

Научная статья / Original article

УДК 597.552.511:575.174

doi:10.15853/2072-8212.2023.71.23-33



ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КИЖУЧА (*ONCORHYNCHUS KISUTCH* WALBAUM) НА АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИЗА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

Сошникова Валерия Александровна, Зеленина Дарья Александровна

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), Москва, Россия, valnestle@yandex.ru, d.zelenina@gmail.com

Аннотация. Впервые исследован полиморфизм 10 ядерных микросателлитных локусов в популяциях кижуча на азиатской части ареала. Выявлены три генетически обособленных региональных комплекса стад: камчатский, североохотоморский и сахалинский. Показано, что для всех популяций вне зависимости от их географического положения характерен высокий уровень генетического полиморфизма.

Ключевые слова: кижуч (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum), микросателлиты, генетическое разнообразие, полиморфизм ядерных локусов

Благодарности: авторы признательны сотрудникам ФГБНУ «ВНИРО» и его Камчатского, Магаданского и Хабаровского филиалов, принимавших участие в сборе материала на Камчатке и материковом побережье Охотского моря, а также Е.А. Кирилловой (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН) за сбор образцов на острове Сахалин. Работа выполнена в рамках госзадания ФГБНУ «ВНИРО» и при поддержке гранта Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2021-1084).

Для цитирования: Сошникова В.А., Зеленина Д.А. Популяционно-генетическое разнообразие кижуча (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum) на азиатской части ареала по результатам анализа микросателлитных локусов // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2023. Вып. 71. С. 23–33.

POPULATION GENETIC DIVERSITY OF COHO SALMON (*ONCORHYNCHUS KISUTCH* WALBAUM) IN THE ASIAN PART OF ITS RANGE BASED ON THE RESULTS OF MICROSATELLITE LOCI ANALYSIS

Valeria A. Soshnina, Darya A. Zelenina

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (VNIRO), Moscow, Russia, valnestle@yandex.ru, d.zelenina@gmail.com

Abstract. Polymorphism of 10 nuclear microsatellite loci in coho salmon populations in the Asian part of the range was studied for the first time. Three genetically distinct regional stock complexes were identified: Kamchatka, northern part of the Sea of Okhotsk and Sakhalin. It was shown that all populations, regardless of their geographic location, are characterized by a high level of genetic polymorphism.

Keywords: coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum), microsatellites, genetic diversity, polymorphism of nuclear loci

Acknowledgments: authors are grateful to the staff of FSBSI VNIRO and its Kamchatka, Magadan and Khabarovsk branches who participated in the collection of material in Kamchatka and the mainland coast of the Sea of Okhotsk and to E.A. Kirillova (A.N. Severtsov Institute for Problems of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences) for collecting samples on Sakhalin Island. The work was carried out under the state assignment of FSBSI VNIRO and supported by a grant from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2021-1084).

For citation: Soshnina V.A., Zelenina D.A. Population genetic diversity of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum) in the Asian part of its range based on the results of microsatellite loci analysis // The researchers of the aquatic biological resources of Kamchatka and the north-west part of the Pacific Ocean. 2023. Vol. 71. P. 23–33.

Кижуч (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792) является представителем тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus* — группы ценных промысловых видов, обитающих как на Дальнем Востоке, так и в странах Северной Америки.

Этот вид распространен в Северной Пацифике: нерестится он на азиатском побережье — от Чукотки до северной части Хабаровского края, включая о. Сахалин и северные острова Курильской гряды, на американском — от Аляски

до Калифорнии (Зорбиди, 2010). В пределах азиатской части ареала кижуч является третьим-четвертым по численности видом рода *Oncorhynchus*, только лишь на Северных Курилах он занимает второе место, уступая наиболее массовому виду этого рода — горбуше. Несмотря на несомненную ценность вида, среди тихоокеанских лососей он до последнего времени оставался одним из наименее изученных.

Популяционно-генетические исследования кижуча начали проводиться в конце XX века. В 1995 г. был исследован полиморфизм аллозимных локусов в азиатских популяциях кижуча (Пустовойт, 1995), а вскоре — минисателлитных локусов в популяциях Западной Аляски, Британской Колумбии и п-ова Камчатка (Beacham et al., 1996). Дальнейший анализ полиморфизма ядерного генома кижуча затрагивал исключительно популяции восточного побережья Тихого океана. В этой связи следует упомянуть две работы, посвященные изучению генетической структуры и расселения кижуча и охватывающие значительную часть североамериканской части ареала, с помощью микросателлитного анализа (Smith et al., 2001) и полногеномного генотипирования методом ddRAD (Rougemont et al., 2020). Что же касается кижуча азиатских стад, единственное исследование, охватывающее практически всю российскую часть ареала, основано на анализе полиморфизма мтДНК (Зеленина и др., 2020).

Цель представленной работы состояла в расширении представлений о генетической структуре азиатского кижуча с применением ядерных микросателлитных локусов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для проведения исследования был собран в период с 2002 по 2017 гг. во время нерестового хода в реках Дальнего Востока России (рис. 1, табл. 1). Фрагменты тканей отбирались у свежевыловленных рыб и фиксировались в 96%-м этиловом спирте.

Для проведения популяционно-генетического анализа были выбраны 10 микросателлитных локусов, разработанных для тихоокеанских лососей: *Oki10*, *One114*, *OtsG68*, *OtsG78b*, *OtsG83b*, *OtsG253b*, *OtsG423*, *AMPCX*, *CWDDD*, *OtsG422*. Все локусы характеризуются тетра-нуклеотидными повторами, при этом локус *AMPCX* содержит лишь пять аллелей. Последовательности праймеров для амплификации фрагментов, содержащих повторяющийся мотив, приведены в таблице 2.

Выделение и очистку ДНК проводили методом абсорбции на микроколонках AcroPrep™ 96 filter plate, 1 mL – 1.0 µm, glass fiber media (“PALL”, США) по методике, описанной ранее (Ivanova et al., 2006).

Амплификацию проводили по программе с тремя температурными режимами отжига по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК 95 °C — 2 мин; синтез ПЦР-продуктов

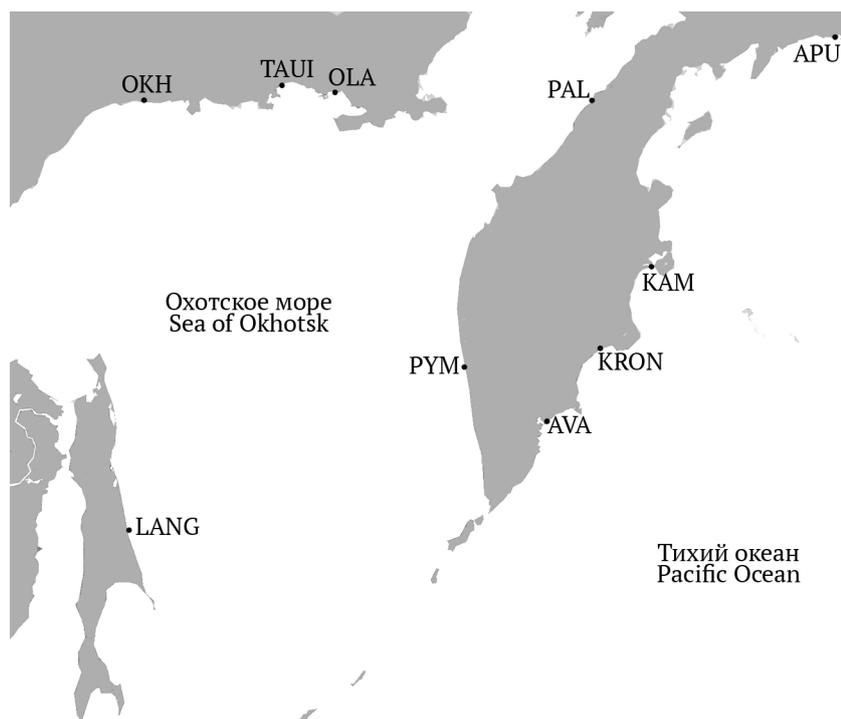


Рис. 1. Карта-схема сбора материала. Обозначения выборок представлены в таблице 1
Fig. 1. Schematic map of sampling sites. Sample identification is in Table 1

(30 циклов, в каждом из которых температура отжига праймеров снижалась на 0,2 °C): плавление 92 °C — 10 с, отжиг праймеров 60 °C в первом цикле — 30 с, синтез ДНК 72 °C — 10 с); синтез ПЦР-продуктов (десять циклов, в каждом из которых температура отжига праймеров повышалась на 0,2 °C): плавление 92 °C — 10 с, отжиг праймеров 54 °C в первом цикле — 30 с, синтез ДНК 72 °C — 10 с; синтез ПЦР-продуктов (20 циклов): плавление 92 °C — 10 с, отжиг праймеров 56 °C — 30 с, синтез ДНК 72 °C — 10 с; окончательная достройка цепей: 72 °C — 5 мин. Реакция амплификации проводилась в конечном объеме 10 мкл [30 мМ Трис-НСl (рН 8,6), 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 2,5 мМ MgCl₂, 0,6 мМ dNTP, 2 пМ каждого праймера, около 100 нг ДНК и 0,5 ед. Таq-полимеразы (Диалат)]. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили с помощью системы капиллярного электрофореза ABI Prism Genetic Analyzer 3500 (“Applied Biosystems”, США), определение длин аллелей и генотипирование осуществля-

ли с использованием программного обеспечения GeneMarker v.2.1 (SoftGenetics LLC).

Уровни ожидаемой (H_0) и наблюдаемой (H_e) гетерозиготности, параметры F -статистики (F_{is} , F_{it} и F_{st}), генетическое разнообразие локусов в популяциях оценивали в GenAlEx 6 для MS-Excel (Peakall, Smouse, 2006). Там же рассчитывали ряд генетических параметров, а именно количество аллелей (N_a), количество эффективных аллелей (N_e), индекс Шеннона (I). Для оценки информативности микросателлитных локусов с помощью программного обеспечения CERVUS 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007) вычисляли уровень информационного полиморфизма (polymorphism information content, PIC).

Для изучения генетической структуры были использованы два статистических подхода: метод кластеризации, реализованный в Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), и анализ главных координат на основе генетических дистанций, рассчитанных по методу М. Нея (Nei, 1987), выполненный в GenAlEx 6. Индивидуальный бай-

Таблица 1. Характеристика исследованного материала
Table 1. Characteristics of examined samples

Регион Region	Название выборки Sample name	Год сбора Sampling year	Условное обозначение Identification	Количество образцов Sample size
Восточная Камчатка East Kamchatka	Р. Апука / Auka R.	2007	APU	48
	Р. Камчатка / Kamchatka R.	2010	KAM	46
	Р. Кроноцкая / Kronotskaya R.	2014	KRON	47
	Р. Авача / Avacha R.	2015	AVA	40
Западная Камчатка West Kamchatka	Р. Палана / Palana R.	2015	PAL	48
	Р. Пымта / Pymta R.	2002	PYM	48
Северное побережье Охотского моря Northern coast of the Sea of Okhotsk	Р. Ола / Ola R.	2018	OLA	48
	Р. Тауй / Tauï R.	2018	TAUI	48
	Р. Охота / Okhota R.	2016	OKH	48
О. Сахалин / Sakhalin Island	Р. Лангери / Langeri R.	2017	LANG	48
ИТОГО/TOTAL				469

Таблица 2. Характеристика микросателлитных локусов, используемых в работе
Table 2. Characteristics of microsatellite loci used in the work

Локус Locus	Последовательность праймеров Sequence of primers	Флуоресцентная метка Fluorescent tag	Источник информации Reference
Oki10	GGAGTGCTGGACAGATTGG CAGCTTTTACAAATCCTCCTG	FAM	Smith et al., 1998
One114	TCATTAATCTAGGCTTGTCAGC TGCAGGTAAGACAAGGTATCC	TAMRA	Olsen et al., 2000
OtsG68	GCAGCTTGGTCCATTGATAATGT GCTCACACACAATGTTACATCAGAT	TAMRA	Williamson et al., 2002
OtsG78b	GTCCCTTGAATTGAATTGATTAGA CAGCCTACTGCAGTTCATAGACT	FAM	
OtsG83b	TAGCCCTGCACATAAAATACAGTTC CATTAATCTAGGCTTGTCAGCAGT	R6G	
OtsG253b	GAGCAGGCCGAGCAGGTGTCT AATTGGGTCAATTAAGGCTCTGTGG	TAMRA	
OtsG422	GCTTGCTCGCTCAATCTTCTTATT GAGGCAATGAGGGAGGATGGTGAG	FAM	
OtsG423	AGGCCTGCCAGGCAATAAAGGTAT GCAAGCAAACATGTAGCTTCATGG	FAM	
AMPCX	TGACACAGATCAATGCAAAACA AGGTGTTCTTTAGAGCCTTCCC	TAMRA	
CWDDD	AACCGATCTCTTTCATTGAACC GTCTTCTTCCAGCATTGTACC	R6G	

есовский тест на определение популяций в Structure проводился с использованием модели смешанного происхождения среди популяций, коррелированных частот аллелей и предшествующей информации о популяциях. Было протестировано от 1 до 12 предполагаемых чисел популяций (K) с 10 итерациями для каждого значения K, используя 100 000 шагов прожига, за которыми следовали 500 000 итераций Марковской цепи Монте-Карло (МСМС). Количество генетических кластеров определяли в программе StructureSelector (Li, Liu, 2018) на основе метода Эванно (Evanno et al., 2005) и метода Пюймайля (Puechmaille, 2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования популяционно-генетического разнообразия кижуча (*Oncorhynchus kisutch*) азиатских стад по 10 микросателлитным локусам суммарно было обнаружено 387 аллелей. Самым высокополиморфным локусом оказался *OtsG83b* с 60 аллелями, меньше всего аллелей (4) было зафиксировано в локусе *AMPCX*. Среднее число аллелей на локус составило 23,83. Средняя наблюдаемая гетерозиготность в большинстве локусов варьировала от 0,923 до 0,806,

при этом в локусе *AMPCX* она оказалась значительно ниже остальных — 0,552 (табл. 3). Дефицит гетерозигот отмечен в локусах *One114* и *OtsG253b* (индивидуальный индекс фиксации F_{is} 0,102 и 0,131 соответственно). Популяционный индекс фиксации F_{it} варьирует от 0,007 для локуса *AMPCX* до 0,151 (локус *OtsG253b*). Низкий субпопуляционный индекс фиксации F_{st} для всех локусов (<0,05) отражает слабый уровень дивергенции между выборками.

Индекс информационного полиморфизма минимален в локусе *AMPCX* и максимален в локусе *OtsG83* (табл. 3). Среднее значение показателя PIC по всем локусам составило 0,899, что означает высокую дискриминирующую способность используемых микросателлитных локусов.

Исследуемые выборки кижуча характеризуются высоким количеством средних аллелей на выборку (от 22,7 до 26,9), при этом число эффективных аллелей варьирует от 13,585 до 17,545, что говорит о наличии аллелей с низкой частотой. Самое низкое значение эффективного числа аллелей наблюдается в выборке из р. Кроноцкой, а самое высокое — из р. Пымта (табл. 4).

Таблица 3. Генетические характеристики микросателлитных локусов у кижуча азиатских стад
Table 3. Genetic characteristics of microsatellite loci of coho salmon from Asian stocks

Локус / Locus	N_a	N_e	H_o	H_e	F_{is}	F_{it}	F_{st}	PIC
<i>Oki10</i>	16,900	8,969	0,870	0,882	0,013	0,053	0,041	0,912
<i>One114</i>	32,100	20,461	0,853	0,950	0,102	0,122	0,021	0,970
<i>OtsG68</i>	31,700	20,711	0,901	0,950	0,051	0,072	0,021	0,970
<i>OtsG78b</i>	25,200	15,946	0,901	0,936	0,038	0,064	0,027	0,961
<i>OtsG83b</i>	33,600	22,238	0,897	0,954	0,060	0,077	0,018	0,971
<i>OtsG253b</i>	23,900	14,094	0,806	0,926	0,130	0,151	0,024	0,947
<i>OtsG422</i>	27,200	18,086	0,923	0,944	0,022	0,039	0,017	0,959
<i>OtsG423</i>	31,300	21,766	0,899	0,952	0,056	0,073	0,018	0,969
<i>AMPCX</i>	3,100	2,223	0,552	0,547	-0,010	0,007	0,017	0,479
<i>CWDDD</i>	13,300	6,453	0,824	0,841	0,020	0,050	0,030	0,854

Примечание. N_a — среднее количество аллелей по всем выборкам; N_e — среднее количество эффективных аллелей по всем выборкам; H_o — средняя наблюдаемая гетерозиготность; H_e — средняя ожидаемая гетерозиготность; F_{is} , F_{it} и F_{st} — индексы фиксации; PIC — величина информационного полиморфизма
Note. N_a — number of alleles across all samples; N_e — number of effective alleles across all samples; H_o — observed heterozygosity; N_e — expected heterozygosity; F_{is} , F_{it} and F_{st} — fixation indices; PIC — polymorphic information content

Таблица 4. Оценка аллельного разнообразия в популяциях кижуча азиатской части ареала. Обозначения выборок приведены согласно таблице 1
Table 4. Assessment of allelic diversity in Asian coho salmon populations. Sample identification is in Table 1

Выборка / Sample	N	N_a	N_e	H_o	H_e	f
APU	42,200	23,400	14,956	0,795	0,891	0,101
KAM	44,100	25,000	14,785	0,827	0,882	0,068
AVA	37,000	22,600	15,426	0,880	0,899	0,016
PAL	40,200	22,200	13,826	0,863	0,886	0,026
PYM	46,100	26,900	17,545	0,825	0,901	0,086
KRON	45,500	22,700	13,585	0,829	0,881	0,061
TAUI	44,000	24,000	14,317	0,864	0,882	0,015
OLA	46,600	26,100	17,410	0,864	0,893	0,028
OKH	45,200	22,700	15,162	0,837	0,884	0,047
LANG	45,900	22,700	13,936	0,842	0,883	0,040

Примечание. N — среднее количество исследованных особей; N_a — среднее количество аллелей по всем выборкам; N_e — среднее количество эффективных аллелей по всем выборкам; H_o — средняя наблюдаемая гетерозиготность; H_e — средняя ожидаемая гетерозиготность; f — коэффициент инбридинга
Note. N — average number of individuals analyzed; N_a — average number of alleles across all samples; N_e — average expected heterozygosity; f — inbreeding coefficient

Средние значения наблюдаемой гетерозиготности в выборках кижуча азиатской части ареала достаточно высокие и варьируют от 0,795 до 0,88, при этом самое низкое значение наблюдается в выборке из р. Апука, а максимальное — из р. Авача. Низкое значение средней наблюдаемой гетерозиготности особей кижуча из р. Апука коррелирует с высоким значением индекса фиксации *F*, показывающим дефицит гетерозигот.

Для каждой выборки по каждому локусу были получены характеристики генетической изменчивости, представленные в таблице 5. Наибольшее количество аллелей (269) отмечено у популяции кижуча из р. Пымта, наименьшее (222) — у популяции из р. Палана. Всего выявлено 32 уникальных аллеля, при этом 8 из них — в выборке из р. Тауй, 7 — из р. Пымта, 4 — из р. Камчатки, по три уникальных аллеля

выявлено в выборках из рек Кроноцкая и Лангери, два — у кижуча из р. Ола, и один уникальный аллель выявлен у кижуча из выборки р. Авача.

Генетические расстояния Нея (табл. 6) варьируют от 0,111 (между выборками из рек Ола и Тауй) до 0,373 (между выборками из рек Камчатка и Тауй).

На основании генетических дистанций Нея был выполнен анализ главных координат, результаты которого представлены на рисунке 2. Наблюдается три популяционных кластера, сформированных в соответствии с региональной принадлежностью выборок: камчатский (APU, KAM, AVA, PAL, PYM, KRON), сахалинский (LANG) и североохотоморский (OLA, OKH, TAU). Минимальные различия, отмеченные при данном типе анализа, наблюдаются между выборками из рек Пымта и Кроноцкая.

Таблица 5. Генетическая изменчивость кижуча азиатских стад; выборки обозначены в соответствии с табл. 1 Table 5. Genetic variability of Asian coho salmon stocks; sample identification is in Table 1

Выборка Sample	Показатель Index	Микросателлитные локусы / Microsatellite loci									
		Oki10	One114	OtsG68	OtsG78b	OtsG83b	OtsG253b	OtsG422	OtsG423	AMPCX	CWDDD
APU	N^a	17	34	32	25	33	20	24	31	3	15
	N^e	7,518	19,660	22,329	15,125	24,847	12,794	17,876	20,126	2,332	6,952
	H_e	0,867	0,949	0,955	0,934	0,960	0,922	0,944	0,950	0,571	0,856
	H_p	0,818	0,867	0,857	0,909	0,911	0,459	0,861	0,800	0,600	0,864
	f	0,056	0,087	0,103	0,027	0,051	0,502	0,088	0,158	-0,051	-0,009
	HWE	0,003**	0,643	0,004**	0,232	0,284	0,000***	0,033	0,000***	0,368	0,999
KAM	N^a	16	37	37	28	37	22	27	30	3	13
	N^e	9,241	18,925	25,313	18,127	20,659	12,423	16,010	18,893	1,923	6,337
	H_e	0,892	0,947	0,960	0,945	0,952	0,920	0,938	0,947	0,480	0,842
	H_p	0,795	0,889	0,867	0,953	0,977	0,822	0,927	0,891	0,400	0,750
	f	0,108	0,062	0,098	-0,009	-0,026	0,106	0,011	0,059	0,167	0,109
	HWE	0,246	0,001***	0,181	0,413	0,266	0,883	0,010**	0,000***	0,098	0,742
AVA	N^a	19	31	32	25	31	21	28	22	3	14
	N^e	14,880	25,333	17,827	17,293	24,269	10,787	19,282	15,876	2,642	6,071
	H_e	0,933	0,961	0,944	0,942	0,959	0,907	0,948	0,937	0,622	0,835
	H_p	0,973	0,921	0,842	0,974	0,921	0,821	0,946	0,875	0,694	0,838
	f	-0,043	0,041	0,108	-0,033	0,039	0,096	0,002	0,066	-0,117	-0,003
	HWE	0,427	0,449	0,006**	0,443	0,406	0,002**	0,782	0,001**	0,797	0,909
PAL	N^a	17	25	29	24	29	23	28	30	3	14
	N^e	9,066	15,044	19,820	14,733	18,575	14,246	18,436	19,989	2,215	6,133
	H_e	0,890	0,934	0,950	0,932	0,946	0,930	0,946	0,950	0,548	0,837
	H_p	0,935	0,838	0,929	0,953	0,878	0,927	0,897	0,953	0,548	0,767
	f	-0,051	0,103	0,022	-0,023	0,072	0,003	0,051	-0,004	0,002	0,083
	HWE	0,584	0,433	0,010**	0,203	0,289	0,003**	0,958	0,002**	0,919	0,606
PYM	N^a	19	39	38	28	39	23	34	30	4	15
	N^e	9,825	25,391	29,538	18,213	25,329	12,126	22,048	22,222	2,346	8,415
	H_e	0,898	0,961	0,966	0,945	0,961	0,918	0,955	0,955	0,574	0,881
	H_p	0,958	0,787	0,917	0,938	0,698	0,711	0,979	0,925	0,489	0,851
	f	-0,067	0,180	0,051	0,008	0,274	0,225	-0,026	0,031	0,147	0,034
	HWE	0,007**	0,009**	0,649	0,126	0,000***	0,001**	0,908	0,077	0,018*	0,494
KRON	N^a	18	29	30	23	32	22	27	27	3	16
	N^e	10,322	19,043	15,940	12,205	18,726	11,299	20,352	19,360	2,004	6,602
	H_e	0,903	0,947	0,937	0,918	0,947	0,911	0,951	0,948	0,501	0,849
	H_p	0,915	0,766	0,977	0,884	0,804	0,787	0,978	0,886	0,447	0,848
	f	-0,013	0,192	-0,042	0,037	0,150	0,136	-0,028	0,065	0,108	0,001
	HWE	0,022*	0,020*	0,997	0,024*	0,097	0,686	0,806	0,843	0,566	0,919
TAUI	N^a	14	31	29	24	36	28	25	40	3	10
	N^e	5,842	15,804	17,779	15,610	20,817	15,871	17,362	26,286	2,274	5,525
	H_e	0,829	0,937	0,944	0,936	0,952	0,937	0,942	0,962	0,560	0,819
	H_p	0,837	0,886	0,930	0,825	1,000	0,814	0,860	0,978	0,609	0,896
	f	-0,010	0,054	0,014	0,119	-0,050	0,131	0,087	-0,017	-0,086	-0,094
	HWE	0,000***	0,625	0,005**	0,022*	0,543	0,044*	0,003**	0,410	0,722	0,435

Таблица 5. Окончание. Начало на с. 27 / Table 5. Ending. Start on page 27

Выборка Sample	Показатель Index	Микросателлитные локусы / Microsatellite loci									
		Oki10	One114	OtsG68	OtsG78b	OtsG83b	OtsG253b	OtsG422	OtsG423	AMPCX	CWDDD
OLA	N_a	19	33	33	27	36	31	31	37	3	11
	N_e	8,862	23,631	22,588	16,667	24,545	22,511	19,236	28,688	2,281	5,092
	H_e	0,887	0,958	0,956	0,940	0,959	0,956	0,948	0,965	0,562	0,804
	H_o	0,911	0,833	0,938	0,889	0,933	0,978	0,891	0,915	0,604	0,750
	f	-0,027	0,130	0,019	0,054	0,027	-0,024	0,060	0,052	-0,076	0,067
	HWE	0,853	0,004**	0,160	0,880	0,044*	0,893	0,993	0,136	0,355	0,920
OKH	N_a	15	31	27	23	32	26	22	36	3	12
	N_e	6,826	21,429	16,875	17,526	23,381	14,926	15,156	28,125	2,224	5,155
	H_e	0,853	0,953	0,941	0,943	0,957	0,933	0,934	0,964	0,550	0,806
	H_o	0,804	0,933	0,800	0,791	0,957	0,830	0,953	0,933	0,587	0,783
	f	0,058	0,021	0,150	0,161	0,001	0,111	-0,021	0,032	-0,067	0,029
	HWE	0,000***	0,185	0,402	0,003**	0,093	0,028*	0,511	0,197	0,562	0,734
LANG	N_a	15	31	30	25	31	23	26	30	3	13
	N_e	7,310	20,346	19,104	13,964	21,235	13,955	15,108	18,092	1,992	8,250
	H_e	0,863	0,951	0,948	0,928	0,953	0,928	0,934	0,945	0,498	0,879
	H_o	0,756	0,804	0,956	0,896	0,896	0,907	0,938	0,833	0,542	0,891
	f	0,125	0,154	-0,008	0,035	0,060	0,023	-0,004	0,118	-0,088	-0,014
	HWE	0,000***	0,047	0,051	0,270	0,261	0,401	0,971	0,001***	0,550	0,348

Примечание. N_a – количество аллелей; N_e – количество эффективных аллелей; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; f – коэффициент инбридинга; HWE – соответствие равновесию Харди-Вайнберга (*P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001).
 Note. N_a – number of alleles; N_e – number of effective alleles; H_o – observed heterozygosity; H_e – expected heterozygosity; f – inbreeding coefficient; HWE – Hardy-Weinberg equilibrium fit (*P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001).

Таблица 6. Генетические дистанции Нея при сравнении выборок кижуча азиатских популяций
 Table 6. Nei's genetic distances when comparing samples of coho salmon from Asian populations

	APU	KAM	AVA	PAL	PYM	KRON	TAUI	OLA	OKH	LANG
APU	0,000									
KAM	0,194	0,000								
AVA	0,240	0,185	0,000							
PAL	0,236	0,142	0,159	0,000						
PYM	0,176	0,120	0,145	0,125	0,000					
KRON	0,212	0,157	0,196	0,155	0,142	0,000				
TAUI	0,338	0,373	0,369	0,312	0,303	0,357	0,000			
OLA	0,262	0,267	0,284	0,226	0,242	0,230	0,111	0,000		
OKH	0,284	0,323	0,305	0,272	0,284	0,287	0,178	0,121	0,000	
LANG	0,325	0,248	0,304	0,257	0,261	0,284	0,312	0,241	0,281	0,000

Примечание. Выборки обозначены в соответствии с табл. 1 / Note. Sample identification is in Table 1.

Principal Coordinates

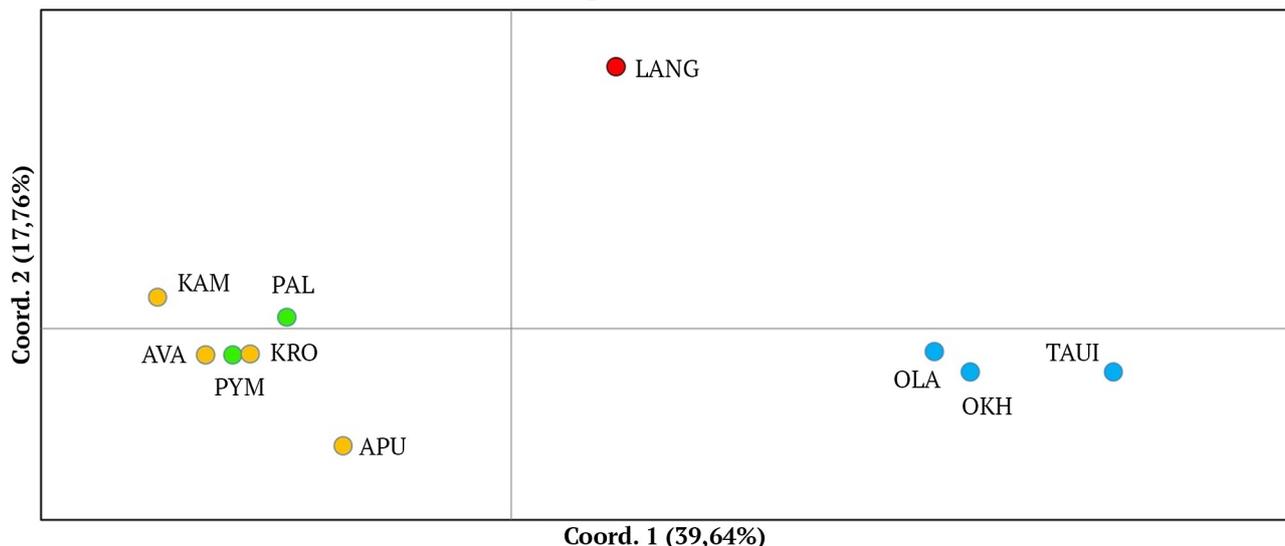


Рис. 2. Расположение выборок кижуча азиатских стад в двумерном пространстве, образованном первой и второй главными координатами в результате многомерного шкалирования матрицы генетических дистанций Нея. Обозначения выборок приведены в табл. 1. Цвет маркера обозначает регион сбора материала: желтый – Восточная Камчатка, зеленый – Западная Камчатка, синий – северное побережье Охотского моря, красный – о. Сахалин
 Fig. 2. Location of coho salmon samples from Asian stocks in the two-dimensional space formed by the first and second principal coordinates as a result of multidimensional scaling of Ney's matrix of genetic distances. Sample identification is in Table 1. Marker color indicates sampling region: yellow – East Kamchatka, green – West Kamchatka, blue – northern coast of the Sea of Okhotsk, red – Sakhalin Island

При оценке генетической структуры кижуча на азиатской части ареала с помощью байесовского анализа в программном обеспечении Structure мы рассмотрели варианты, предполагающие присутствие внутри проанализированной совокупности образцов различного количества генетически отличающихся групп — от 1 до 10. При увеличении K вплоть до 5 наблюдался рост числа популяционных кластеров (рис. 3), в то время как при дальнейшем увеличении числа K рост количества кластеров не наблюдался.

С целью определения наиболее вероятного количества кластеров мы применили два подхода: согласно методу Эванно (Evanno et al., 2005), K оказался равным 2 (рис. 4, А), тогда как метод Пюхмайля (Puechmaile, 2016) свидетельствует в пользу существования четырех кластеров (рис. 4, Б). Мы считаем, что второй подход более реалистично отражает существующую картину, поскольку он предполагает кластеризацию выборок по региональному принципу, что коррелирует с результатами анализа

главных координат (рис. 3). Помимо этого, байесовский анализ позволяет предположить дополнительное разделение всей совокупности камчатских выборок на две группы: выборка из р. Апука, расположенной на материке к северо-востоку от п-ова Камчатка, отличается от выборок из рек полуострова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленной работе впервые изучена популяционно-генетическая структура кижуча в пределах азиатской части ареала с применением ядерных генетических маркеров. Наше исследование охватывает практически все основные регионы воспроизводства вида в Дальневосточном рыбохозяйственном бассейне.

Информативность 10 высокополиморфных микросателлитных локусов оказалась достаточной для уверенной дифференциации популяций кижуча по региональному принципу и выделения в пределах исследуемой совокупности трех основных генетических кластеров: сахалинского, североохотоморского и камчат-

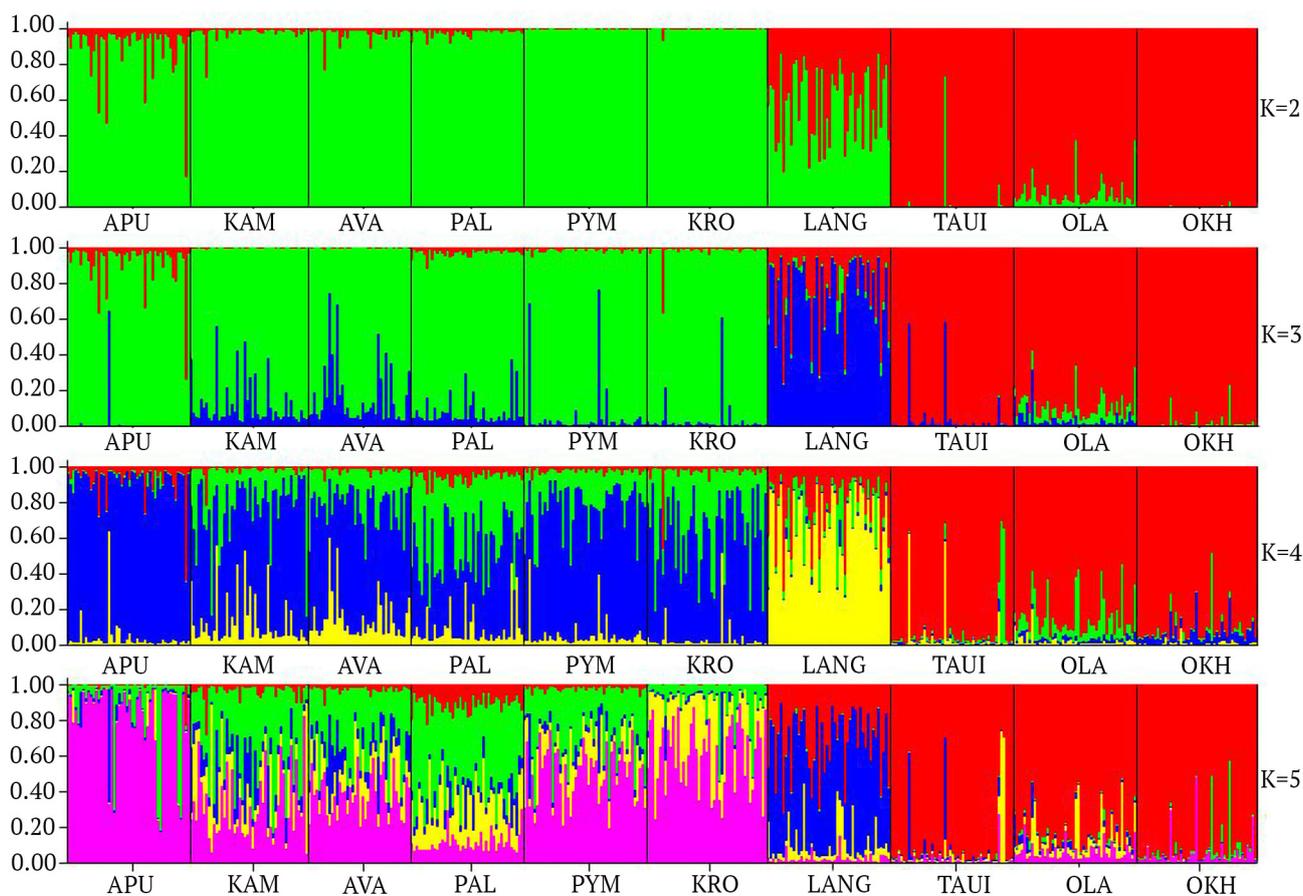
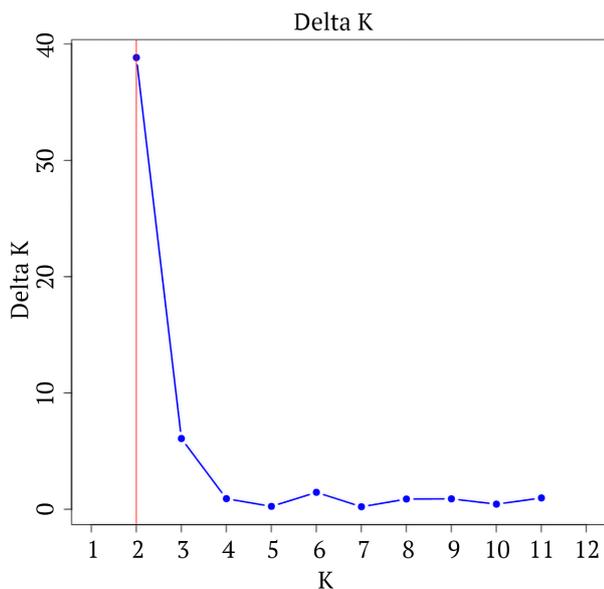
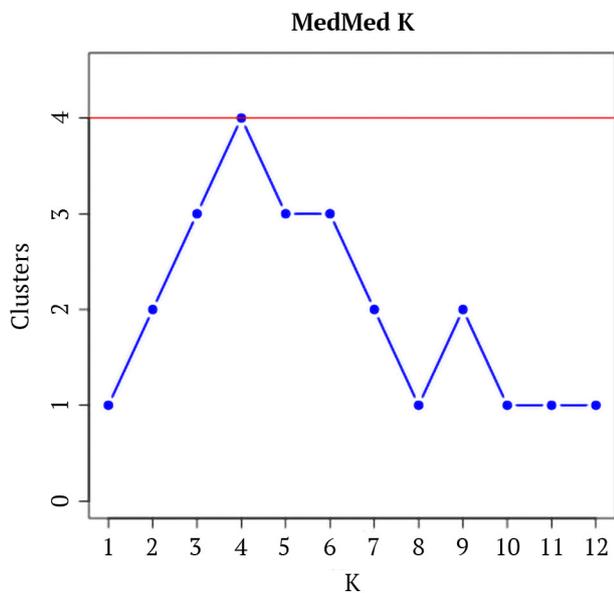


Рис. 3. Вероятность индивидуальной принадлежности особей кижуча к каждому из предполагаемых генетических кластеров, рассчитанная в программе Structure. Количество кластеров (K) указано справа от диаграмм. Обозначения выборок под диаграммами приведены в таблице 1
 Fig. 3. Probability of individual belonging of coho salmon individuals to each of the assumed genetic clusters, calculated in the Structure program. The number of clusters (K) is indicated to the right of the diagrams. Sample designations under the diagrams are in Table 1.

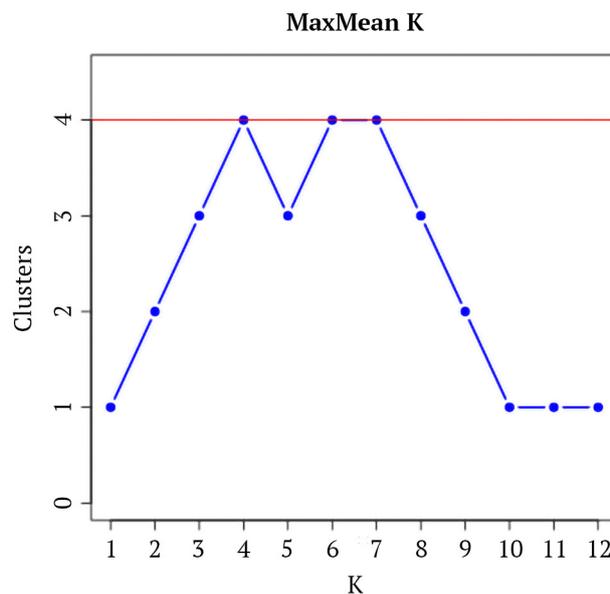
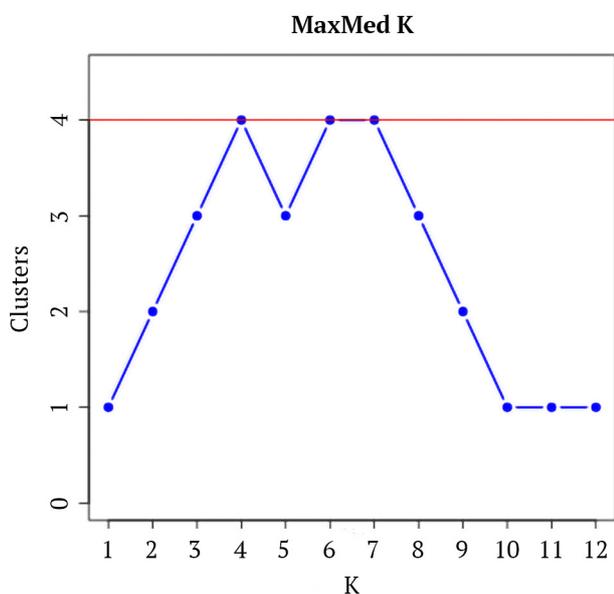
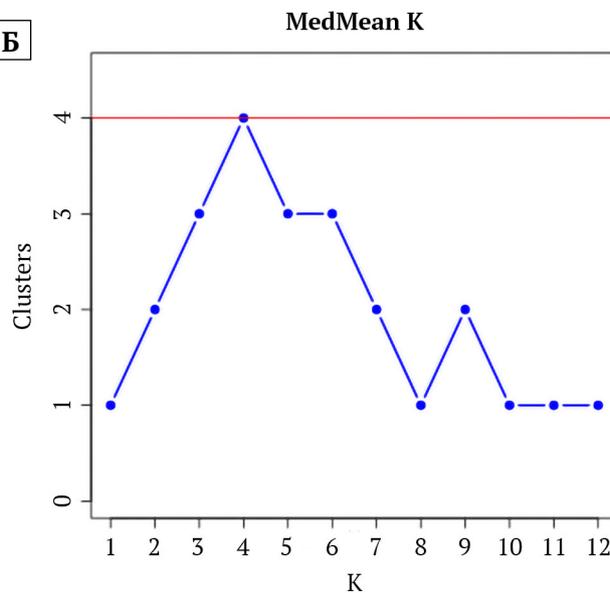


А

Рис. 4. Оценки количества генетически различающихся групп кижуча на азиатской части ареала на основании ΔK : А – по (Evanno et al., 2005); Б – по (Puechmaille, 2016)
 Fig. 4. Estimates of the number of genetically distinct groups of coho salmon in the Asian part of the species range based on ΔK : А – based on (Evanno et al., 2005); Б – based on (Puechmaille, 2016)



Б



ского. Внутри последнего было отмечено дополнительное разделение на две группировки: собственно п-ова Камчатка и р. Апука, расположенной на материковом побережье Берингова моря. Результаты, полученные путем применения двух статистических подходов (байесовского кластерного анализа и метода многомерного шкалирования), хорошо коррелировали между собой.

Как было показано ранее на основании митохондриальных данных (Зеленина и др., 2020), внутривидовой полиморфизм азиатского кижуча существенно ниже наблюдаемого на американской части ареала. Наиболее вероятное объяснение этому заключается в том, что современные дальневосточные стада кижуча образовались в результате последовательного распространения этого вида из района современной Калифорнии вдоль побережья американского континента на север, а затем через Берингию на запад и далее в различные регионы Дальнего Востока. Очевидно, что каждый этап расселения сопровождался некоторой потерей генетического разнообразия, что и было выявлено при анализе маркеров мтДНК. В то же время уровень полиморфизма ядерных микросателлитных локусов во всех исследованных в данной работе популяциях кижуча оказался весьма высоким, и средняя ожидаемая гетерозиготность (основная мера генетического полиморфизма популяции) варьировала незначительно.

Генетические характеристики популяций кижуча найдут свое применение для идентификации смешанных нагульных и преднерестовых скоплений и при изучении путей миграций в морской период жизни. Полученные знания будут использованы для рациональной эксплуатации вида с учетом сохранения природного биоразнообразия.

Хотелось бы дополнительно отметить, что, являясь ценным промысловым видом, кижуч наряду с этим занимает одно из первых мест в мировой лососевой аквакультуре как по объемам воспроизводства, так и по географическому диапазону, и генетические исследования азиатского кижуча могут стать важным этапом, предвещающим интенсивное развитие аквакультуры кижуча в Дальневосточном регионе.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ / COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

Авторы заявляют, что данный обзор не содержит собственных экспериментальных

данных, полученных с использованием животных или с участием людей. Библиографические ссылки на все использованные в обзоре данные оформлены в соответствии с ГОСТом. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

The authors declare that this review does not contain their own experimental data obtained using animals or involving humans. Bibliographic references to all data used in the review are formatted in accordance with the state standards (GOST). The authors declare that they have no conflict of interest.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ AUTHOR CONTRIBUTION

Авторы в равной мере участвовали в сборе и обработке данных, обсуждении полученных результатов и написании статьи.

The authors jointly collected, processed and analyzed the data, discussed the results and wrote the text of article, with equal contribution.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Зеленина Д.А., Сошникова В.А., Сергеев А.А. 2020. Филогеография и митохондриальный полиморфизм кижуча азиатских стад // Молекулярная биология. Т. 54. С. 997–1005.
- Зорбиди Ж.Х. 2010. Кижуч азиатских стад. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 206 с.
- Пустовойт С.П. 1995. Особенности генетической структуры кижуча *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum) // Генетика. Т. 31. С. 709–714.
- Beacham T.D., Miller K.M., Withler R.E. 1996. Minisatellite DNA variation and stock identification of coho salmon // J. Fish Biol. Vol. 49. P. 411–429.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study // Mol. Ecol. Vol. 14. P. 2611–2620.
- Ivanova N.V., deWaard J., Hebert P.D.N. 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA // Mol. Ecol. Notes. Vol. 6. P. 998–1002.
- Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment // Mol. Ecol. Vol. 16. P. 1099–1106.
- Li Y.L., Liu J.X. 2018. StructureSelector: a web based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods // Mol. Ecol. Res. Vol. 18. P. 176–177.

- Nakamura Y., Shigenobu Y., Sugaya T., Kurokawa T., Saitoh K. 2013. Automated screening and primer design of fish microsatellite DNA loci on pyrosequencing data // *Ichthyological research*. Vol. 60. P. 184–187.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. N.Y.: Columbia Univ. press. 512 p.
- Olsen J.B., Wilson S.L., Kretschmer E.J., Jones K.C., Seeb J.E. 2000. Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon // *Mol. Ecol.* Vol. 9 (12). P. 2185–2187.
- Peakall R., Smouse P.E. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // *Mol. Ecol. Notes*. Vol. 6. P. 299–295.
- Pritchard J., Stephens K., Donnelly P. 2000. Inference of population structure from multilocus genotype data // *Genetics*. Vol. 155. P. 945–959.
- Puechmaille S.J. 2016. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem // *Mol. Ecol. Res.* Vol. 16. P. 608–627.
- Rougemont Q., Moore J.S., Leroy T., Normandeau E., Rondeau E.B., Withler R.E., Withler R.E., Van Doornik D.M., Crane P., Naish K.A., Garza J.C., Beacham T.D., Koop B.F., Bernatchez L. 2020. Demographic history shaped geographical patterns of deleterious mutation load in a broadly distributed Pacific Salmon // *PLoS genetics*. Vol. 16 (8). <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1008348>
- 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. 1614–1616.
- Smith C.T., Nelson R.J., Wood C.C., Koop B.F. 2001. Glacial biogeography of North American coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // *Mol. Ecol.* Vol. 10. P. 2775–2785.
- 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 (1). P. 17–19.
- REFERENCES
- Zelenina D.A., Soshnina V.A., Sergeev A.A. Phylogeography and Mitochondrial Polymorphism of Asian Coho Salmon. *Molecular biology*, 2020, vol. 54, № 6, pp. 997–1005.
- Zorbidi Z.K. *Kizhuch aziatskih stad* [Asian coho salmon stocks]. Petropavlovsk-Kamchatsky: KamchatNIRO, 2010, 206 p.
- Pustovoit S.P. Peculiarities of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum) genetic structure. *Genetics*, 1995, vol. 31, № 5, pp. 709–714. (In Russian)
- Beacham T.D., Miller K.M., Withler R.E. Minisatellite DNA variation and stock identification of coho salmon. *J. Fish Biol.*, 1996, vol. 49, pp. 411–429.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 2005, vol. 14, pp. 2611–2620.
- Ivanova N.V., deWaard J., Hebert P.D.N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Mol. Ecol. Notes*, 2006, vol. 6, pp. 998–1002.
- Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecol.*, 2007, vol. 16, pp. 1099–1106.
- Li Y.L., Liu J.X. StructureSelector: a web based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Mol. Ecol. Res.*, 2018, vol. 18, pp. 176–177.
- Nakamura Y., Shigenobu Y., Sugaya T., Kurokawa T., Saitoh K. Automated screening and primer design of fish microsatellite DNA loci on pyrosequencing data. *Ichthyological research*, 2013, vol. 60, pp. 184–187.
- Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. N.Y.: Columbia Univ. press, 1987, 512 p.
- Olsen J.B., Wilson S.L., Kretschmer E.J., Jones K.C., Seeb J.E. Characterization of 14 tetranucleotide microsatellite loci derived from sockeye salmon. *Mol. Ecol.*, 2000, vol. 9 (12), pp. 2185–2187.
- Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 2006, vol. 6, pp. 299–295.
- Pritchard J., Stephens K., Donnelly P. Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, vol. 155, pp. 945–959.
- Puechmaille S.J. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Mol. Ecol. Res.*, 2016, vol. 16, pp. 608–627.
- Rougemont Q., Moore J.S., Leroy T., Normandeau E., Rondeau E.B., Withler R.E., Withler R.E., Van Doornik D.M., Crane P., Naish K.A., Garza J.C., Beacham T.D., Koop B.F., Bernatchez L. Demographic history shaped geographical patterns of deleterious mutation load in a broadly distributed Pacific Salmon. *PLoS genetics*, 2020, vol. 16 (8), <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1008348>

Smith C.T., Koop B.F., Nelson R.J. Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids. *Mol. Ecol.*, 1998, vol. 7, pp. 1614–1616.

Smith C.T., Nelson R.J., Wood C.C., Koop B.F. Glacial biogeography of North American coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Mol. Ecol.*, 2001, vol. 10, pp. 2775–2785.

Williamson K.S., Cordes J.F., May B. Characterization of microsatellite loci in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and cross-species amplification in other salmonids. *Mol. Ecol. Notes*, 2002, vol. 2 (1), pp. 17–19.

Информация об авторах

В.А. Сошникова — гл. специалист отдела молекулярной генетики ВНИРО

Д.А. Зеленина — канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник отдела молекулярной генетики ВНИРО

Information about the authors

Valeria A. Soshnina – Principal Specialist of the Molecular Genetics Department (VNIRO)

Darya A. Zelenina – Ph. D. (Biology), Leading Scientist of the Molecular Genetics Department (VNIRO)

Статья поступила в редакцию: 10.12.2023

Одобрена после рецензирования: 13.12.2023

Статья принята к публикации: 17.12.2023