

ФАУНА, ФЛОРА

УДК 597.553.2:575.17:575.86

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ
В ПОПУЛЯЦИЯХ ТИХООКЕАНСКОЙ ТРЕСКИ
(*GADUS MACROCEPHALUS TILESII*) (GADIDAE)**А.Н. Строганов, М.Е. Бурякова¹, А.М. Орлов¹, К.И. Афанасьев²

(кафедра ихтиологии; e-mail: andrei_str@mail.ru)

Проведен анализ изменчивости микросателлитных локусов ДНК *Gmo3*, *Gmo34*, *Gmo35*, *Pgmo32*, *Gmo19* в выборках тихоокеанской трески из различных районов северной части Тихого океана. Полученные данные показывают, что треска южно-курильского региона на достоверном уровне отличается (наиболее высокую дифференцирующую нагрузку несут микросателлитные локусы *Gmo3* и *Pgmo32*) от выборок трески и Берингова, и Охотского морей, и побережья Канады, демонстрирующих при этом высокую степень сходства между собой ($I = 0,996$), несмотря на значительную дистантную разобщенность.

Ключевые слова: треска, популяционная структура, полиморфизм ДНК.

Тихоокеанская треска широко распространена в прибрежных водах Северной Пацифики, от Берингова моря на севере и на юг до Санта-Моники (Калифорния) по восточному американскому побережью и до Желтого моря по западному азиатскому побережью [1] и имеет большое народно-хозяйственное значение, по объемам вылова входя в первую десятку важнейших промысловых видов рыб указанного региона. Несмотря на почти вековой период исследований тихоокеанской трески [2–5], осуществление мониторинга состояния ее запасов, многие вопросы, связанные с ее биологией и особенностями популяционной структуры при всей их важности [6] остаются малоизученными.

Как известно, во второй половине прошлого века в дополнение к методикам изучения изменчивости морфологических структур рыб получили широкое распространение популяционно-генетические методы, основывающиеся на исследовании полиморфизма белковых структур, а позднее РНК и ДНК. Проведенные на тихоокеанской треске относительно немногочисленные (например, по сравнению с атлантической треской) исследования не дают ясного представления о популяционной структуре тихоокеанской трески в ареале по ряду причин, а именно: отмечаемый исследователями чрезвычайно низкий уровень белкового полиморфизма [7–9], узкорегиональность, подчас методическая направленность исследований полиморфиз-

ма ДНК [10–12]. Таким образом, учитывая растущую конкуренцию за рыбные ресурсы в мире, их ограниченность, опасность и тяжелые последствия переловов, растет необходимость их контроля и мониторинга с учетом в том числе популяционной структуры объектов рыболовства [13]. При этом одним из перспективных направлений в современных условиях признается изучение изменчивости микросателлитной ДНК, демонстрирующей для трески достаточно высокий уровень полиморфизма, стабильность и воспроизводимость получаемых результатов.

Цель данной работы — оценка уровня изменчивости и генетической дифференциации по микросателлитным локусам ДНК в популяциях тихоокеанской трески.

Материалы и методы

Для представленной работы использовали собранный в 2005 и 2006 гг. материал: пробы тихоокеанской трески из российских вод (Южные Курилы; охотоморские воды Западной Камчатки; западная часть Берингова моря) и из прибрежных вод Канады — провинция Британская Колумбия (рис. 1).

В качестве маркеров для исследования особенностей генетической дифференциации тихоокеанской трески из разных районов Северной Пацифики использовали секвенированные для атлантической трески микросателлитные локусы *Gmo3*,

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО). 107140, г. Москва, ул. В. Красносельская, д. 17.

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН). 119991, г. Москва, ул. Губкина, д. 3.

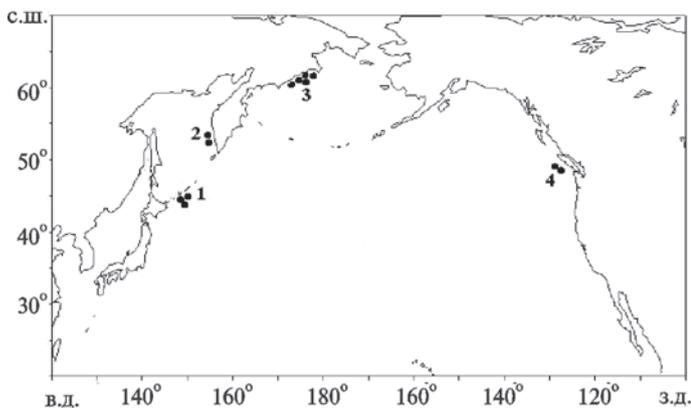


Рис. 1. Районы сбора материала тихоокеанской трески: 1 — Южные Курилы, тихоокеанская сторона, о. Кунашир (21–22.10.05 44°02,04′–44°08,7′ с.ш.; 146°00,24′–146°00,36′ в.д.); 2 — Охотское море, Западная Камчатка, траверз устья р. Бол. Воровская (08.11.05 54°13,7′ с.ш.; 154°42,7′ в.д.); 3 — западная часть Берингова моря, Корякский шельф (12–22.11.06 60°38,5′–62°20,4′ с.ш.; 172°35,9′–179°59,8′ в.д.); 4 — прибрежные воды Канады, тихоокеанская сторона о. Ванкувер (провинция Британская Колумбия) (05.06.06 49°11,3′–49°15,6′ с.ш.; 126°48,33′–127°01,33′ з.д.)

Gmo19, *Gmo34*, *Gmo35*, *Pgmo32* [14, 15]. При анализе материала использовали опубликованные ранее данные по локусам *Gmo3*, *Gmo34*, *Gmo35* [16] и результаты проведенного по стандартным методикам [17] исследования изменчивости микросателлитных локусов *Pgmo32* и *Gmo19*. С использованием программного пакета GDA определяли частоты аллелей, число аллелей на локус (A), соответствие распределению Харди–Вайнберга (распределение генотипов в основном было равновесным, выявленное невысокой степени отклонение от равновесности в канадской сводной пробе ($0,05 > p > 0,01$) могло быть следствием произведенного объединения малочисленных выборок), гетерозиготность ожидаемую (H_E) и наблюдаемую (H_O), генетическая идентичность (I) и дистанции (D), коэффициент попарного сходства популяций θ (аналог F_{ST} -статистики) [18, 19]. Предварительно проведенный в программном пакете METROP анализ на гетерогенность сводных выборок тихоокеанской трески показал их однородность.

Результаты и обсуждение

Исследовавшиеся у тихоокеанской трески микросателлитные локусы *Gmo3*, *Gmo19*, *Gmo34*, *Gmo35*, *Pgmo32* демонстрировали изменчивость различного уровня. Наиболее высокий уровень вариабельности, оценивавшийся по среднему числу аллелей на локус и гетерозиготности, выявлены по локусам *Gmo19* ($A = 28$; $H_E = 0,934$) и *Gmo34* ($A = 25$; $H_E = 0,920$), наиболее низкие значения показателей демонстрировали локусы *Gmo35* и *Gmo3* ($A = 3$; $H_E = 0,049–0,055$). Показатели локуса *Pgmo32* находились на среднем уровне ($A = 8$; $H_E = 0,472$).

Аллельный состав исследованных микросателлитных локусов, а также распределения частот аллелей в выборках различных популяций демонстрировали определенным образом выраженные региональные особенности. Наиболее явные отличия наблюдались в локусах *Gmo3*, *Pgmo32* и *Gmo19* в южно-курильских выборках трески. Если по локусу *Gmo3* в выборках популяций Охотского, Берингова морей и прибрежных вод Канады присутствовал только один аллель, то у трески южно-курильского региона выявлено еще два альтернативных аллеля: редкий аллель 212 п.н. и аллель 208 п.н., доля которого составляла около 10%. Локус *Pgmo32* на фоне достаточно высокой полиморфности во всех исследованных выборках демонстрировал сходный тренд изменчивости в выборках охотоморских, баренцевоморских, канадских популяций и иную картину распределения аллелей у “южно-курильской” трески (рис. 2, А). В меньшей степени вы-

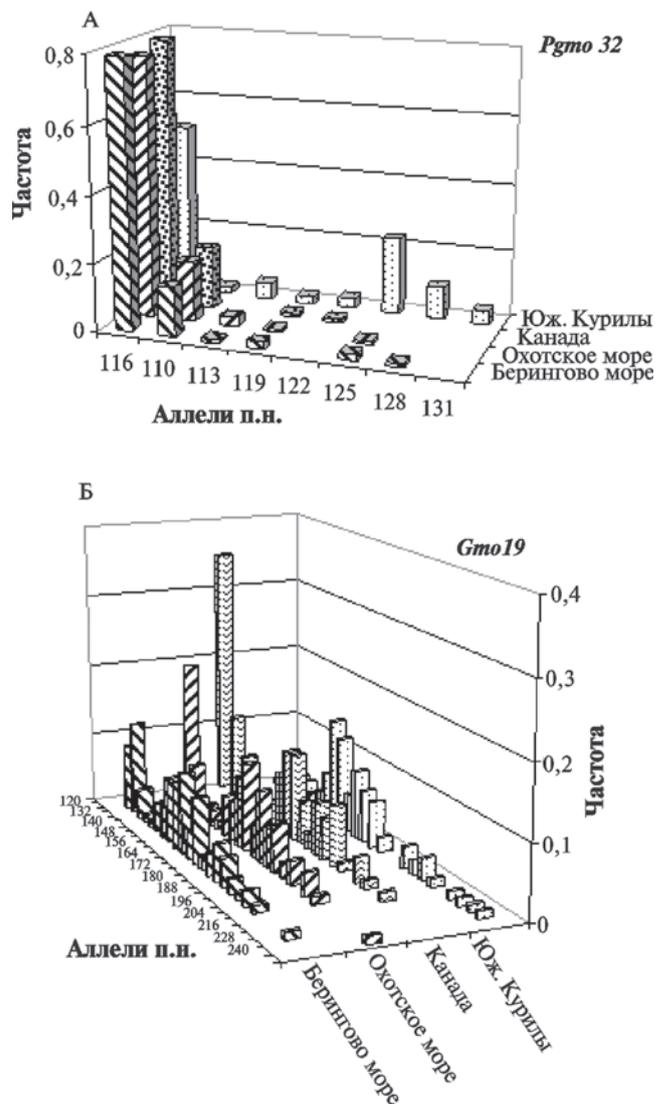


Рис. 2. Профили распределения частот аллелей высокополиморфных дифференцирующих микросателлитных локусов ДНК: *Pgmo32* (А), *Gmo19* (Б)

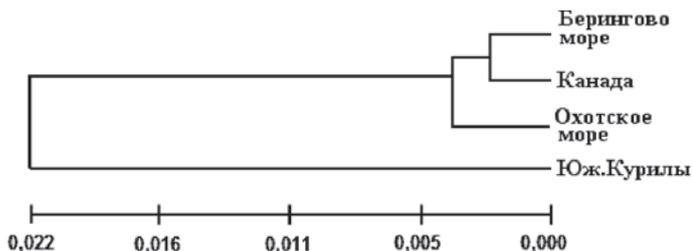


Рис. 3. Дендрограмма, построенная по стандартным генетическим дистанциям (UPGMA-метод)

Уровень дифференциации трески Северной Пацифики (по 5 микросателлитным локусам) на основных уровнях иерархии популяций (значения показателя θ , в %)

Статистика	Внутри Южных Курил	Южные Курилы/остальные	Между суб-кластерами — Охотское море, Берингово море, Канада
Уровень дифференциации, θ	0,43	4,34	0,69
95%-й доверительный бутстреп-интервал	[-1,01; 4,12]	[0,58; 15,33]	[-0,90; 1,06]
Наиболее дифференцирующие локусы	<i>Gmo3</i> (9,80) <i>Gmo19</i> (0,90)	<i>Pgmo32</i> (16,25) <i>Gmo3</i> (14,42)	<i>Gmo19</i> (1,10) <i>Gmo34</i> (1,00)

раженная, но сходная ситуация наблюдалась и в микросателлитном локусе *Gmo19*: в выборке “южно-курильской” трески в отличие от выборок других регионов выявлены редкие (доля 1%) аллели 224 п.н., 228 п.н., 240 п.н. (рис. 2, Б).

Проведенный анализ показателей генетической идентичности выявил высокое сходство между выборками внутри отдельных регионов ($I = 0,986–0,991$). Также высокая идентичность обнаружена между выборками из популяций трески Охотского, Берингова морей и прибрежных вод Канады ($I = 0,996$), при этом нужно отметить, что высокая идентичность между этими группировками существует в противовес значительной их географической разобщенности (расстояния до 9000 км).

Анализ генетических дистанций с применением метода UPGMA позволил выявить определенный уровень кластеризации — дифференциация на два кластера, где первый кластер представлен выборками трески Южных Курильских островов, а во второй кластер объединяется треска из популяций Охотского, Берингова морей и прибрежных вод Канады (рис. 3). Правомочность представленной кластеризации подтверждается особенностями распределения показателей дифференциации на различных уровнях иерархического дерева. Внутрорегиональная дифференциация во всех исследованных группировках имела низкие недостоверные значения. Также незначимы были величины межрегиональной дифференциации между выборками трески Охотского моря ($\theta = 0,65$ при 95%-м доверительном бутстреп-интервале $-1,11; 1,36$), выборками прибрежных вод Канады и западной части Берингова моря. Напротив, “южно-курильская” треска достоверно дифференцировалась от всех других исследованных популяций (таблица).

Таким образом, на основе полученных данных показано, что исследовавшиеся микросателлитные локусы перспективны для использования в популяционно-генетических исследованиях тихоокеанской трески и, возможно, в дальнейшем при проведе-

нии сравнений между таксонами. Выявлена популяционная структурированность тихоокеанской трески в ареале. Показано, что треска южно-курильского региона на достоверном уровне отличается (наиболее высокую дифференцирующую нагрузку несут микросателлитные локусы *Gmo3* и *Pgmo32*) от популяций трески Берингова, Охотского морей и побережья Канады, демонстрирующих высокую степень сходства между собой, несмотря на значительную дистантную разобщенность. Такая специфическая структурированность, на наш взгляд, сформировалась в постледниковый период с его особенностями трансгрессий и регрессий вод, формирования рельефа суши [20, 21] и поддерживается как сложившейся системой течений, обеспечивающих, видимо, определенного уровня репродуктивную самостоятельность “южно-курильской” трески, так и особенностями миграционного поведения трески баренцевоморского региона [22, 24].

Авторы выражают признательность за огромную помощь в осуществлении настоящей работы О.А. Ровниной (Управление науки, Госкомрыболовство), И.Н. Мухаметову (СахНИРО), А.В. Ходакову (ВНИРО), Дж.А. МакФарлэйну (Тихоокеанская биологическая станция — G.A. McFarlane, Pacific Biological Station, Nanaimo, B.C., Canada).

* * *

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 09-04-00728).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Никольский Г.В. Частная ихтиология. М.: Высшая школа, 1971. 472 с.

2. Мусеев П.А. Треска и камбалы дальневосточных морей // Изв. ТИНРО. 1953. Т. 40. С. 21—118.

3. Винников А.В., Давыденко В.А. К вопросу о популяционной структуре тихоокеанской трески *Gadus macrocephalus* Tilesius (Gadidae) прикамчатских и сопредельных вод по результатам отолиметрии // Исследования биологии и динамики численности промысловых рыб камчатского шельфа. Вып. 4. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 1998. С. 33—38.
4. Endo H. Phylogeny of the order Gadiformes (Teleostei, Paracanthopterygii) // Mem. Grad. Sch. Fish. Sci. Hokkaido Univ. 2002. Vol. 49. P. 1—81.
5. Евсеенко С.А., Лорель Б., Браун Д.А., Маликова Д.Ю. К таксономии рода *Gadus*: онтогенетические свидетельства // Вопр. ихтиологии. 2006. Т. 46. С. 326—333.
6. Шунтов В.П. Биология дальневосточных морей России. Т. 1. Владивосток: ТИНРО-центр, 2001. 580 с.
7. Ishii K., Yabu H. Chromosomes in three species of Gadidae (Pisces) // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1985. Vol. 5. P. 25—28.
8. Renaud C.D., Speers L.I., Quadri S.U., McAllister D.E. Biochemical evidence of speciation in the cod genus *Gadus* // Can. J. Zool. 1986. Vol. 64. P. 1563—1566.
9. Grant W.Z., Zhang C.I., Kobayashi T., Stahl G. Lack of genetic stock discretion in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1987. Vol. 44. P. 490—498.
10. Carr S.M., Kivlichan D.S., Pepin P., Crutcher D.C. Molecular systematics of gadid fishes: implications for the biogeographic origins of Pacific species // Can. J. Zool. 1999. Vol. 77. P. 19—26.
11. O'Reilly P.T., Canino M.F., Bailey K.M., Bentzen P. Isolation of twenty low stutter di- and tetranucleotide microsatellites for population analyses of walleye pollock and other gadoids // J. Fish Biol. 2000. Vol. 56. P. 1074—1086.
12. Canino M.F., Spies I.B., Hauser L. Development and characterization of novel di- and tetranucleotide microsatellite markers in Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) // Mol. Ecol. Notes. 2005. Vol. 5. P. 908—910.
13. Шунтов В.П. Биологические ресурсы дальневосточных морей: перспективы изучения и освоения // Биология моря. 1988. Т. 3. С. 3—14.
14. Miller K.M., Le K.D., Beacham T.D. Development of tri- and tetranucleotide repeat microsatellite loci in Atlantic cod (*Gadus morhua*) // Mol. Ecol. Notes. 2000. Vol. 9. P. 238—239.
15. Jakobsdottir K.B., Jorundsdottir D.D., Skirnisdottir S., Hjorleifsdottir S., Hreggvidsson G.O., Danielsdottir A.K., Papoulie Ch. Nine new polymorphic microsatellite loci for the amplification of archived otolith DNA of Atlantic cod, *Gadus morhua* L. // Mol. Ecol. Notes. 2006. Vol. 6. P. 337—339.
16. Строганов А.Н., Орлов А.М., Афанасьев К.И., Бурякова М.Е., Рубцова Г.А. Предварительные данные по изменчивости трех микросателлитных локусов у тихоокеанской *Gadus macrocephalus* и атлантической *G. morhua* трески (Gadidae) // Вопр. ихтиологии. 2009. Т. 49. С. 191—199.
17. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М., 1984.
18. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. 1972. Vol. 106. P. 283—292.
19. Weir B.S. Genetic Data Analysis II. Methods for Discrete Population Genetic Data. Massachusetts: Sinauer Ass. Sunderland, 1996. 445 p.
20. Клиге Р.К., Данилов И.Д., Конищев В.Н. История гидросферы. М.: Научный мир, 1998. 368 с.
21. Варнавская Н.В. Генетическая дифференциация популяций тихоокеанских лососей // Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2006. 488 с.
22. Степаненко М.А. Распределение, поведение и численность тихоокеанской трески в Беринговом море // Вопр. ихтиологии. 1995. Т. 35. С. 53—59.
23. Степаненко М.А. Межгодовая изменчивость пространственной дифференциации минтая *Theragra chalcogramma* и трески *Gadus macrocephalus* Tilesius (Gadidae) Берингова моря // Вопр. ихтиологии. 1997. Т. 37. С. 19—26.
24. Богданов Г.А. Тихоокеанская треска. Вопросы биологии и запасы. М., 2006.

Поступила в редакцию
2.04.09

VARIABILITY OF MICROSATELLITE LOCI IN POPULATIONS OF PACIFIC COD (*GADUS MACROCEPHALUS* TILESIIUS) (GADIDAE)

A.N. Stroganov, M.E. Buryakova, A.M. Orlov, K.I. Afanas'ev

Despite the almost secular period of Pacific cod investigation, the monitoring of condition of its stocks, many biological features and especially population structure remain poorly understood. The variability of DNA microsatellite loci *Gmo3*, *Gmo34*, *Gmo35*, and *Pgmo32* in Pacific cod samples from different areas of the North Pacific was analyzed. The data obtained show that Pacific cod from the southern Kuril Islands significantly differs (the highest differentiation was inherent in microsatellite loci *Gmo3* and *Pgmo32*) from populations of the Bering Sea, Sea of Okhotsk and coastal waters of Canada. By this, Pacific cod of the three latter populations demonstrates high degree of similarity ($I = 0,981-0,993$) in spite of considerable geographic remoteness of these areas one from another.

Key words: cod, population structure, DNA polymorphism.

Сведения об авторах

Строганов Андрей Николаевич — канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. кафедры ихтиологии биологического факультета МГУ. Тел. (495) 939-13-33; e-mail: andrei_str@mail.ru

Бурякова Мария Евгеньевна — вед. инженер ВНИРО. Тел. (499) 264-90-21; e-mail: burakova2007@rambler.ru

Орлов Алексей Маркович — докт. биол. наук., гл. науч. сотр. ВНИРО. Тел. (499) 264-91-43; e-mail: orlov@vniro.ru

Афанасьев Константин Иванович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ИОГен РАН. Тел. (499) 135-50-67; e-mail: afanasiev@vigg.ru