

ВНУТРИВИДОВОЙ ПОЛИМОРФИЗМ ФРАГМЕНТА ГЕНА ЦИТОХРОМА b МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК КЕТЫ (*ONCORHYNCHUS KETA* WALBAUM) ИЗ РЕК ВОСТОЧНОЙ КАМЧАТКИ И СЕВЕРНОГО ПОБЕРЕЖЬЯ ОХОТСКОГО МОРЯ

Л.Т. Бачевская, В.В. Переверзева

Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, Магадан, Россия, e-mail: gekki54@mail.ru

Определена нуклеотидная последовательность фрагмента гена цитохрома b (*cytb*) и получены данные об изменчивости этого участка мтДНК у кеты из некоторых североохотоморских и восточнокамчатских популяций. Показано, что наименьшими значениями нуклеотидного (π) и гаплотипического (h) разнообразия характеризуется камчатская кета. Более высокий уровень генетического разнообразия, отмеченный у североохотоморских популяций, по-видимому, связан с историей их формирования и расселения. Отмечены статистически достоверные ($p < 0,001$) генетические различия (F_{st}) между исследованными группами популяций. Североохотоморская и восточнокамчатская популяции отличаются от популяции канадской кеты генотипически (по строению гена *cytb*) и последовательностью аминокислот изученного участка фермента.

Ключевые слова: кета (*Oncorhynchus keta*), популяции, молекулярные маркеры, ген цитохрома b, мтДНК.

Введение

Данные об изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК) находят широкое применение в популяционных и эволюционных исследованиях тихоокеанских лососей. Кета (*Oncorhynchus keta* Walbaum) не является исключением (Гинатулина, Машкин, 1990; Cronin *et al.*, 1993; Олейник, Полякова, 1994; Брыков и др., 2000, 2003; Sato *et al.*, 2001; Yoon *et al.*, 2005; Полякова и др., 2006; Савин и др., 2009). Интерес к ее исследованию вполне оправдан, так как имеет теоретическую значимость для понимания структуры и эволюции вида. Немаловажной является практическая направленность подобных исследований, связанных с проблемой идентификации и сертификации популяций. Несмотря на имеющиеся успехи в исследованиях внутривидовой структуры кеты с помощью молекулярно-генетических методов, поиск наиболее информативных маркеров по-прежнему актуален. Для внутривидовой дифференциации кеты в качестве маркера неоднократно был использован ген цитохрома b (*cytb*) – медленно

эволюционирующий участок митохондриального генома. Большинство работ в этом направлении связано с применением рестрикционного анализа. С его помощью при изучении участка гена *cytb* у кеты был обнаружен полиморфизм. Отмечено, что исследуемый регион мтДНК у лососевых рыб является вполне информативным (Радченко и др., 1997; Шпигальская и др., 2009). В последнее время все чаще применяется метод определения нуклеотидных последовательностей генома, дающий исчерпывающую информацию о его строении. Подобный подход в исследовании гена *cytb* мтДНК представляется перспективным, если учесть, что мутации, происходящие в консервативных участках генома (к их числу можно отнести ген *cytb*), являются относительно редкими событиями. Вероятность того, что в разных популяциях возможны одинаковые мутации, невелика. На этом основании можно предполагать, что мутации, обнаруженные в исследованном участке гена *cytb* мтДНК, могут отражать уникальность генофонда каждой популяции. Кета из рек северного побережья Охотского моря и Камчатки

в данном направлении практически не изучена. В настоящий момент известны результаты исследования, характеризующие нуклеотидную последовательность участка гена *cytb* мтДНК у кеты из р. Ола (Тауйская губа Охотского моря) (Бачевская, Переверзева, 2009). Все это определило цель данной работы, которая заключалась в оценке уровня полиморфизма участка гена цитохрома *b* мтДНК кеты из рек северного побережья Охотского моря и Камчатки и в выявлении межпопуляционной дифференцирующей способности указанного маркера.

Материалы и методы

В основу работы положены материалы, собранные в 1998–2009 гг. Исследованы выборки кеты из 4 североохотоморских и 2 восточнокамчатских популяций. Район сбора биологических проб представлен на рис. 1. Выделение и очистка ДНК проводились по модифицированному методу Флеминга и Кука (Fleming, Cook, 2002). Участок гена *cytb* митохондриального генома амплифицировался с использованием праймеров Lk14735 (5'-AAAAACCACCGTTGTTATTCAACTA-3') и H15149ad (5'-GCICCTCARAATGAYATTTGTCCT-3'). Полимеразная цепная реакция про-



Рис. 1. Географическая локализация выборок кеты.

водилась по методике, описанной Расселлом (Russell *et al.*, 2000). Выявление нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов мтДНК проведено по стандартной методике с использованием праймера Lk14735 наборов для циклического секвенирования ДНК Big Dye Terminator (Applied Biosystems, v. 3.1) и генетического анализатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Все нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank. Их номера представлены в табл. 1. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ MEGA-4 (Tamura *et al.*, 2007). Медианную сеть выявленных гаплотипов строили с помощью Network 4.5.1.0 (Bandelt *et al.*, 1999). Нуклеотидное (π) и гаплотипическое (h) разнообразие рассчитывали по Неи (Nei, 1987), использовали пакет программ ARLEQUIN 3.0 (Excoffier *et al.*, 2005). Для сравнительного анализа нуклеотидной последовательности *cytb* мтДНК, обнаруженной в исследованных популяциях кеты, были привлечены данные, ранее опубликованные Расселлом (Russell *et al.*, 2000).

Результаты и обсуждение

Определена нуклеотидная последовательность гена *cytb* у кеты из 6 популяций. Изученный фрагмент содержит 395 пар нуклеотидов (п.н.) и соответствует положению 15396–15790 п.н. полного генома мтДНК кеты GenBank, EF105341 (Chang *et al.*, 2007). В исследованных выборках было обнаружено 18 гаплотипов. В популяциях кеты отмечено характерное для морских видов рыб распределение гаплотипов, т. е. небольшое их число имели высокую частоту, другие варианты встречались редко (Avisé, 1994; Брыков, 2003). В данном случае всего три гаплотипа были представлены в выборках с относительно высокой частотой, остальные редко встречались или были уникальными. Так, например, отмечено своеобразие ольской популяции, которое заключалось в наличии особей с характерными только для нее гаплотипами: B2, B4, B5, B6, B9. У кеты р. Яна выявлены варианты: B12, B13, B14, B15, B16, а у производителей из р. Арманы: B17, B18. Наиболее частым вариантом, встречающимся во всех популяциях, является B1. Важно подчеркнуть, что обе выборки кеты из рек

Таблица 1

Частота гаплотипов мтДНК в популяциях кеты рек северного побережья Охотского моря и Камчатки

Гаплотип, № GenBank	Частота гаплотипов					
	р. Ола N = 151	р. Яма N = 50	р. Яна N = 50	р. Армань N = 61	р. Андриановка N = 23	р. Козыревка N = 28
B1 FJ887836	0,7351	0,7600	0,6800	0,5410	0,9565	1,0000
B2 FJ887842	0,0199	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B3 FJ887843	0,0795	0,0400	0,0600	0,1639	0,0000	0,0000
B4 FJ887840	0,0066	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B5 FJ887839	0,0066	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B6 FJ887844	0,0066	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B7 FJ887847	0,0993	0,1400	0,1400	0,1803	0,0000	0,0000
B8 FJ887846	0,0397	0,0200	0,0000	0,0328	0,0435	0,0000
B9 FJ887845	0,0066	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
B10 GQ131428	0,0000	0,0200	0,0200	0,0164	0,0000	0,0000
B11 GQ131426	0,0000	0,0200	0,0000	0,0164	0,0000	0,0000
B12 GQ131422	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
B13 GQ131424	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
B14 GQ131427	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
B15 GQ131423	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
B16 GQ131425	0,0000	0,0000	0,0200	0,0000	0,0000	0,0000
B17 GU251076	0,0000	0,0000	0,0000	0,0328	0,0000	0,0000
B18 GU251075	0,0000	0,0000	0,0000	0,0164	0,0000	0,0000

Камчатки были практически мономорфными и представлены в основном указанным гаплотипом. Только у одной особи из р. Андриановка обнаружен вариант В8, имеющий различную частоту в трех североохотоморских популяциях и не выявленный у кеты р. Яма (табл. 1).

Популяции кеты из рек материкового побережья Охотского моря имели общие гаплотипы: В1, В3, В7. Вариант В10 обнаружен во всех выборках кеты данного региона, кроме ольской. Носители остальных гаплотипов присутствовали в той или иной популяции с различной частотой (см. табл. 1). Выявленные нуклеотидные замены в гаплотипах анализируемого фрагмента гена *cytb* у кеты из некоторых рек материкового побережья Охотского моря и Камчатки представлены на рис. 2. Позиции переменных нуклеотидов проведены в сравнении с нуклеотидной последовательностью гаплотипа В1 (№ в GenBank FJ887836). Позиция первого нуклеотида соответствует сайту 15396 п.н.

полного мтДНК генома *Oncorhynchus keta* (№ в GenBank EF105341); 15396 п.н. соответствует 19 п.н. гена цитохрома *b*. В исследованных популяциях отмечены 2 транзиции по первому и 2 – по второму нуклеотиду, а также 9 транзиций в третьей позиции кодона. Варианты В8 и В9, обнаруженные у кеты из рек Яма, Ола, Армань, отличаются от наиболее распространенного гаплотипа В1 двумя транзициями в третьей позиции кодона. Кроме того, обнаружены две трансверсии, одна из них по второму, другая – по третьему нуклеотиду (см. рис. 2).

По принципу минимального числа нуклеотидных замен построена медианная сеть, отображающая характер взаимоотношений выявленных гаплотипов в генофондах популяций североохотоморской, восточнокамчатской и канадской кеты (рис. 3).

Все производные гаплотипы в основном происходят от одного варианта В1. Гаплотип В7 встречается с относительно высокой частотой в

B1	CCTCACTTGC TCCCCCCCAG ATTCTATGTA CTGAGTATAT ACCG
B2 C**^
B3 C
B4 G**^
B5 G
B6	A###^
B7 A
B8 A G
B9 T A
B10 C
B11 A
B12 C###
B13 G*^
B14 C*^
B15 A
B16 A
B17 C
B18 C
keta*	. T CT. TC*^.. T C*
kisutch	. . T C . . CA . CT T T T TTTCA . . C . C . A . C A . C . A . GG . C C TAA

Рис. 2. Гаплотипы фрагмента гена *cytb* мтДНК кеты из популяций рек Ола, Яма, Яна, Армань, Андриановка, Козыревка.

* Транзиция по первому нуклеотиду; ** транзиция по второму нуклеотиду; ## трансверсия по второму нуклеотиду; ### трансверсия по третьему нуклеотиду; ^ нуклеотидные замены, приводящие к изменению аминокислотного состава. Keta* – данные приводятся по: Russell *et al.*, 2000, *Oncorhynchus kisutch* GenBank GU391990 (Bachevskaya, Pereverzeva, 2010).

разных популяциях (табл. 1). Возможно, мутация, вызвавшая появление B7 у исследованной кеты, носит (на уровне генного гомеостаза) селективно-адаптивный характер, на что косвенно указывает частота встречаемости носителей этого гаплотипа. Последующие мутации в варианте B7 (дающие начало двум гаплотипам – B8 и B9), вероятно, неравноценны по селективно-адаптивной значимости: B9 отмечен только у одной особи ольской кеты, а B8 можно отнести к числу «частых» вариантов исследуемого фрагмента гена *cytb*. Он встречается как в североохотоморских (ольская, ямская, арманская), так и в восточнокамчатских (андриановская) популяциях кеты. Мутация, приводящая к появлению B9, очевидно, является дезадаптивной. Она снижает селективное преимущество качеств, полученных от родительского варианта B7. С другой стороны, наблюдаемое распре-

деление частот гаплотипов (за исключением доминирующего B1) может являться стохастическим. Сравнительный анализ литературных и полученных нами данных показал, что все гаплотипы исследованной кеты отличаются от варианта мтДНК, выявленного у канадских производителей, 2 транзициями по первому и 5 по третьему нуклеотиду кодонов. Отмеченные отличия определяют место гаплотипа канадской кеты в медианной сети (рис. 3).

В ходе исследований кеты была выявлена первичная структура участка белка *Cytb*, содержащего 131 аминокислоту. Обнаружены аминокислотные замены. Единичные замены нуклеотидов в гаплотипах B2, B4, B6, B13 и B14 привели к модификациям участка аминокислотной последовательности *Cytb*. Наиболее распространенный вариант белка *Cytb* кодируется остальными гаплотипами. Таким образом, у

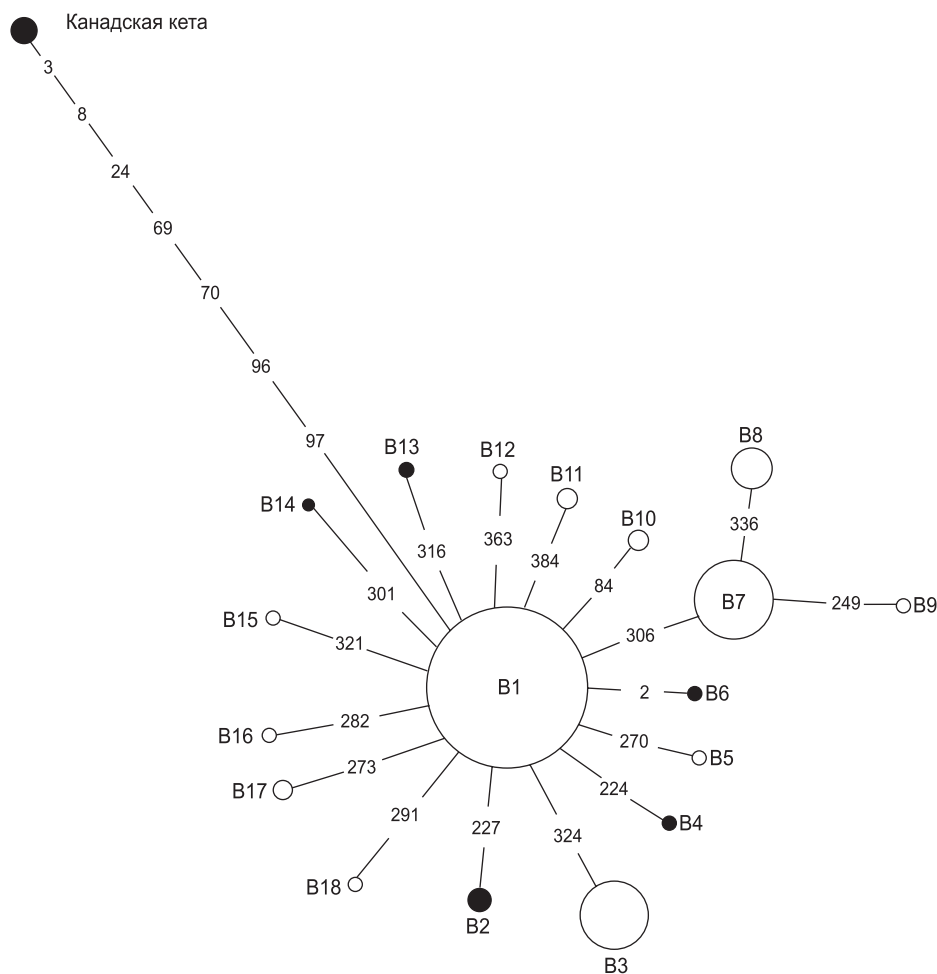


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов фрагмента гена *cytb* мтДНК в популяциях кеты некоторых рек материкового побережья Охотского моря, Камчатки, Канады.

Размер кругов пропорционален частоте встречаемости вариантов *cytb* мтДНК. Цифрами обозначены сайты мутаций относительно начала амплифицированного участка. B2, B4, B6, B13 и B14 – варианты, несущие аминокислотные замены.

кеты выявлено 6 вариантов исследуемого участка аминокислотной последовательности белка *Cytb*. Обнаруженные модификации аминокислотной последовательности белка *Cytb* встречаются (с различной частотой), причем только в популяциях кеты из рек Ола и Яна (табл. 2). Важно отметить, что сайты замен аминокислот полипептида, обнаруженные в вариантах B2, B4, равно как и в B13, B14, близко расположены. Кроме того, в гаплотипах B2 и B13 произошли замены неполярных аминокислот на полярные незаряженные. Несмотря на отмеченные факты, по-видимому, это мало сказалось на строении и функции белка. Для сравнительного анализа аминокислотной последовательности указанного фрагмента полипептида были привлечены

ранее опубликованные данные (Russell *et al.*, 2000). Это позволило отметить, что канадская кета отличается от исследованных нами выборок североохотоморских и камчатских популяций. Последние в 24-й позиции фрагмента белка *Cytb* содержат триптофан, а канадская – аргинин (см. табл. 2). Как отмечено выше, кета исследованного нами региона характеризуется 6 модификациями первичной структуры белка *Cytb*. В отличие от нее канадская кета менее разнообразна и представлена только одной его формой. Обнаруженная особенность аминокислотной последовательности фрагмента белка *Cytb* у кеты из исследованных популяций, по-видимому, может быть использована в качестве маркера для внутривидовой дифференциации

Таблица 2

Модификации аминокислотной последовательности белка Cytb в популяциях североохотоморской и восточнокамчатской кеты

Гаплотипы мтДНК, Локальность	Сайт замены нуклетид мтДНК	Нуклеотидная замена	Сайт замены аминокислот в полипептиде	Аминокислотная замена	Частота (F) вариантов белка Cytb
V1 (Ола, Яна)	–	–	–	–	F1 _{Ола} – 0,9669 F1 _{Яна} – 0,9600
V6 (Ола)	15397 ^{##}	цитозин на аденин	1	треонин на аспарагин	F2 _{Ола} – 0,0066
V4 (Ола)	15619 ^{**}	аденин на гуанин	75	аспарагин на серин	F3 _{Ола} – 0,0066
V2 (Ола)	15622 ^{**}	тимин на цитозин	76	изолейцин на треонин	F4 _{Ола} – 0,0199
V14 (Яна)	15696 [*]	тимин на цитозин	101	тирозин на гистидин	F5 _{Яна} – 0,0200
V13 (Яна)	15711 [*]	аденин на гуанин	106	треонин на аланин	F6 _{Яна} – 0,0200
Keta (Канада)	15465 [*]	тимин на цитозин	24	триптофан на аргинин	–

Обозначение замен в триплетях: * транзигция по первому нуклеотиду; ** транзигция по второму нуклеотиду; ## трансверсия по второму нуклеотиду. Сайты замены аминокислот представлены от начала исследуемого фрагмента полипептида Cytb.

кеты. Для подтверждения сделанного предположения необходимо расширение географии исследований.

Нами были рассчитаны величины нуклеотидного (π) и гаплотипического (h) разнообразия кеты (табл. 3). Известно, что при расселении вида происходит снижение уровня генетического разнообразия (эффект основателя) (Avice, 1994; Avice *et al.*, 1998). Среди исследованных популяций кета рек Яна и Армань имеет наиболее высокие значения нуклеотидного и гаплотипического разнообразия. Наименьшими значениями этих показателей характеризуется камчатская кета, которая ста-

тистически достоверно ($p < 0,05$) отличается от североохотоморской. По-видимому, более высокий уровень генетического разнообразия, отмеченный у североохотоморских популяций кеты, связан с историей их формирования и расселения. Рассматриваемые нами восточнокамчатские популяции, вероятно, могут быть отнесены к более поздним по происхождению, чем североохотоморские. Важно отметить, что исследования изменчивости контрольной области мтДНК кеты, проводимые В.А. Савиным с соавторами (2009), также показали, что камчатские популяции кеты менее разнообразны, чем североохотоморские. Наблюда-

Таблица 3

Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие кеты рек материкового побережья Охотского моря и Камчатки

Локальность (река)	N (шт.)	π	h	S	D	Pi
Ола	151	0,00144	0,4441	8	-1,3808	0,56689
Яма	50	0,00120	0,4082	5	-1,3973	0,47265
Яна	50	0,00530	0,5224	8	-1,8108*	0,60082
Армань	61	0,00214	0,6556	7	-1,1052	0,84699
Андриановка	23	0,00044	0,0870	1	-1,5140*	0,17391
Козыревка	28	0,00000	0,0000	0	0,0000	0,00000

Обозначения: S – число варибельных сайтов в исследуемом участке цитохрома b мтДНК; Pi – среднее число парных различий между гаплотипами; π – нуклеотидное разнообразие; h – гаплотипическое разнообразие; D – коэффициент теста Tajima. * $p < 0,05$.

емое своеобразие генетического облика кеты из рек Андриановка и Козыревка, вероятно, в значительной мере определяется эффектом «основателя». С другой стороны, в процессе становления восточнокамчатских популяций от небольшого количества особей за счет стохастических процессов (дрейф генов) могла произойти утрата ряда гаплотипов, что привело к снижению уровня генетического разнообразия (см. табл. 3). Преобладание одного общего (для североохотоморских и восточнокамчатских популяций) гаплотипа В1 дает основание предполагать существование общего источника при освоении видом данного региона. Тест Ф. Таджимы (Tajima, 1989) показал отклонение от нейтрального равновесия в некоторых популяциях. Тем не менее отрицательные значения D достоверны только для кеты рек Яна и Андриановка (см. табл. 3). Подобное проявление может быть связано с демографическими событиями в этих популяциях.

Наиболее ярко генетические связи и различия исследованной кеты могут быть представлены с помощью NJ-дендрограммы (метод ближайшего соседства). Известно, что NJ-метод позволяет корректно реконструировать филогенетические деревья при сравнении близкородственных популяций (Saitou, Imanishi, 1989). На рис. 4 показано, что кета из рек Камчатки на дендрограмме объединяется в общую кладу. В другой кластер объединяются североохотоморские популяции. Среди кеты, представляющей эту группу, четкой дивергенции по географической принадлежности не просматривается. Например, географически менее удаленные популяции кеты рек Яна и Армань оказались генетически более дистанцированными. При разложении генетической изменчивости исследованной кеты около 96 % приходится на внутривидовую

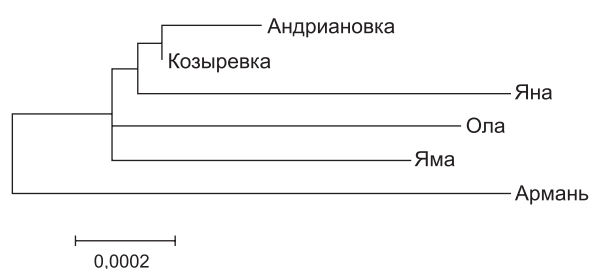


Рис. 4. Филогенетические отношения между исследованными популяциями кеты (NJ-дендрограмма).

лиционную и 0,56 % – на межпопуляционную изменчивость. Межгрупповая изменчивость (североохотоморской и восточнокамчатской кеты) составляет 3,44 %. Генетические различия (F_{st}) между этими группами популяций статистически достоверны ($p < 0,001$).

Таким образом, результаты, полученные при исследовании фрагмента гена *cytb* мтДНК, свидетельствуют о генетическом своеобразии региональных совокупностей популяций кеты и о возможности использования данного фрагмента в качестве маркера для внутривидовой дифференциации. Необходимо дальнейшее расширение географии исследований и накопление базы данных по изменчивости фрагмента гена *cytb* мтДНК кеты, что актуально не только для изучения популяционной структуры вида, но и для решения задач прикладного характера. Среди последних важнейшими являются определение принадлежности популяций к региональным стадам в смешанных уловах и экологическая сертификация популяций кеты российского Дальнего Востока.

Исследования частично финансировались грантом ДВО РАН (ГрА 09-III-A-06-219, 2009-2010).

Литература

- Бачевская Л.Т., Переверзева В.В. Генетическая изменчивость популяций кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) р. Ола (материковое побережье Охотского моря) // Чтения памяти академика К.В. Симакова: Тез. докл. Всерос. науч. конф. Магадан, 25–27 ноября 2009. Магадан: СВНЦ РАН, 2009. С. 156–157.
- Брыков В.А., Кирилова О.Н., Кухлевский А.Д. и др. Анализ изменчивости митохондриальной ДНК у кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в популяциях рек Приморья и Сахалина // Генетика. 2000. Т. 36. № 10. С. 1388–1393.
- Брыков В.А., Полякова Н.Е., Прохорова А.В. Филогеографический анализ кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) в азиатской части ареала, основанный на изменчивости митохондриальной ДНК // Генетика. 2003. Т. 39. № 1. С. 75–82.
- Гинатулина Л.К., Машкин С.А. Исследование внутривидового полиморфизма митохондриальной ДНК *Oncorhynchus keta* (Walbaum) из Приморья и Сахалина // Генетика. 1990. Т. 26. № 4. С. 729–738.
- Олейник А.Г., Полякова Н.Е. Рестриктазный анализ митохондриального генома лососевых рыб се-

- мейства Salmonidae // Генетика. 1994. Т. 30. № 9. С. 1202–1214.
- Полякова Н.Е., Семина В.А., Брыков В.А. Изменчивость митохондриальной ДНК *Oncorhynchus keta* (Walbaum) и ее связь с палеогеологическими событиями в северо-западной части Пацифики // Генетика. 2006. Т. 42. № 10. С. 1388–1396.
- Радченко О.А., Малярчук Б.А., Соловечук Л.Л. Сравнительный рестрикционный анализ сегмента гена цитохрома b у кижуча, кеты и горбуши // Генетика. 1997. Т. 33. № 4. С. 471–474.
- Савин В.А., Шпигальская Н.Ю., Варнавская Н.В. Межрегиональная и межпопуляционная изменчивость гаплотипов митохондриальной ДНК кеты *Oncorhynchus keta* (Walbaum) Азии // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана: Сб. науч. тр. Камчат. НИИ. рыб. хоз. и океанографии. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2009. Вып. 12. С. 16–32.
- 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. рыб. хоз. и океанографии. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО, 2009. Вып. 13. С. 74–87.
- Avise J.C. Molecular Markers, Natural History and Evolution. N.Y.; London: Chapman and Hall, 1994. 511 p.
- Avise J.C., Walker D., Johns G.C. Speciation durations and Pleistocene effect on vertebrate phylogeography // Proc. Roy. Soc. Lond. B. 1998. V. 265. P. 1707–1712.
- Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 37–48.
- Bachevskaya L.T., Pereverzeva V.V. GU391990 // GenBank. 2010.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinformatics Online. 2005. V. 1. P. 47–50.
- Chang H.-W., Tan K.-Y., Chou Y.C. EF105341 // GenBank. 2007.
- Cronin M.A., Spearman W.J., Wilmot R.L. et al. Mitochondrial DNA variation in Chinook salmon and chum salmon detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) product // Can. J. Fish. Aquat. Sci. 1993. V. 50. № 4. P. 708–715.
- Fleming M.A., Cook J.A. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska // Mol. Ecol. 2002. № 11. P. 795–807.
- Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987.
- Russell V.J., Hold G.L., Pryde S.E. et al. Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between salmon species // J. Agric. Food Chem. 2000. № 48. P. 2184–2188.
- Saitou N., Imanishi T. Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum-parsimony, maximum-likelihood, maximum-evolution, and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree // Mol. Biol. Evol. 1989. V. 6. P. 514–525.
- Sato S., Ando J., Urawa S. et al. Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region // Zool. Sci. 18. 2001. P. 99–106.
- Tamura K., Dudley J., Nei M. et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. P. 1596–1599.
- Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // Gen. Soc. Amer. 1989. P. 585–595.
- Yoon M., Sato S., Seeb J. E. et al. Genetic variation among chum salmon population in Pacific Rim inferred from mitochondrial and microsatellite DNA analyses // NPAFS Doc. № 898. 2005. 20 p.

**INTRAPOPOPULATION POLYMORPHISM OF A MITOCHONDRIAL
CYTOCHROME b GENE FRAGMENT IN CHUM SALMON
(*ONCORHYNCHUS KETA* WALBAUM) FROM THE RIVERS
OF EASTERN KAMCHATKA AND THE NORTHERN COAST
OF THE SEA OF OKHOTSK**

L.T. Bachevskaya, V.V. Pereverzeva

Institute of Biological Problems of the North, Far East Branch, Russian Academy of Sciences,
Magadan, Russia, e-mail: gekki54@mail.ru

Summary

Partial nucleotide sequences of the cytochrome b (*cytb*) gene were determined. Data on the variability of this mtDNA region in chum salmon from some northern Okhotsk and eastern Kamchatka populations were obtained. The lowest values of nucleotide (π) and haplotypic (h) variability were recorded in chum salmon from Kamchatka. The higher level of variability in northern Okhotsk sea populations may be related to the history of their formation and distribution. Statistically significant ($p < 0,001$) genetic differences (Fst) between the groups of populations were found. The northern Okhotsk and eastern Kamchatka populations, taken together, differ from Canada chum salmon in the structure of the *cytb* gene fragment and the corresponding amino acid sequence.

Key words: Chum salmon (*Oncorhynchus keta*), populations, molecular markers, cytochrome b gene, mtDNA.