

УДК 575.174; 597.553.2

О СОЗДАНИИ БАЗЫ ДНК-ДАНЫХ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ
ВОСПРОИЗВОДСТВА, ИДЕНТИФИКАЦИИ И СЕРТИФИКАЦИИ ПОПУЛЯЦИЙ
ТИХООКЕАНСКИХ ЛОСОСЕЙ НА ПРИМЕРЕ КЕТЫ О. ИТУРУП

Животовский Л.А.¹, Афанасьев К.И.¹, Рубцова Г.И.¹, Шитова М.В.¹,
Малинина Т.В.¹, Ракицкая Т.А.¹, Прохоровская В.Д.¹, Салменкова Е.А.¹,
Фёдорова Л.К.², Борзов С.И.³, Погодин В.П.⁴

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

² Отдел рыбоводства ЗАО «Гидрострой», Южно-Сахалинск, Сахалин

³ Рейдовая научно-исследовательская станция, ФГУ «Сахалинрыбвод», Итуруп

⁴ Курильский лососевый рыборазводный завод, Итуруп

ON DEVELOPMENT OF A DNA DATABASE FOR
REPRODUCTION, IDENTIFICATION AND CERTIFICATION OF POPULATIONS OF
PACIFIC SALMON: AN EXAMPLE FROM CHUM SALMON OF ITURUP ISLAND

Zhivotovsky L.A.¹, Afanasiev K.I.¹, Rubtsova G.A.¹, Shitova M.V.¹,
Malinina T.V.¹, Rakitskaya T.A.¹, Prokhorovskaya V.D. Salmenkova E.A.¹,
Fedorova L.K.², Borzov S.I.³, Pogodin V.P.⁴

¹ Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow

² Fish-breeding Division, ЗАО «Gidrostroy», Yuzhno-Sakhalinsk, Sakhalin

³ Scientific-research station «Reidovo», FGU «Sakhalinrybvod», Iturup

⁴ Hatchery «Kurilskiy», Iturup

РЕЗЮМЕ

Для решения проблем устойчивого воспроизводства лососей, идентификации стад и экологической сертификации важно знать наследственное своеобразие популяций. Для этого необходимо создать базу данных, содержащую генетические характеристики рыб исследуемых группировок. Среди возникающих при этом задач одна из ведущих – это разработка генетических методов, способных отличить одни популяции от других. Для её решения следует ответить на следующие основные вопросы: какие генетические маркеры

использовать, позволяют ли эти маркеры различать географически близкие стада и популяционные компоненты стада, как собирать биологический материал для такой базы данных? Исследовав, в качестве примера, стада кеты (*Oncorhynchus keta* W.) бассейнов рек Рейдовая и Курилка о. Итуруп в течение всего нерестового хода, мы показали, что они хорошо разделяются микросателлитными маркерами. В свою очередь, они отличаются от других стад кеты о. Итуруп. Сформулированы требования к популяционным базам ДНК-данных по тихоокеанским лососям в целях выявления генетической дифференциации. А именно:

- микросателлиты являются удобными генетическими маркерами для различения популяций;

- выборки должны браться как на естественных нерестовых участках, так и забойках рыбопроизводных заводов, с учетом пространственной и временной структуры стада;

- каждая точка сбора должна характеризоваться несколькими выборками (по крайней мере, в начале, середине и конце рунного хода),

- объем каждой выборки должен быть не меньше 50-100 особей;

- сбор образцов для генотипирования важно совмещать с биологическим анализом исследуемых рыб – определением пола, возраста и других характеристик.

RESUME

Sustainable reproduction, stock identification, and ecological certification of fishery need knowledge of inherited features of populations. This requires a database that includes genetic data on stocks involved. One of the leading aims of such a database is a possibility to genetically distinguish populations. Then the following principal questions arise: What genetic markers should be used; Do these markers allow to distinguish geographically closed stocks and their components; How to sample for the purposes of such a database? As an example, we studied two stocks of chum salmon (*Oncorhynchus keta* W.), one from the Kurilka River and the other from the Reidovaya River system, the Iturup Island, during the period of spawning run. It was shown that the stocks are well distinguished from each other using microsatellite markers. In turn, these stocks differ from

other chum salmon populations of Iturup Island. The results of the study suggest the following requirements for DNA databases on Pacific salmon to establish genetic differentiation:

- microsatellites are suitable markers for distinguishing populations;
- in a given river basin, biological samples ought to be taken from natural spawning locations, and from enhanced components of the stock as well (hatcheries, etc.), following the spatial and temporal structure of the stock;
- at each location of collecting biological material, more than one population sample ought to be taken (at least, in the beginning, in the middle, and in the end of the spawning run);
- the size of each sample should be not less than 50-100 fish;
- additionally to genotyping, determining the age, sex and other biological characters of fish sampled is important for detailed population-genetic analysis.

ПРОБЛЕМА

Для решения проблем воспроизводства лососей, идентификации стад и экологической сертификации важно знать наследственное своеобразие популяций. Одним из требований, предъявляемых к оцениваемым объектам и процедурам рыболовства, является знание генетических особенностей исследуемых стад и умение различать их популяционные компоненты. Это диктует необходимость создания баз данных, содержащих генетические характеристики рыб различных группировок.

Среди задач, призванных решаться с использованием таких баз данных, одна из ведущих – это разработка методов, способных отличить одни популяции от других. Для достижения этой цели следует ответить на следующие основные вопросы. Первый: какие генетические маркеры использовать? Второй: позволяют ли эти маркеры различать географически близкие стада и популяционные компоненты стад? Третий: как собирать биологический материал для такой базы данных? В настоящее время в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН создается база ДНК-данных по тихоокеанским лососям, в частности по кете, на примере которой мы рассматриваем эти вопросы.

Кета (*Oncorhynchus keta* W.) широко распространена в северной части Тихого океана, а среди лососей Российского Дальнего Востока занимает второе место после

наиболее подходящих генетических маркеров, однако для решения проблем воспроизводства, идентификации и сертификации нескольких стад лососей, даже в пределах небольшого региона, следует развивать большой набор микросателлитных локусов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стада кеты Рейдового и Курильского ЛРЗ четко различаются по микросателлитным маркерам, что свидетельствует об их популяционной самостоятельности. В свою очередь, они значительно отличаются от кеты других исследованных бассейнов Итурупа. Это является основой для их идентификации в смешанных морских уловах и для сертификации деятельности по их воспроизводству и вылову. Дальнейшее уточнение должно идти по пути увеличения числа вовлекаемых в исследование локусов, поскольку имеются популяционно-специфичные наборы локусов.

Выявленная нами дифференциация географически близких популяций вероятно вызвана высоким хомингом кеты. Поэтому для нерки и чавычи также следует ожидать хорошего разрешения подобных межпопуляционных различий. Что касается горбуши, то ввиду большего стрэинга (Глубоковский, Животовский, 1986) у этого вида не ожидается столь заметной генетической дифференциации как у кеты, тем более что у горбуши имеется много микросателлитных нуль-аллелей, затрудняющих интерпретацию полученных генетических данных (A.Gharrett, личное сообщ.). Это диктует необходимость тщательной разработки методов анализа микросателлитных локусов горбуши, что даст возможность дифференцировать, по крайней мере, большие региональные стада этого вида.

Наше исследование позволяет сформулировать следующие принципы популяционно-генетических исследований тихоокеанских лососей при создании популяционных баз ДНК-данных, ориентированных на задачи воспроизводства, генетической идентификации и сертификации популяций лососей.

1). Каждая популяция должна характеризоваться рядом выборок, взятых с учетом пространственной и временной структуры стада: в течение нерестового хода (по крайней

мере, выборки из начала, середины и конца хода), речные и озерные формы, сезонные формы, на забойках рыбоводных заводов и на нерестилищах и т.п.

2). Объём каждой выборки должен быть не менее 50-100 особей.

3). Генотипирование выборок должно быть обязательно совмещено с их биологическим анализом, по крайней мере с определением пола и возраста.

4). Наиболее подходящими генетическими маркерами в целях дифференциации популяций являются микросателлиты. Именно на них следует в первую очередь направить работу по созданию референтных баз генетических данных по тихоокеанским лососям; при этом использование других типов генетического полиморфизма (мононуклеотидных замен – SNP, рестрикционных фрагментов и нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК и ядерных генов, фингерпринтов, аллозимов) может принести важную дополнительную информацию.

5). В целях создания надёжной базы генетических данных по стадам лососей следует наращивать число вовлекаемых генетических локусов, тем более что для каждой группы популяций дифференцирующим может оказаться свой специфический набор маркеров.