaginsky Gulf. The majority of whales found there were from the Asian breeding grounds, which is confirmed by genetic data. The Commander Islands host feeding whales from all the breeding regions, except Central America (Titova et al., 2018), and, thus, the mixed Commander feeding aggregation differs significantly from each of the breeding grounds.

The breeding grounds of whales arriving in the Senyavin Strait are unknown, but the lack of genetic differences from one Asian and three Mexican regions indicates a mixed origin. The lack of differences between the Senyavin aggregation and the feeding grounds in the Aleutians and in the western Gulf of Alaska suggests that the Senyavin Strait (regularly visited by humpbacks only since 2010) was probably colonized by whales that had previously summered in those regions.

The analysis of the number of possible genetic clusters by microsatellite markers showed the genetic similarity of all the three samples: most likely all the three Russian feeding grounds belong to the same single genetic cluster. The lack of evident structuring by microsatellite markers is typical not only for humpback whale feeding grounds, but also for breeding grounds (Baker et al. 2013). This is likely explained by the higher mobility of males between the breeding grounds, which leads to more homogenous distribution of nuclear markers across the regions as compared to mitochondrial markers that are inherited only through the maternal ancestry (Baker et al. 2013).

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant no. 18-04-00462).

при анализе по микросателлитным маркерам характерно не только для нагульных, но и для репродуктивных скоплений горбачей (Baker et al. 2013). Это связано, вероятно, с более активным перемещением самцов (по сравнению с самками) между районами размножения, что приводит к более гомогенному распределению ядерных маркеров по сравнению с митохондриальными, передающимися только по материнской линии (Baker et al. 2013).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 18-04-00462).

#### Список использованных источников / References

Archer F.I., Adams, P.E., Schneiders B. B. 2016. strataG: An R package for manipulating, summarizing and analyzing population genetic data. *Mol Ecol Resour.* 17(1): 5-11.

Baker C.S., Steel D., Calambokidis J., Falcone E., González-Peral U., Barlow J., ... & Mattila D. 2013. Strong maternal fidelity and natal philopatry shape genetic structure in North Pacific humpback whales. *Marine Ecology Progress Series* 494: 291-306.

Bérubé M., Rew M.B., Cole T., Swartz S.L., Zolman E., Øien N., & Palsbøll P.J. 2004. Genetic identification of an individual humpback whale between the eastern Caribbean and the Norwegian Sea. *Marine Mammal Science* 20(3): 657-663.

Calambokidis, J., E. A. Falcone, T. J. Quinn, et al. 2008. SPLASH: Structure of populations, levels of abundance and status of humpback whales in the North Pacific. Final report for Contract AB133F-03-RP-00078 to U.S. Department of Commerce Western Administrative Center Seattle, WA.

Palsbøll P.J., Allen J., Berube M., Clapham P.J., Feddersen T.P., Hammond P.S., ... & Larsen F. 1997. Genetic tagging of humpback whales. *Nature* 388(6644): 767.

Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.

R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Titova O.V., Filatova O.A., Fedutin I.D., Ovsyanikova E.N., Okabe H., Kobayashi N., Acebes J.M., Burdin A.M., Hoyt E. 2018. Photo-identification matches of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from feeding areas in Russian Far East Seas and breeding grounds in the North Pacific. *Marine Mammal Science* 34(1): 100-112.

Valsecchi E., Amos W. 1996. Microsatellite markers for the study of cetacean populations. *Molecular Ecology* 5(1): 151-156.

Waldick R.C., Brown M.W., White B.N. 1999. Characterization and isolation of microsatellite loci from the endangered North Atlantic right whale. *Molecular Ecology* 8(10): 1763-1765.