

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ИСКУССТВЕННО СОЗДАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ  
КЕТЫ *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) р. КУЛЬКУТЫ (СЕВЕРНОЕ  
ПОБЕРЕЖЬЕ ОХОТСКОГО МОРЯ)**

© 2010 г. Л.Т. Бачевская, А.Г. Лапинский

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан 685000*

Поступила в редакцию 02.04.2009 г.

Окончательный вариант получен 13.08.2009 г.

С использованием аллозимных и RAPD-маркеров исследованы выборки разных лет донорной и искусственно созданной популяций кеты из рек Яма и Кулькуты (северное побережье Охотского моря). Результаты обработаны с использованием критериев разнообразия  $\mu$  Животовского, генного разнообразия по Нею и информационной статистики Шеннона. Вне зависимости от экспериментальных и статистических методов и, в целом, от количества протестированных локусов, выявлена общая тенденция к снижению генного разнообразия в интродуцированной популяции кеты.

*Ключевые слова:* кета, искусственно созданная популяция, генетическая структура, генетическое разнообразие, аллозимы, RAPD.

Создание эффективного управляемого лососевого хозяйства, при котором можно заранее планировать получение определенного количества рыболовной продукции, возможно только на основе комплексного подхода, неотъемлемой частью которого является пастбищное лососеводство, базирующееся на чрезвычайно развитом у лососевых рыб инстинкте родного дома. В связи с этим, в последнее время достаточно распространено искусственное вселение видов (в том числе и кеты) в некоторые водоемы с целью их акклиматизации. Зачастую виды или популяции-вселенцы оказывают отрицательное влияние на осваиваемые биотопы (Салменкова, 2008). Тем не менее, в случае продуктивного заселения, такой подход имеет не малую практическую ценность. Для того чтобы минимизировать отрицательное воздействие акклиматизированных популяций на новый биотоп их переводят в такой режим эксплуатации, при котором, заходящие на нерест производители полностью изымаются, а полученные от них половые продукты используются в рыболовных целях для выведения потомства в заводских условиях. Созданные таким образом популяции не нарушают исторически сложившихся биотопов в водоемах, используемых для их вселения. В Магаданской области проводится эксперимент Магаданским НИРО по созданию искусственно сформированных популяций кеты в водоемах не заселенных этим видом (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001). Необходимо отметить, что на первых этапах исследований искусственно созданная популяция обозначалась как «индустриальная». В дальнейшем, название было скорректировано в соответствии с биотехнологией, применяемой при ее формировании, и принят термин «промыслово-маточная» популяция (Сафроненков и др., 2005; Сафроненков, 2006). Для создания «промыслово-маточной» популяции использовали кету из р. Яма и заселяли ее в р. Кулькуты. В последней этот вид не размножался (Рогатных, Сафроненков, 1999; Рогатных, 2001). В период 1992-1995 гг. использовали икру, полученную только от поздней кеты р. Яма. Икру инкубировали в заводских условиях Ольской ЭПАБ. Молодь содержали в выростных бассейнах, из них перевозили ее в садки, расположенные в естественном водоеме р. Кулькуты, что обеспечивало формирование хоминга и возврат производителей в р. Кулькуты. В дальнейшем, начиная с 1996 г., для инкубации использовалась икра производителей

первого и последующих возвратов в р. Кулькуты. Икра от производителей ямской популяции практически не использовалась. Таким образом, искусственным способом была сформирована «промыслово-маточная» кулькутинская популяция кеты, ежегодные подходы которой составляют от 600 до 7 000 штук. Проводимый эксперимент весьма важен не только с экономической точки зрения, но и имеет ценный научный смысл. Он позволяет разработать биологические основы формирования искусственно созданных популяций. В процессе генетических исследований искусственно созданных популяций определяется роль их генетической изменчивости в период адаптации в новой среде обитания. Расширение работ по созданию «промыслово-маточных» популяций кеты в реках североохотоморского побережья будет способствовать сокращению промысловой нагрузки на естественные стада тихоокеанских лососей, претерпевающих в настоящий момент снижение численности (Черешнев и др., 2002). При эксплуатации искусственно созданных популяций удается, как правило, избежать проблем, возникающих в смешанных популяциях, состоящих из рыб естественного и искусственного происхождения. В свою очередь, в искусственно созданных популяциях лососей также происходят негативные изменения, которые чаще всего связаны со снижением генетического разнообразия. В рассматриваемом случае генофонд кеты р. Кулькуты представляет собой лишь часть от донорной ямской популяции, для которой характерен высокий уровень темпоральной генетической гетерогенности (Бачевская, 1992; Макоедов, Бачевская, 1992). В связи с этим, генетическое разнообразие дочерней популяции изначально может быть меньше материнской.

Для исследования генетической структуры интродуцированных популяций используются различные методы и подходы. Наиболее широко применяются методы популяционной генетики, направленные на изучение полиморфизма ядерного генома посредством определения белкового полиморфизма. Для определения полиморфизма тотальной ДНК достаточно широко применяется метод RAPD, который основан на полимеразной цепной реакции с использованием коротких праймеров произвольной последовательности. Этот метод высоко информативен как на индивидуальном, так и на таксономическом уровнях (Банникова, 2004).

Целью настоящей работы стала оценка генетического разнообразия донорной (р. Яма) и дочерней (р. Кулькуты) популяций кеты в разные годы с использованием различных методических и статистических подходов.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для аллозимного анализа были взяты пробы мышц кеты рек Яма и Кулькуты. Количество образцов, даты выборок представлены в таблице 1. До обработки биологические пробы хранились в жидком азоте. Полиморфизм аллозимных локусов определялся методом электрофореза в полиакриламидном геле. Методика электрофореза и генетическая интерпретация полиморфных локусов ранее подробно описаны (Корочкин и др., 1977; Салменкова, Омельченко, 1983; Ермоленко, Рудминайтис, 1984). Исследовано десять локусов. Принятое нами обозначение локусов и аллелей соответствует номенклатуре генов, кодирующих белки у рыб (Shaklee et al., 1990). Окраску полиакриламидных блоков проводили по методикам из сводки Манченко (Manchenko, 1994).

Показатели генетического разнообразия рассчитаны с учетом только полиморфных локусов: лактатдегидрогеназа (*LDH-A1\**), малик-энзим (*m-MEP-2\**), эстераза-D (*ESTD\**), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (*PGDH\**), аспар-

татаминотрансфераза *s-AAT-1,2\**. Статистическая обработка материалов проводилась с использованием программы BIOSYS-1 (Swofford, Selander, 1981). Внутривидовое аллельное разнообразие оценивалось с использованием  $\mu$ -критерия Животовского (1991):  $\mu = (\sqrt{p_1} + \sqrt{p_2} + \dots + \sqrt{p_n})^2$ ,  $S_\mu = \sqrt{\frac{\mu(m - \mu)}{N}}$ , где  $\mu$  – среднее число аллелей в выборке,  $p_1, p_2 \dots p_n$  – выборочные значения частот аллелей в долях от единицы ( $p_1 + p_2 + \dots + p_n = 1$ ),  $N$  – объем выборки,  $S_\mu$  – статистическая ошибка,  $m$  – количество аллелей по каждому из локусов. Достоверность различий показателей генетического разнообразия определяли с помощью двустороннего  $t$ -критерия Стьюдента для независимых выборок с неравными дисперсиями (Животовский, 1991).

**Таблица 1.** Показатели генетического разнообразия Животовского (1991)  $\mu$  в выборках кеты *Oncorhynchus keta* из рек Яма и Кулькуты.

**Table 1.** Zhivotovski (1991)  $\mu$  criteria of allelic diversity in the chum salmon *Oncorhynchus keta* samplings from Yama and Kulkuty rivers.

Дата река	Кол-во	LDH-A1*		m-MEP-2*		PGDH*		ESTD*		s-AAT-1*		$\mu$ средн.	S $\mu$ средн.
		$\mu$	s $\mu$	$\mu$	s $\mu$	$\mu$	s $\mu$	$\mu$	s $\mu$	$\mu$	s $\mu$		
р. Кулькуты, 2002 г.	100	1,701	0,073	1,669	0,070	1,514	0,087	1,751	0,067	1,633	0,078	1,653	0,032
р. Яма, 2002 г.	82	1,611	0,088	1,774	0,070	1,521	0,062	1,696	0,079	1,611	0,087	1,643	0,035
р. Кулькуты, 2003 г.	126	1,608	0,071	1,578	0,073	1,461	0,0791	1,582	0,047	1,539	0,075	1,554	0,033
р. Яма, 2004 г.	60	1,746	0,086	1,551	0,108	1,578	0,105	1,578	0,105	1,610	0,102	1,613	0,045
р. Кулькуты, 2005 г.	199	1,408	0,045	1,672	0,035	1,515	0,037	1,682	0,035	1,542	0,046	1,564	0,037
р. Кулькуты, 2006 г.	158	1,400	0,047	1,529	0,035	1,499	0,044	1,666	0,036	1,531	0,036	1,524	0,033
р. Кулькуты, 2007 г.	100	1,543	0,084	1,650	0,076	1,586	0,081	1,638	0,077	1,543	0,084	1,592	0,036

Для изучения методом RAPD в 2003 г. были взяты выборки из нерестовых стад кеты р. Кулькуты (70 образцов) и р. Яма (91 образец). В 2008 г. исследовано 50 образцов ямской кеты и 48 – кулькутинской. Мышечная ткань от ямской кеты 2003 г. хранилась до выделения ДНК в 80% этаноле. Остальные образцы после взятия замораживались в жидком азоте и до выделения ДНК хранились при -18 °С. Выделение ДНК проводилось традиционной фенол-хлороформной экстракцией (Методы..., 1984), определение содержания ДНК в экстрактах проводилось с реактивом Бартон (Клонирование..., 1988). Для RAPD-анализа были использованы два декамерных праймера – A1 (5'- ЦАГГЦСТТС - 3') и A10 (5'- ГТГАТЦГЦАГ-3'), (номенклатура фирмы Operon Technologies, Inc.), производства фирмы Syntol (Россия). ПЦР проводилась с использованием сухих наборов GenePak™ PCR Core, производства фирмы Интроген (Россия) и содержащих в инкубационной смеси объемом 25 мкл 40÷60 нг матрицы, 1 ед. ингибированной для горячего старта Taq-полимеразы, 200 мкМ dNTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 0,6 мкМ праймера A1 или 0,4 мкМ A10. Амплификация проводилась на амплификаторе GeneAmp PCR System 2400 (фирма Applied Biosystems, США): старт при 90 °С, затем 5 мин при 94 °С, далее 30 циклов: денатурация 94 °С – 1 мин., отжиг (2 мин. при 42 °С для праймера A1 или 1,5 мин. при 40 °С для праймера A10, синтез – 72 °С – 2 мин. для праймера A1 или 1,5 мин. для праймера A10, последняя выдержка при 72 °С включала дополнительно 7 мин. В

каждую новую серию образцов при амплификации включался один образец, проанализированный ранее, в качестве положительного контроля. Продукты амплификации разделялись электрофорезом на агарозных гелях и визуализировались в УФ-свете после выдерживания гелей в растворе бромистого этидия. В качестве маркеров использовались фрагменты *HinF* I – рестрикта ДНК pBR 322 размерами (на рисунках сверху вниз) 1631, 517, 506, 396, 344, 298, 220/221 п.н. и 100 п.н. молекулярный маркер. Учитывались стабильно воспроизводимые RAPD-спектры в диапазоне 150-1 500 п.н.

Для статистической обработки по каждому в отдельности и для обоих праймеров вместе составлялись бинарные матрицы, в которых наличие или отсутствие в спектре учитываемого фрагмента обозначалась как «1» или «0»; фрагменты одинакового размера рассматривались как гомологичные и различия в интенсивности их флуоресценции во внимание не принимались. Статистическая обработка проводилась с использованием программного продукта POPGENE 32.1 (Yeh, 1997). Рассчитывались наблюдаемое и эффективное число аллелей (Kimura, 1964), генное разнообразие по Нею (Nei, 1973), а также информационный индекс Шеннона для оценки фенотипического разнообразия, поскольку его применение не требует предположения о соблюдении в популяции равновесия Харди-Вайнберга (Артюкова и др., 2004). Индекс разнообразия или энтропии Шеннона рассчитывался как  $H_0 = -\sum_i p_i \log_2 p_i$ , где  $p_i$  – частота  $i$ -того RAPD-фрагмента в популяционной выборке, и для суммарной выборки как  $H_{sp} = -\sum_k p_k \log_2 p_k$ , где  $p_k$  – частота  $k$ -того фрагмента. Также рассчитывали  $H_{pop}$  как среднее значение  $H_0$  для обеих выборок, долю внутривидового разнообразия как  $H_{pop}/H_{sp}$  и долю межвидового разнообразия как  $(H_{sp}-H_{pop})/H_{sp}$  (Артюкова и др., 2004), а также выравненность распространения признака  $E_H$  как  $H_0/H_{max}$ , где  $H_{max} = \log_2 N$  ( $N$  – количество учитываемых фрагментов).

Кроме того, с использованием пакета TFPGA (Miller, 1997) проводился тест на дифференциацию популяций (Rousset, Raymond, 1995).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проводимые ранее исследования, направленные на оценку генетической структуры кеты рек Кулькуты (искусственно созданная популяция) и Яма (популяция-донор) показали, что в первой происходит некоторое снижение генетического разнообразия (Омельченко и др., 2002; Бачевская и др., 2004). Настоящими исследованиями были охвачены производители еще нескольких поколений. Показатели генетического разнообразия указанных популяций изменялись от года к году (табл. 1). Особенно динамичными были значения  $\mu$  у кулькутинской кеты по таким маркерам, как лактатдегидрогеназа (*LDH-A1\**), эстераза-Д (*ESTD\**), малик-энзим *m-MEP-2\**. В некоторых случаях показатели генетического разнообразия, характеризующие кету разных лет исследований, имели статистически достоверные различия. Например, кета р. Кулькуты в 2002 г. отличалась от двух выборок (2005, 2006 гг.) по локусу *LDH-A1\** ( $t=3,53$ ,  $p<0,05$ ;  $t=3,45$ ,  $p<0,05$ ). Важно отметить, что по указанному локусу кета р. Кулькуты (2002 г.) не отличается от донорной ямской кеты (2002 и 2004 гг.). По локусу *m-MEP-2\** между выборками кеты р. Кулькуты разных генераций наблюдается лишь тенденция к снижению генетического разнообразия. Отличие зарегистрировано только между производителями донорной (2002 г.) и дочерней (2006 г.) популяциями ( $t=3,14$ ,

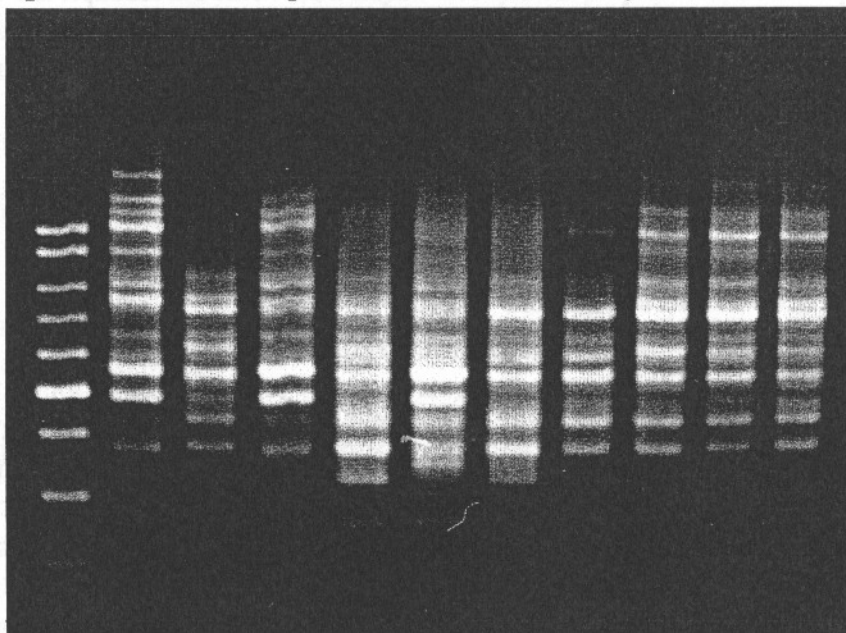
$p < 0,05$ ). Обнаружены статистически значимые отличия по локусу *ESTD*\* между выборками кулькутинской кеты 2002 и 2003 гг. ( $t=2,09$ ,  $p < 0,05$ ). Рассматривая средние (на локус) значения генетического разнообразия, следует отметить, что кулькутинская кета 2002 г. отличается от выборок исследованных в 2003 и 2006 гг. ( $t=2,20$ ,  $p < 0,05$ ;  $t=2,87$ ,  $p < 0,05$ ). Различия наблюдаются и при сравнении выборок кеты донорной и дочерней популяций (2002-2006 гг.,  $t=2,48$ ,  $p < 0,05$ ). Следует отметить, что кета р. Кулькиты 2007 г. обладает более высокими средними (на локус) показателями генетического разнообразия по сравнению со всеми выборками предыдущих лет исследований. Зарегистрированный факт может быть связан с увеличением численности кулькутинской популяции. К 2007 г. ее численность достигла максимальных размеров за весь период ее существования и составила более 7 000 особей. Другой причиной может быть естественная динамика показателей генетического разнообразия в выборках кеты разных лет. Такая динамика неоднократно была отмечена в североохотоморских популяциях, размножающихся в как естественных, так и в искусственно созданных условиях (Бачевская, Велижанин, 2003; Бачевская, Агапова, 2009).

В 2002 г. отмечен наибольший уровень генетического сходства кеты рек Яма и Кулькиты по сравнению с выборками последующих лет. Несмотря на наблюдаемую нами динамику генетического разнообразия искусственно созданной популяции, очевидна тенденция к снижению ее значений  $\mu$  по сравнению с наблюдаемыми у популяции-донора. Такое проявление вполне вероятно при небольшой эффективной численности искусственно созданной популяции, которая воспроизводится в настоящий момент без «подпитки» от популяции-донора. Без сомнения, на снижение генетического разнообразия кулькутинской популяции оказал влияние (применяемый на начальных этапах) способ оплодотворения икры, при котором использовали половые продукты от 3 самок и одного самца.

Наряду с исследованиями аллозимной изменчивости донорной и искусственно созданной популяций проводились работы по изучению полиморфизма тотальной ДНК с помощью метода RAPD. Выполняемая для RAPD анализа амплификация с использованием праймеров A1 и A10 позволяет получить четкие воспроизводимые фрагменты ДНК – ампликоны. Для праймера A1 диапазон учитываемых ампликонов включал 20 фрагментов в интервале размеров от 100 до 1 200 п.н., из которых 17 фрагментов были полиморфными (рис. 1). Праймер A10 позволил получить 23 учитываемых фрагмента в диапазоне 150-1 700 п.н., из которых полиморфными оказались также 17 (рис. 2). Таким образом, полиморфизм популяции, оцениваемый как доля полиморфных локусов в общем числе исследованных составлял соответственно 76,7% для кулькутинской и 79% для ямской, что свидетельствует о генетической уникальности каждой исследованной особи. Один из ампликонов встречался только в выборке ямской кеты 2003 г. с частотой 0,037 и отсутствовал в кулькутинской выборке того же года. Этот ампликон практически соответствовал по подвижности маркерному фрагменту размером 396 п.н. (рис. 2). Отсутствие этого ампликона в кулькутинской популяции (с известной осторожностью) можно объяснить эффектом основателя.

В некоторых работах отмечалась различная возможность праймеров по способности выявлять генное разнообразие, включая показатели Шенновской статистики (Артюкова и др., 2004). Полученные нами результаты с использованием праймеров A1 и A10 весьма сходны (табл. 2), что можно объяснить удачным выбором и сочетанием праймеров, позволяющих выявить значительное число учитываемых

ампликонов при высокой доле полиморфных. Поэтому для изучения методом RAPD выборок кеты 2008 г. был использован праймер A10 (табл. 2). Этому выбору способствовало и упомянутое выше обстоятельство, что только он в ямской выборке 2003 г. позволил выявить ампликон, отсутствовавший в выборке из р. Кулькуты того же года, что давало повод считать его подходящим для дифференциации двух популяций. Однако в выборках 2008 г. этот ампликон не встретился. Степень разнообразия исследованных популяций 2003 г. оценивалась с помощью информационного критерия Шеннона и рассчитанных на его основе показателей; она мало зависела от использованного праймера и числа протестированных локусов (табл. 3). Показатели Шеннона были высокими для обеих выборок и достоверно не различались, что свидетельствует о сходном уровне их генетического разнообразия. Рассчитанные на основании показателей общего разнообразия ( $H_{pop}$ ) величины внутри- и межпопуляционной изменчивости продемонстрировали, что (по обоим праймерам), на долю первой из них ( $H_{pop}/H_{sp}$ ) приходится более 90%, тогда как на долю межпопуляционной изменчивости ( $(H_{sp} - H_{pop})/H_{sp}$ ) – менее 10%. При этом на долю межпопуляционной изменчивости приходится менее 10% разнообразия и более 90% – на внутрипопуляционную. Близкими оказались и показатели выравнивания распределения фенотипических признаков в каждой популяции.

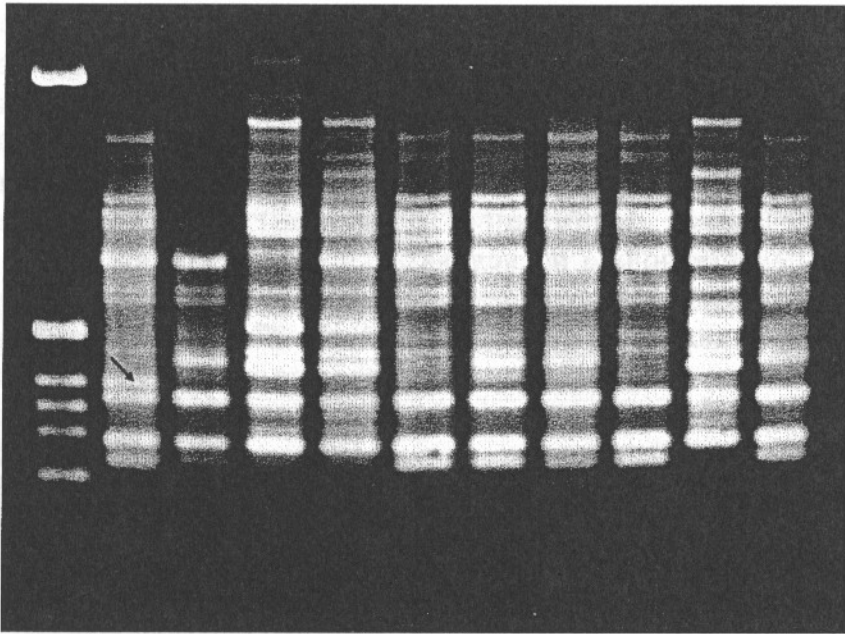


**Рис. 1.** RAPD-полиморфизм кеты *Oncorhynchus keta*, полученный с использованием праймера A1. Левый трек – 100 п.н. молекулярный маркер.

**Fig. 1.** RAPD-polymorphisms of chum salmon *Oncorhynchus keta* obtained using the A1 primer. The left track – 100 b.p. marker.

Показатели выравнивания распределения учитываемых признаков ( $E_H$ ) для обеих популяций оказались близки, меньшие значения этого параметра для искусственно созданной кулькутинской популяции могут отражать особенности формирования последней.

Полученные значения генного разнообразия и показатели, рассчитанные на основании энтропии Шеннона в 2008 г., мало отличаются от аналогичных характеристик кеты 2003 г. (табл. 3). Средние значения разнообразия, характеризующие кету р. Кулькуты 2008 г., как и прежде (2003 г.), ниже тех, которые рассчитаны для выборки из р. Яма. То есть, в 2008 г. прослеживается та же, что и в 2003 г. тенденция к снижению разнообразия в кулькутинской выборке по сравнению с ямской.



**Рис. 2.** RAPD-полиморфизм кеты *Oncorhynchus keta*, полученный с использованием праймера A10. Левый трек – HinF I – рестрикт ДНК pBR 322. Стрелкой обозначен редкий ампликон, выявленный в ямской выборке.

**Fig. 2.** RAPD-polimorphisms of chum salmon *Oncorhynchus keta* obtained using the A10 primer. The left track – HinF I – digest of pBR 322 DNA. The arrow indicates the rare amplicon, found in the Yama river sampling.

**Таблица 2.** Показатели разнообразия RAPD-маркеров в выборках кеты *Oncorhynchus keta* из рек Яма и Кулькуты в 2003 и 2008 гг.

**Table 2.** Criteria of RAPD- markers diversity in the chum salmon *Oncorhynchus keta* samplings from Yama and Kulkuty rivers in 2003 and 2008 years.

Праймер/ выборка	Наблюдаемое число аллелей	Эффективное число аллелей	Генное разнообразие по Нею
A1/Яма 2003 г.	1,7391 ± 0,4490	1,6183 ± 0,4115	0,3311 ± 0,2109
A1/Кулькуты 2003 г.	1,7391 ± 0,4490	1,4596 ± 0,3423	0,2739 ± 0,1854
A1/Яма + Кулькуты 2003 г.	1,8696 ± 0,3444	1,5620 ± 0,3228	0,3275 ± 0,1660
A10/Яма 2003 г.	1,7391 ± 0,4490	1,5842 ± 0,4264	0,3130 ± 0,2181
A10/Кулькуты 2003 г.	1,6957 ± 0,4705	1,4492 ± 0,3959	0,2584 ± 0,2006
A10/Яма + Кулькуты 2003 г.	1,7826 ± 0,4217	1,5402 ± 0,3992	0,3008 ± 0,2041
A1+A10/ Яма 2003 г.	1,7174 ± 0,4552	1,5862 ± 0,4105	0,3157 ± 0,2141
A1+A10/ Кулькуты 2003 г.	1,6957 ± 0,4652	1,4340 ± 0,3631	0,2510 ± 0,1908
A1+A10/Яма + Кулькуты 2003 г.	1,7609 ± 0,4313	1,5111 ± 0,3701	0,2921 ± 0,1951
Яма A10 2008.г.	1,7500 ± 0,4443	1,5087 ± 0,3645	0,2941 ± 0,1909
Кулькуты A10 2008 г.	1,7000 ± 0,4702	1,4650 ± 0,3990	0,2644 ± 0,2083

Тест на дифференциацию популяций по всем локусам (Rousset, Raymond, 1995) не выявил значимого различия в частотах наблюдаемых ампликонов между популяциями ( $\chi^2 = 8,73$ ,  $df = 90$ ,  $p = 1,00$ ). Тест Эвенса-Ваттерсона (Manly, 1985) продемонстрировал нейтральность всех локусов в обеих выборках. Сравнение таких

показателей, как наблюдаемое и эффективное число аллелей и генное разнообразие по Нею показало, что они мало зависели от использованного праймера и количества протестированных локусов. Тенденция к снижению этих показателей в кулькутинской популяции не была значимой ни в одном случае (табл. 2). Важно отметить, что полученные с использованием RAPD-маркеров результаты, в основном, соответствуют данным аллозимного анализа. RAPD-маркеры позволяют анализировать и некодирующие последовательности (Lee et al., 2002), в связи с чем они более полно отражают генетическую изменчивость, чем аллозимные маркеры, находящиеся под определенным селективным давлением (Бачевская и др., 2006). Этот тезис вполне объясняет полученные достоверные различия между донорной и искусственно созданной популяциями, обнаруженные по аллозимным маркерам, но не обнаруженные по RAPD-маркерам.

**Таблица 3.** Показатели разнообразия RAPD – маркеров по Шеннону в донорной и искусственно созданной популяциях кеты *Oncorhynchus keta* в 2003, 2008 гг.

**Table 3.** Shannon's indices of RAPD – markers diversity in donor and in the artificially created population chum salmon *Oncorhynchus keta* in 2003 and 2008 years.

Праймер	$H_0$		$H_{sp}$	$H_{pop}$	$H_{pop}/H_{sp}$	$(H_{sp} - H_{pop})/H_{sp}$	$E_H$	
	Яма, 2003г.	Кулькуты, 2003г.					Яма	Кулькуты
A1	0,4714	0,4087	0,4845	0,4372	0,9024	0,098	0,1153	0,1000
A10	0,4472	0,3840	0,4380	0,4161	0,9500	0,050	0,1094	0,0939
Среднее	0,4561	0,3896	0,4503	0,4187	0,9309	0,070	0,1049	0,0893
A1+A10	0,4498	0,3762	0,4284	0,4029	0,9405	0,059	0,0890	0,0740
A10	Яма, 2008 г.	Кулькуты, 2008 г.						
	0,4330	0,3879	0,4316	0,4015	0,9300	0,070	0,095	0,085

Несмотря на то, что нами отмечено некоторое снижение генетического разнообразия, численность кулькутинской популяции увеличивается, возврат производителей кеты весьма высок (среднепогодный – 0,72%), что свидетельствует об удачном выборе популяции-донора и достаточно высоком уровне ее адаптации, а также об эффективности проводимых рыбоводных мероприятий способствующих хорошей выживаемости потомства.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на довольно высокую эффективность искусственного воспроизводства промыслово-маточной кулькутинской популяции кеты, отмеченная тенденция к снижению ее генетического разнообразия может свидетельствовать о развитии нежелательных процессов, которые были отмечены еще на начальных этапах формирования искусственно созданной популяции (Омельченко и др., 2002; Бачевская и др., 2004). Среди мер, которые можно рекомендовать к их своевременному предупреждению, следует назвать постоянный генетический мониторинг. Он должен включать исследования производителей, а также молоди в заводских условиях и в период подращивания ее в естественном водоеме. Биотехникой воспроизводства искусственных популяций должно быть предусмотрено использование максимального количества производителей из нерестовых подходов (Омельченко и др., 2002). Кроме того, необходимо индивидуальное оплодотворение икры (1 самка x 1 самец) и, возможно, дополнительная перевозка половых продуктов из донорной популяции (Омельченко и др., 2002). Это позволит достаточно долго поддерживать кулькутинскую популяцию в стабильном состоянии.



Использование нескольких методов для исследования генетических процессов, происходящих в искусственно созданных популяциях, позволяет получить более надежные результаты. RAPD-анализ зарекомендовал себя как весьма недорогой и, при этом, высокоинформативный метод. Он вполне может быть использован в генетическом мониторинге наряду с традиционными методами биохимической генетики.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Артюкова Е.В., Холина А.Б., Козыренко М.М., Журавлев Ю.Н.* Анализ генетической изменчивости редкого эндемичного вида *Oxytropis chankaensis* Jurtz. (Fabaceae) на основе RAPD-маркеров // Генетика. 2004. Т. 40. №7. С. 877-884.

*Банникова А.А.* Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журн. общ. биол. 2004. Т. 65. №4. С. 278-305.

*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., Сафроненков Б.П., Велижанин Е.С.* Особенности формирования генетической структуры искусственно созданной кулькутинской популяции кеты (Северное побережье Охотского моря) // Состояние рыбохозяйственных исследований в бассейне северной части Охотского моря. Сб. науч. тр. Вып. 2. Магадан, 2004. С. 301-308.

*Бачевская Л.Т., Лапинский А.Г., Соловечук Л.Л.* Биохимический и RAPD-полиморфизмы у донорной и интродуцированной популяций кеты из р.р. Яма и Кулькуты (северное побережье Охотского моря) // Вестник Северо-Восточного научного центра ДВО РАН. 2006. №1(5). С. 61-66.

*Ермоленко Л.Н., Рудминайтис Э.А.* Множественный аллелизм изоферментов эстеразы Д лососевых // Генетика. Т.20. №7. С. 1205-1210.

*Животовский Л.А.* Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 269 с.

Клонирование ДНК. Методы: Пер. с англ. под ред. Д. Гловера. М.: Мир, 1988. 538 с.

*Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др.* Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 275 с.

*Макоедов А.Н., Бачевская Л.Т.* Генетические и фенетические особенности кеты разного времени нерестового хода // Биология моря. 1992. №3-4. С. 62-68.

Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. М.: Мир, 1984. 480 с.

*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. Матер. Научной конференции. П.-Камчатский, 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 бассейне 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 // Росс.-амер. конференция по сохранению лососевых. Камчатка, РФ, 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.* Полиморфизм НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназы и малатдегидрогеназы в популяциях кеты и горбуши // Биология моря. 1983. №3. С. 24-28.

*Сафроненков Б.П.* Современное состояние и перспективы искусственного разведения тихоокеанских лососей в Магаданской области // Современные проблемы лососевых

рыбоводных заводов Дальнего Востока. Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей. Мат. науч. конф. П.-Камчатский, 2006. С. 127-138.

Сафроненков Б.П., Хованская Л.Л., Волобуев В.В. Состояние лососеводства в северном Охотоморье // Рыбное хозяйство. 2005. №1. С. 43-47.

Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2002. 496 с.

Kimura M., Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics. 1964. V. 49. Pp. 725-738.

Lee S.-W., Ledig F.T., Johnson D.R. Genetic variation at allozyme and RAPD markers in *Pinus longaeva* (Pinaceae) of the White Mountines, California // Am. J. Bot. 2002. V. 89. Pp. 566-577.

Manly B.F.J. The statistics of natural selection. Chapman and Hall, London. 1985. Pp. 272-282.

Manchenko G.P. Detection of enzymes on electrophoretic gels: A handbook // CRC Press. Inc., Boca Raton, FL. 1994. 440 p.

Miller M.P. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. 1997. Computer software distributed by author.

Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Dec. 1973. V. 70. №12. Part I. Pp. 3321-3323.

Rousset F., Raymond M. Testing heterozygote excess and deficiency // Genetics. 1995. V. 140. Pp. 1413-1419.

Shaklee J.B., Allendorf F.W., Morizot D.C., Whitt G.S. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish // Transact. Of the Amer. Fish. Soc. 1990. V. 119. 1. Pp. 2-15.

Swofford D.L., Selander R.B. BIOSIS 1: f FORTRAN program for the comprehensive analysis electrophoretic data in population genetics and systematics // J. Herediti. 1981. V. 72. Pp. 281-283.

Yeh F.C., Boyle T.J.B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Belgian J. Bot. 1997. V. 129. P. 157.

## GENETIC PROCESSES IN THE ARTIFICIALLY CREATED POPULATION CHUM SALMON *ONCORHYNCHUS KETA* (WALBAUM) FROM THE KULKUTY RIVER (NORTHERN COAST OF THE OKHOTSK SEA)

© 2010 y. L.T. Bachevskaya, A.G. Lapinski

*Institute of the Biological Problems of the North, Russian Academy of Sciences, Far-Eastern Branch, Magadan*

Allozyme and RAPD markers were used to assess the genetic structure of donor and in the artificially created populations of different years from Yama and Kulkuty rivers of the northern coast of the Okhotsk Sea respectively by means of Zhivotovski  $\mu$  criterion of diversity, Nei's index of diversity and Shannon's statistics. The decline in the genetic diversity of the artificially created population was revealed as an overall tendency only, regardless of analytical or statistical methods involved.

*Key words:* chum salmon, the artificially created population, genetic structure, genetic diversities allozymes, RAPD.