

УДК 597.552.5:591.1(571.65)

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДОНОРНОЙ И ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИЙ КЕТЫ *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) ИЗ РЕК ЯМА И КУЛЬКУТЫ (северное побережье Охотского моря)

Бачевская Л. Т., Переверзева В. В., Примаков А. А.

ФГБУН Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, г. Магадан

E-mail: gekki54@mail.ru

Определены нуклеотидные последовательности генов *cytb* и *COI* мтДНК кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) из рек северного побережья Охотского моря (Яма – донор, Кулькуты – искусственно созданная популяция). Отмечен полиморфизм изученных молекулярных маркеров. Обнаружены уникальные гаплотипы, встречающиеся только в одной из исследованных популяций. Генетическая дистанция, рассчитанная между популяциями кеты из рек Яма и Кулькуты, свидетельствует об отсутствии статистически достоверных различий между ними. Тем не менее наблюдается тенденция к повышению генетического разнообразия в выборке из искусственно созданной популяции по сравнению с показателями, характеризующими донорную. Вероятно, это связано с особенностями формирования генетической структуры кеты р. Кулькуты. Кроме того, нельзя исключить и влияние стрейнга, составившего 4 %. По-видимому, гаплотипы, привнесенные в результате межпопуляционного обмена, успешно поддерживаются за счет искусственного воспроизводства. Это привело к некоторому изменению генофонда искусственной популяции относительно донорной.

Ключевые слова: кета *Oncorhynchus keta*, генетическое разнообразие, ген цитохрома *b* (*cytb*) мтДНК, ген цитохромоксидазы I (*COI*) мтДНК, популяционная генетика.

DOI: 10.34078/1814-0998-2023-1-71-78

ВВЕДЕНИЕ

Тихоокеанские лососи, как и другие виды рыб, подвержены колебанию численности. В связи с этим рыбохозяйственные комплексы проводят мероприятия, направленные на регулирование, поддержание и увеличение численности их стад. Наряду с традиционными рыбоводными процессами, такими как инкубация икры и выращивание молоди лососей на рыбоводных заводах, используются интродукция и акклиматизация, которые базируются на научных знаниях о миграциях гидробионтов в новую для них среду обитания. Зачастую инвазии видов в иные условия существования показывают их высокую выживаемость и пластичность, но не всегда результат оказывается положительным. Например, вселение и акклиматизация кеты и горбуши из южных районов природного ареала в реки европейского Севера СССР оказались неудачными (Карпевич и др., 1991). Дальнейшие попытки интродукции горбуши из водоемов Магаданской области в реки Кольского полуострова были более эффективными, но появились опасения, что ее успешная акклиматизация приведет к угнетению или даже к исчезновению ценных аборигенных популяций семги (Люенко и др., 2000). Такие

опасения вполне логичны, так как виды-вселенцы в некоторых случаях оказывают отрицательное влияние на осваиваемые биотопы (Салменкова, 2008). Тем не менее продуктивное заселение искусственным способом имеет немалую практическую ценность. Чтобы минимизировать отрицательное воздействие вселенцев на новый биотоп, применяют способ, при котором заходящие на нерест производители полностью изымаются, а полученные от них половые продукты используются в рыбоводных целях для выведения потомства в заводских условиях. Созданные таким образом популяции не нарушают исторически сложившихся биотопов в водоемах. Подобная популяция кеты была сформирована в р. Кулькуты (Тауйская губа Охотского моря) в процессе проводимого Магаданским НИРО эксперимента (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001). Для ее создания в 1992–1995 гг. использовали половые продукты поздней нерестовой кеты р. Яма (материковое побережье Охотского моря). Оплодотворенную икру инкубировали в заводских условиях. Полученную молодь перевозили в р. Кулькуты, где ранее этот вид не обитал, и содержали в выростных садках (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001). Это способствовало формированию хоминга и, как следствие, обеспечивало ее возврат в указанный водоем. Вернувшиеся в р. Кулькуты для нереста производители

вылавливались, и процесс повторялся. В результате была сформирована «промыслово-маточная» популяция кеты р. Кулькuty, ежегодные подходы которой составляют от 600 до 7000 шт. (Сафроненков и др., 2005; Сафроненков, 2006). При эксплуатации искусственно созданных популяций, как правило, удается избежать проблем, возникающих в смешанных популяциях, состоящих из рыб естественного и искусственного происхождения. Однако в них могут происходить и негативные изменения, которые чаще всего связаны со снижением генетического разнообразия (Омельченко и др., 2002). Подобные популяции требуют особого внимания и постоянного генетического мониторинга.

В процессе мониторинга генетической структуры кеты р. Кулькuty использовали методы популяционной генетики, направленные на изучение аллозимной изменчивости и полиморфизма тотальной ДНК (метод RAPD). Была отмечена тенденция к снижению генетического разнообразия на фоне возрастающей численности искусственно созданной популяции (Бачевская и др., 2006; Бачевская, Лапинский, 2010). Тенденцию к уменьшению уровня изменчивости в индустриальной популяции кеты р. Кулькuty наблюдали и другие ученые (Салменкова и др., 2007). Исследования, проводимые с помощью методов биохимической генетики, показали, что созданная и поддерживаемая искусственным образом популяция кеты р. Кулькuty сохраняет генетическое сходство с донорным стадом р. Яма. Для дальнейшего мониторинга динамики генетической структуры популяции кеты р. Кулькuty в период ее адаптации в новых условиях обитания был использован скрининг нуклеотидных последовательностей участка гена *cytb* митохондриальной ДНК (мтДНК). На основе анализа полученных данных проведена оценка генетического разнообразия популяций кеты из рр. Кулькuty и Яма. Было зафиксировано изменение генетического облика интродуцированной популяции и увеличение ее генетического разнообразия (Бачевская, Переверзева, 2010). Таким образом, результаты, полученные в разные годы различными методами, показали некоторую противоречивость, что определило необходимость продолжения и расширения генетических исследований искусственно созданной популяции. Цель настоящей работы – оценить генетическое разнообразие донорной (р. Яма) и искусственно созданной (р. Кулькuty) популяций кеты на основании анализа полиморфизма нуклеотидных последовательностей генов *cytb* и *COI* мтДНК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В 2015 г. собран биологический материал (мышечная ткань кеты) из рр. Яма и Кулькuty (50 и 50 особей соответственно). Очистку тотальной ДНК, выделенной из замороженной или заспиртованной мышечной ткани кеты, проводили фенол-хлороформным методом (Sambrook et al., 1989).

Амплификацию полных нуклеотидных последовательностей генов *cytb* и *COI* митохондриального генома ДНК осуществляли с использованием экспериментально подобранных в лаборатории праймеров: CbLkt14306 CCT GCT CGG ACT CTA ACC GAA ACT AAT GAC CG и CbRkt15563 CCG ACT TCC GGA TTA CAA GAC CGG CGC TC и COILkt5015 CCT CTG TTT ATG GAG CTA CAA TCC ACC GC и COIRkt7066 GCG GCT GGC TTG AAA CCA GCA CAT GGG GG, соответственно. Условия полимеразной цепной реакции для амплификации генов *cytb* и *COI* мтДНК подбирали эмпирически: денатурирующая стадия 95 °C – 5 мин; затем 32 цикла: 95 °C – 45 с, 52 °C – 30 с, 72 °C – 2 мин; заключительная стадия 72 °C – 7 мин. Амплифицированный участок мтДНК очищали и подготавливали к секвенированию по стандартной методике с использованием реагентов Diatom™ DNA Clean-Up «Лаборатория Изоген». Строение нуклеотидных последовательностей генов мтДНК определяли по стандартной методике с применением наборов для циклического секвенирования ДНК Big Dye Terminator (Applied Biosystems, v. 3.1) и генетического анализатора ABI Prism 3500xL (Applied Biosystems, США). Гены *cytb* (14374–15514 пн) и *COI* (5467–7017 пн) картировали относительно полной нуклеотидной последовательности мтДНК *Oncorhynchus keta* GenBank APO10773 (Garvin et al., 2010). Выравнивание и анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с использованием пакета программ MEGA 6.0.2.74 (Tamura et al., 2013) и ARLEQUIN ver. 3.5 (Excoffier et al., 2005). Соответствие характера нуклеотидных замен гипотезе нейтральности (для использованных маркеров) в выборках кеты определяли с помощью теста *D* Таджимы (Tajima, 1989).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проводимые ранее исследования показали изменчивость гена *cytb* мтДНК у кеты из популяций рр. Яма и Кулькuty (Бачевская, Переверзева, 2010). Представленные в данной работе результаты позволили впервые отметить полиморфизм гена *COI* мтДНК кеты из указанных локальностей. Сайты замен в обнаруженных гаплотипах генов *cytb* и *COI* мтДНК кеты из рр. Яма и Кулькuty отображены на рисунке.

В результате анализа нуклеотидных последовательностей генов *cytb* и *COI* мтДНК кеты из рр. Яма и Кулькuty было рассчитано процентное соотношение варьируемых позиций от общей длины исследованных генов (0.79 и 1.05 %; 1.1 и 1.5 % соответственно). Как видно из представленных данных, в выборке кеты из р. Кулькuty это соотношение смещено в сторону увеличения. Определены типы замен в обнаруженных нукле-

ЗАМЕНЫ В НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ГЕНОВ

			cytb_COI			
			111111 111111111			
			1222333467	777888990_1334466666	6778900112	244444555
			0489245010	128019491_6180267789	9376655570	155667023
			2581424880	733108267_5572062623	6875037209	535030013
			TTATGTAATG	AGATCGAGG_CACAAACGCC	AGAGACCAGT	TACTCAAAC
Ktcb1	MN011558_COI-1	MK991792				A.....
Ktcb1	MN011558_COI-3	MN604306		T.....		
Ktcb1	MN011558_COI-8	MN604311			C.....	
Ktcb1	MN011558_COI-4	MN604307				
Ktcb1	MN011558_COI-7	MN604310			C.....	
Ktcb1	MN011558_COI-9	MN604312				G.....
Ktcb1	MN011558_COI-11	MN604314		G.....		
Ktcb1	MN011558_COI-5	MN604308			G.....	
Ktcb1	MN011558_COI-10	MN604313			G.....	
Ktcb1	MN011558_COI-19	MN604322		G.....		
Ktcb37	MK991796_COI-1	MK991792		G.....		
Ktcb40	MN011553_COI-1	MK991792	C.....			
Ktcb39	MN011552_COI-1	MK991792	C.....	G.....		
Ktcb15	MN011564_COI-1	MK991792	C.....			
Ktcb15	MN011564_COI-23	MN604326	C.....		T.....	
Ktcb15	MN011564_COI-19	MN604322	C.....	G.....		
Ktcb15	MN011564_COI-6	MN604309	C.....	G.....	G.....	
Ktcb9	MN011561_COI-17	MN604320	G.....			T.....
Ktcb1	MN011558_COI-26	MN604329				GACT.....
Ktcb1	MN011558_COI-6	MN604309		G.....	G.....	
Ktcb1	MN011558_COI-12	MN604315			A.....	
Ktcb17	MN011565_COI-16	MN604319	C.....		A.....	G.....
Ktcb45	MN011557_COI-12	MN604315	C.....		A.....	
Ktcb1	MN011558_COI-20	MN604323			A.....	T.....
Ktcb1	MN011558_COI-22	MN604325		G.....		A.....
Ktcb38	MK991797_COI-3	MN604306		C.....		A.....
Ktcb7	MN011560_COI-3	MN604306	G.....			A.....
Ktcb36	MK991795_COI-3	MN604306		T.....		A.....
Ktcb1	MN011558_COI-21	MN604324			T.....	A.....
Ktcb43	MN011555_COI-3	MN604306	A.....			A.....
Ktcb1	MN011558_COI-18	MN604321				A.....G.....
Ktcb42	MN011567_COI-18	MN604321	C.....			A.....G.....
Ktcb15	MN011564_COI-25	MN604328	C.....			A.....T.....
Ktcb13	MN011562_COI-24	MN604327		A.....C.....		A.....
Ktcb2	MN011559_COI-11	MN604314	A.....	A.....G.....		
Ktcb2	MN011559_COI-8	MN604311	A.....	A.....T.....		
Ktcb21	MK991794_COI-1	MK991792	A.....	G.....A.....		
Ktcb41	MN011554_COI-1	MK991792	A.....	C.....A.....		
Ktcb2	MN011559_COI-1	MK991792	A.....	A.....		
Ktcb26	MN011566_COI-14	MN604317	A.....G.....	A.....G.....	A.....	G.....
Ktcb26	MN011566_COI-13	MN604316	A.....G.....	A.....G.....C.....G.....	T.....A.....	G.....
Ktcb1	MN011558_COI-2	MN604308		T.....T.....G.....T.....	T.....C.....	
Ktcb44	MN011556_COI-2	MN604308		A.....T.....T.....G.....T.....	T.....C.....	
Ktcb14	MN011563_COI-2	MN604308	A.....	T.....T.....G.....T.....	T.....C.....	
Ktcb2	MN011559_COI-2	MN604308	A.....	A.....T.....G.....T.....	T.....C.....	
Ktcb2	MN011559_COI-15	MN604318	A.....	A.....T.....T.....GT.....	T.....C.....	

Рисунок. Сайты замен в гаплотипах генов генах цитохрома *b* и цитохромоксидазы субъединица I мтДНК кеты из рр. Яма и Кулькuty

Figure. Substitution sites in haplotypes of cytochrome *b* and mtDNA cytochrome oxidase subunit I genes for chum salmon from the Yama and Kulkuty rivers

отидных последовательностях исследованных генов и рассчитаны их доли (табл. 1). Известно, что у разных видов соотношение транзиции/трансверсии может достигать высоких значений и, как правило, первые происходят значительно чаще последних (Nei, 1987). Полученные нами результаты (табл. 1) соответствуют этому тезису.

В популяциях кеты из рр. Яма и Кулькuty отмечено 26 гаплотипов гена *COI* мтДНК. Несмотря на общность происхождения кеты этих локальностей, только 9 гаплотипов были обнаружены в обеих популяциях. Значительную часть гаплотипов можно отнести к уникальным вариантам, так как они выявлены только в одной из популяций (табл. 2). Подобное распределение гаплотипов наблюдалось при исследовании гена *cytb* мтДНК кеты из рр. Яма и Кулькuty. Из 20 обнаруженных вариантов нуклеотидной последовательности гена

cytb мтДНК только 4 зарегистрированы в обеих популяциях. Возможно, это связано с особенностями формирования популяции кеты р. Кулькuty.

Как уже отмечалось, для ее создания была задействована лишь часть генофонда кеты р. Яма (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001), которая имеет высокий уровень генетической гетерогенности, проявляющейся в разные периоды нерестового хода (Макоедов, Бачевская, 1992). При таком подходе к созданию «маточного стада» кеты р. Кулькuty не следует ожидать полного совпадения генетического разнообразия в искусственно созданной и донорной популяциях. В то же время, учитывая случайный характер отбора особей для формирования популяции кеты р. Кулькuty, можно предположить, что носители редких гаплотипов кеты р. Яма вполне могли быть задействованы в этом процессе. Неизвестно, удалось ли бы в естественных услови-

Таблица 1. Доля нуклеотидных замен в генах цитохрома *b* и цитохромоксидаза I мтДНК в исследованных выборках кетыTable 1. The proportion of nucleotide substitutions in the cytochrome *b* and cytochrome oxidase subunit I mtDNA genes in the studied samples of chum salmon

Локальность	Ген <i>cytb</i> мтДНК				Ген <i>COI</i> мтДНК				
	Тип нуклеотидной замены								
	Транзиция		Трансверсия		Транзиция		Трансверсия		
	Позиция замены в кодоне								
	Первая	Вторая	Третья	Третья	Первая	Вторая	Третья	Первая	Третья
р. Яма	0.2000	0.0000	0.8000	0.0000	0.0952	0.0952	0.5714	0.0000	0.2381
р. Кулькуты	0.0000	0.0714	0.8571	0.0714	0.0455	0.0000	0.6364	0.1364	0.1818
Суммарная доля нуклеотидных замен									
—	0.1053	0.0526	0.7895	0.0526	0.0667	0.0667	0.5333	0.1000	0.2333
Доля несинонимичных замен									
—	0.1053	0.0526	0.0000	0.0000	0.0333	0.0667	0.0000	0.1000	0.0000

Таблица 2. Частота распределения гаплотипов исследованных генов в выборках кеты из рр. Яма и Кулькuty

Table 2. Distribution frequency of the studied gene haplotypes in the samples of chum salmon from the Yama and Kulkuty rivers

Гаплотипы гена <i>COI</i> мтДНК	Локальность (количество)		Гаплотипы гена <i>cytb</i> мтДНК	Локальность (количество)	
	р. Яма (50 шт.)	р. Кулькuty (50 шт.)		р. Яма (50 шт.)	р. Кулькuty (50 шт.)
KtCOI-1	0.3200	0.3200	Ktcb1	0.6400	0.4000
KtCOI-2	0.1400	0.1800	Ktcb2	0.1000	0.2800
KtCOI-3	0.1200	0.1600	Ktcb7	–	0.0200
KtCOI-4	–	0.0400	Ktcb9	–	0.0200
KtCOI-5	0.0200	0.0400	Ktcb13	0.0200	–
KtCOI-6	–	0.0400	Ktcb14	0.0200	–
KtCOI-7	–	0.0200	Ktcb15	0.0800	0.1000
KtCOI-8	0.0200	0.0200	Ktcb17	–	0.0200
KtCOI-9	0.0200	0.0200	Ktcb21	–	0.0200
KtCOI-10	–	0.0200	Ktcb26	0.0200	0.0400
KtCOI-11	0.0200	0.0200	Ktcb36	–	0.0200
KtCOI-12	0.0400	0.0200	Ktcb37	–	0.0200
KtCOI-13	–	0.0200	Ktcb38	0.0200	–
KtCOI-14	0.0200	0.0200	Ktcb39	–	0.0200
KtCOI-15	–	0.0200	Ktcb40	–	0.0200
KtCOI-16	–	0.0200	Ktcb41	–	0.0200
KtCOI-17	–	0.0200	Ktcb42	0.0200	–
KtCOI-18	0.0400	–	Ktcb43	0.0400	–
KtCOI-19	0.0600	–	Ktcb44	0.0200	–
KtCOI-20	0.0600	–	Ktcb45	0.0200	–
KtCOI-21	0.0200	–	–	–	–
KtCOI-22	0.0200	–	–	–	–
KtCOI-23	0.0200	–	–	–	–
KtCOI-24	0.0200	–	–	–	–
KtCOI-25	0.0200	–	–	–	–
KtCOI-26	0.0200	–	–	–	–

Примечание. Тире – отсутствие гаплотипов популяции.

ях этим производителям принять участие в размножении, а при искусственном воспроизводстве это вполне возможно, так как биотехника создания популяции основывалась на использовании всех самок, возвратившихся для нереста в р. Кулькuty (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001; Сафроненков и др., 2005; Сафроненков, 2006).

Учитывая особенности применяемой биотехники, можно ожидать, что число носителей редких гаплотипов резко возрастает в искусственно созданной популяции кеты. Вполне вероятно, что именно по этой причине в небольшой выборке обнаружены такие гаплотипы. Не следует забывать и о том, что в условиях искусственного воспроиз-

водства популяция кеты р. Кулькуты подвергается воздействию некоторых неспецифических факторов. Известно, что температура воды, используемой в период закладки икры для инкубации на ольском рыбоводном заводе (Ольская ЭПАБ), достигает 8.8 °С, что значительно превышает ее показатели на естественных нерестилищах. В дальнейшем, когда наступает стадия активного питания, температура снижается до 1 °С и это приводит к высокой смертности и снижению качества производимой молоди (Грачева, Хованская, 1994).

Указанные факторы могли оказать влияние не только на товарный вид молоди, но и на направленность вектора отбора генотипов и, как следствие, на генетическое разнообразие выпускаемой в море молоди (Бачевская, 2007). Нельзя исключить, что наличие в популяции кеты р. Кулькуты гаплотипов, не обнаруженных у кеты р. Яма, связано с общими местами нагула этого вида лососей, заходящих на нерест и в другие реки материкового побережья Охотского моря.

Ранее отмечалось, что популяции североохоотоморской кеты характеризуются некоторыми генетическими особенностями и имеют высокий уровень генетической неоднородности (Бачевская, 1992; Бачевская, Переверзева, 2010; Бачевская и др., 2011). Генетическая дифференциация популяций кеты поддерживается с помощью хоминга – инстинкта дома, позволяющего производителям возвращаться на нерест в родной водоем. Тем не менее в период нерестовой миграции некоторое число особей все же заходит для размножения в соседние реки. Отклонение от строгого хоминга, т. е. возврат для размножения не к местам рождения, а в другие водоемы, называется стрейнгом. Стрейнг не нарушает хоминг, а является важнейшим эволюционным приобретением видов, которое позволяет им осваивать новые места обитания и адаптироваться в них (Коновалов, 1980).

Вполне вероятно, что наличие уникальных гаплотипов в выборке из р. Кулькуты обусловлено стрейнгом, который проявляется у тихоокеанских лососей в разной степени. У кеты он составляет 3.6–8 % (Медников и др., 1988; Варнавская, 2006). Ранее отмечалось, что в популяции кеты

р. Кулькуты обнаружены носители гаплотипов, которые отсутствуют в популяции этого вида р. Яма, но встречаются у кеты р. Ола (Тауйская губа Охотского моря). Показатель межпопуляционного обмена составил 3.9 % (Бачевская, Лапинский, 2010). Сопоставление гаплотипического состава в выборках кеты из рр. Ола и Кулькуты показало, что два варианта нуклеотидной последовательности гена *cytb* мтДНК из числа уникальных для популяции кеты р. Кулькуты обнаружены в выборке из р. Ола. Рассчитанный стрейнг относительно невысок (4 %) и сопоставим со значениями, приведенными выше для кеты. Возможно, дальнейшие генетические исследования других североохоотоморских популяций этого вида лососей позволят дополнить и расширить представления о величине межпопуляционного обмена и его влиянии на их генетическую структуру.

Ранее было отмечено, что для формирования стада кеты р. Кулькуты использовалась лишь часть генофонда данного вида р. Яма. На этом основании можно предположить, что в искусственно созданном стаде будет зафиксирован более низкий уровень генетического разнообразия по сравнению с популяцией-донором. Однако проведенные расчеты это опровергли. Значения нуклеотидного (π) и гаплотипического (h) разнообразия в популяции-вселенце оказались более высокими, чем выявленные у кеты р. Яма (табл. 3). Вероятно, в результате стрейнга и особенностей биотехники разведения, привнесенные в нее гаплотипы успешно поддерживаются за счет искусственного воспроизводства, что привело к некоторому изменению ее генетического облика. В то же время рассчитанная на основе анализа протяженной нуклеотидной последовательности генов *cytb* + *COI* мтДНК генетическая дистанция между исследованными популяциями свидетельствует об отсутствии статистически достоверных генетических различий между ними ($F_{st} = 0.00324$, $P = 0.23423 \pm 0.0411$). Опираясь на полученные результаты, можно говорить о том, что отмеченные редкие и единичные гаплотипы не оказали существенного влияния на дифференциацию генофондов донорной и искусственно созданной популя-

Таблица 3. Индексы молекулярного разнообразия в выборках кеты из рр. Яма и Кулькуты (северное побережье Охотского моря)

Table 3. Molecular diversity indices in chum salmon samples from the Yama and Kulkuty rivers (Sea of Okhotsk northern coast)

Локальность	N	V	$Pi \pm sd$	$\pi \pm sd$	$h \pm sd$	Tajima's D, (P)
<i>cytb</i> + <i>COI</i>						
р. Яма	50	30	3.86041 ± 1.972	0.001435 ± 0.0008	0.9029 ± 0.035	-1.410, P = 0.0560
р. Кулькуты	50	37	4.70694 ± 2.343	0.001749 ± 0.0009	0.9265 ± 0.025	-1.456*, P = 0.048

Примечание. N – число обследованных особей; V – число переменных сайтов в протяженной нуклеотидной последовательности генов; Pi – среднее число попарных различий между протяженными гаплотипами; sd – стандартное отклонение; π – нуклеотидное разнообразие; h – гаплотипическое разнообразие; D – коэффициент теста Tajima, P – статистическая значимость различий, * – $P < 0.05$.

ций. Проведенный тест Таджимы (Tajima, 1989) на наличие отклонения от нейтрального равновесия показал отрицательные значения в обеих популяциях (см. табл. 3). При этом следует подчеркнуть, что только у кеты р. Кулькuty значения показателя D-теста статистически достоверны. Подобные показатели D Таджимы могут означать избыток наблюдаемых (по сравнению с ожидаемым) низкочастотных гаплотипов, что, в свою очередь, указывает на быстрое увеличение размера популяции и/или очищающий отбор (Tajima, 1989). Необходимо заметить, что отрицательные значения этого параметра могут быть результатом не только быстрой популяционной экспансии, но и разной скорости мутирования отдельных сайтов (Tajima, 1989). Возможно, дальнейшие исследования позволят получить более определенный ответ на вопрос о действии естественного отбора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ данных, полученных на основе молекулярно-генетических исследований, показал относительно высокий уровень полиморфизма изученных генов мтДНК кеты из рр. Яма и Кулькuty. Последняя поддерживается за счет использования биотехники искусственного разведения, базирующейся на полном изъятии вернувшихся в реку для нереста производителей. Такой подход к формированию популяции кеты р. Кулькuty обеспечивает возможность сохранения ее генетического разнообразия, делая ее устойчивой во времени и пространстве. Тем не менее не следует недооценивать обнаруженную тенденцию к повышению генетического разнообразия в выборке из искусственно созданной популяции по сравнению с показателями, характерными для выборки из донорной. В то же время используемая методика воспроизводства кеты способствует сохранению естественных биотопов р. Кулькuty и, что очень важно, вселенный в этот водоем вид не наносит урон исторически сложившемуся биоразнообразию. Отмеченные генетические особенности популяции кеты р. Кулькuty могут закрепляться и поддерживаться за счет искусственного воспроизводства и приводить к дальнейшему изменению ее генетического облика, что требует постоянного мониторинга генетической структуры подобных популяций.

ЛИТЕРАТУРА

- Бачевская Л. Т. Генетическая дифференциация кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) североохотоморского побережья и некоторых рек Камчатки // Популяционная биология лососей Северо-Востока Азии. Владивосток : ДВО АН СССР, 1992. С. 42–52.
- Бачевская Л. Т. Особенности формирования популяционно-генетической структуры кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) на ранних стадиях онтогенеза // Известия ТИНРО. 2007. Т. 148. С. 12–24.
- Бачевская Л. Т., Лапинский А. Г. Генетические процессы в искусственно созданной популяции кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) р. Кулькuty (северное побережье Охотского моря) // Вопросы рыболовства. 2010. Т. 11, № 2 (42). С. 241–250.
- Бачевская Л. Т., Переверзева В. В. Внутривидовой полиморфизм фрагмента гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) из рек восточной Камчатки и северного побережья Охотского моря // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2010. Т. 14, № 3. С. 537–545.
- Бачевская Л. Т., Лапинский А. Г., Соловечук Л. Л. Биохимический и RAPD-полиморфизмы у донорной и интродуцированной популяций кеты из рек Яма и Кулькuty (северное побережье Охотского моря) // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. 2006. № 1 (5). С. 61–66.
- Бачевская Л. Т., Переверзева В. В., Малинина Т. В. Генетическая структура популяций кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) по данным об изменчивости нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Генетика. 2011. Т. 47, № 11. С. 1481–1490.
- Варнаевская Н. В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей. Петропавловск-Камчатский : КамчатНИРО, 2006. 488 с.
- Грачева М. Л., Хованская Л. Л. Опыт искусственного воспроизводства лососей на Ольской ЭПАБ // Биологические основы лососеводства в Магаданском регионе : сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1994. Вып. 308. С. 62–74.
- Карпевич А. Ф., Агапов В. С., Магомедов Г. М. Акклиматизация и культивирование лососевых рыб-интродуцентов. Москва : ВНИРО, 1991. 208 с.
- Коновалов С. М. Популяционная биология тихоокеанских лососей. Ленинград : Наука, 1980. 237 с.
- Лоевко А. А., Берестовский Е. Г., Лысенко Л. Ф., Неклюдов М. Н. Горбуша в реках Кольского полуострова // Виды-вселенцы в европейских морях России : сб. науч. тр. КНЦ РАН. Апатиты, 2000. С. 258–269.
- Макоедов А. Н., Бачевская Л. Т. Генетические и фенетические особенности кеты разного времени нерестового хода // Биология моря. 1992. № 3–4. С. 62–68.
- Медников Б. М., Волобуев В. В., Горшков В. А. Структура нерестовой кеты *Oncorhynchus keta* бассейна реки Тауй (по данным молекулярной гибридизации) // Вопросы ихтиологии. 1988. Т. 28. Вып. 5. С. 724–731.
- Омельченко В. Т., Салменкова Е. А., Рогатных А. Ю. Опыт оценки генетической изменчивости индустриальной популяции кеты, созданной в Магаданской области // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей : Материалы III науч. конф. (Петропавловск-Камчатский, 27–28 нояб., 2002 г.). Петропавловск-Камчатский : КамчатНИРО, 2002. С. 291–294.
- Рогатных А. Ю. Состояние, проблемы и перспективы разведения тихоокеанских лососей в Магаданской области (по результатам исследований лаборатории искусственного воспроизводства лососей МоТИНРО) // Состояние и перспективы рыбохозяйственных исследований в бассей-

не северной части Охотского моря. Магадан, 2001. С. 282–288.

Рогатных А. Ю., Сафроненков Б. П. Создание индустриальных популяций – один из путей повышения запасов тихоокеанских лососей // Сохранение лососевых: сб. науч. тр. КамчатНИРО. Петропавловск-Камчатский, 1999. С. 56.

Салменкова Е. А. Популяционно-генетические процессы при интродукции рыб // Генетика. 2008. Т. 44, № 7. С. 874–884.

Салменкова Е. А., Омельченко В. Т., Политов Д. В., Афанасьев К. И., Рубцова Г. А. Генетическое разнообразие североохотоморских популяций кеты с естественным и искусственным воспроизводством // Биология моря. 2007. Т. 33, № 4. С. 299–308.

Сафроненков Б. П. Современное состояние и перспективы искусственного разведения тихоокеанских лососей в Магаданской области // Современные проблемы лососевых рыбоводных заводов Дальнего Востока: Материалы междунар. науч.-практ. семинара (Петропавловск-Камчатский, 30 нояб. – 1 декаб., 2006 г.) Петропавловск-Камчатский: Камчатский печатный двор, 2006. С. 127–138.

Сафроненков Б. П., Хованская Л. Л., Волобуев В. В. Состояние лососеводства в Северном Охотоморье и

пути его развития на ближайшую перспективу // Рыбное хозяйство. 2005. № 1. С. 43–47.

Garvin M. R., Saitoh K., Churikov D. Y., Brykov V. A., Gharrett A. J. Single nucleotide polymorphisms in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) mitochondrial DNA derived from restriction site haplotype information // Genome. 2010. Vol. 53, No. 7. P. 501–507.

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

Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columb. Univ. Press, 1987. 512 p.

Sambrook J., Fritschi E. F., Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, 1989. P. 524–531.

Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // Genetics. 1989. Vol. 123, No. 3. P. 585–595.

Tamura K., Stecher G., Peterson D. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. // Molecular Biology and Evolution. 2013. Vol. 30. P. 2725–2729.

Поступила в редакцию 31.10.2022 г.

Поступила после доработки 21.12.2022 г.

GENETIC DIVERSITY IN INTRODUCED AND DONOR POPULATIONS OF CHUM SALMON *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) FROM THE YAMA AND KULKUTY RIVERS (Sea of Okhotsk Northern Coast)

L. T. Bachevskaya, V. V. Pereverzeva, A. A. Primak

Institute of Biological Problems of the North, FEB RAS, Magadan

The nucleotide sequences of the mtDNA *cytb* and *COI* genes of the chum salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) from the rivers of the Sea of Okhotsk northern coast (Yama – donor, Kulkuty – artificially created population) have been determined. Polymorphism of the studied molecular markers has been noted. Unique haplotypes occurring only in one of the studied populations were found. The genetic distance calculated between the Yama and Kulkuty chum salmon populations indicates the absence of statistically significant differences between them. Nevertheless, the genetic diversity in a sample from an artificially created population tends to increase comparing to indicators characterizing the donor population. This may be associated with the formation peculiarities of the Kulkuty chum salmon genetic structure. Besides, the influence of the straying, amounted to 4 %, cannot be excluded. Apparently, haplotypes introduced as a result of inter-population exchange are successfully maintained through artificial reproduction. This has caused some change in the gene pool of the artificial population compared to the donor one.

Keywords: chum salmon *Oncorhynchus keta*, genetic diversity, mtDNA cytochrome *b* gene (*cytb*), subunit I of mtDNA cytochrome oxidase gene (*COI*), population genetic.

REFERENCES

Bachevskaya, L. T., 1992. Genetic Differentiation of Chum Salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) from the Sea of Okhotsk Northern Coast and Some Rivers of Kamchatka, *Population Biology of Salmons in the*

North-East of Asia. Vladivostok, FEB AS USSR [In Russian].

Bachevskaya, L. T., 2007. Features of Forming the Population-Genetic Structure of *Oncorhynchus keta* on

Early Ontogenesis Stages in the Artificial Environment, *Izvestiya TINRO*. 148, 12–24 [In Russian].

Bachevskaya, L. T., Lapinsky, A. G., 2010. Genetic Processes in the Artificially Created Population of Chum Salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum) from the Kulkuty River (the Sea of Okhotsk Northern Coast), *Problems of Fisheries*. 2, 241–250 [In Russian].

Bachevskaya, L. T., Pereverzeva, V. V., 2010. Intraspecific Polymorphism of the Cytochrome b Gene Fragment of the Mitochondrial DNA in Chum Salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum) from the Rivers of Eastern Kamchatka and the Sea of Okhotsk Northern Coast, *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 3, 537–545 [In Russian].

Bachevskaya, L. T., Lapinsky, A. G., Solovenchuk L. L., 2006. Biochemical and RAPD Polymorphisms in the Donor and the Introduced Chum Salmon Populations from the Yama and Kulkuty Rivers (Sea of Okhotsk Northern Coast), *Vestnik NESR FEB RAS*. 1, 61–66 [In Russian].

Bachevskaya, L. T., Pereverzeva, V. V., Malinina, T. V., 2011. Genetic Structure of Chum Salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum) Populations Inferred from the Nucleotide Variation of the Mitochondrial DNA Cytochrome b Gene, *Russian Journal of Genetics*. 47 (11), 1314–1324. DOI: 10.1134/S1022795411110044 [In Russian].

Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2005. Arlequin Ver. 3.0: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis, *Evolutionary Bioinformatics*. 1, 47–50.

Garvin, M. R., Saitoh, K., Churikov, D. Y., Brykov, V. A., Gharrett, A. J., 2010. Single Nucleotide Polymorphisms in Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Mitochondrial DNA Derived from Restriction Site Haplotype Information, *Genome*. 53 (7), 501–507. DOI: 10.1139/g10-026

Grachyova, M. L., Khovanskaya, L. L., 1994. Practice of Artificial Reproduction of Salmon at the Ola Acclimatization Experimental Fish Farm, *Biological Foundations of Salmon Breeding in Magadan Oblast. GosNIORKh Scientific Works*. 308, 62–74 [In Russian].

Karpevich, A. F., Agapov, V. S., Magomedov, G. M., 1991. Acclimatization and Cultivation of Introduced Salmon Fish. Moscow, VNIRO [In Russian].

Kononov, S. M., 1980. Population Biology of Pacific Salmon. Leningrad, Nauka [In Russian].

Loyenko, A. A., Berestovsky, E. G., Lysenko, L. F., Neklyudov, M. N., 2000. Pink Salmon in the Kola Peninsula Rivers, *Invader Species in Russia's European Seas, Collection of Scientific Works of the KSC RAS*. Apatity. 258–269 [In Russian].

Makoyedov, A. N., Bachevskaya, L. T., 1992. Genetic and Phenetic Features of Chum Salmon at Different Times of the Spawning Run, *Russian Journal of Marine Biology*. 3–4, 62–68 [In Russian].

Mednikov, B. M., Volobuyev, V. V., Gorshkov, V. A., 1988. Structure of the Spawning *Oncorhynchus keta* of

the Tauiy River Basin (According to Molecular Hybridization Data), *Journal of Ichthyology*. 5, 724–730 [In Russian].

Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York, Columbia University Press.

Omelchenko, V. T., Salmenkova, E. A., Rogatnykh, A. Yu., 2002. Experience in Assessing the Genetic Variability of the Industrial Chum Salmon Population Created in Magadan Oblast, *Conservation of Biodiversity in Kamchatka and Its Adjacent Seas, Materials of 3rd Scientific Conference, Petropavlovsk-Kamchatsky, November 27–28, 2002*. Petropavlovsk-Kamchatsky, KamchatNIRO. 291–294 [In Russian].

Rogatnykh, A. Yu., 2001. Status, Problems, and Prospects of Breeding Pacific Salmon in Magadan Oblast (Based on the Results of Research by the MoTINRO Laboratory of Salmon Artificial Reproduction), *Status and Prospects of Fisheries Research in the Basin of the Sea of Okhotsk Northern Part*. Magadan. 282–288 [In Russian].

Rogatnykh, A. Yu., Safronenkov, B. P., 1999. Creation of Industrial Populations: A Way to Increase the Stocks of Pacific Salmon, *Salmon Conservation. KamchatNIRO Scientific Works*. Petropavlovsk-Kamchatsky. 56 [In Russian].

Safronenkov, B. P., 2006. Current State and Prospects for Artificial Breeding of Pacific Salmon in Magadan Oblast, *Modern Problems of Salmon Hatcheries of the Far East, Materials of the International Scientific and Practical Seminar, Petropavlovsk-Kamchatsky, November 30 – December 1, 2006*. Petropavlovsk-Kamchatsky, KamchatNIRO. 127–138 [In Russian].

Safronenkov, B. P., Khovanskaya, L. L., Volobuyev, V. V., 2005. State of Salmon Breeding in the Northern Okhotsk and Ways to Develop It in the Closest Perspective, *Fisheries*. 1, 43–47 [In Russian].

Salmenkova E. A., 2008. Population Genetic Processes in Fish Introduction, *Russian Journal of Genetics*. 44 (7), 758–767. DOI: 10.1134/S1022795408070028 [In Russian].

Salmenkova, E. A., Omelchenko, V. T., Politov, D. V., Afanasyev, K. I., Rubtsova, G. A., 2007. Genetic Diversity of North Okhotsk Chum Salmon Populations with Natural and Artificial Reproduction, *Russian Journal of Marine Biology*. 33 (4), 254–264. DOI: 10.1134/S1063074007040086

Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Tajima, F., 1989. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism, *Genetics*. 123 (3), 585–595. DOI: 10.1093/genetics/123.3.585

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0., *Molecular Biology and Evolution*. 30, 2725–2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197

Varnavskaya, N. V., 2006. Genetic Differentiation of Pacific Salmon Populations. Petropavlovsk-Kamchatsky, KamchatNIRO [In Russian].