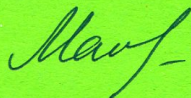


На правах рукописи



МАКЕЕНКО Галина Анатольевна

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ АТЛАНТИЧЕСКОЙ ТРЕСКИ
(*GADUS MORHUA* L.) НА СЕВЕРО-ВОСТОКЕ АРЕАЛА**

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2016

Работа выполнена в лаборатории молекулярной генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»

Научный руководитель: кандидат биологических наук **Зеленина Дарья Александровна**

Официальные оппоненты: доктор биологических наук **Политов Дмитрий Владиславович**, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, заведующий лабораторией популяционной генетики

кандидат биологических наук **Лёвин Борис Александрович**, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии рыб

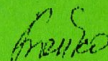
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Национальный научный центр морской биологии" Дальневосточного отделения Российской академии наук

Защита состоится «01» марта 2017 г. в 16 часов на заседании диссертационного совета Д 002.238.01 в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН по адресу: 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН: <http://idbras.ru/>.

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук

 О.В. Бойко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Исследования популяционной структуры океанических видов рыб представляет интерес в связи с тем, что наряду с высоким внутривидовым полиморфизмом им нередко свойственна нечетко выраженная популяционная подразделенность. По совокупности морфологических признаков и ряда других критериев исследователи зачастую выделяют отдельные группировки рыб, генетическая обособленность которых не очевидна.

Атлантическая треска (*Gadus morhua* L.) образует большое количество форм на видовом, подвидовом и популяционном уровнях. Крупнейшей единицей является популяция северо-восточной арктической трески – объект промысла в Баренцевом, Норвежском и Гренландском морях, важный элемент продовольственной безопасности России и ключевой компонент экосистемы этих морей.

Результаты исследований внутривидовой структуры северо-восточной арктической трески очень обширны. В ряде работ показано, что треска характеризуется однородностью по морфологическим, паразитологическим и другим критериям (Карасев, 1998; Борисов и др., 1999). В других работах отмечается подразделенность особей на обособленные группировки, выделяемые по размерам рыбы, форме отолигов, протяженности миграций и срокам наступления половозрелости (Глебов, 1963; Løken et al., 1994). Примерами таких группировок может служить треска, обитающая в губе Ура (жилая форма, называемая «ту-рянка») на побережье Кольского полуострова, а также во фьордах Норвегии, где она обитает и вылавливается круглогодично.

В течение длительного периода предпринимаются попытки выработать критерии для подтверждения разделения группировок трески открытой части моря и фьордов (Høyen, 1962, 1964; Godø, 1986; Pogson et al, 1995). По аналогии с норвежской прибрежной треской в районах Баренцева моря около побережья Кольского полуострова выделяют популяцию «мурманской» трески (Манкевич, 1960). На вылов особей, обитающих в прибрежных водах, ежегодная квота составляет 21 тыс. т из общего допустимого улова. Вместе с тем, выделение прибрежных популяций трески обосновано недостаточно, поскольку репродуктивная обособленность этих группировок не подтверждена, а используемые для разделения критерии допускают двоякое толкование результатов.

В последние десятилетия в исследованиях атлантической трески стали активно использоваться генетические методы, поскольку согласно современным представлениям генетическая изменчивость является одним из важнейших факторов, определяющих скорость и направление эволюции видов и популяций. Однако изучение внутривидовой структуры трески Баренцева моря с применением методов анализа полиморфизма ДНК-локусов велось фрагментарно и поэтому не давало общего представления о генетической структуре популяции и путях ее происхождения.

Наиболее часто для разделения океанической и прибрежной трески исследователи применяют ядерные маркеры: микросателлитные локусы и ген панто-

физина (*Pan I*), которые дифференцируют популяции атлантической трески на небольших географических расстояниях (Pogson et al., 1995; Evolden, Pogson, 1997; Delghandi et al., 2003). Именно этот тип генетических маркеров использован в работе.

Проведенный сравнительный анализ трески, выловленной в глубоких губах на побережье Кольского полуострова Ура и Ивановская с треской, выловленной в открытом море, позволил уточнить популяционный статус прибрежной трески и предложить механизм образования жилых форм.

Подвид атлантической трески в Белом море (*Gadus morhua marisalbi* Derjugin 1920) имеет меньшее промысловое значение, но представляет научный интерес в качестве объекта изучения адаптаций организмов к обитанию в условиях отрицательных температур, таксономического и филогеографического статусов в популяционной структуре атлантической трески и путей ее расселения. В настоящее время в международной базе данных FishBase (<http://www.fishbase.org/summary/Gadus-ogac.html>) и классификации ФАО (Cohen et al., 1990) треску Белого моря относят к виду *Gadus ogac*. На основании сравнительного анализа последовательностей полной митохондриальной ДНК была показана близость тихоокеанской и гренландской трески (Coulson et al., 2006), и обосновано отнесение последней к роду *G. macrocephalus* в статусе подвида (*G. macrocephalus ogac*), однако таксономическое положение беломорской трески в данной работе не рассматривалось. Близость гренландской и тихоокеанской трески также была подтверждена как на основании морфологического анализа (Евсеев и др., 2006), так и по изменчивости микросателлитных и аллозимных локусов (Строганов и др., 2011; Строганов, 2014). В то же время в последней версии электронного каталога рыб Калифорнийской академии наук беломорская треска рассматривается как подвид атлантической трески *Gadus morhua marisalbi* (Eschmeyer, Fricke, 2015).

В представленной работе исследован полиморфизм последовательности фрагмента гена цитохрома b (*CytB*) мтДНК у баренцевоморской трески из ряда промысловых районов и прибрежных губ, а также у беломорской трески, для которой были уточнены таксономический и филогеографический статусы.

Применение современных генетических методов для детального исследования популяционной структуры северо-восточной арктической трески является весьма актуальным и востребованным в настоящее время при изучении внутривидовой структуры атлантической трески, разработке мер по организации рационального промысла в Баренцевом и смежных морях, а также при развитии региональной марикультуры.

Цель и задачи исследования. Цель работы – исследование внутривидовой изменчивости атлантической трески (*Gadus morhua* L.) в северо-восточной части ее ареала с использованием митохондриальных и ядерных ДНК-маркеров.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. изучить вариабельность митохондриального гена цитохрома b (*CytB*) у трески Баренцева и Белого морей и выявить филогеографические связи атлантической трески из различных частей ареала;

2. провести сравнительную оценку генетического разнообразия трески в районах нагула по селективно-нейтральным ядерным микросателлитным локусам;

3. оценить адаптивные свойства локуса пантофизина (*Pan I*) в зависимости от сезона, глубины вылова, придонной температуры воды на разных стадиях жизненного цикла северо-восточной арктической трески;

4. изучить генетический полиморфизм трески, обитающей в губах побережья Кольского полуострова (Ура и Ивановская);

5. уточнить таксономический и филогенетический статус и степень обособленности трески Белого моря по полиморфизму ДНК-маркеров;

6. дать характеристику генетической изменчивости и подразделенности трески Баренцева моря из промысловых районов открытой части моря и прибрежных вод.

Научная новизна исследования. Впервые проведено комплексное исследование трески Баренцева моря и смежных вод с использованием современных генетических методов – анализа полиморфизма митохондриальной и ядерной ДНК. Изучены филогеографические связи атлантической трески на северо-востоке ареала. Охарактеризованы распределение и выживаемость трески с различным генотипом по адаптивному локусу *Pan I* в зависимости от условий ее обитания. Подтверждено отсутствие популяционной подразделенности северо-восточной арктической трески.

Теоретическая и практическая значимость работы. В результате проведенных исследований расширены представления о внутривидовой структуре трески Баренцева и Белого морей. Полученные результаты могут быть использованы для создания баз данных по генетическим маркерам, идентификации и мониторинга популяционных процессов, а также сохранения генетического разнообразия в условиях активной антропогенной деятельности в морях Арктического региона.

Полученные данные об отсутствии популяционной подразделенности у северо-восточной арктической трески, обитающей в прибрежных водах Кольского полуострова и в открытой части Баренцева моря, могут быть использованы при разработках стратегии управления промысловым запасом. Полученные результаты имеют значение для региональной марикультуры при организации предприятий по воспроизводству и созданию маточных стад трески.

Положения, выносимые на защиту.

1. Атлантическая треска в Баренцевом море и прилегающих районах Норвежского и Гренландского морей является генетически единой популяцией, но может образовывать частично изолированные жилые формы, обитающие в губах на побережье, генетически отличающиеся как от основной популяции, так и между собой.

2. На распределение трески по локусу пантофизина оказывает влияние направленный отбор в период оседания молоди в зависимости от глубины в районе оседания.

3. Треска Белого моря является подвидом атлантической трески, генетически изолированным от трески Баренцева моря.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в сборе материалов, проведении лабораторных исследований, статистической обработке и анализе результатов. Диссертация написана автором лично с использованием результатов, полученных в совместных экспериментах с сотрудниками лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО». Процент личного участия в экспериментальных исследованиях составил не менее 90%.

Степень достоверности результатов определяется применением современного сертифицированного аналитического оборудования, а также стандартных статистических методов обработки данных.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены и обсуждены на следующих конференциях: Всероссийская конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 125-летию со дня рождения И.И. Месяцева (Мурманск, 2010); II научно-практическая конференция молодых ученых «Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса» (Москва, 2011); Международная научно-техническая конференция «Наука и образование – 2012» (Мурманск, 2012); Всероссийская конференция молодых ученых и специалистов с международным участием, посвященная 90-летию со дня постройки первого научно-исследовательского судна ПИНРО "Персей" (Мурманск, 2012); Третья научно-практическая конференция молодых ученых ФГУП "ВНИРО" «Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса» (Москва, 2012); Ежегодная научная конференция ИКЕС (Берген, 2012); XXIX Международная конференция «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера» (Мурманск, 2013), XXXI конференция молодых ученых Мурманского морского биологического института, посвященная 135-летию со дня рождения К.М. Дерюгина "Океанография и биология арктических морей" (Мурманск, 2013), и 1-я Международная конференция молодых ученых «Проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса на современном этапе» (Мурманск, 2014).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 2 статьи в журналах, соответствующих перечню ВАК, 9 тезисов докладов и материалов конференций.

Структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 125 страницах, содержит 19 рисунков, 21 таблицу и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы и список литературы. Библиография включает 180 источников, в том числе 81 – на иностранных языках.

Благодарность. Особая признательность научному руководителю, Зелениной Д.А., за всестороннюю помощь и советы на всех этапах работы. Автор выражает большую благодарность всем коллегам из ФГБНУ «ПИНРО», принимавшим участие в сборах и первичной обработке биологических материалов в ходе тралово-акустических съемках, проводимых ФГБНУ «ПИНРО», и в промысловых экспедициях. Особая признательность ведущему сотруднику лаборатории донных рыб Северо-Европейского бассейна д.б.н. Ярагиной Н.А. за тщательный разбор работы при рецензировании, а также заведующей лаборато-

рии болезней промысловых гидробионтов к.б.н. Карасевой Т.А. за помощь и рекомендации в ходе проведения исследования. Автор признателен заведующему лаборатории к.б.н. Мюге Н.С. за ценные консультации при анализе результатов, старшему научному сотруднику Волкову А.А. за помощь в освоении методик и всему коллективу лаборатории Молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО» за помощь при выполнении работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В разделе «Введение» обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи, а также определены основные направления исследования.

В главе «Обзор литературы по теме» охарактеризованы условия обитания трески в Баренцевом, Норвежском, Гренландском и Белом морях. Показано влияние различных океанографических факторов на разных этапах жизни трески. Дано описание биологии трески и ее жизненного цикла, а также обзор истории изучения ее популяционной структуры. Охарактеризованы использованные в работе генетические маркеры.

В главе «Материалы и методы исследования» приводится характеристика материала и методов исследования. Сбор материала проводился в 2009-2015 гг. в ходе многовидовых тралово-акустических съемок Баренцева моря, выполняемых ПИНРО, а также в экспедиционных работах на побережье Баренцева и Белого морей. Объект изучения – северо-восточной арктическая и беломорская треска. Всего было изучено 2617 особей, выловленных в различных районах моря в разные сезоны года (табл. 1). Сбор материала для генетического анализа совмещался со взятием возрастной пробы. Фрагмент грудного плавника, размером 1 см² фиксировался в 96%-ном этиловом спирте в соотношении 1:5. Обработка и анализ материалов проведены на базе лаборатории молекулярной генетики ВНИРО стандартными методами исследования. Выделение тотальной ДНК проводили методами: солевой экстракции (Aljanabi, 1997); фенольно-хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом (Маниатис, 1984); с помощью набора для выделения ДНК «WizardSV 96 Genomic DNA Purification System» (Promega, США), согласно протоколу фирмы-изготовителя; на сорбционных колонках (PALL, США) (Ivanova et al., 2007).

Секвенирование мтДНК. Реакцию амплификации проводили в объеме 15 мкл (30 mM Tris-HCl, pH 8,6, 16,6 mM (NH₄)₂SO₄, 2,5 mM MgCl₂, по 0,6 mM dNTP, по 3 pM каждого праймера, 100 нг ДНК и 0,5 ед. Taq-полимеразы (Силекс, Россия)) по следующей схеме: предварительная денатурация ДНК (95 °C, 2 мин); синтез ПЦР-продуктов (50 циклов) (плавление – 92 °C, 15 с; отжиг праймеров/синтез ДНК – 65 °C, 2 мин); окончательная достройка цепей (72 °C, 5 мин). Для постановки ПЦР использовали праймеры Gm14332 AARARCCAC-CGTTGTTATTCAACTA и Gm15524 CGGTTTACAAGRCCGGY GCTYTT. Исследуемый фрагмент соответствует положению 14440-15369 п.н. полного генома мтДНК атлантической трески (GenBank, # X99772) (позициям 57-1026 п.н. гена *CytB*). Секвенирование проводилось с тех же праймеров в обоих

Таблица 1. Районы, период сбора и количество проанализированных образцов трески

Район	Период сбора	Условное обозначение выборки	Кол-во образцов, исследованных по каждому типу локусов		
			Cyt B	Микросателлиты	Pan I
Восточные районы					
Вайгачский район	Август 2012 г.	Vg-sm12			16
Канино-Колгуевское мелководье	Декабрь 2009 г.	KKM-9	2		49
	Декабрь 2010 г.	KKM-10			30
	Декабрь 2011 г.	KKM-11			48
Канинская банка	Ноябрь 2009 г.	KnB-9	20	48	48
	Декабрь 2010 г.	KnB-10			10
	Декабрь 2011 г.	KnB-11			48
Южный склон Новоземельского мелководья	Декабрь 2009 г.	YNM-9			47
	Август 2012 г.	YNM-sm12		32	16
Центральные районы					
Северный склон Гусиной банки	Декабрь 2009 г.	SGB-9			45
	Декабрь 2010 г.	SGB-10			36
Северный склон Новоземельского мелководья	Декабрь 2009 г.	SNM-9		48	48
	Декабрь 2010 г.	SNM-10			10
	Декабрь 2011 г.	SNM-11			56
Центральный желоб	Декабрь 2010 г.	CZh-10	22	48	48
Прибрежные районы					
Восточный Прибрежный	Декабрь 2009 г.	VPr-9		48	48
	Февраль 2010 г.	VPr-sp10			34
	Декабрь 2011 г.	VPr-11			44
Западный Прибрежный	Декабрь 2009 г.	ZPr-9		48	48
	Февраль 2010 г.	ZPr-sp10			20
	Декабрь 2011 г.	ZPr-11			49
	Август 2012 г.	ZPr-sm12			31
Кильдинская банка	Декабрь 2009 г.	KIB-9			46
	Февраль 2011 г.	KIB-sp11			13
Западные районы					
Норвежский желоб	Ноябрь 2009 г.	NZh-9			14
	Декабрь 2010 г.	NZh-10			46
	Ноябрь 2011 г.	NZh-11			35
Нордкинская банка	Декабрь 2009 г.	NdB-9			47
Финмаркенская банка	Ноябрь 2009 г.	FnB-9			45
	Ноябрь 2011 г.	FnB-11		32	32
Побережье Норвегии					
Побережье Норвегии (банки Фулей и Сёре)	Декабрь 2009 г.	FSB-9			33
	Март 2010 г.	FSB-sp10			51
	Декабрь 2011 г.	FSB-11			25
Сёре банка	Декабрь 2010 г.	SB-10	24	32	47

Продолжение табл. 1

Северо-Западные районы					
Возвышенность Персея	Ноябрь 2009 г.	VPer-9		48	48
	Сентябрь 2011 г.	VPer-sm11			18
	Сентябрь 2012 г.	VPer-sm12			31
Восточный склон Медвежьинской банки	Ноябрь 2010 г.	VMd-10		48	48
Западный Шпицберген	Ноябрь 2009 г.	ZSh-9		48	67
	Ноябрь 2010 г.	ZSh-10	22	96	96
Район Копытова	Ноябрь 2009 г.	Kop-9		48	57
	Ноябрь 2010 г.	Kop-10			48
	Март 2011 г.	Kop-sp11-1	2	48	48
	Март 2011 г.	Kop-sp11-2		48	48
Центральная возвышенность	Декабрь 2009 г.	CVoz-9			47
Северо-Восточные районы					
Земля Франца-Иосифа	Сентябрь 2010 г.	ZFI-sm10		48	48
Новоземельская банка	Сентябрь 2010 г.	NZem-sm10			19
	Сентябрь 2011 г.	NZem-sm11			45
	Декабрь 2011 г.	NZem-11			10
Прибрежные воды Кольского п-ова					
Губы Западного Мурмана	Август 2009 г.	ZpMur-sm9			42
Мотовский залив	Май 2011 г.	MotZ	4	41	109
	Сентябрь 2011 г.				
	Май 2012 г.				
Губа Ура	Май 2011 г.	Ura	8	10	83
	Сентябрь 2011 г.				
	Май 2012 г.				
	Май 2012 г.	Tur-sp12			
Губы Восточного Мурмана	Июль 2009 г.	VMur-sm9			24
Губа Ивановская	Декабрь 2008 г.	Ivan-8	31	38	34
Молодь трески 1-го года жизни					
Возвышенность Персея	Сентябрь 2012 г.	VPer-seg-sm12			14
	Сентябрь 2014 г.	VPer-seg-sm14			36
Западный Прибрежный	Декабрь 2011 г.	ZPr-seg11			21
	Август 2012 г.	ZPr-seg-sm12			31
	Август 2014 г.	ZPr-seg-sm14			22
	Февраль 2015 г.	ZPr-seg15			27
Восточный Прибрежный	Февраль 2015 г.	VPr-seg15			27
Западный Шпицберген	Ноябрь 2011 г.	ZSh-seg-11			18
Канино-Колгуевское мелководье	Декабрь 2011 г.	KKM-seg11			5
	Август 2012 г.	KKM-seg12			12
	Август 2014 г.	KKM-seg-sm14			25
Центральный желоб	Сентябрь 2012 г.	CZh-seg-sm12			16
Центральная возвышенность	Декабрь 2014 г.	CVoz-seg14			11

Продолжение табл. 1

Южный склон Новоземельского мелководья	Август 2012 г.	YNM-seg-sm12			18
Белое море	Август 2009 г. Июль 2011 г.	WS	38	56	61
Всего			173	960	2587

направлениях на амплификаторе ABI Prism 3130xl (Life Technologies, США) с использованием набора для секвенирования BigDye v1.1 (Applied Biosystems, США).

Обработку хроматограмм и множественное выравнивание последовательностей проводили в пакете программ Geneious 6.0.5 (Kearse et al., 2012). Для анализа и представления филогенетических отношений между гаплотипами использовали метод максимальной экономии (Templeton et al., 1992), реализованный в программе TCS (Clement et al., 2000). Генетический полиморфизм, уровень дифференциации выборок с использованием точного критерия Фишера и распределение попарных расстояний между гаплотипами оценивали в программе Arlequin v.3.5.1.3 (Excoffier, Lischer, 2010). Филогенетическое дерево было построено с помощью программы Geneious 6.0.5 на основании алгоритма максимального правдоподобия (Guindon, Gascuel, 2003). Всего проанализированы последовательности участка гена *CytB* у 173 особей трески.

Микросателлитный анализ. В работе исследовали полиморфизм восьми микросателлитных локусов у 960 особей (Characterization of 18 new..., 2008). Реакцию амплификации проводили в объеме 15 мкл (70 мМ трис-НСl, pH 8,3; 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄; 2 мМ MgCl₂; смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (dNTPmix) – по 0,6 мМ каждого; 100 нг ДНК; по 1 пМ прямого и обратного праймеров; 1 ед. HotTaq-polymerase («Силекс», Россия) по следующей схеме: предварительная денатурация (95 °С, 1 мин); синтез ПЦР-продуктов (30 циклов): плавление (94 °С, 1 мин), отжиг праймеров (56 °С, 1 мин), элонгация (72 °С, 15 с); окончательная достройка цепей (72 °С, 5 мин). 5'-конец одного из праймеров в каждой паре был модифицирован флуоресцентным красителем:

PGmo61 (F: R6G-TAACACAGAAGCAGCAGATGG; R: GCCAAGCACAAGTTAATTGCC), PGmo74 (F: R6G-TGTCCATCTGCATCACTCTC, R: TGCAGAAGAGGCTTATGCAC), PGmo97 (F: R6G-GGGCTGGTGAACACAGAGG, R: AACGTTTGAGCTTCGTCTTAC), PGmo100 (F: TAMRA-TCCTCTGGCTCTGAGCTTTC, R: ACTACAGTTGTGCGTCTGCTC), PGmo104 (F: FAM-AGTAATTTACCCTGAAACAACAAC, R: CAAGACACACACGGATG), PGmo105 (F: FAM-CTGTCCCCCGTAGTTCATCC, R: GGCATGATGCCCATGCAG), PGmo118 (F: FAM-GAAGGAAGCCCAAGATGGAG, R: TTAAGTGCCTCCACGCTTTG), PGmo124 (F: TAMRA-AAACACAGACGGAAGTATTTGG R: CAAAGTCATGACAGCAG).

Разделение продуктов амплификации локусов осуществляли с использованием системы для капиллярного электрофореза «ABI 3130xl Genetic analyzer» (Applied Biosystems, США). В качестве внутреннего стандарта длин фрагментов ДНК использовали маркер, модифицированный флуоресцентным красителем ROX. Определение длин аллелей проводили с применением программного обеспечения «Gene Marker Software» (Soft Genetics, США),

статистические расчеты проведены в программе GenAlEx 6 (Peakall, 2006).

Методика исследования локуса *Pan I*. Для реакции амплификации разработаны аллель-специфичные праймеры: PanI_B CAGCATCCTTACAATGTCCSTGA, PanI_A GCAGCATCCTTACCAAGTCCCTAC и PanI_R GCCGGCCCCAGAATGAAAG. Амплификацию проводили в объеме 15 мкл: 70 мМ Трис-НСl (pH 8,6); 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄; 2,5 мМ MgCl₂; по 0,6 мМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата (dNTPmix); по 3 пМ прямого и обратного праймеров; 50-100 нг ДНК-матрицы; 0,5 единицы Taq-polymerase (Силекс, Россия) по схеме: предварительная денатурация ДНК (95 °С, 10 мин); синтез ПЦР-продуктов (25 циклов) (плавление – 94 °С, 1 мин, отжиг праймеров – 56 °С, 15 с, синтез ДНК – 72 °С, 15 с); окончательная достройка цепей (72 °С, 10 мин).

Электрофоретический анализ ПЦР-продуктов проводили в 2%-ном агарозном геле. Генотипирование осуществляли на основании присутствия ПЦР-продуктов, соответствующих каждому из аллельных вариантов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полиморфизм локуса цитохрома b (*CytB*) мтДНК трески. В результате сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *CytB* длиной 970 п.н. у 173 особей трески, выявлено 67 гаплотипов NEAC_1-NEAC_67 (депонированы в GenBank Acc ## KP987458-KP987524). Отмечен высокий нуклеотидный полиморфизм гена цитохрома b при этом из 64 выявленных полиморфных сайтов, только в трех замены являются несинонимичными.

На акватории Баренцева моря, включая губы на побережье, наиболее массовым гаплотипом является NEAC_7 (8,7% от всех рыб). В губе Ивановская практически вся треска имела гаплотип NEAC_2 (97%). У трески Белого моря выявлены 11 уникальных гаплотипов: NEAC_50-NEAC_54 и NEAC_57-NEAC_62 и 7 гаплотипов общих с треской Баренцева моря. Для сравнительного анализа нами использованы последовательности гена *CytB* из 26 полных геномов мтДНК трески Северо-западной Атлантики (GenBank ## EU877710-EU877735, Carr, Marshall, 2008). При анализе последовательностей гена *CytB* 26 особей трески из северо-западной части Атлантики (Carr, Marshall, 2008) было выявлено 17 гаплотипов, из которых 12 не были обнаружены на северо-востоке ареала, т.е. во всей совокупности образцов представлено 79 гаплотипа.

Попарные сравнения выборок трески, выполненные с использованием точного критерия Фишера, отражают статистически значимые отличия трески северо-восточной арктической трески от трески из районов Северо-Западной Атлантики (от 0 до 0,04) и Белого моря (от 0 до 0,03), а также высокую степень сходства особей трески из Баренцева моря (от 0,10 до 0,90), что позволяет рассматривать ее как единую популяцию. Наиболее низкие значения нуклеотидного и гаплотипического разнообразия характерны для трески Северо-Западной Атлантики (табл. 2).

При анализе молекулярных различий между исследованными выборками (АМОВА) основная доля генетической вариабельности мтДНК определялась различиями внутри выборок – 96,89%. Различия между треской из Северо-

Восточной Атлантики, Баренцева и Белое морей составили 2,85%, а различия между треской по районам Баренцева моря составило 0,26%.

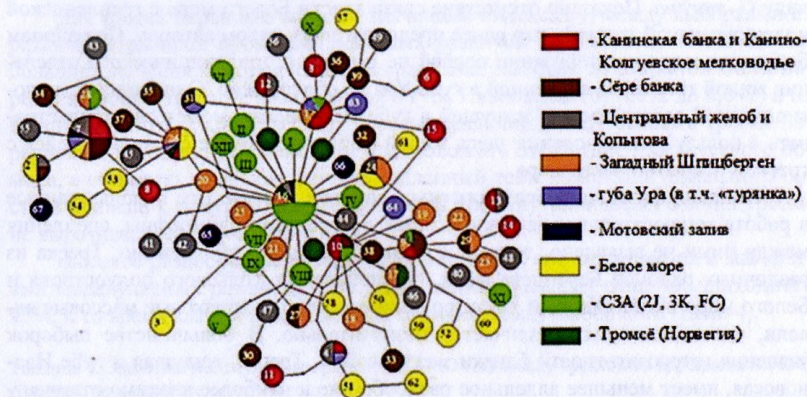
Таблица 2. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие трески: N – количество особей в выборке, k – количество выявленных гаплотипов, h – гаплотипическое разнообразие, S – число полиморфных сайтов, π – нуклеотидное разнообразие, P_i – среднее число нуклеотидных различий при попарных сравнениях

Район вылова трески	N	k	π (+/-SE)	S	h (+/-SE)	P _i (+/-SE)
Западный Шпицберген	22	17	0,0032 (0,0019)	18	0,9740 (0,0217)	3,0996 (1,6729)
Центральный желоб	22	18	0,0049 (0,0028)	25	0,9697 (0,0278)	4,7229 (2,4026)
Сёре банка	24	18	0,0039 (0,0023)	23	0,9529 (0,0320)	3,7573 (1,9629)
Канинская банка	22	14	0,0045 (0,0026)	21	0,9351 (0,0362)	4,3723 (2,4455)
Белое море	38	18	0,0049 (0,0027)	28	0,9417 (0,0183)	4,7084 (2,3567)
Северо-Западная Атлантика	26	17	0,0023 (0,0015)	24	0,8862 (0,0589)	2,2646 (1,2857)

Филогенетические связи трески Баренцева и Белого морей. Построенная сеть гаплотипов указывает на высокий внутривидовой полиморфизм трески (рис. 1). Центральным является предположительно предковый, массовый гаплотип NEAC_16, второй по численности – NEAC_7, обнаружен только у северо-восточной арктической и беломорской трески. В каждой из рассматриваемых группировок трески присутствует множество уникальных гаплотипов, и их расположение относительно предкового позволяет высказать ряд предположений, касающихся филогеографии атлантической трески. Уникальные гаплотипы трески Северо-Западной Атлантики отличаются от предкового одной-двумя нуклеотидными заменами, что свидетельствует о более позднем распространении трески на северо-запад современного ареала.

Данная гипотеза подтверждается более низкими значениями гаплотипического разнообразия (h) этой трески. Наибольший уровень разнообразия выявлен у северо-восточной арктической трески, редкие и уникальные гаплотипы которой отличаются от центрального разным количеством замен. Большинство «беломорских» гаплотипов располагаются на периферии сети, что свидетельствует об их относительно недавнем происхождении.

С целью уточнения таксономического статуса беломорской трески проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей *CytB* трески из Баренцева и Белого морей с аналогичными последовательностями систематически близких видов семейства тресковых (данные международной базы Genbank), ранее использованных в филогенетическом анализе семейства (Coulson et al., 2006). На дендрограмме генетического сходства, построенном методом максимального правдоподобия и включающей виды: сайка (*Boreogadus saida*) и арктическая треска (*Arctogadus glacialis*); минтай (*Theragra*



Цифрами 1-67 обозначены номера гаплотипов трески Баренцева и Белого морей (NEAC_1-NEAC_67), I-XII – гаплотипы трески СЗА

Рис. 1. Гаплотипическая сеть трески Баренцева, Белого морей и Северной Атлантики

chalcogramma); тихоокеанская (*Gadus macrocephalus*) и гренландская треска (*G. ogac*), треска Белого моря (гаплотипы NEAC_3, NEAC_50, NEAC_52) относится к кладе атлантической трески (рис. 2).

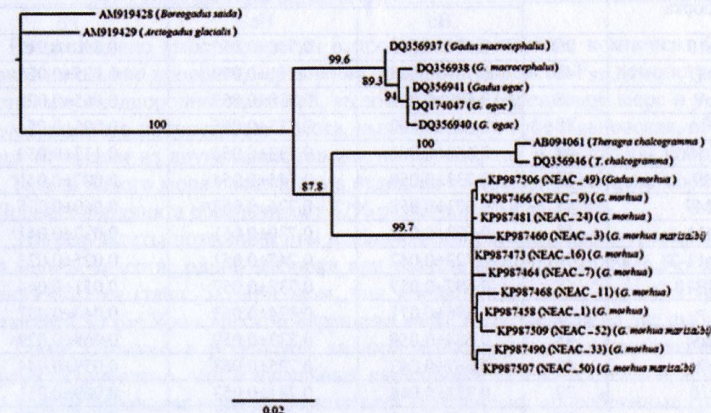


Рис. 2. Филогенетическое дерево семейства тресковых, построенное методом максимального правдоподобия (ML). На ветвях указаны бутстреп-значения. Номера гаплотипов *G. morhua* (наши данные) соответствуют таковым на рис. 1

Таким образом, в результате работы отмечено высокое гаплотипическое разнообразие по гену *CytB* у трески Баренцева и Белого морей, показана общность их происхождения и подтверждена принадлежность трески Белого моря к

виду *G. morhua*. Показано отсутствие связи трески Белого моря с гренландской и тихоокеанской треской, что ранее предполагалось рядом авторов. По районам Баренцева моря кластеризации особей не выявлено, гаплотипического отделения жилой трески, выловленной в губе Ура не обнаружено. Однородный гаплотипический состав трески, живущей в губе Ивановская, может свидетельствовать в пользу существования здесь жилой формы трески, не смешивающейся с треской открытой части моря.

Полиморфизм микросателлитных локусов трески. Все использованные в работе микросателлитные локусы были достаточно полиморфны, сцепления между ними не выявлено, локусов с нуль-аллелями не обнаружено. Треска из различных районов Баренцева моря, губ побережья Кольского полуострова и Белого моря имеет сходный характер полиморфизма, одинаковые массовые аллели, частота которых различается незначительно. В большинстве выборок значения гетерозиготности близки между собой. Треска, живущая в губе Ивановская, имеет меньшее аллельное разнообразие и наиболее значимо отличается по локусам Pgm10 74, Pgm10 100, Pgm10 105 и Pgm10 124, а треска Белого моря – по локусам Pgm10 74 и Pgm10 105. Генетическая характеристика выборок по всем локусам приведена в табл. 3

Таблица 3. Генетическая характеристика выборок трески по восьми микросателлитным локусам: объем выборки (N), наблюдаемая (Ho) и ожидаемая (He) гетерозиготности, индекс фиксации (Fis)

Выборка	N	Показатель (среднее значение $\pm$ SE)		
		Ho	He	Fis
ZSh10	96	0,670 $\pm$ 0,045	0,740 $\pm$ 0,055	0,090 $\pm$ 0,019
ZSh9	48	0,730 $\pm$ 0,048	0,751 $\pm$ 0,049	0,025 $\pm$ 0,025
Kop9	48	0,689 $\pm$ 0,055	0,738 $\pm$ 0,057	0,065 $\pm$ 0,028
ZPr9	48	0,684 $\pm$ 0,062	0,755 $\pm$ 0,056	0,095 $\pm$ 0,054
CZh10	48	0,653 $\pm$ 0,061	0,733 $\pm$ 0,058	0,113 $\pm$ 0,039
KnB9	48	0,733 $\pm$ 0,050	0,745 $\pm$ 0,054	0,007 $\pm$ 0,041
CNM9	48	0,671 $\pm$ 0,058	0,726 $\pm$ 0,063	0,069 $\pm$ 0,035
Kop11-1	48	0,693 $\pm$ 0,048	0,730 $\pm$ 0,061	0,037 $\pm$ 0,041
Kop11-2	48	0,723 $\pm$ 0,042	0,747 $\pm$ 0,051	0,025 $\pm$ 0,023
VMB10	48	0,697 $\pm$ 0,057	0,738 $\pm$ 0,057	0,051 $\pm$ 0,044
ZFI	48	0,696 $\pm$ 0,071	0,724 $\pm$ 0,063	0,046 $\pm$ 0,037
VPer9	48	0,684 $\pm$ 0,059	0,733 $\pm$ 0,059	0,068 $\pm$ 0,029
VPr9	48	0,667 $\pm$ 0,042	0,725 $\pm$ 0,063	0,059 $\pm$ 0,044
SrB10	32	0,721 $\pm$ 0,044	0,741 $\pm$ 0,053	0,009 $\pm$ 0,051
FnB11	32	0,747 $\pm$ 0,061	0,726 $\pm$ 0,061	-0,034 $\pm$ 0,027
YNMsm12	32	0,699 $\pm$ 0,051	0,715 $\pm$ 0,053	0,019 $\pm$ 0,020
Ura	47	0,765 $\pm$ 0,057	0,759 $\pm$ 0,051	-0,007 $\pm$ 0,029
Mot	41	0,773 $\pm$ 0,047	0,743 $\pm$ 0,056	-0,052 $\pm$ 0,029
Tur	10	0,761 $\pm$ 0,035	0,720 $\pm$ 0,057	-0,087 $\pm$ 0,067
Ivan	38	0,654 $\pm$ 0,055	0,690 $\pm$ 0,054	0,045 $\pm$ 0,048
WS	56	0,653 $\pm$ 0,045	0,690 $\pm$ 0,045	0,055 $\pm$ 0,015

Для трески Баренцева моря по значениям индекса F_{ST} между выборками из различных районов промысла значимых различий не выявлено (0,003-0,013), большие значения F_{ST} отмечены при сравнении выборок из открытой части Баренцева моря с треской, выловленной в губе Ивановская (от 0,032 до 0,047) и из Белого моря (от 0,028 до 0,051). Уровень различий между особями трески Баренцева и Белого морей позволяет предположить отсутствие генетического обмена, а общность происхождения и медленный темп изменений аллельного состава привели к тому, что дифференциация этих внутривидовых единиц трески не выразилась еще достаточно четко.

Высокое разнообразие особей внутри выборок подтверждаются и значениями молекулярных различий – на долю индивидуальных отличий приходится 97%, в то время как 3% приходится на отличия между выборками (табл. 4).

Таблица 4. Значения молекулярных различий (AMOVA) между треской из Баренцева и Белого морей по микросателлитным локусам

Источник генетического разнообразия	Число степеней свободы - df	Сумма квадратов отклонений - SS	Доля в общей дисперсии	
			абсолютные значения	%
Между разными районами	20	97016,3	40,45	3
Между особями внутри выборок	1899	2224741	1171,53	97
Общая генетическая изменчивость	1919	2321757,3	1211,98	100

Расположение выборок трески в пространстве главных компонент (PCA-анализ) на основе попарного сравнения значений индексов F_{ST} демонстрирует генетическую однородность особей, выловленных в Баренцевом море и у побережья Кольского полуострова. Треска, выловленная в губе Ивановская, обособляется от трески из других районов как по первой, так и по второй координатам. Треска Белого моря расположена отдельно от трески Баренцева моря (рис. 3). Первая координата обеспечивает 42% различий, вторая – 28%.

Эти результаты позволили нам в дальнейшем рассматривать треску Баренцева моря в качестве одной выборки при расчете значения индекса F_{ST} и расстояния по Неи (табл. 5). При этом, для уточнения степени сходства трески, обитающей в губе Ура с треской Баренцева моря, их разделили на две выборки.

Таким образом, в результате анализа полиморфизма микросателлитных локусов установлено, что в нагульных скоплениях северо-восточной арктической трески Баренцева моря не выделяются генетически обособленные группировки, что характерно для океанических видов рыб без четкой популяционно-генетической структуры.

Треска, выловленная в губе Ура и Мотовском заливе полностью идентична треске из мористых районов, а треска, живущая в губе Ивановская, отличается меньшим аллельным разнообразием локусов. Отличие между треской, вылов-

ленной в разных частях побережья не позволяет рассматривать этих особей в качестве единой группировки прибрежной трески.

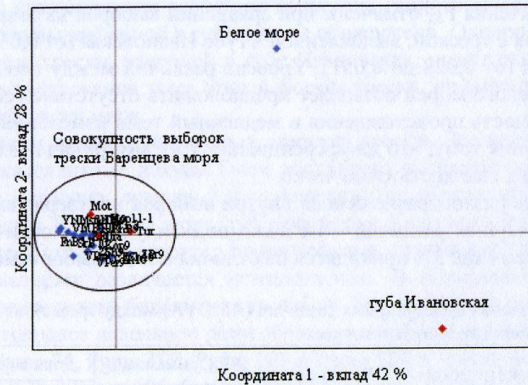


Рис. 3. Расположение выборок трески в пространстве главных компонент (красным отмечены выборки трески, обитающей в губах на побережье)

Треска Белого моря отличается по частотам аллелей микросателлитных локусов, что свидетельствует о значительной генетической изоляции и отсутствии генетического обмена с северо-восточной арктической треской.

Таблица 5. Значения коэффициента попарного сравнения F_{ST} (над диагональю) и генетические дистанции по Неи (под диагональю) выборок трески Баренцева и Белого морей

Район вылова	Баренцево море	Прибрежная треска	губа Ивановская	Белое море
Баренцево море		0,002	0,036	0,030
Прибрежная треска	0,014		0,038	0,028
губа Ивановская	0,222	0,235		0,051
Белое море	0,179	0,169	0,273	

Полиморфизм локуса пантофизина (*Pan I*). У северо-восточной арктической трески Баренцева моря по ядерному локусу *Pan I* выявлено два аллеля – *Pan I^A* и *Pan I^B*, частота которых составила 0,2 и 0,8 соответственно. Наиболее многочисленными были особи трески с генотипом *Pan I^BI^B* – 0,66 (1 470 рыб), доля гетерозиготных особей составил 0,28 (628 рыб), а с генотипом *Pan I^AI^A* – 0,06 (141 особь). Увеличение частоты аллеля *Pan I^A* наблюдалось у трески из районов от архипелага Шпицберген к побережью Норвегии, т.е. в южном направлении, и вдоль побережья Кольского п-ова к Канинской банке по направлению с запада на восток во все сезоны 2009-2012 гг. У трески, выловленной в губах побережья Западного Мурмана частота аллеля *Pan I^A* составила 0,55, Восточного – 0,79, в губе Ивановская – все особи гомозиготны по этому аллелю. У особей беломорской трески отмечен генотип *Pan I^AI^A* (рис. 4).

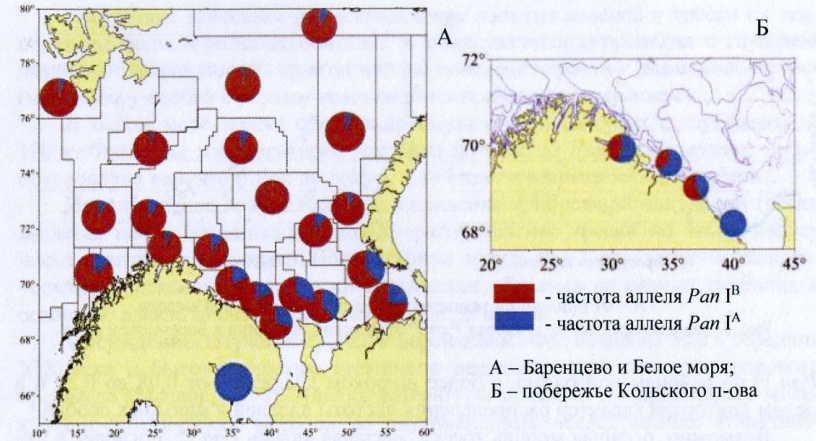


Рис. 4. Частота аллелей локуса *Pan I* у трески в районах исследования

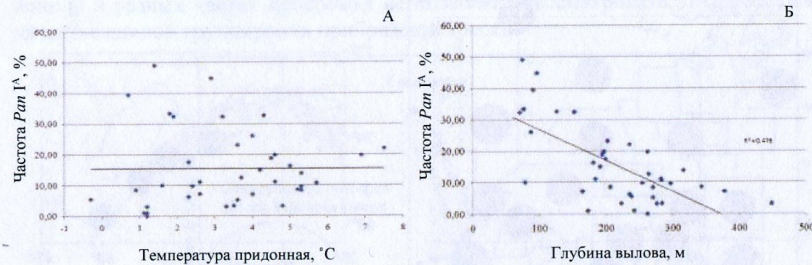
В большинстве выборок наблюдаемая гетерозиготность соответствует ожидаемой, статистически значимые отличия отмечены лишь в юго-восточных районах Баренцева моря, а также у трески, выловленной в губе Ура.

Вся проанализированная рыба была выловлена при температуре воды от минус 0,7 до 7,5 °C на глубинах от 70 до 450 м. Обнаружена связь между генотипом трески по локусу *Pan I* и условиями ее обитания: средние значения придонной температуры воды были близки, составив 3,14-3,25 °C. Особи, гомозиготные по аллелю *Pan I^A*, были выловлены преимущественно в мелководных районах моря с глубинами до 230 м (средняя – 125 м). Особи гетерозиготные по локусу *Pan I* встречались на глубинах до 500 м (средняя – 166 м), а особи с генотипом *Pan I^BI^B* предпочитали глубины до 680 м, в среднем – 240 м.

При сопоставлении частоты аллеля *Pan I^A* у рыб и температуры воды четко выраженной корреляции не наблюдалось, а при анализе зависимости частоты аллеля от глубины вылова особи, обнаружена статистически значимое снижение частоты с увеличением глубины вылова (рис. 5).

Поскольку на распределение трески по глубинам может оказывать влияние размерный состав особей, треску с генотипами *Pan I^AI^B* и *Pan I^BI^B* разбили на пары с общей длиной, округленной в меньшую сторону с шагом 10 см. В результате анализа выявлено, что особи всех размерных классов трески с генотипом *Pan I^BI^B* располагались на больших глубинах, чем особи с генотипом *Pan I^AI^B*, которая при этом имеет большую среднюю длину.

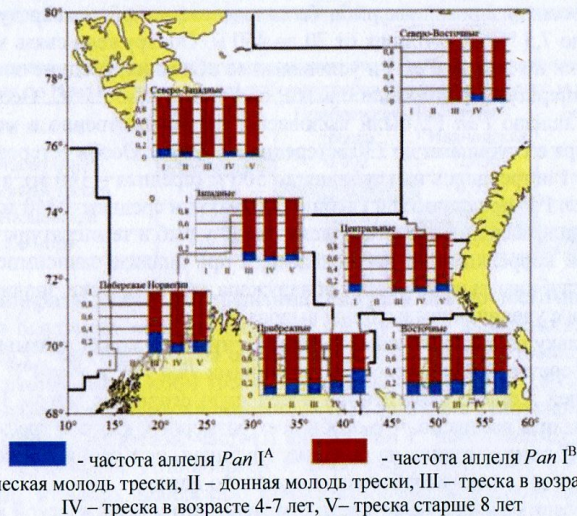
Для трески различного возраста отмечено, что у пелагической молодежи, выловленной до момента оседания (август-сентябрь 2012 и 2014 гг.), частота аллеля *Pan I^A* составила в среднем 0,17 по всей акватории моря. В ноябре-декабре 2011 г. и феврале 2015 г. у осевшей в придонные слои молодежи частота аллеля



А – от придонной температуры вод; Б – от глубины вылова
Рис. 5. Зависимость частоты аллеля *Pan I^A* от условий обитания в Баренцевом море

Pan I^A по районам колебалась в более широком диапазоне от 0,08 до 0,20 и в целом повторяла характер распределения частоты аллелей у взрослых особей.

Возможно, осевшая молодь трески, несущая аллель *Pan I^A*, погибает в Северо-Западных, Северо-Восточных и Центральных районах моря под влиянием неблагоприятных для нее условий обитания. По мере роста треска с этим аллелем мигрирует в эти районы моря на нагул, а Западные, Прибрежные и Восточные районы имеют лучшие условия для выживания молоди (рис. 6).



И – пелагическая молодь трески, II – донная молодь трески, III – треска в возрасте 1-3 лет, IV – треска в возрасте 4-7 лет, V – треска старше 8 лет

Рис. 6. Частота аллелей локуса *Pan I* у трески различных возрастных групп по укрупненным районам Баренцева моря в 2010-2015 гг.

Отсутствие зависимости распределения частоты аллелей у трески от температуры воды в районах обитания и обнаруженная корреляция с глубиной позволяют предположить адаптационное поведение трески и различные стратегии нагула у особей с разным генотипом по исследованному локусу.

В Белом море треска обитает преимущественно в губах с глубинами до 100 м. Фиксация гомозиготного генотипа по аллелю *Pan I^A*, возможно, также обусловлена тем, что отбор по локусу *Pan I* идет в зависимости от глубины.

Использование локуса *Pan I* для выделения прибрежной популяции трески является необоснованным, поскольку распределение трески по этому локусу носит адаптивный характер. Полиморфизм локуса *Pan I* способствует экологическому приспособлению трески к условиям обитания на разных глубинах и освоению ареала за счет различных стратегий нагула.

Обсуждение. Изучение трески в Баренцевом море началось еще в середине XIX века и было полностью подчинено решению задач развития тралового промысла (Маслов, 1939). Анализ литературы показал, что применение молекулярно-генетических методов во внутривидовых исследованиях атлантической трески выявил ее значительный полиморфизм на ареале. На основании этих данных треску подразделяют на группировки и устанавливают критерии различий между ними (Pogson, Mesa, 2004; Nielsen, 2005; Are vertical..., 2008).

В данной работе показано, что для атлантической трески характерно высокое гаплотипическое разнообразие. Популяции из разных участков ареала имеют общее происхождение и несут ряд общих гаплотипов, но при этом обладают и множеством уникальных. Филогенетически разошедшиеся кластеры гаплогрупп не выделяются. Такой характер распределения гаплотипов, когда небольшое их число имеет высокую частоту, а другие варианты встречаются редко или уникальны, обычен для морских видов рыб (Avice, 1994).

Сравнение количества нуклеотидных замен для трески из различных частей ареала позволяет утверждать, что атлантическая треска возникла в Северо-Восточной Атлантике, распространилась в Баренцево и Белое моря, а позднее расширила свой ареал на северо-запад. Это согласуется с выводом, сделанным ранее на основании исследования последовательностей 120 митохондриальных геномов трески из районов Северной Атлантики (Johansen et al., 2009).

Подтверждено положение, что в Баренцевом море обитает генетически единая популяция трески, включающая в себя жилую форму в губе Ура. Выявлены генетические различия между треской Баренцева моря и жилой формой в губе Ивановская. Треска Белого моря ведет свое происхождение от трески Баренцева моря и филогенетически не связана с греландской треской.

Результаты анализа селективно нейтральных микросателлитных локусов показали, что треска на всей акватории Баренцева моря имеет сходный аллельный состав. Большинство выявленных различий относились к индивидуальным особенностям особей. Полиморфизм микросателлитных локусов отражает сложную внутривидовую структуру трески, для которой характерны пространственные и временные флуктуации, но для выделения внутри нее отдельных группировок, в том числе прибрежных популяций, оснований недостаточно.

Анализ полиморфизма локуса пантофизина, который считается основным критерием разделения особой океанической и прибрежной популяций, показал стабильное распределение трески с различными генотипами и увеличение частоты аллеля *Pan I^A* в направлении с севера на юг и с запада на восток во все сезоны за период исследования. Частота аллеля *Pan I^A* у пелагической молоди примерно одинакова по всему исследованному ареалу (0,13-0,20), а при переходе к придонному образу жизни количество особей трески с этим аллелем в северных глубоководных районах моря резко уменьшается, в то время как в более мелководных районах моря (юго-восток и прибрежные акватории) остается практически без изменений. При этом корреляции частоты локуса пантофизина с температурой воды не обнаружено. После оседания молоди частота аллелей этого локуса изменяется не значительно.

Таким образом селективный характер локуса *Pan I* у трески в Баренцевом море предположительно связан с глубиной местообитания. Именно глубина определяет жизнеспособность молоди с разным генотипом по локусу *Pan I* в момент оседания, а в дальнейшем определяет характер распределения трески.

По-видимому, именно с небольшой глубиной связано максимальное генетическое разнообразие у трески в Прибрежных и Восточных районах моря, а также в губах и заливах на побережье Кольского полуострова. В норвежских фиордах увеличение частоты аллеля *Pan I^A* во внутренних частях также может быть объяснено уменьшением глубины.

Треска Белого моря генетически близка к северо-восточной арктической треске, но вследствие своей изолированности приобрела ряд особенностей. В настоящее время не выявлено обмена генами между особями двух морей, поскольку несмотря на те же сроки нереста беломорской трески, что и атлантической, он происходит при отрицательных температурах воды. Отмеченная пониженная чувствительность морфофизиологических процессов развития к изменению температуры, лежащая в основе эвритермности беломорской трески в раннем онтогенезе, позволяет поддерживать репродуктивную изоляцию между баренцевоморской и беломорской треской (Новиков и др., 1994). Поэтому ее необходимо рассматривать как самостоятельный подвид атлантической трески.

Заключение. Обобщая проанализированные данные, можно сделать вывод, что северо-восточная арктическая треска Баренцева моря представляет собой единую популяцию. Дифференциация трески по морфо-биологическим характеристикам наблюдается на фоне сохранения ее генетической однородности.

Атлантическая треска в Баренцевом море является объектом интенсивного промысла, поэтому изучение ее внутривидовой структуры имеет не только теоретическое, но и практическое значение. Полученные результаты следует учитывать при отборе особей для маточных стад трески при выращивании на предприятиях марикультуры на побережье Кольского полуострова.

При разработке стратегии управления промысловыми запасами трески необходимо принимать во внимание, что в Баренцевом море она имеет различные стратегии нагула и поэтому распределяется неоднородно. Промысел оказывает селективное влияние не только на биологические характеристики трес-

ки, но и на ее генетический состав. Поэтому ограничение вылова трески в мелководных Прибрежных районах и на юго-востоке моря, где отмечен максимальный генетический полиморфизм, способствует сохранению генетического разнообразия. В целом результаты генетических исследований атлантической трески Северного рыбохозяйственного бассейна подтверждают рациональность эксплуатации северо-восточной арктической трески как единого запаса.

Выводы.

1. Атлантическая треска Баренцева моря и сопредельных вод характеризуется высоким полиморфизмом митохондриальной ДНК; анализ филогенетических связей указывает на локализацию центра происхождения вида в северо-восточной части ареала и последующее распространение трески в Северо-Западную Атлантику.

2. В Баренцевом море нагульные скопления трески однородны по уровню аллельного разнообразия восьми микросателлитных локусов; статистически значимые различия между выборками из разных районов отсутствуют.

3. Устойчивые пространственные различия в частотах аллелей локуса пантофизина, обусловленные дифференциальным выживанием молоди при оседании на разных глубинах, позволяют рассматривать его как маркер адаптивного процесса.

4. Треска, обитающая в губе Ура, генетически не отличается от океанической популяции. В губе Ивановская обнаружена жилая форма трески, характеризующаяся мономорфностью мтДНК, снижением аллельного разнообразия микросателлитных локусов и гомозиготным генотипом по аллелю *Pan I^A* локуса пантофизина.

5. На основании исследования полиморфизма как митохондриальной ДНК, так и ядерных микросателлитных локусов, показано, что треска Белого моря относится к подвиду атлантической трески (*Gadus morhua marisalbi*). Отнесение беломорской трески к виду *Gadus ogac* (гренландская треска) является ошибочным.

6. Треска на нагульной акватории в Баренцевом море представлена единой популяцией, способной образовывать разрозненные жилые формы, обитающие в губах на побережье. Полученные результаты свидетельствуют в пользу обоснованности эксплуатации атлантической трески Северного рыбохозяйственного бассейна как единого запаса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Полиморфизм локуса *Pan I* в популяции северо-восточной арктической трески *Gadus morhua morhua* L. (Gadiformes: Gadidae) в Баренцевом море / Г.А. Макеенко, А.А. Волков, Н.С. Мюге, Д.А. Зеленина // **Генетика**. – 2014. – Т. 50, № 12. – С. 1425-1439.
2. Полиморфизм митохондриального гена цитохрома у атлантической трески (*Gadus morhua* L.) в северо-восточной части ареала / Д.А. Зеленина, Г.А. Макеенко, А.А. Волков, Н.С. Мюге // **Известия РАН. Серия биологическая**. № 3 – 2016. С. 286-294.

3. Предварительные результаты генетического анализа выборок трески из Баренцева моря и сопредельных вод по микросателлитам и адаптивному маркеру *Pan I* / Г.А. Макеенко, А.А. Волков // Материалы Всерос. конф. молодых ученых и специалистов, посвящ. 125-летию со дня рождения И.И. Месяцева (Мурманск, 20-22 окт. 2010 г.) / ПИНРО. - Мурманск, 2010. С. 112-116.
4. Распределение атлантической трески в Баренцевом море в зависимости от генотипа *Pan I* / Г.А. Макеенко, Д.И. Пискунович, Д.А. Зеленина // Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса: материалы II науч.-практ. конф. молодых ученых (Москва, 17-18 нояб. 2011 г.) / ФАР, ВНИРО. - М., 2011. - С. 95-98.
5. Генотипирование северо-восточной арктической трески (*Gadus morhua morhua*) Баренцева моря по ядерному локусу *Pan I* / Г.А. Макеенко // Наука и образование - 2012: Материалы междунар. науч.-техн. конф. (Мурманск 2-6 апр. 2012 г.) / МГТУ. - Мурманск, 2012. - С. 350-352.
6. Межгодовое сравнение результатов генотипирования северо-восточной арктической трески (*Gadus morhua morhua* L.) Баренцева моря по локусу *Pan I* / Г.А. Макеенко // Материалы Всерос. конф. молодых учен. и специалистов с междунар. участием, посвящ. 90-летию со дня постройки первого науч.-исслед. судна ПИНРО "Персей" / ПИНРО. - Мурманск, 2012. - С. 172-177.
7. Распределение северо-восточной арктической трески с различным генотипом по локусу *Pan I* в зависимости от глубины и температуры воды в Баренцевом море / Г.А. Макеенко // Соврем. проблемы и перспективы рыбохоз. комплекса: материалы Третьей науч.-практ. конф. молодых ученых ФГУП "ВНИРО"... / ВНИРО. - М., 2012. - С. 44-47.
8. Clinal variation at the pantophysin locus (*PanI*) in northeast Arctic cod (*Gadus morhua morhua* L.) in the Barents Sea / D.A. Zelenina, G.A. Makeenko, A.A. Volkov, N.S. Mugue // ICES CM 2012/H:14. - 1 p.
9. Генетические особенности беломорской трески (*Gadus morhua marisalbi*) / Г.А. Макеенко, Д.А. Зеленина // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: тез. докл. XXIX Междунар. конф. (Мурманск, 27-29 марта 2013 г.) / ПИНРО. - Мурманск, 2013. С. 144-152.
10. Характеристика полиморфизма северо-восточной арктической трески по микросателлитным локусам / Г.А. Макеенко, А.А. Волков // Материалы XXXI конференции молодых ученых Мурманского морского биологического института, посвящ. 135-летию со дня рождения К.М. Дерюгина "Океанография и биология арктических морей" (Мурманск, май 2013 г.) / ММБИ КНЦ РАН. - Мурманск, 2013. - С. 123-126.
11. Генетические особенности трески (*Gadus morhua kildinensis*) оз. Могильное / Г.А. Макеенко, Д.А. Зеленина // 1-я Международная конференция молодых ученых «Проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса на современном этапе» (Мурманск, октябрь 2014 г.) / ПИНРО. - Мурманск, 2014. - С. 103-105.