

# ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

## МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЕТЫ *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ФРАГМЕНТА ГЕНА ЦИТОХРОМА *b* В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

**Л.Т. Бачевская, В.В. Переверзева**

Учреждение Российской академии наук Институт биологических проблем  
Севера (ИБПС) ДВО РАН, Магадан

## INTERPOPULATION DIFFERENTIATION OF CHUM SALMON *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) OF NORTHEAST RUSSIA ACCORDING TO THE SEQUENCE ANALYSIS OF CYTOCHROME *b* GENE FRAGMENT OF MITOCHONDRIAL DNA

**L.T. Bachevskaya, V.V. Pereverzeva**

Institute of the Biological Problems of the North (IBPN) FEB RAS, Magadan

Среди всех видов рода *Oncorhynchus* кета *O. keta* (Walbaum) имеет наиболее обширный ареал с разнообразными климатическими условиями. Она является ценным промысловым объектом. В последнее время интенсивно развиваются молекулярно-генетические исследования этого вида. Широкое применение находят методы изучения изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК). Интерес к исследованию в данном направлении вполне понятен, так как результаты подобных работ расширяют представления о структуре и эволюции кеты. Несмотря на имеющиеся успехи в исследованиях внутривидовой структуры вида с помощью молекулярно-генетических методов, поиск информативных маркеров по-прежнему актуален. Для ее внутривидовой дифференциации в качестве маркера неоднократно был использован ген цитохрома *b* (*cytb*). Анализ варьируемых сайтов, полученных при секвенировании участка гена *cytb* мтДНК кеты из некоторых рек северного побережья Охотского моря и Камчатки, показал, что обнаруженные мутации отражают уникальность генофонда каждой из них (Бачевская, Переверзева, 2010). Отмечена перспективность проводимых работ для оценки уровня полиморфизма гена цитохрома *b* мтДНК и определения дифференцирующей способности этого маркера у кеты из рек различных районов российского Дальнего Востока. С этой целью было исследовано 730 образцов из 12 популяций кеты из некоторых рек материкового побе-



режья Охотского моря, Камчатки, островов Сахалин и Итуруп, а также из р. Анадырь.

В процессе изучения определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена *cytb*, содержащая 395 пар нуклеотидов. Выделение и очистка мтДНК проводилась по методу (Fleming, Cook, 2002). Участок гена *cytb* митохондриального генома амплифицировался с использованием праймеров Lk14735 (5'- AAAAACCACCGTT GTTATTCAACTA-3') и H15149ad (5'- GCICCTCARAATG AYATTTGTCCT-3'). Полимеразная цепная реакция проводилась по методике, описанной Расселлом (Russell et al., 2000). Выявление нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов мтДНК проведено по стандартной методике с использованием праймера Lk14735 наборов для циклического секвенирования ДНК Big Dye Terminator (Applied Biosystems, v. 3.1) и генетического анализатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением пакета программ MEGA-4 (Tamura et al., 2007).

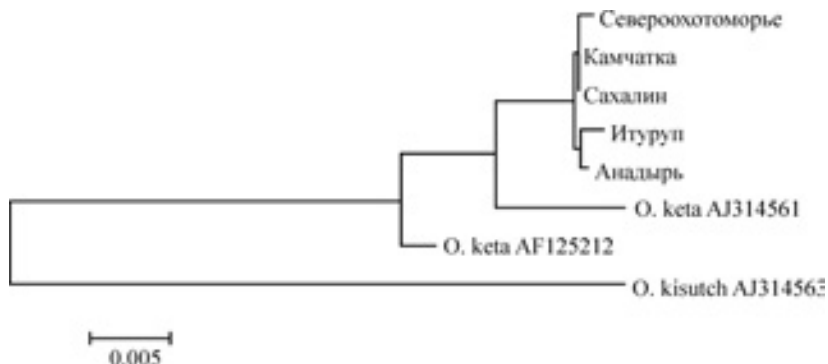
Выявлено 24 гаплотипа. Вариант B1 наиболее распространен во всех исследованных популяциях, остальные гаплотипы встречаются с различной частотой, а некоторые являются уникальными. Среди исследованных популяций кета из рек Яна, Армань (северное побережье Охотского моря) и из ручья Порожистый (о. Итуруп) имеет наиболее высокие значения нуклеотидного и гаплотипического разнообразия. Наименьшими значениями этих показателей характеризуется камчатская и сахалинская кета, которая статистически достоверно ( $P < 0.05$ ) отличается от североохотоморской. Наблюдаемое своеобразие генетического облика кеты из рек Андриановка и Козыревка, Ясноморка и Охотского ЛРЗ, вероятно, в значительной мере определяется эффектом «основателя». Хотя нельзя исключить, что в процессе становления указанных популяций могла произойти утрата ряда гаплотипов за счет стохастических процессов (дрейф генов), что привело к снижению их генетического разнообразия. Значения нуклеотидного и гаплотипического разнообразия кеты р. Анадырь сопоставимы с рассчитанными для некоторых североохотоморских популяций. Тем не менее, нельзя не отметить, что анадырская кета имеет только два гаплотипа, которые представлены почти в равной степени, а североохотоморские популяции имеют более разнообразный гаплотипический состав.

Полученные данные анализировали с использованием программы AMOVA (Analysis of Molecular Variance) (Excoffier et al., 2005). Исследованные популяции были объединены в группы по региональному принципу. Первая группа включает кету из рек материкового побережья Охотского моря, вторая – кету из рек Камчатки. Третья и четвертая группы состоят из популяций островов Сахалин и, соответственно, Итуруп. Пятая – представлена анадырской кетой. Расчеты показали, что при таком варианте объединения на долю внутривидовой генетической



изменчивости ( $F_{st}$ ) приходится 90.87 %, на долю межпопуляционной изменчивости внутри групп ( $F_{sc}$ ) – 0.9 %, а межгрупповой компонент ( $F_{st}$ ) составляет 8.23 %. Преобладание одного общего для всех изученных популяций гаплотипа В1 и относительно малая доля межгрупповой изменчивости дает основание предполагать существование общего источника при освоении видом территории и свидетельствует об относительно небольшом времени дивергенции популяций кеты из исследованного региона.

Наиболее ярко генетические связи кеты могут быть представлены с помощью NJ-дендрограммы (метод ближайшего соседства). На основании бипараметрической модели дистанций Кимуры построено филогенетическое дерево (рис.). Для филогенетического анализа дополнительно использовали нуклеотидные последовательности гена *cytb* мтДНК корейской и канадской кеты GenBank (AF125212, AJ314561). В качестве внешней группы была использована нуклеотидная последовательность гена *cytb* мтДНК кижуча GenBank (AJ314563). На рисунке можно выделить несколько кластеров. При этом все исследованные нами популяции вошли в две разные клады. Первая клада включает североохотоморские, сахалинские и камчатские популяции, вторая – объединяет анадырскую и итурупскую. Несмотря на отмеченные нами межпопуляционные отличия четкой дивергенции по географической принадлежности анализируемых групп не просматривается. В то же время наблюдаются значительные отличия исследованных нами популяций, как от корейской, так и от канадской кеты.



Филогенетические взаимоотношения между исследованными популяциями кеты (NJ-дендрограмма)

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования гена *cytb* мтДНК в качестве маркера для внутривидовой дифференциации. Необходимо дальнейшее расширение географии исследований и накопление базы данных по изменчивости фрагмента гена *cytb* мтДНК кеты, что актуально не только для изучения популяционной структуры вида, но и для решения задач прикладного характера.



## ЛИТЕРАТУРА

Бачевская Л.Т., Переверзева В.В. 2010. Внутривидовой полиморфизм фрагмента гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) из рек восточной Камчатки и северного побережья Охотского моря // Вестн. ВОГиС. Т. 14. № 3. С. 537–544.

Excoffier L., Laval G., Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinformatics Online. Vol. 1. P. 47–50.

Fleming M.A., Cook J.A. 2002. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska // Mol. Ecol. № 11. P. 795–807.

Russell V.J., Hold G.L., Pryde S.E. et al. 2000. Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between Salmon species // J. Agric. Food Chem. № 48. P. 2184–2188.

Tamura K., Dudley J. et al. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biol. Evol. Vol.24. P. 1596–1599.