

С.П. ПУСТОВОЙТ¹, Р.Р. ЮСУПОВ²

¹ Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан
E-mail: pustov@ibpn.ru

² Магаданский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии

О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ЖЕЛТОПЕРОЙ КАМБАЛЫ *LIMANDA ASPERA*, ОБИТАЮЩЕЙ В ТАУЙСКОЙ ГУБЕ, ОХОТСКОЕ МОРЕ



Исследована генетическая изменчивость популяций желтоперой камбалы, обитающей в северной части Охотского моря. Обнаружена генетическая гетерогенность выборок, собранных в географически отдаленных точках Тауйской губы. Величина генетической дифференциации $G_{ST} = 2,39\%$ в исследованных выборках немногим меньше, чем в выборках из Берингова моря ($G_{ST} = 4,25\%$).

© С.П. ПУСТОВОЙТ, Р.Р. ЮСУПОВ, 2011

Введение. Желтоперая камбала (*Limanda aspera* (Pallas, [1814]) — одна из наиболее массовых промысловых рыб семейства камбаловых (Pleuronectidae, Pleuronectiformes), обитающих в северной части Охотского моря [1]. Несмотря на большие запасы камбал в указанном регионе, уровень их промышленного освоения долгое время оставался низким. Вплоть до 2003 г. камбалы в небольшом количестве (в среднем 54 т в год) вылавливались при добыче нерестовой сельди и мойвы, а также как объекты спортивно-любительского рыболовства. Активное освоение запасов камбал началось с 2004 г., когда рыбодобывающими предприятиями Магаданской области впервые было выловлено 1615 т камбал. Современные статистические данные по вылову камбал в прибрежье Магаданской области показывают многократно возросшую с 2004 г. (более чем в 30 раз) добычу камбал. В промысловых уловах абсолютным доминантом как по численности, так и по биомассе является желтоперая камбала. Промысловая важность желтоперой камбалы обусловила усиленное изучение ее биологии сотрудниками рыбохозяйственных институтов [2–7].

Для разработки способов рациональной эксплуатации запасов желтоперой камбалы вместе с изучением разных аспектов биологии вида необходимы и надежные сведения о ее популяционно-генетической структуре. В настоящее время есть только одна популяционно-генетическая работа, которая посвящена желтоперой камбале, обитающей в восточной части Берингова моря [8]. Авторы выявили генетическую дифференциацию между выборками из северного и южного участков Берингова моря, что, по их мнению, связано с влиянием плейстоценовых оледенений. Генетические исследования разных видов камбал, обитающих в дальневосточных морях России, проводятся в основном с целью рассмотрения спорных вопросов эволюции и систематики [9–12]. Собственно популяционно-генетические работы известны только для нескольких видов камбал, обитающих в северной части Атлантического океана [13–19].

О перспективности исследования пространственной структуры желтоперой камбалы свидетельствует следующая особенность ее биологии. После зимовки в глубоких участках моря камбала весной мигрирует к побережью



Рис. 1. Места сбора материала: 1 – б. Нагаева, 2 – б. Светлая, 3 – б. Гертнера, 4 – м. Харбиз, 5 – о. Завьялова, 6 – м. Евреинова

для откорма. Затем она приступает к нересту, образуя обширные скопления. Считается, что камбалы в силу их слабой миграционной активности образуют популяции в определенных узлокальных районах [20, 21].

Цель работы – оценить величину генетической дифференциации желтоперой камбалы, обитающей в Тауйской губе и Притауйском районе, Охотское море.

Материал и методика. Материал (замороженные пробы мышц) собран в летние сезоны 2006–2008 гг. Район сбора материала охватывал основные участки промысла (рис. 1). Названия выборок соответствуют географическим обозначениям мест (м – мыс, б – бухта), возле которых осуществляется морской промысел камбалы. Всего собрано 7 выборок из шести локальностей (в б. Гертнера две выборки). Даты и количество проб указаны в табл. 1.

Методом электрофореза в блоках 5%-ного полиакриламидного геля исследовали генетическую изменчивость следующих локусов (с указанием номеров по Кодексу ферментов): глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (G3PDH*, 1.1.1.8), малатдегидрогеназа (MDH*, 1.1.1.37), изоцитратдегидрогеназа (IDHP*, 1.1.1.42), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (PGD*, 1.1.1.44),

эстераза (EST-1*, «медленная», EST-2*, «быстрая», 3.1.1.), фосфоглюкомутаза (PGM*, 5.4.2.2). Гистохимическими методами в блоках геля выявляли активность перечисленных локусов [8, 22]. Аллели полиморфных локусов обозначали по их относительной электрофоретической подвижности в геле соответственно рекомендациям номенклатуры [23].

Статистический анализ: по частотам генотипов находили частоты аллелей и подсчитывали наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_s , по Nei [24]) гетерозиготность для нахождения фиксационного индекса $F_{IS} = 1 - H_o/H_s$. Указанный индекс пригоден не только для определения соотношения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, но и для определения соответствия рассчитанным по формуле Харди-Вайнберга экспериментальным частотам генотипов ($\chi^2 = F_{IS}^2 n$) [24]. Показатель генетической дифференциации Nei (G_{ST}) [25, 26] использовали для выделения межвыборочной доли в общей величине генетического разнообразия (H_T)

$$G_{ST} = D_{ST}/H_T,$$

где D_{ST} – часть генетического разнообразия, определяемая генетическими различиями между выборками.

Таблица 1

Частоты аллелей локусов глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (*G3PDH* *), малатдегидрогеназы (*MDH* *) и изоцитратдегидрогеназы (*IDHP* *) в выборках желтоперой камбалы Тауйской губы

№	Локальность	Дата	n	<i>G3PDH</i> *		<i>MDH</i> *			<i>IDHP</i> *		
				100	F _{IS}	100	105	F _{IS}	100	105	F _{IS}
1.6	б. Гертнера	4.7.06	56	0,937	-0,066	0,884	0,116	-0,131	-	-	-
2.6	м. Харбиз	11.7.06	50	0,940	-0,064	0,960	0,010	-0,034	-	-	-
3.6	м. Евреинова	26.8.06	55	0,964	-0,030	0,991	0,009	-0,011	-	-	-
	χ^2	2006 г.		18,27 *		6,29 *			-	-	-
1.7	б. Нагаева	5-10.7.07	115	0,996	0,007	0,978	0,022	-0,023	0,978	0,008	-0,019
2.7	о. Завьялова	15.7.07	27	0,944	-0,058	0,982	0,018	-0,019	0,944	0,056	-0,058
3.7	б. Светлая	13.7.07	37	0,919	-0,088	0,973	0	-0,030	0,986	0,014	-0,015
	χ^2	2007 г.		5,99*		0,15			1,02		
1.8	б. Гертнера	5-10.7.08	83	0,970	-0,032	0,958	0,030	-0,035	0,988	0,012	-0,012
	χ^2	2006-2008 гг.		6,53		11,84			2,29		

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочка возле значения χ^2 указывает на отрицание нулевой гипотезы о гомогенности частот генов в выборках на 5%-ном уровне значимости.

Таблица 2

Частоты аллелей полиморфных локусов эстеразы (*EST-1**, *EST-2**) и фосфоглюкомутазы (*PGM**) в выборках желтоперой камбалы Тауйской губы

№	Локальность	Дата	n	<i>EST-1</i> *				<i>EST-2</i> *			<i>PGM</i> *		
				100	95	90	F _{IS}	100	95	F _{IS}	100	105	F _{IS}
1.6	б. Гертнера	4.7.06	56	0,839	0,027	0,062	-0,125	0,866	0,036	-0,046	0,866	0,134	-0,155
2.6	м. Харбиз	11.7.06	50	0,830	0,030	0,080	-0,066	0,830	0,090	-0,079	0,990	0,010	-0,010
3.6	м. Евреинова	26.8.06	55	0,827	0,082	0,018	-0,139	0,864	0,064	-0,092	0,955	0,036	-0,041
	χ^2	2006 г.		0,06				0,33	-	-	7,17 *		
1.7	б. Нагаева	5-10.7.07	115	0,870	0,026	0,070	-0,064	0,917	0,070	-0,077	0,956	0,044	0,163
2.7	о. Завьялова	15.7.07	27	0,926	0,037	0,019	-0,053	0,944	0,056	-0,058	1,0	0	0
3.7	б. Светлая	13.7.07	37	0,851	0,013	0,122	-0,144	0,932	0,068	-0,071	0,959	0,041	-0,044
	χ^2	2007 г.		0,44				0,14			1,01		
1.8	б. Гертнера	5-10.7.08	83	0,861	0,060	0,066	0,035	0,922	0,006	-0,079	0,976	0,006	-0,020
	χ^2	2006-2008 гг.		2,15				5,90			31,70 *		

Статистически значимые отличия в частотах генов между выборками находили при помощи теста χ^2 [27]. Используя программу BIOSYS [28] оценивали генетические дистанции Роджерса [29] для исследованных выборок. На их основании методом кластеризации UPGMA строили дендрограмму.

Результаты исследований и их обсуждение. Все исследованные локусы (кроме б-фосфоглюконатдегидрогеназы) оказались полиморф-

ными (табл. 1 и 2). В большинстве выборок показатель F_{IS} для каждого локуса отрицательный, что говорит о незначительном (т.е. статистически незначимом сопоставимо с табличным $\chi^2_{0,05} = 3,84$) превышении количества найденных гетерозигот по сравнению с теоретически рассчитанным их числом по формуле Харди-Вайнберга.

Только по частотам аллелей локуса G3PDH* обнаружена статистически значимая гетероген-

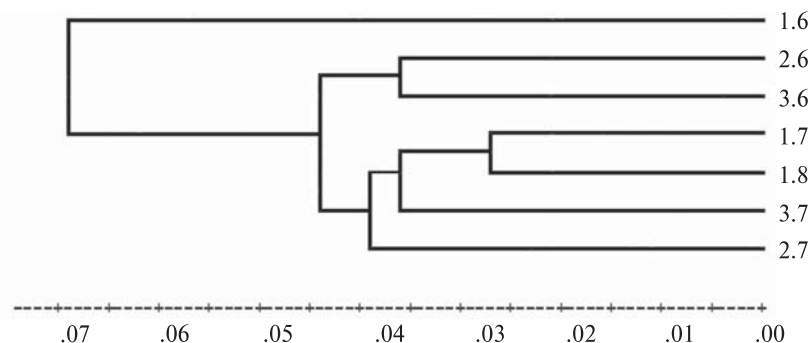


Рис. 2. Дендрограмма генетических различий Роджера между выборками желтоперой камбалы: 1.6. – б. Гертнера (2006 г.), 2.6. – м. Харбиз (2006 г.), 3.6. – м. Евреинова (2006 г.), 1.7. – б. Нагаева (2007 г.), 2.7. – о. Завьялова (2007 г.), 3.7. – б. Светлая (2007 г.), 1.8. – б. Гертнера (2008 г.)

ность выборок как в 2006, так и в 2007 гг. (табл. 1 и 2). Выборки 2006 г. имеют отличия в частотах генов *MDH** и *PGM**, по частотам последнего локуса выявлена значимая гетерогенность выборок, собранных за три года исследования.

Таким образом, исследованные выборки имеют статистически значимые отличия по частотам нескольких генов, что указывает на наличие неоднородности нерестовых скоплений камбалы. Поскольку у нас имеются сборы за три года из пространственно разобщенных локальностей, то генетическая дифференциация выборок определяется различиями между выборками, собранными за один год, но из разных мест (внутригодовая или пространственная часть), и между выборками из одной локальности, но за отдельные года (межгодовая или временная). Для количественной оценки указанных частей использовали метод иерархического разложения генетического разнообразия Неи [25]. В общей величине генетического разнообразия исследованных выборок (G_{ST}) выделены две доли – межгодовая (G_1) и внутригодовая (G_2). Как видно из данных табл. 3, для всех локусов, кро-

ме одного (*EST-2**), характерно преобладание внутригодовой (пространственной) доли. Следовательно, на данном этапе изучения популяционно-генетической структуры желтоперой камбалы ясно, что наибольший вклад в генетическую дифференциацию выборок вносят различия между пространственно разобщенными локальностями. Межгодовая доля невелика, что может быть трактовано как временная устойчивость генетической структуры.

Средняя величина генетической дифференциации по частотам исследованных локусов составила $G_{ST} = 2,39\%$, она немногим меньше аналогичной величины для выборок желтоперой камбалы из восточной части Берингова моря $G_{ST} = 4,25\%$ [8]. Несколько большая величина генетической дифференциации берингово-морской желтоперой камбалы, видимо, связана не только с большим объемом исследованного материала (16 выборок, 38 локусов, из них 10 полиморфных). Существенно влияние одной выборки из прибрежного участка о. Хоккайдо (Япония), что обуславливает наличие межрегиональной части (западная и восточная части

Таблица 3
Структура генетического разнообразия желтоперой камбалы, нерестующей в Тауйской губе

Локус	H_T	H_S	D_{ST}	Межгодовая часть		Внутригодовая часть		G_{ST}
				D_1	G_1	D_2	G_2	
<i>G3PDH*</i>	0,08997	0,08885	0,08988	0,00009	0,100	0,00103	1,145	1,245
<i>MDH*</i>	0,07595	0,07335	0,07552	0,00043	0,56	0,00217	2,86	3,42
<i>EST-1*</i>	0,25833	0,25555	0,25740	0,00093	0,36	0,00185	0,716	1,076
<i>EST-2*</i>	0,19089	0,18715	0,18762	0,00327	1,713	0,00047	0,246	1,959
<i>PGM*</i>	0,08168	0,07821	0,08093	0,00075	0,918	0,00272	3,330	4,248
Среднее (стат. ошибка)	0,13936 (0,05437)	0,13662	0,013827	0,00109	0,7302	0,00165	1,6592	2,39

Тихого океана) $G_{ST} = 3,6 \%$ в общей величине генетической дифференциации [8, табл. 7]. В цитируемой работе доля генетического разнообразия, определяемая различиями между северной и южной группировками выборок в Беринговом море, составила величину $0,1 \%$, а между выборками в пределах группировок — $0,6 \%$. Следовательно, пространственная доля генетического разнообразия желтоперой камбалы из Берингова моря — $0,7 \%$, что немногим меньше аналогичной величины для изучаемого вида из Тауйской губы — $1,66 \%$ (табл. 3).

Наглядное представление о генетических различиях между выборками желтоперой камбалы их северной части Охотского моря дает следующая дендрограмма (рис. 2). В одну группировку входят выборки, собранные в прибрежных участках около м. Харбиз и м. Евреинова — самые восточные участки региона сбора материала. В другой группировке наиболее близки выборки из б. Нагаева и б. Гертнера (2008 г.), к ним примыкает выборка из б. Светлая. Указанные бухты территориально наиболее близки друг к другу (рис. 1). Камбала, пойманная возле о. Завьялова, оказалась генетически сходна с указанной группировкой. Наибольшей степенью отличий от всех выделяется выборка из б. Гертнера (2006 г.). Это явление связано с наличием межгодовых различий (причина которых пока неясна) в частотах генов у выборок, собранных в б. Гертнера в 2006 и 2008 гг.

Итак, первое популяционно-генетическое исследование желтоперой камбалы, обитающей в северной части Охотского моря, показало, что ее генетическая дифференциация в значительной степени определяется географическими расстояниями между локальностями сборов. По всей видимости, существует пространственная обусловленность образования нагульно-нерестовых скоплений желтоперой камбалы на прибрежных участках Тауйской губы и Притауйского района.

S.P. Pustovoit, R.R. Yusupov

ON GENETIC DIFFERENTIATION
OF THE YELLOWFIN SOLE *LIMANDA ASPERA*,
FROM TAU BAY, THE SEA OF OKHOTSK

The population-genetic structure of yellowfin sole inhabiting in northern part of the Sea of Okhotsk has been investigated. Genetic heterogeneity of samples, collected

in geographically remote areas of Tauri Bay was found. The value of genetic differentiation $G_{ST} = 2,39 \%$ in the investigated samples is a little less than in those of the Bering Sea ($G_{ST} = 4,25 \%$, Grant et al., 1983).

S.P. Pustovoit, R.R. Yusupov

ПРО ГЕНЕТИЧНУ ДИФЕРЕНЦІАЦІЮ
ЖОВТОПЕРИСТОЇ КАМБАЛИ, *LIMANDA ASPERA*,
ЩО НАСЕЛЯЄ ТАУЙСЬКУ ГУБУ,
ОХОТСЬКЕ МОРЕ

Досліджено генетичну мінливість популяцій жовтоперистої камбали, що населяє північну частину Охотського моря. Виявлено генетичну гетерогенність виборок, що зібрані в генетично віддалених точках Тауйської губи. Рівень генетичної диференціації $G_{ST} = 2,39 \%$ в досліджених виборках трохи нижче, ніж у виборках з Берингова моря ($G_{ST} = 4,25$).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Федоров В.В., Черешнев И.А., Назаркин М.В., Шестаков А.В., Волобуев В.В. Каталог морских и пресноводных рыб северной части Охотского моря. — Владивосток : Дальнаука, 2003. — 204 с.
2. Золотов А.О. Использование оценок возрастного состава желтоперой камбалы (*Limanda aspera*) западной части Берингова моря по чешуе и отолитам в виртуально-популяционном анализе // Изв. ТИНРО. — 2006. — 147. — С. 36–46.
3. Юсупов Р.Р. Североохотоморские камбалы, ресурсы и перспективы их освоения // Северо-Восток России: прошлое, настоящее, будущее : Материалы II регион. науч.-практ. конф. (г. Магадан, 27–28 ноября). — Магадан : Кордис, 2004. — С. 104–107.
4. Юсупов Р.Р. Плодовитость желтоперой камбалы *Limanda aspera* (Pleuronectidae) северной части Охотского моря // Вопр. рыболовства. — 2009. — 10, № 2–38. — С. 284–291.
5. Юсупов Р.Р., Каука А.И. Промыслово-биологическая характеристика североохотоморских камбал в условиях возросшего их промысла // Сб. науч. трудов Магаданского НИИ рыб. хоз-ва и океанографии. — 2008. — Вып. 3. — С. 396–406.
6. Юсупов Р.Р., Шилин Ю.А., Каука А.И. К вопросу о промысловой мере североохотоморских камбал // Там же. — 2004. — Вып. 2. — С. 201–213.
7. Daniel N.G., Acuna E.I. Annual and batch fecundities of yellowfin sole, *Limanda aspera*, in the eastern Bering Sea // Fish. Bull. — 2001. — 99. — P. 108–122.
8. Grant W.S., Bakkala R., Utter F.M., Teel D.J., Kobayashi T. Biochemical genetic population structure of yellowfin sole, *Limanda aspera*, of the north Pacific Ocean and Bering Sea // Fish. Bull. — 1983. — 81, № 4. — P. 667–677.

9. Богданов Л.В. Анализ биохимического полиморфизма в естественных популяциях // Биологические основы рыбоводства: проблемы генетики и селекции. – Л.: Наука, 1983. – С. 70–83.
10. Коваль Е.З., Богданов Л.В. Сравнение электрофоретических спектров белков у разных видов дальневосточных камбал (Pleuronectiformes, Pleuronectidae) // Вопр. ихтиологии. – 1982. – 22, № 4. – С. 679–685.
11. Дьяков Ю.П., Коваль Е.З., Богданов Л.В. Внутривидовой биохимический полиморфизм и популяционная структура черного палтуса *Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum) (Pleuronectidae) в Беринговом и Охотском морях // Вопр. ихтиологии. – 1981. – 21, № 5. – С. 809–815.
12. Kartavtsev Y.P., Park T.-J., Lee J.-S., Vinnikov K.A., Ivankov V.N., Sharina S.N., Ponomarev A.S. Phylogenetic inferences introduced on cytochrome b gene sequences data for six flatfish species (Teleostei, Pleuronectidae) and species synonymy between representatives of genera *Pleuronectes* and *Hipoglossoides* from Far Eastern seas // Генетика. – 2008. – 44, № 4. – С. 524–531.
13. Borsa P., Blanquer A., Berrebi P. Genetic structure of the flounders *Platichthys flesus* and *P. stellatus* at different geographic scales // Marine Biol. – 1997. – 129, № 2. – P. 233–246.
14. Exadactylos A., Geffen A.J., Thorpe J.P. Population structure of the Dover sole, *Solea solea* L., in a background of high gene flow // J. Sea Res. – 1998. – 40(1/2). – P. 117–129.
15. Exadactylos A., Geffen A.J., Panagiotaki P., Thorpe J.P. Population structure of Dover sole *Solea solea*: RAPD and allozyme data indicate divergence in European stocks // Mar. Ecol. – 2003. – 246. – P. 253–264.
16. Gallequillos R.A., Ward R.D. Genetic and morphological divergence between populations of the flatfish *Platichthys flesus* (L.) (Pleuronectidae) // Biol. J. Linn. Soc. – 1982. – 17, № 4. – P. 395–408.
17. Hemmer-Hansen J., Nielsen E.E., Gronkjaer P., Loeschcke V. Evolutionary mechanisms shaping the genetic population structure of marine fishes; lessons from the European flounder (*Platichthys flesus* L.) // Mol. Ecol. – 2007. – 16, № 15. – P. 3104–3118.
18. Mork J., Haug T. Genetic variation in the halibut *Hippoglossus hippoglossus* from Norwegian waters // Hereditas (Lund). – 1983. – 98(2). – P. 167–174.
19. Purdom C.E., Thompson D., Dando P.R. Genetic analysis of enzyme polymorphisms in plaice *Pleuronectes platessa* // Heredity. – 1976. – 37(2). – P. 193–206.
20. Мусеев П.А. Треска и камбалы дальневосточных морей // Изв. ТИНРО. – 1953. – 40. – 288 с.
21. Фадеев Н.С. Справочник по биологии и промыслу рыб северной части Тихого океана. – Владивосток: ТИНРО-центр, 2005. – 366 с.
22. Manchenko G.P. Detection of enzymes on electrophoretic gels : A handbook. – CRC Press. Inc., Boca Raton, FL, 1994. – 440 p.
23. Shaklee J.B., Allendorf F.W., Morizot D.C., Whitt G.S. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish // Trans. Amer. Fish. Soc. – 1990. – 119, № 1. – P. 2–15.
24. Nei M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations // Ann. Hum. Genet. – 1977. – 41. – P. 225–233.
25. Nei M., Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics. – Oxford : Univ. press, 2000. – 329 p.
26. Chakraborty R., Leimar O. Genetic variation a subdivided population // Population genetics and fishery management – Washington : Univ. press, 1987. – P. 89–120.
27. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 269 с.
28. Swofford D.L., Selander R.B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // J. Heredity. – 1981. – 72. – P. 281–283.
29. Rogers J.S. Deriving phylogenetic trees from allele frequencies: a comparison of nine genetic distances // Syst. Zool. – 1986. – 35, № 3. – P. 297–310.

Поступила 16.06.10