

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕРКИ
ONCORHYNCHUS NERKA (WALBAUM) НЕКОТОРЫХ
НАГУЛЬНО-НЕРЕСТОВЫХ ОЗЕР АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ
АРЕАЛА**

О. А. Пильганчук, Н. Ю. Шпигальская, А. Д. Денисенко

*Камчатский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
и океанографии (КамчатНИРО), Петропавловск-Камчатский*

**GENETIC CHARACTERISTICS OF SOCKEYE
ONCORHYNCHUS NERKA (WALBAUM) SOME REARING AND
SPAWNING LAKES FOR ASIAN PART OF THE AREA**

O. A. Pilganchuk, N. Yu. Shpigalskaya, A. D. Denisenko

*Kamchatka Research Institute of Fisheries and Oceanography
(KamchatNIRO), Petropavlovsk-Kamchatsky*

Нерка *Oncorhynchus nerka* является одним из наиболее ценных промысловых видов рыб российского Дальнего Востока. Среди всех тихоокеанских лососей у нерки самая сложная внутривидовая организация, для нее отмечена наибольшая дифференциация на сезонные и экологические формы, отличающиеся сроками нереста и типом осваиваемых нерестилищ (Алтухов, 1997). Жизненный цикл наиболее значимых промысловых популяций, как правило, приурочен к озерно-речным системам с крупными и достаточно глубокими озерами (Бугаев, Кириченко, 2008). Известно, что на территории Камчатского края насчитывается несколько десятков тысяч больших и малых озер, из них в 220 бассейнах воспроизводятся лососи, на долю озер с их притоками приходится до 50–70 % всего количества нерестующей красной (Остроумов, 1985). Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению озерных экосистем (например, обзор Бугаев, Кириченко, 2008), многие вопросы, связанные с генетическими особенностями нерки, в настоящее время не исследованы, либо изучены недостаточно глубоко. Результаты популяционно-генетических работ, несомненно, являются базовой информацией, позволяющей не только сохранять существующее в озерах биоразнообразие, но и восстанавливать по каким-либо причинам утраченное.

В данной работе представлены результаты исследования 12 выборок производителей нерки (552 экз.), отобранных непосредственно на литорали озер или на речных (ключевых) нерестилищах в их бассейнах (таблица). Тотальную ДНК выделяли из фиксированных в 96%-ном этаноле

плавников или сердечной мышцы стандартным способом (Маниатис и др., 1984). Амплификацию проводили с использованием наборов, содержащих готовую лиофилизированную смесь для полимеразной цепной реакции – Gene Pak PCR Core (ООО «ИзоГен», Россия), по ранее описанной схеме (Афанасьев и др., 2006). Анализ проводили по 7 микросателлитным локусам: *Ok1a*, *Ok1b*, *Ok1c* (Smith et al., 1998), *Ots107* (Nelson, Beacham, 1999), *OtsG68* (Williamson et al., 2002), *One104*, *One109* (Olsen et al., 2000).

В программном пакете GDA рассчитывали частоту аллелей, ожидаемую H_e и наблюдаемую H_o гетерозиготности, среднее число аллелей на локус, оценку межпопуляционной дифференциации (θ_{st}), индекс фиксации f , а также соответствие распределению Харди-Вайнберга (Lewis, Zaykin, 2001). Показатель генетической дифференциации F_{st} , был получен с помощью программы Arlequin2000 (Schneider et al., 2000). Для оценки внутри- и межпопуляционной изменчивости, а также различий между группами популяций использовали программу AMOVA (Analysis of Molecular Variance) в пакете программ Arlequin2000. Популяционная структура оценивалась в программе STRUCTURE 2.3.4. (Pritchard et al., 2000).

Места сбора и объем проанализированного материала при исследовании популяционно-генетической изменчивости нерки некоторых нагульно-нерестовых озер Камчатки, Командорских и Курильских о-вов

№	Локальность		Дата сбора	Объем выборки, экз.
1	бас. оз. Курильского	оз. Курильское, РУЗ	08.07.2010	50
2		оз. Курильское, РУЗ	06.08.2010	50
3		оз. Курильское, РУЗ	25.08.2010	50
4	оз. Азабачье (бас. р. Камчатки)	р. Бушуйка	14.08.2010	48
5		р. Пономарка	30.06.2009	50
6		кл. Рыбоводный	15.07.2012	48
7		оз. Азабачье	08.09.2010	30
8	бас. р. Камчатки, среднее течение	оз. Гренадир	14.06.2014	48
9		оз. Двухюрточное	13.07.2003	50
10	Командорские о-ва	оз. Саранное	14.06.2011	50
11	бас. р. Большой	оз. Начикинское	08.07.2010	30
12	о. Итуруп (Курильские о-ва)	оз. Красивое	XX.10.2006	48
Всего				552

Примечания: РУЗ – рыбоучетное заграждение, XX – точная дата сбора пробы неизвестна.

Показано, что микросателлитные локусы нерки из исследованных выборок характеризуются высоким уровнем изменчивости. Число аллелей вышеуказанных локусов у 552 особей варьировало от 5 до 26. Суммарно в 12 выборках выявлено 87 аллельных вариантов. Среднее число аллелей на локус составило 11. Наиболее полиморфными оказались локусы *One104* и *One109*, наименее – *Okil1a* и *Okil1b*. Средняя наблюдаемая гетерозиготность исследованных микросателлитных локусов варьировала от 0.392 (*Ots107*) до 0.863 (*One109*).

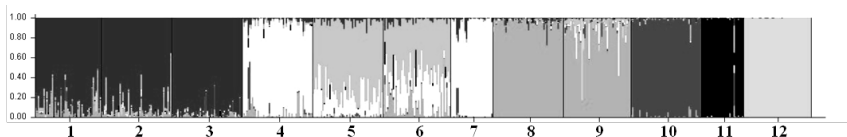
В большинстве случаев в анализируемых выборках отклонения от равновесия Харди-Вайнберга не наблюдались. По отдельным локусам фиксировали отклонения в выборках из бассейна озер Азабачьего (р. Пономарка, локус *Ots107*; р. Бушуйка, локус *Okil1b*) и Курильского (по локусам *Ots107* и *One104*).

Для нерки из нагульно-нерестовых озер азиатской части ареала по частотам семи микросателлитных локусов был рассчитан показатель дифференциации θ_{st} . Среднее значение величины межпопуляционной дифференциации (θ_{st}) по семи локусам составило 4,68 и оказалось статистически значимым (95%-ный бутстреп-интервал положительный). Максимальный вклад в дифференциацию нерки исследованных локальностей внес локус *Okil1b*. При пяти выявленных аллелях, значение θ_{st} составило около 10 %. Минимальный вклад внес локус *One109* – немногим менее 2 %.

Для количественной оценки величины генетических различий между группами выборок из бассейнов нагульно-нерестовых озер провели иерархический анализ молекулярной вариации (AMOVA), для чего разложили общую молекулярную дисперсию на два иерархических уровня. Было показано, что основная часть молекулярного разнообразия (95.26 %) имеет место внутри выборок, на долю межгрупповой компоненты приходится 4.74 %.

Для оценки генетического своеобразия нерки из изучаемых нагульно-нерестовых водоемов был выполнен байесовский анализ на основе мультилокусных частот генотипов в программном пакете *STRUCTURE* (Pritchard et al., 2000). Средние значения логарифма функции правдоподобия увеличивались до $K = 7$ (K – число кластеров). Наиболее вероятное число выявленных популяционных групп находится в области от 4 до 7. При увеличении числа кластеров, большинство особей также относятся к 7 выделенным группам. При $K = 2$ все особи подразделяются на две большие группировки – бассейн оз. Азабачьего и все остальные. С усложнением модели до $K = 3$, выделяется оз. Красивое (о. Итуруп). При $K = 4$ дифференцируется оз. Начикинское (Западная Камчатка), при $K = 5$ – оз. Саранное (Командорские о-ва). Увеличение количества классов до 6 позволяет выделить группу озер, расположенных в среднем течении р. Камчатки. При

K = 7 кластер оз. Азабачьего делится на два – особи нерки с генотипами ранней и поздней форм (рис.).



Результаты байесовского анализа популяций нерки некоторых нагульно-нерестовых озер Камчатки, Командорских и Курильских о-вов, выполненного в программе STRUCTURE (номера выборок соответствуют таковым в таблице, значения вероятности указаны слева)

ЛИТЕРАТУРА

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

Афанасьев К. И., Рубцова Г. А., Малинина Т. В., Салменкова Е. А., Омельченко В. Т., Животовский Л. А. 2006. Микросателлитная изменчивость и дифференциация популяций кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum), воспроизводимых сахалинскими рыбодобными заводами // Генетика. Т. 42. № 12. С. 1694–1702.

Бугаев В. Ф., Кириченко В. Е. 2008. Нагульно-нерестовые озера азиатской нерки (включая некоторые другие водоемы ареала). – Петропавловск-Камчатский : Камчатпресс. – 280 с.

Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. 1984. Молекулярное клонирование. – М. : Мир. – 479 с.

Остроумов А. Г. 1985. Нерестовые озера Камчатки // Вопр. географии Камчатки. Т. 9. С. 47–56.

Lewis P. O., Zaykin D. Yu. 2001. Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data (<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>).

Nelson R. J., Beacham T. D. 1999. Isolation cross species amplification of microsatellite loci useful for study of Pacific salmon // Animal Genetics. Vol. 30. P. 228–229.

Olsen J. B., Wilson S. L., Kretschmer E. J., Jones K. C., Seeb J. E. 200. Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon // Mol. Ecol. Vol. 9. P. 2185–2187.

Pritchard J. K., Stefens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. Vol. 155. P. 945–959.

Schneider S., Roessli D., Excoffier L. 2000. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory. Univ. Geneva. Switzerland.

Smith C. T., Koop B. F., Nelson R. J. 1998. Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids // Mol. Ecol. Vol. 7. P. 1613–1621.

Williamson K. S., Cordes J. F., May B. 2002. Characterization of microsatellite loci in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and cross-species amplification in other salmonids // Mol. Ecol. Notes. Vol. 2. P. 17–19.