

УДК 575.17:597.553.2

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГОРБУШИ *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) ИЗ НЕКОТОРЫХ РЕК СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ

© 2021 г. Л. Т. Бачевская*, @, В. В. Переверзева*, А. А. Примак*, Г. А. Агапова*

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, ул. Портовая, 18, Магадан, 685000 Россия

@E-mail: gekki54@mail.ru

Поступила в редакцию 30.07.2019 г.

После доработки 08.06.2020 г.

Принята к публикации 21.06.2020 г.

Получены данные об изменчивости нуклеотидной последовательности гена цитохрома *b* мтДНК горбуши из смежных поколений. Между выборками из рек разных регионов в четной линии лет отмечен более высокий уровень дивергенции, чем в смежном поколении. В то же время некоторые географически близкие популяции статистически значимо отличаются генетическими параметрами. Рассчитанная доля межгрупповой генетической дисперсии свидетельствует о том, что дивергенция смежных поколений горбуши произошла в относительно недавнем историческом прошлом. Анализ генетической изменчивости горбуши показал, что уровень дифференциации североохотоморских популяций, относящихся к разным промысловым районам, ниже наблюдаемого между локальностями внутри каждого из них. В первичной структуре белка *Cytb* горбуши отмечены аминокислотные замены, свидетельствующие о влиянии положительного вектора стабилизирующего отбора.

DOI: 10.31857/S1026347021040032

Горбуша *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) наиболее массовый по численности вид рода тихоокеанских лососей. Она имеет один из самых обширных ареалов среди представителей этого рода. Для внутривидовой структуры горбуши, как и для всех видов рода тихоокеанских лососей, отмечен иерархический характер, который поддерживается у этого вида жестким двухлетним циклом репродуктивно изолированных поколений линии четных и нечетных лет нереста, различающихся некоторыми биологическими, генетическими, фенетическими и экологическими особенностями.

Изучение внутривидовой организации горбуши проводится несколько десятилетий. Несмотря на длительный период изыскательских работ до настоящего времени нет единого мнения по вопросу внутривидовой структуры горбуши. Некоторые ученые считают, что горбуша дифференцирована на ряд изолированных друг от друга группировок, приуроченных к районам нереста (Алтухов и др., 1983, 1997; Алтухов, 1989, 2003; Veacham *et al.*, 1985; Омельченко, Вялова, 1990; Гордеева, 2012, 2014). Другие склоняются к тому, что она имеет слабую межпопуляционную дифференциацию в результате периодически возникающих крупномасштабных межрегиональных миграций (Глубоковский, Животовский, 1986; Глубоковский, 1995; Животовский, 2013). Третьи полагают, что стада горбуши регулярно обмениваются большим количеством мигрантов (Aspinwall, 1974). Обосно-

ванный выбор между моделями локальных и флуктуирующих стад может быть сделан только на основе сбора многолетних данных из каждой линии горбуши четных и нечетных лет (Животовский, 2013). Проводимые исследования позволили накопить к настоящему времени большой массив данных по внутривидовой структуре горбуши из различных частей ареала и, хотя дискуссия по-прежнему продолжается, большинство исследователей едины в том, что для этого вида характерны линии четных и нечетных лет, каждая из которых является самовоспроизводящейся единицей. Основная доля межпопуляционной генетической изменчивости вида связана с различием двух репродуктивно изолированных поколений (Aspinwall, 1974; Глубоковский, Животовский, 1986; Глубоковский, 1995, Алтухов и др., 1997; Калабушкин и др., 1998; Гордеева и др., 2006; Салменкова и др., 2006; Пустовойт, 2011; Гордеева, 2012, 2014).

На современном этапе все чаще применяются молекулярно-генетические методы, которые позволяют расширить представления о генетической структуре горбуши и более точно оценить уровень внутривидовой дифференциации. Среди них большую ценность приобретает изучение строения митохондриальной ДНК и микросателлитных локусов ядерной ДНК (Полякова и др., 1992, 1996; Брыков и др., 1999; Гордеева и др., 2006; Салменкова и др., 2006; Шпигальская и др., 2009; Гордеева, 2012, 2014, 2018; Veacham *et al.* 2012; Бачевская, Пе-

реверзева, 2013; Гордеева, Салменкова, 2017). Проводимые исследования не всегда дают однозначные результаты. Анализ рестрикционного полиморфизма фрагментов митохондриальной ДНК горбуши о. Сахалин, Курильских о-вов и Камчатки показали значительные различия в перекрывающихся поколениях как по уровню изменчивости мтДНК, так и по величине внутривидовой структурированности (Брыков и др., 1999). В то же время исследования разнообразия горбуши по микросателлитным локусам ядерной ДНК позволили выявить относительно невысокий уровень генетической дифференциации репродуктивно изолированных линий четных и нечетных лет данного вида (Салменкова и др., 2006; Гордеева, 2012; Veacham *et al.*, 2012). Исследования популяционной структуры горбуши с применением главного комплекса гистосовместимости показали значительный полиморфизм по локусу MHC I-A1. С помощью этого молекулярно-генетического маркера обнаружена отчетливая пространственная дифференциация популяций вида (Гордеева, 2012; Гордеева, Салменкова, 2017). Отмечена перспективность указанного маркера для определения более полной картины адаптивной генетической структуры и эффективного разделения стад горбуши в смешанных уловах (Гордеева, 2012, 2018; Гордеева, Салменкова, 2017). При этом отмечено, что пространственная генетическая дифференциация дальневосточных и североохотоморских популяций линии нечетных лет проявляется слабее, чем в четные годы (Бачевская, Переверзева, 2013; Гордеева, 2014). Многие исследователи полагают, что неодинаковая степень дивергенции популяций внутри каждой из линий могут быть связаны с разным историческим возрастом происхождения смежных поколений, которые независимо эволюционируют уже длительное время (Churikov, Gharrett, 2002; Hawkins *et al.*, 2002; Бачевская, Переверзева, 2013; Гордеева, 2014).

Несмотря на накопленную базу данных, в прогнозах подходов горбуши случаются сбои. На основании этого был сделан вывод о недостаточности данных по популяционной организации горбуши и необходимости тестирования различных моделей ее популяционной структуры, для чего следует привлечь большой набор ДНК маркеров, создать банк множественных выборок по основным районам воспроизводства вида (Животовский, 2013). В последнее время для определения генетического разнообразия тихоокеанских лососей применяется скрининг нуклеотидных последовательностей генома, дающий более полную информацию о его строении. Подобный подход в исследовании митохондриальной ДНК (мтДНК) у горбуши представляется весьма перспективным, особенно если учесть, что целый ряд популяций, заходящих на нерест в реки материкового побережья Охотского моря, Камчатки и Чукотки,

в этом плане мало изучены. Цель данного исследования – определение полиморфизма гена цитохрома *b* мтДНК (*cytb* мтДНК) горбуши из смежных поколений и сравнительный анализ генетического разнообразия исследованных популяций вида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для молекулярно-генетических исследований был собран материал (мышечная ткань) от производителей репродуктивно изолированных генераций горбуши четной и нечетной линии лет (2008–2011 гг.). Район сбора материала представлен на рис. 1. Исследованы популяции вида из девяти рек. Даты сбора материала и количество изученных образцов отражены в табл. 1. Выделение и очистку тотальной ДНК проводили модифицированным методом Флеминга–Кука (*Fleming–Cook*, 2002). Амплификацию нуклеотидной последовательности гена *cytb* мтДНК горбуши проводили с использованием праймеров L 15436 (5'-CCT GCT CGG ACT TTA ACC GAA ACT-3') и H15149ad (5'-CICCTCARAATGAYA TTTGTCCT-3') (Russell *et al.*, 2000). Амплифицированный участок мтДНК был очищен и подготовлен к секвенированию по стандартной методике с применением набора реагентов Diatom™ DNA Clean-Up (“Лаборатория Изоген”, Москва). Определение нуклеотидных последовательностей амплифицированного участка мтДНК было проведено по стандартной методике с применением наборов для циклического секвенирования ДНК BigDye Terminator (Applied Biosystems, США) и генетического анализатора ABI-Prism 3500xL (Applied Biosystems). Полученные нуклеотидные последовательности гена *cytb* мтДНК горбуши депонированы в GenBank (JF313905, JF313906, JF313909, JF313911, JF313912, JF313914–JF313917, JF313920, JF313922, JN227671–JN227679, JX185434–JX185440). 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). Полученные данные анализировали с использованием раздела AMOVA (Analysis of Molecular Variance) в пакете программ ARLEQUIN (Excoffier *et al.*, 2005). Подход, применяемый в этом разделе, аналогичен подходу, основанному на анализе дисперсии частот генов, но учитывает количество мутаций между гаплотипами. Иерархический анализ дисперсии делит общую дисперсию на ковариационные компоненты на основе внутривидовых, межвидовых различий, а также различий в группе и/или между группами (Excoffier *et al.*, 2005). Соответствие характера нуклеотидных замен гипотезе нейтральности (для использованного маркера) в выборках горбуши определяли с помощью тестов *D* Таджимы и *F_s* Фу (Tajima, 1989; Fu, Li, 1993; Fu, 1997). Для

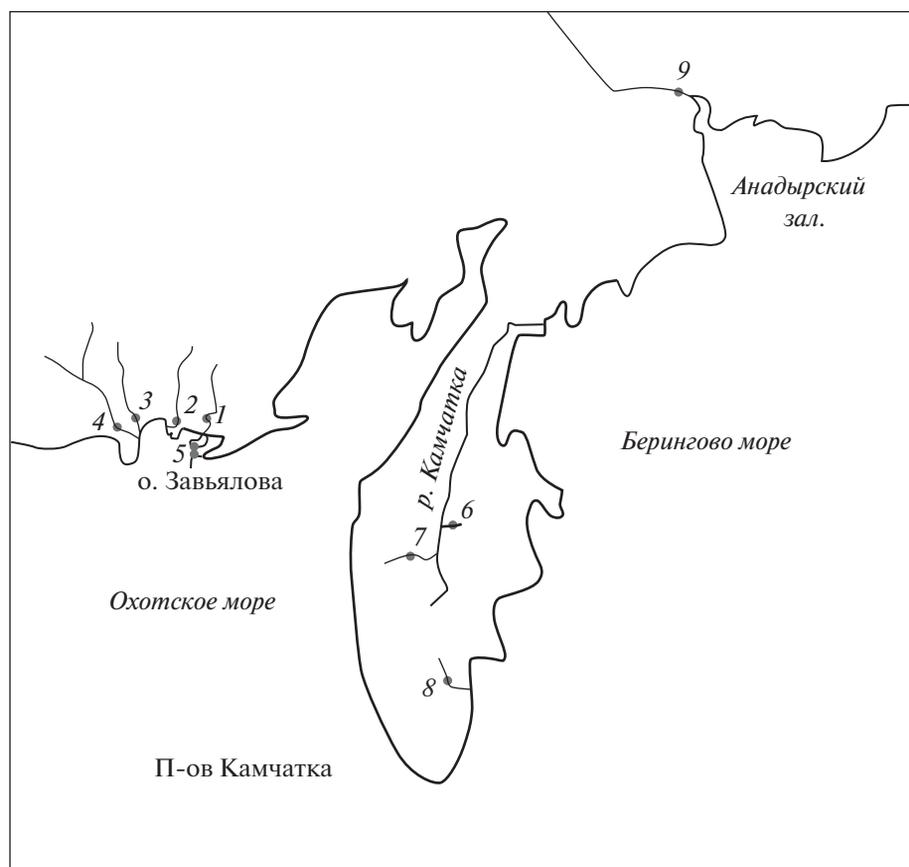


Рис. 1. Карта-схема района сбора материала. 1 – р. Ола, 2 – р. Армань, 3 – р. Яна, 4 – р. Тай, 5 – руч. Рассвет, 6 – р. Большая Клюквенная, 7 – р. Кирганик, 8 – р. Асача, 9 – р. Анадырь.

построения медианных сетей применяли алгоритм MJ (Median-Joining) программы Network 4.5.1.0 (Bandelt *et al.*, 1999). Оценку значимости аминокислотных замен и типа отбора проводили с применением χ -теста модели MM01 в программе TreeSAAP 3.2 (Woolley *et al.*, 2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получены нуклеотидные последовательности участка гена *cytb* мтДНК горбуши, заходящей на нерест в девять рек северо-востока России. Всего исследовано тринадцать выборок. Идентифицированный фрагмент гена *cytb* содержит 425 пар нуклеотидов (пн) и соответствует положению 15504–15928 пн полного генома мтДНК горбуши. Обнаруженные нуклеотидные замены в гаплотипах анализируемого фрагмента *cytb* мтДНК вида из исследованных локальностей представлены на рис. 2. Позиции варибельных нуклеотидов приведены в сравнении с нуклеотидной последовательностью гаплотипа горбуши (GenBank, JF313905) (Бачевская, Переверзева, 2013). Известно, что у разных видов величина соотношения транзиции/трансверсии может достигать высоких зна-

чений и, как правило, первые происходят значительно чаще последних (Nei, 1987). В процессе анализа нуклеотидных последовательностей гена *cytb* мтДНК горбуши было показано, что трансверсии встречаются в несколько раз реже, чем транзиции (рис. 2). В исследованных локальностях отмечено 7.7% варибельных позиций от длины исследованного фрагмента и 2.9% от общей длины гена *cytb* мтДНК. Позиции нуклеотидных замен и их доля в указанном фрагменте гена приведены в (табл.2). Было обнаружено, что у горбуши, как и у других видов тихоокеанских лососей (кеты, кижуча, нерки), число замен в третьем положении кодона гена *cytb* в несколько раз превышает их количество в первом положении (Бачевская и др., 2011, 2015, 2017). Известно, что третий нуклеотид большинства кодонов в транслируемых участках гена наиболее вариабелен из-за вырожденности кода (Zardoya, Meyer, 1996). В нуклеотидном составе фрагмента гена *cytb* мтДНК горбуши зафиксировано значительное смещение в сторону пиримидинов относительно пуринов (58, 21:41, 79). Однако проведенные расчеты с применением критерия хи-квадрат показали, что наблюдаемое отклонение от ожидаемого не имеет

Таблица 1. Частота распределения гаплотипов гена *сyfb* мтДНК в исследованных выборках горбуши

Локальность (река)	Анадырь		Асача		Клюквенная		Кирганик		Армань		Ола			Яна		Рассвет		Тауй	
	2011	2010	2010	2010	2010	2010	2010	2010	2011	2010	2008	2009	2010	2009	2010	2009	2009	2010	2010
Дата	2011	2010	2010	2010	2010	2010	2010	2010	2011	2010	2008	2009	2010	2009	2010	2009	2009	2010	2010
Объем выборки (шт.)	15	15	25	11	50	46	52	52	50	46	52	52	52	52	53	42	42	42	42
Гаплотип	Частота гаплотипов																		
G1	0.800	1	1	0.909	0.320	0.478	0.365	0.462	0.269	0.358	0.227	0.595							
G2	0	0	0	0	0.580	0.435	0.615	0.364	0.636	0.395	0.635	0.333							
G5	0	0	0	0	0	0	0	0.039		0.076	0	0							
G7	0	0	0	0	0	0.087	0	0.058	0.019	0.076	0	0.024							
G8	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0.019	0	0							
G10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.046	0							
G11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.046	0							
G12	0	0	0	0	0	0	0	0.039	0	0	0	0							
G13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0							
G16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.046	0							
G17	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0	0	0							
G18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0							
G22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.024							
G23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.024							
G24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0							
G25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0							
G26	0	0	0	0	0.020	0	0	0	0.019	0	0	0							
G27	0	0	0	0	0.040	0	0	0	0.019	0	0	0							
G28	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0	0							
G29	0	0	0	0	0	0	0	0	0.019	0	0	0							
G30	0	0	0	0	0	0	0.020	0	0	0	0	0							
G31	0.200	0	0	0.091	0	0	0	0	0	0	0	0							
G32	0	0	0	0	0.020	0	0	0	0	0	0	0							
G33	0	0	0	0	0.020	0	0	0	0	0	0	0							

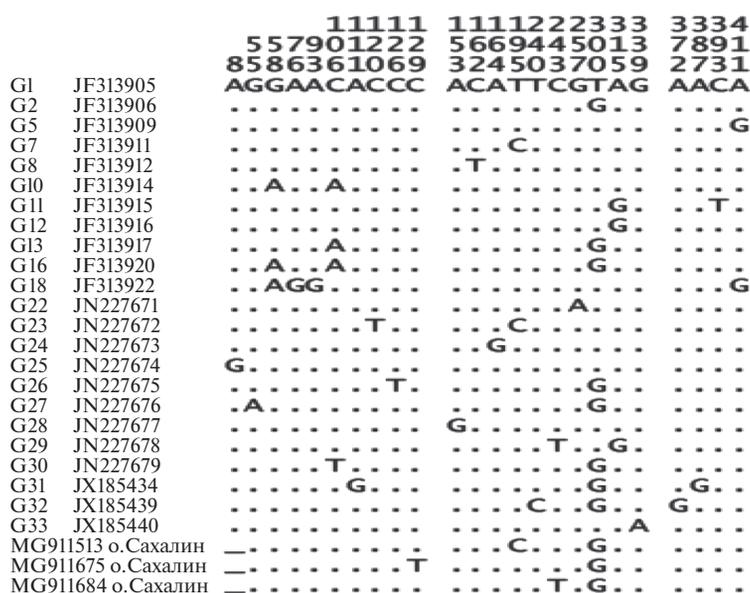


Рис. 2. Нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* мтДНК горбуши из рек Северо-Востока России и варианты, депонированные в GenBank. Сайты замен показаны от начала гена *cytb* мтДНК.

статистически значимых величин. Тем не менее, полученные результаты не противоречат ранее высказанной гипотезе о необходимости поддержания гидрофобности соответствующих полипептидов (Naylor *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2004; Kartavtsev *et al.*, 2007).

Рассматриваемые выборки горбуши из исследованных локальностей были представлены 24 гаплотипами. Частота их распределения приведена в табл. 1. В выборках производителей из репродуктивно изолированных линий обнаружено 4 общих гаплотипа. В каждой из смежных генераций горбуши отмечено по 10 вариантов гена *cytb* мтДНК, которые наблюдались только в линии четных или нечетных лет (табл. 1). Ранее было показано, что в популяциях вида, заходящих на нерест в реки материкового побережья Охотского моря, наиболее распространены гаплотипы G1 и G2. При этом подчеркивалось, что гаплотип G1 чаще встречался в генерациях четной линии лет, а вариант G2 более распространен в поколениях линии нечетных лет (Бачевская, Переверзева, 2013). Проведенные исследования показали, что в популяциях горбуши преобладают указанные гаплотипы. Исключения составляют выборки из рек Кирганик,

Большая Клюквенная и Анадырь. В них зарегистрирован только гаплотип G1, а вариант G2 не обнаружен (табл. 1). Если предположить, что это связано с небольшим количеством изученных образцов, характеризующих анадырскую и камчатские выборки, то возникает некоторое противоречие. Оно обусловлено наличием в них редкого (табл. 1) и в то же время более архаичного (рис. 3) гаплотипа G31. Возможно, что гаплотип G2 не характерен для рассматриваемых камчатских и анадырской локальностей. Подтвердить или опровергнуть сделанное предположение возможно только в результате расширения и детализации исследований генетического разнообразия горбуши из этих популяций.

В исследованных локальностях наименьшее количество гаплотипов обнаружено в выборках камчатской и анадырской горбуши, которые характеризуются всего двумя вариантами гена *cytb* мтДНК (табл. 1). По гаплотипическому составу более разнообразны выборки, характеризующие североохотоморскую горбушу из рек Ола, Яна, Армань и Тауй. В период анадромной миграции производители горбуши заходят в Тауйскую губу Охотского моря, далее они распределяются по

Таблица 2. Доля типов и позиций нуклеотидных замен в гене цитохрома *b* горбуши из исследованных выборок

Тип нуклеотидной замены	Транзиция			Трансверсия
	Первая	Вторая	Третья	Первая
Позиция замены в кодоне				
Суммарная доля нуклеотидных замен	0.16	0.12	0.68	0.04
Доля несинонимичных нуклеотидных замен	0.16	0.12	0	0.04

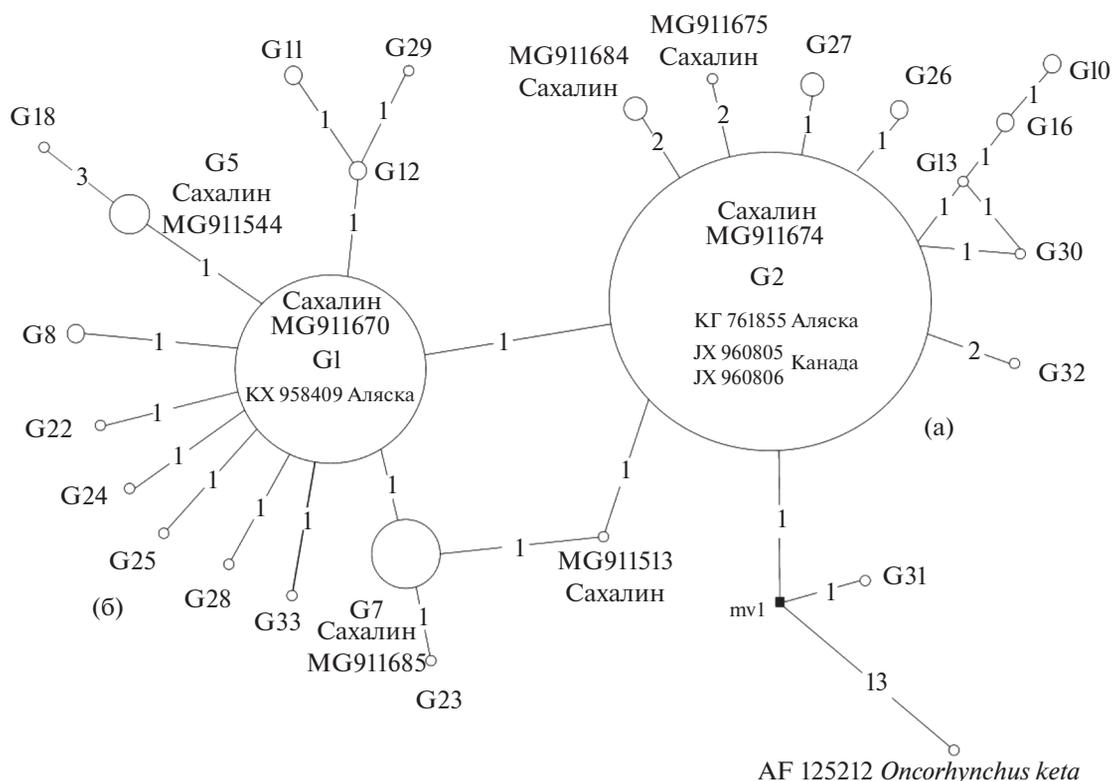


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов гена *cytb* мтДНК горбуши. На ветвях сети цифрами обозначено число мутаций; медианный вектор (mv1) представляет собой гипотетический гаплотип; размеры кружков соответствуют числу гаплотипов. (а), (б) – гаплогруппы. Внешняя группа – кета *Oncorhynchus keta*, GenBank, AF125212.

нерестилищам указанных рек, которые могут рассматриваться как географически близко расположенные друг к другу. Несмотря на географическую близость указанных рек, в которые заходят на нерест исследованные популяции, последние имеют характерный для каждой набор гаплотипов гена *cytb* мтДНК (табл. 1). Отмечено, что по изученному маркеру, горбуша из р. Яна обладает большим количеством гаплотипов среди североохотоморских популяций. Обе янские выборки из смежных поколений представлены тринадцатью вариантами гена *cytb* мтДНК, из которых только три общие. В целом для янской горбуши отмечено шесть уникальных гаплотипов (встречаются только в выборках горбуши р. Яна).

На основании полиморфизма нуклеотидной последовательности гена *cytb* в исследованных выборках горбуши рассчитаны индексы молекулярного разнообразия: нуклеотидного (π) и гаплотипического (h) (табл. 3). Данные по изменчивости этих параметров необходимы для анализа популяционных различий и истории становления изученных локальностей. Среди исследованных популяций шесть представлены поколением линии четных лет. При этом надо отметить, что в целом для этой линии характерен более высокий уровень генетического разнообразия (табл. 3). Та-

кая особенность наблюдается и в популяциях из рек Британской Колумбии (Beacham *et al.*, 2012). Наиболее высокий уровень гаплотипического и нуклеотидного разнообразия характерен для янской выборки четной линии лет. Вероятнее всего, это обусловлено относительной стабильностью указанной локальности (при высокой численности) на протяжении длительного исторического периода ее существования (Avice, 1994). Проведенный тест на нейтральность (Tajima, 1989; Fu, 1997) дал достоверно высокие отрицательные значения F_s -параметра Фу и D -параметра Таджимы (табл. 3), что свидетельствует об отсутствии эффекта прохождения ею через “бутылочное горлышко”. Однако необходимо заметить, что отрицательные значения этого параметра могут быть также результатом быстрой популяционной экспансии или разной скорости мутирования отдельных сайтов (Tajima, 1989; Fu, 1997). Более низкие значения генетического разнообразия зарегистрированы у горбуши из рек Камчатки (табл. 3). Известно, что популяции с низкими значениями h и π являются исторически более молодыми (Avice, 1994). Наблюдаемое своеобразие генетического облика таких популяций, по-видимому, в значительной мере определяется эффектом “основателя” (Кимура, 1985; Avice, 1994). Проведенный тест на нейтраль-

Таблица 3. Показатели разнообразия гена *cytb* мтДНК в исследованных выборках горбуши

Река, год (четная и нечетная линия)	<i>N</i>	<i>V</i>	<i>Pi</i> ± <i>sd</i>	π ± <i>sd</i>	<i>h</i> ± <i>sd</i>	Fu <i>Fs</i> , (<i>P</i>)	Tajima's <i>D</i> , (<i>P</i>)
Большая Клюквенная, 2010	25	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0, (<i>P</i> = 1)	0, (<i>P</i> = 1)
Кирганик, 2010	11	2	0.3636 ± 0.3777	0.0009 ± 0.0010	0.1818 ± 0.1436	0.506, (<i>P</i> = 0.404)	-1.423*, (<i>P</i> = 0.027)
Асача, 2010	5	0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0, (<i>P</i> = 1)	0, (<i>P</i> = 1)
Ола, 2008	46	2	0.6647 ± 0.5207	0.0004 ± 0.0014	0.5874 ± 0.0346	0.953, (<i>P</i> = 0.698)	0.839, (<i>P</i> = 0.843)
Ола, 2010	52	6	0.8469 ± 0.6107	0.0019 ± 0.0015	0.6592 ± 0.0424	-2.523, (<i>P</i> = 0.062)	-0.915, (<i>P</i> = 0.213)
Яна, 2010	53	10	1.0755 ± 0.7207	0.0024 ± 0.0018	0.7146 ± 0.0404	-3.677*, (<i>P</i> = 0.020)	-1.449*, (<i>P</i> = 0.048)
Армань, 2010	50	6	0.7163 ± 0.5350	0.0017 ± 0.0014	0.5798 ± 0.0522	-2.158, (<i>P</i> = 0.088)	-1.210, (<i>P</i> = 0.111)
Тауй, 2010	42	4	0.6434 ± 0.5106	0.0014 ± 0.0013	0.5459 ± 0.0553	-1.465, (<i>P</i> = 0.175)	-0.7265, (<i>P</i> = 0.25)
Армань, 2011	50	6	0.6963 ± 0.5360	0.0016 ± 0.0014	0.5698 ± 0.0528	-1.958, (<i>P</i> = 0.078)	-1.223, (<i>P</i> = 0.111)
Анадырь, 2011	5	2	0.8000 ± 0.6812	0.0019 ± 0.0019	0.4000 ± 0.2373	1.040, (<i>P</i> = 0.607)	-0.973, (<i>P</i> = 0.186)
Ола, 2009	52	2	0.5113 ± 0.4393	0.0011 ± 0.0011	0.4970 ± 0.0404	0.447, (<i>P</i> = 0.571)	0.274, (0.683)
Яна, 2009	52	7	0.6795 ± 0.5271	0.0015 ± 0.0013	0.5333 ± 0.0614	-3.359, (<i>P</i> = 0.025) *	-1.474*, (<i>P</i> = 0.037)
Ручей Рассвет, 2009	42	4	0.7515 ± 0.5656	0.0018 ± 0.0017	0.5626 ± 0.1034	-1.048, (<i>P</i> = 0.251)	-0.889, (<i>P</i> = 0.194)

Примечание: *N* количество особей в выборке; *V* – число вариабельных сайтов в исследуемом участке *cytb* мтДНК; *Pi* – среднее число попарных различий между гаплотипами; π – нуклеотидное разнообразие; *h* – гаплотипическое разнообразие; *sd* – стандартное отклонение, *D* – коэффициент теста Tajima, *Fs* – коэффициент теста Fu, *P* – статистическая значимость различий, **P* < 0.05.

ность для выборки из р. Кирганик (Tajima, 1989; Fu, 1997) показал отрицательное значение *D*-параметра Таджимы (табл. 3). Однако следует отметить, что статистическая сила этого теста может ограничиваться за счет вкладов отбора и демографических событий (Fu, Li, 1993; Simonsen *et al.*, 1995). Тест Фу показал положительное значение *Fs*-параметра, что указывает на положительное действие отбора или его отсутствие (Tajima, 1989; Fu, 1997). Именно в этой популяции обнаружен редкий архаичный гаплотип G31. В выборках горбуши из двух других камчатских рек этот вариант гена *cytb* мтДНК не обнаружен. Возможно, он был утрачен в процессе резкого снижения численности этих популяций. Косвенным подтверждением высказанного предположения является положительное значение *D*-параметра Таджимы и *Fs*-параметра

Фу (табл. 3), указывающего на эффект “горлышка бутылки”.

Горбуша пяти рек представлена поколением линии нечетных лет (табл. 3). Наиболее высокие значения показателей нуклеотидного разнообразия зарегистрированы в выборках из р. Анадырь и ручья Рассвет (о. Завьялова). При этом анадырская горбуша имеет самое низкое значение гаплотипического разнообразия (табл. 3). Возможно, этот факт обусловлен некоторыми природными процессами, происходившими в недавнем геологическом прошлом Северотихоокеанского региона. Регрессия океана и неоднократно возникшие на ее фоне покровные и горнодолинные оледенения (Линдберг, 1972) могли привести к сокращению и разрыву ареала горбуши. В то же время известно, что Анадырский залив существовал без особых изменений с середины плейстоцена (Hopkins,

1972; Черешнев, 1996) и мог служить рефугиумом для тихоокеанских лососей, размножавшихся в речных системах северной части Анадырского залива. В позднем плейстоцене указанный участок побережья Чукотки не подвергался воздействию оледенения и трансгрессий моря. Это гарантировало успех размножения производителей тихоокеанских лососей и выживания их молоди (Черешнев, 1998). Можно предположить, что сохранившиеся в рефугиумах популяции горбуши в дальнейшем стали источником для реколонизации вида в реки Камчатки. В результате произошло распространение в водоемах региона носителей гаплотипа G31, который не обнаружен в североохотоморских популяциях горбуши.

Ольская горбуша представлена выборками из последующих генераций (родители—дети) и из смежных поколений. Они статистически достоверно отличаются между собой (Бачевская, Переверзева, 2013). Ранее было отмечено, что причиной различий между дочерними и родительскими поколениями может быть приток мигрантов, а различия между смежными поколениями, в основном, зависят от соотношения частот наиболее распространенных гаплотипов (Бачевская, Переверзева, 2013). При этом ольская горбуша (2008 и 2009 гг.) имеет положительное значение показателя *D* Таджимы и *F_s*-параметра Фу (табл. 3), что указывает на критическое снижение ее численности в недавнем прошлом. Действительно горбуша р. Ола неоднократно испытывала демографические катаклизмы и была подвержена смене доминирующего по численности поколения. Известно, что численность смежных линий ольской горбуши различалась в десятки раз (Марченко и др., 2004).

Согласно опубликованным данным, на северном побережье Охотского моря выделяют несколько рыбопромысловых районов горбуши. Ольскую и тауйскую группы рек, в которые заходит на нерест горбуша, ранее считали единым промысловым районом. Производители вида из этих групп рек различаются биологическими показателями, величиной подходов и динамикой численности (Марченко, Голованов, 2001). На этом основании ольский и тауйский промысловые районы были выделены как самостоятельные. В процессе генетических исследований использована программа AMOVA (Analysis of Molecular Variance) (Excoffier *et al.*, 2005). Проведен анализ генетической изменчивости с учетом выделенных промысловых районов. Это позволило включить в одну группу все ольские выборки, в другую объединили исследованную горбушу из рек Тауй, Яна, Армань. Доли внутривидовой изменчивости составили 95.95, 5.92 и -1.88% соответственно. Из этого следует, что более высокий уровень дифференциации наблюдается между выборками внутри групп, а не между сопоставляемыми группами гор-

буши из двух промысловых районов. По-видимому, это является причиной отрицательного значения показателя межгрупповой генетической изменчивости. В то же время нельзя исключать другую возможную причину, связанную со статистическим отклонением, приводящим к отрицательному результату (Weir, 1996).

Определена величина внутривидовой, межвидовой и межгрупповой доли изменчивости с учетом географической привязки всех исследованных популяций и соответствия выборок из них четному или нечетному поколению. Важно подчеркнуть, что доля внутривидовой генетической изменчивости во всех случаях была выше межгрупповой и межвидовой. Однако нельзя не отметить, что при выделении групп с учетом приуроченности популяций к конкретному региону доля межгрупповой изменчивости была относительно высокой и составила 25.3%. При объединении популяций в группы по географическому признаку и, в то же время, с учетом четности-нечетности поколений было рассмотрено два варианта. Первый позволил объединить в одну группу североохотоморские популяции четной линии лет, а в другую были включены все камчатские популяции. Анадырская горбуша в этом случае не учитывалась, так как представлена выборкой из смежного поколения. При таком варианте группировки исследованных популяций доли внутривидовой, межвидовой и межгрупповой изменчивости составили 65.72, -0.86 и 35.14% соответственно. Вторым вариантом позволило включить североохотоморскую горбушу нечетного поколения в первую группу, а анадырскую выборку во вторую. При этом доли внутривидовой, межвидовой и межгрупповой изменчивости составили 77.39, 3.78 и 18.83%. Полученные результаты свидетельствуют о более высоком уровне дивергенции популяций горбуши из разных регионов в четной линии лет по сравнению со смежным поколением. Возможно, это определяется возрастом и историей формирования репродуктивно изолированных линий горбуши. В то же время некоторые из исследованных популяций, относящиеся к единому региону, по генетическим параметрам значительно отличаются между собой (табл. 4). При этом нельзя не отметить, что в большинстве случаев это обусловлено их приуроченностью к одному из генеративных поколений. Относительно умеренная доля межгрупповой генетической дисперсии свидетельствует о том, что дивергенция смежных поколений горбуши произошла в относительно недавнем историческом прошлом. После разделения на четное и нечетное поколения их эволюция протекала независимо друг от друга, что позволило накопить характерные для каждой генеративной линии мутации гена *cytb* мтДНК.

Таблица 4. Генетические различия между парами выборок горбуши из рек Северо-Востока России

№	Река, год	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1.	Ола, 2008	0	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	Ола, 2010	–	0	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	Яна, 2010	–	–	0	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	Армань, 2010	–	–	+	0	+	+	–	+	+	+	+	+	+
5.	Тауй, 2010	–	+	–	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	Кирганик, 2010	+	+	+	+	+	0	–	–	+	+	+	–	+
7.	Асача, 2010	+	+	+	–	+	–	0	–	–	–	–	–	–
8.	Большая Клюквенная, 2010	+	+	+	+	+	–	–	0	+	+	+	–	+
9.	Ола, 2009	+	+	+	–	+	+	–	+	0	–	–	–	–
10.	Армань, 2011	+	+	+	+	+	+	+	+	–	0	–	–	–
11.	Яна, 2009	+	+	+	–	+	+	–	+	–	–	0	–	–
12.	Анадырь, 2011	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	0	–
13.	Рассвет, 2009	+	+	+	–	+	+	–	+	–	–	–	–	0

Примечание. Выше диагонали обозначены символом “+” достоверные различия ($P < 0.05$) по частотам гаплотипов, ниже диагонали – по нуклеотидным заменам.

На основании полученных и имеющихся в GenBank (JX960805, JX960806, KX958409, KU761855, MG911513, MG911675, MG911684, MG911694) нуклеотидных последовательностей гена *cytb* мтДНК горбуши (Crete-Lafreniere *et al.*, 2012; Rodgers, Mock, 2017; Podlesnykh *et al.*, 2018) построена медианная сеть (Bandelt *et al.*, 1999). В качестве внешней группы использован образец нуклеотидной последовательности кеты (GenBank, AF125212) (Lee *et al.*, 2016). Анализ медианной сети (рис. 3) показал, что гипотетический вариант mv1 дает начало гаплотипам G2 и G31, которые можно считать более архаичным по сравнению с другими (рис. 3). При этом следует отметить, что последний относится к редким митотипам. Он обнаружен только в выборках из рек Анадырь и Кирганик. Гаплотип G2 (в отличие от последнего) часто встречается в исследованных нами локальностях, а также в популяциях вида, заходящих для нереста в реки Сахалина, Аляски и Канады. Варианты гена *cytb* мтДНК горбуши, входящие в гаплогруппу А (рис. 3), произошли путем единичных замен от гаплотипа G2. Они не относятся к числу массовых, в отличие от гаплотипа G1, имеющего высокую частоту распределения в исследованных выборках (табл. 1). Гаплогруппа Б (рис. 3) представлена митотипами, которые являются производными от G1. Носители этих гаплотипов совершают анадромные миграции в реки материкового побережья Охотского моря, Камчатки, Сахалина

и Аляски. Каждый из более распространенных гаплотипов (G1, G2) образует в медианной сети картину “звездчатой” радиации (рис. 3). Митотип G1 является производным от варианта G2, что свидетельствует об общности их происхождения, в то же время показывает, что последний более архаичный, так как расположен в медианной сети ближе к гипотетическому предку (mv1), от которого произошли (путем единичных замен) гаплотипы G2 и G31 (рис. 3).

При исследовании первичной структуры белка *Cytb* горбуши были обнаружены замены в аминокислотной последовательности, произошедшие в процессе эволюции. Зафиксировано девять модификаций полипептида (рис. 4). Большая часть вариантов белка *Cytb* (FG2, FG5, FG6, FG8, FG9) отмечена в линии четного поколения горбуши. В смежной генерации горбуши обнаружено всего три (FG3, FG4, FG7) модификации исследованного полипептида. Варианты FG2, FG3, FG4, FG5, FG6, FG7 – уникальны, т.е. зафиксированы только в одной из исследованных популяций, что является характерной особенностью для каждой из них. Для определения консервативности и радикальности аминокислотных замен были использованы методы Снита, Бачинского и Грэнтсема (Grantham, 1974; Бутвиловский и др., 2009). С помощью этих методов было определено, что в большинстве случаев обнаруженные аминокислотные замены

	122358
	3906656
FG1	NVDNLYG
FG2	S.....
FG3	I.....
FG4	..N.I...
FG5	..ND....
FG6I...
FG7F...
FG8C...
FG9E

Рис. 4. Аминокислотные замены в модификациях (FG1– FG9) фермента цитохрома *b* у горбуши из рек Северо-Востока России. Цифры – сайты замен от начала полной аминокислотной последовательности полипептида Cytb F1.

являются консервативными. В то же время вариант белка Cytb FG8, кодируемый гаплотипом G22, содержит радикальную аминокислотную замену Y55C. В этом полипептиде произошла замена тирозина (ароматический радикал с гидроксильной группой) на цистеин (алифатический радикал с тиольной группой). Тиольная группа цистеина влияет на четвертичную структуру белка, а также изменяет его окислительно-восстановительные свойства. В другом варианте белка Cytb FG9, кодируемого гаплотипом G24, также обнаружена радикальная аминокислотная замена G86E, изменившая заряд белка. Поскольку в полипептиде Cytb были обнаружены замены подобного характера, то появилась необходимость оценить статистическую значимость отмеченных изменений физико-химических свойств аминокислот. Для определения степени радикальности или консервативности каждой из обнаруженных аминокислотных замен, был использован χ -тест модели MM01 в программе TreeSAAP 3.2 (Woolley *et al.*, 2003). Данная программа, опираясь на предположение о случайном характере аминокислотных замен в условиях селективной нейтральности, дает возможность сопоставлять наблюдаемое и ожидаемое распределение изменений физико-химических свойств аминокислот. Согласно модели MM01, в программе TreeSAAP консервативные аминокислотные замены характеризуются $m_c = 1, 2$ и 3 , $\chi > 3.09$, $p < 0.001$ (где χ – значимость аминокислотных замен по Фишеру, m_c – категория значимости) (McClellan, McCracken, 2001; Woolley *et al.*, 2003). Если положительный отбор проявляется в более радикальных категориях значимости ($m_c = 6, 7$ и 8 , $\chi > 3.09$, $p < 0.001$), то предполагали, что свойства аминокислот изменялись под влиянием направленного отбора (McClellan, McCracken, 2001; Woolley *et al.*, 2003). Результаты TreeSAAP-анализа показали, что изменения физико-химических свойств (в отмеченных нами позициях аминокислотных замен) оказались не столь значительными ($\chi < 3.09$, при $p = 0.001$, $m_c = 3$). Они свидетельствуют о влиянии положительного направления стабили-

зирующего отбора, обеспечивающего стабильность структуры белка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе изучения генетической изменчивости горбуши отмечено, что уровень полиморфизма гена цитохрома *b* мтДНК в исследованных популяциях не одинаков. Для группы популяций, заходящих на нерест в реки североохотоморского побережья, он более высокий. Обнаруженный гаплотипический состав популяций показал, что для каждой характерен набор уникальных (встретившихся только в одной из них) митотипов гена *cytb* мтДНК горбуши. Анализ генетического разнообразия свидетельствует о том, что горбуша линии четных лет характеризуются высоким уровнем генетической изменчивости по сравнению с выборками из смежного поколения. Кроме того, полученные результаты указывают на более высокий уровень дивергенции популяций горбуши из разных регионов в поколении четной линии лет. Возможно, это определяется возрастом и историей формирования репродуктивно изолированных линий горбуши. Следует однако признать, что в данной работе проведен анализ случайных выборок, которые неодинаково представляют обе изолированные генерации вида. Возможно, дальнейшее накопление данных внесет свои дополнения в представление об уровне и возрасте их дивергенции в условиях полной изоляции.

При исследовании первичной структуры белка Cytb горбуши обнаружены замены в аминокислотной последовательности, произошедшие в процессе эволюции. Для выяснения вопроса о том, были обнаруженные замены адаптивными или нет, проводили анализ изменений физико-химических свойств аминокислот в процессе кладогенеза. Полученные результаты показали отсутствие сигналов молекулярной адаптации и свидетельствуют о влиянии положительного вектора стабилизирующего отбора, направленного на сохранение структуры исследованного полипептида.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ДВО РАН (грант 15-I-6-0150) и РФФИ (грант 15-04-01418).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т., Ефанов В.И. Генетическая дифференциация и популяционная структура горбуши Сахалино-Курильского региона // Биология моря. 1983. № 2. С. 46–51.
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Наука, 1989. 328 с.

- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука, 1997. 288 с.
- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.
- 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.
- Бачевская Л.Т., Переверзева В.В. Изменчивость гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) из рек материкового побережья Охотского моря и острова Завьялова // Изв. РАН. Серия биол. 2013. № 1. С. 15–23.
- Бачевская Л.Т., Переверзева В.В., Иванова Г.Д., Пилганчук О.А., Агапова Г.А., Шпигальская Н.Ю. Генетическое разнообразие нерки (*Oncorhynchus nerka*) из некоторых рек Восточной Камчатки и материкового побережья Охотского моря по данным полиморфизма гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Исследования биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2015. Вып. 38. С. 49–56.
- Бачевская Л.Т., Иванова Г.Д., Переверзева В.В., Агапова Г.А. Генетическая структура кижуча *Oncorhynchus kisutch* из рек Северо-Востока России по данным о полиморфизме гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Изв. РАН. Серия биол. 2017. № 6. С. 13–19.
- Брыков В.А., Полякова Н.Е., Скурихина Л.А., Алтухов Ю.П., Кухлевский А.Д., Пудовкин А.А., Гаррет А. Популяционно-генетическая структура горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) по результатам рестрикционного анализа митохондриальной ДНК: динамика изменчивости в поколениях // Генетика. 1999. Т. 35. № 5. С. 657–665.
- Бутвиловский А.В., Барковский Е.В., Бутвиловский В.Э., Давыдов В.В. Основные методы молекулярной эволюции. Мн.: Белпринт, 2009. 216 с.
- Глубоковский М.К., Животовский Л.А. Популяционная структура горбуши: система флуктуирующих стад // Биология моря. 1986. № 2. С. 39–44.
- Глубоковский М.К. Эволюционная биология лососевых рыб. М.: Наука, 1995. 343 с.
- Гордеева Н.В., Салменкова Е.А., Алтухов Ю.П. Исследование генетической дивергенции горбуши, вселенной на Европейский Север России, с использованием микросателлитных и аллозимных локусов // Генетика. 2006. Т. 42. № 3. С. 349–360.
- Гордеева Н.В. Высокие оценки дифференциации популяций горбуши по локусу главного комплекса гистосовместимости МНС I-A1 поддерживают гипотезу “локальных стад” // Вопр. Ихтиол. 2012. Т. 52. № 1. С. 72–81.
- Гордеева Н.В. Оценки дифференциации популяций по микросателлитным маркерам у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* могут быть занижены вследствие ее высокой численности // Вопр. Ихтиол. 2014. Т. 54. № 3. С. 332–343.
- Гордеева Н.В., Салменкова Е.А. Генетические маркеры адаптивных процессов у дальневосточной горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*: аллельное разнообразие в локусе главного комплекса гистосовместимости МНС I-A1 // Генетика. 2017. Т. 53(11). С. 1311–1319.
- Гордеева Н.В. Микрогеографическая и временная изменчивость в локусе МНС I-A1 у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Южного Сахалина // Вопр. Ихтиол. 2018. Т. 58. № 3. С. 358–364.
- Животовский Л.А. Методологии исследования популяционной организации вида по генетическим маркерам (на примере горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*) // Вопр. Ихтиол. 2013. Т. 53. № 3. С. 371–376.
- Калабушкин Б.А., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т. Популяционная структура и генные миграции горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Сахалино-Курильского региона // Генетика. 1998. Т. 34. № 12. С. 1675–1685.
- Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. М.: Мир, 1985. 398 с.
- Линдберг Г.У. Крупные колебания уровня океана в четвертичный период. Л.: Наука, 1972. 548 с.
- Марченко С.Л., Голованов И.С. 2001. Локальные стада горбуши северного побережья Охотского моря // Сб. науч. тр. Магаданского НИИ рыбн. хоз-ва. и океанографии. Магадан: Магадан НИРО, 2001. Вып. 1. С. 144–151.
- Марченко С.Л., Голованов И.С., Хованский И.Е. Эффективность воспроизводства горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) р. Ола (северное побережье Охотского моря) // Сб. науч. тр. Магаданского НИИ рыбн. хоз-ва. и океанографии. Магадан: Магадан НИРО, 2004. Вып. 2. С. 227–236.
- Омельченко В.Т., Вялова Г.П. Популяционная структура горбуши // Биология моря. 1990. № 1. С. 3–13.
- Полякова Н.Е., Малинина Т.В., Галеев А.В. Изменчивость митохондриальной ДНК у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // Генетика. 1992. Т. 28. № 12. С. 122–129.
- Полякова Н.Е., Скурихина Л.А., Кухлевский А.Д. Популяционно-генетическая структура горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) по результатам рестрикционного анализа митохондриальной ДНК. Сравнение неперекрывающихся поколений четных и нечетных лет // Генетика. 1996. Т. 32. № 9. С. 1256–1262.
- Пустовойт С.П. Основные итоги генетического мониторинга североохотоморских популяций горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*) // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 3. С. 475–484.
- Салменкова Е.А., Гордеева Н.В., Омельченко В.Т. и др. Генетическая дифференциация горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Walbaum в азиатской части ареала // Генетика. 2006. Т. 43. № 10. С. 1371–1387.

- Черешнев И.А. Биологическое разнообразие пресноводной ихтиофауны Северо-Востока России. Владивосток: Дальнаука, 1996. 198 с.
- Черешнев И.А. Биогеография пресноводных рыб Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 1998. 130 с.
- Шпигальская Н.Ю., Брыков В.А., Кухлевский А.Д. Полиморфизм мтДНК горбуши Камчатки и острова Сахалин // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. Сб. науч. тр. Камчат. НИИ рыбн. Хоз-ва. и океанографии. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2009. Вып. 13. С. 74–87.
- Aspinwall N. Genetic analysis of North American population of the pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, possible evidence for the neutral mutation-random drift hypothesis // *Evolution*. 1974. V. 28. P. 295–305.
- Avise J.C. Molecular markers, natural history and evolution. N.Y.: Chapman Hall, 1994. 511 p.
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evolution*. 1999. V. 16. P. 37–48.
- Beacham T.D., Withler R.E., Gould A.P. Biochemical stock identification of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in Southern British Columbia and Puget Sound // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1985. V. 42. P. 1474–1483.
- Beacham T.D., McIntosh B., MacConnachie C., Brian S., Bruce A. White. Population structure of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in British Columbia and Washington, determined with microsatellites // *Fish. Bull.* 2012. V. 110. P. 242–256.
- Churikov D., Gharrett A.J. Comparative phylogeography of the two pink salmon broodlines: an analysis based on a mitochondrial DNA genealogy // *Mol. Ecol.* 2002. V. 11. P. 1077–1101.
- Crete-Lafreniere A., Weir L.K., Bernatchez L. JX960805, JX96086 // GenBank. 2012.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online*. 2005. V. 1. P. 47–50.
- Fleming M.A., Cook J.A. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska // *Mol. Ecol.* 2002. V. 11. P. 795–807.
- Fu Y., Li W. Statistic test of neutrality of mutations. *Genetics*. 1993. V. 133. P. 693–709.
- Fu Y.-X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 1997. V. 147. P. 915–925.
- Grantham R. Amino acid difference formula to help explain protein evolution // *Science*. 1974. V. 185. № 4154. P. 862–864.
- Hawkins S.L., Varnavskaya N.V., Matzak V.V., Efremov C.M., Guthrie III R.L., Wilmot H., Mayama F., Yamazaki A.J., Gharrett A.J. Population structure of odd-brood line Asian pink salmon and its contrast to the even-brood line structure // *J. Fish. Biol.* 2002. V. 60. P. 370–388.
- Hopkins D.M. The paleogeography and climatic history of Beringia during late Cenozoic time // *Internord*. 1972. V. 12. P. 121–150.
- Kartavtsev Y.P., Park T.J., Vinnikov K.A., Ivankov V.N., Sharina S.N., Lee J.S. Cytochrome *b* (*Cyt-b*) gene sequence analysis in six flatfish species (Teleostei, Pleuronectidae), with phylogenetic and taxonomic insights // *Marine Biology*. 2007. V. 152. P. 757–773.
- Kim H.S., Choi E.S., Shin J.A., Jang Y.K., Park S.D. Regulation of Swi6/HPI-dependent heterochromatin assembly by cooperation of components of the mitogen-activated protein kinase pathway and a histone deacetylase Clr6. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 850–859.
- Lee H.J., Kim W.J., Lee J.H., Min K.S., Yoo M.A., Lee W.H. Park J.Y. AF125212 // GenBank. 2016.
- McClellan D.A., McCracken K.G. Estimating the influence of selection on the variable amino acid sites of the cytochrome B protein functional domains // *Mol. Biol. Evol.* 2001. V. 18. P. 917–925.
- Naylor G.J., Collins T.M., Brown W.M. Hydrophobicity and phylogeny // *Nature*. 1996. V. 373. P. 565–566.
- Nei M. Molecular evolutionary genetics // N.Y.: Columb. Univ. Press, 1987. 512 p.
- Podlesnykh A.V., Kukhlevskiy A.D., Brykov V.A. MG911513, MG 911544, MG911675, MG911684, MG911685 // GenBank. 2018.
- Rodgers T.W., Mock K.E. KX958409, KU761855 // GenBank. 2017.
- Russell V.J., Hold G.L., Pryde S.E. Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between salmon species // *J. Agric. Food Chem.* 2000. № 48. P. 2184–2188.
- Simonsen K.L., Churchill G.A., C.F. Aquadro Properties of test of neutrality for DNA polymorphism data. // *Genetics*. 1995. V.141. P. 413–429.
- Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // *Gen. Soc. Am.* 1989. P. 585–595.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipsri A., Kumar S. MEGA-6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0.2.74 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Weir B.S. Genetic data analysis II: Methods for discrete population genetic data // Sunderland. Massachusetts: Sinauer Ass, 1996. 445 p.
- Woolley S., Johnson M.J., Smith M.J. TreeSAAP: selection on amino acid properties using phylogenetic trees // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. P. 671–672.
- Zardoya R., Meyer A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates // *Mol. Biol. Evol.* 1996. V. 13. P. 933–942.

Enetic Diversity of Pink Salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) from Some Rivers of the Northeastern Part of Russia

L. T. Bachevskaya^{1, #}, V. V. Pereverzeva¹, A. A. Primak¹, and G. A. Agapova¹

¹*Institute of Biological Problems of the North, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Magadan, 685000 Russia*

[#]*e-mail: gekki54@mail.ru*

The data on the variability of the nucleotide sequence of cytochrome *b* mtDNA of pink salmon from adjacent generations was obtained. There was a higher level of divergence between even-line year samples from rivers in different regions than in the adjacent generation. At the same time, some geographically close populations have significantly different statistic genetic parameters. The calculated share of intergroup genetic dispersion indicates that the divergence of adjacent generations of pink salmon occurred in a relatively recent historical past. An analysis of the genetic variability of pink salmon, carried out taking into account the isolated fishing areas, showed that the level of differentiation of the North Okhotsk Sea populations belonging to different fishing areas is lower than that observed between the localities within each of them. In the primary structure of the Cytb protein, pink salmon has amino acid substitutions indicating the effect of a positive stabilizing selection vector.