

УДК 594.117:575.17.174

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1856)

© 2010 г. О. Ю. Правдухина, О. П. Кодолова

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские горы

E-mail: pravduhina_olga@mail.ru

Поступила в редакцию 29.10.2009 г.

Методом электрофореза в полиакриламидном геле исследована зависимость распределения частот аллелей и гетерозигот пяти полиморфных локусов от сезона года и возраста в 8 культивируемых выборках приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) из залива Алексеева (о-в Попова, Японское море), относящихся к разным генерациям. Выявлено постоянство частот аллелей и гетерозигот в выборках старше одного года, вне зависимости от сезона и возраста. Выборки моллюсков младшего возраста (11 мес.) могут иметь достоверные отклонения по частоте аллелей и гетерозигот. Однако по достижении выборкой определенного возраста данные генетические параметры соответствуют единым для всей популяции величинам. Обсуждается эпизодическое действие экологических факторов на группы моллюсков младшего возраста.

Двустворчатый моллюск *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) или приморский гребешок широко распространён у берегов Российского Приморья, Сахалина, Курильских и Японских островов, являясь составной частью многих биоценозов (Скарлато, 1981). В настоящее время приморский гребешок — один из важнейших объектов промысла и культивирования беспозвоночных в районах Дальнего Востока.

Начиная с 80-х гг. XX в. появляются работы, посвященные изучению генетического разнообразия и популяционной структуры приморского гребешка (Логвиненко и др., 1982; Fujio *et al.*, 1983; Kijima *et al.*, 1984; Правдухина и др., 1987; Долганов, Пудовкин, 1997, 1998; Кодолова и др., 2005). Авторам этих работ удалось генетически дифференцировать локальные поселения приморского гребешка.

Однако в некоторых работах на разных видах животных показано, что частоты аллелей могут быть как постоянны для данной популяции в течение длительного времени, так и подвержены сезонной и возрастной изменчивости (Голубцов, 1988). Поэтому при исследовании популяционной структуры любого вида, видимо, следует учитывать колебания частот аллелей во времени, так как различие между выборками по данному признаку может оказаться отражением временной генетической изменчивости популяции, а не свидетельством ее пространственной дифференциации.

Случаи временной изменчивости частот аллелей можно объяснить разными причинами: следствием естественного отбора, как, например, в

популяциях *Mytilus edulis* (Hilbish, 1985), *M. galloprovincialis* (Жуковская, Кодолова, 1997); контактом партеногенетических и бисексуальных поколений, как у *Daphnia magna* (Hebert, 1974a–c); результатом генетического дрейфа, как в популяциях *Gerris lacustris* (Varvio, 1981); механическим перемешиванием летних и зимних мигрирующих популяций, как у *Drosophila melanogaster* (Jonson, Vogrou, 1976); кодированием фермента двумя различными локусами, имеющими разную экспрессивность во времени, как у *Unio tumidus* (Правдухина, Кодолова, 2002). Но во всех случаях использование частот аллелей, подверженных в той или иной степени временной изменчивости, в качестве маркеров популяции, может привести к ошибочной интерпретации полученных данных.

К сожалению, временные аспекты изменчивости приморского гребешка изучены недостаточно. Долганов (1995) отмечает отсутствие значимых различий между “молодыми” и “взрослыми” выборками приморского гребешка по частотам аллелей некоторых ферментных локусов, однако возраст каждой конкретной выборки моллюсков автор не учитывает. Йотсутани и др. (Yotsutani *et al.*, 1995) указывают на связь значений гетерозиготности ферментных локусов с размером раковин приморского гребешка у моллюсков разного возраста. Но ни в одной из работ не рассматривается временная генетическая изменчивость поколений на основе длительных наблюдений.

Ранее методом электрофореза в полиакриламидном геле в ткани аддуктора приморского гребешка были обнаружены пять полиморфных локусов миогенов (*My1*, *My2*, *My3*, *My4*) и α -глицеро-

Таблица 1. Возрастной состав выборок *M. yessoensis* из залива Алексева Японского моря

№ генерации	Время оседания	№ выборки	Время сбора	Возраст*
I	Июнь 1978 г.	1	Ноябрь 1979 г.	1 год 4 мес.
		2	Ноябрь 1980 г.	2 года 4мес.
		3	Июнь 1982 г.	4 года
II	Июнь 1979 г.	4	Май 1980 г.	11 мес.
		5	Ноябрь 1980 г.	1 год 4мес.
		6	Июнь 1982 г.	3 года
III	Июнь 1982 г.	7	Декабрь 1983 г.	1 год 5 мес.
IV	Июнь 1986 г.	8	Май 1987 г.	11 мес.

* Для таблиц 1, 2.

фосфатдегидрогеназы (α -*Gpdh*) с двухаллельной кодоминантной системой наследования (Логвиненко и др. 1982). В представленной работе проведено исследование динамики изменчивости частот аллелей и генотипов выявленных локусов за многолетний период с целью определения возможности использования генетических параметров данных локусов в качестве биохимико-генетических маркеров, как при определении популяционной структуры приморского гребешка, так и при генетическом мониторинге культивируемых поколений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методом электрофореза в полиакриламидном геле было исследовано 8 выборок (783 экз.) *M. yessoensis*, полученных из промышленных садков, установленных в заливе Алексева (о-в Попова) в разные сезоны 1979–1987 гг. Представленный материал включает 4 генерации (табл. 1). Для исследования генетической изменчивости генерации выборки моллюсков брали последовательно, через определенный период времени из садков, содержащих данную генерацию. Таким образом, осуществляли генетический мониторинг при взрослении генераций I и II. Позднее для контроля над стабильностью полученных результатов были взяты одиночные выборки младших возрастов еще из двух генераций (III и IV). При определении возраста пелагическую стадию личинок не учитывали. Возраст гребешка определяли по отрезку: от времени оседания личинок на коллектор до отбора проб из садка. В каждую выборку входила только одна возрастная группа.

Моллюсков живыми доставляли в лабораторию, анатомировали и хранили в холодильнике при температуре -18°C . При исследовании ис-

пользовали ткань аддуктора. Непосредственно перед экспериментом ткань гомогенизировали с три-сфосфатным буфером (рН 6.7) в соотношении 1 : 1. Гомогенат центрифугировали при 15 тыс. об./мин в течение 30 мин с охлаждением. Для анализа брали супернатант.

Электрофорез проводили в вертикальных блоках полиакриламидного геля с системой прерывистых буферов. Электрофоретическая методика, использованная в работе, подробно описана ранее (Логвиненко и др., 1982).

Статистическое сравнение выборок по частотам аллелей и гетерозиготности проводили на основе критерия Фишера с использованием ф-преобразования. Для сравнения уровней и параллельности генетических процессов в популяции использовали расчет достоверности различия рядов регрессии (Плохинский, 1980). Степень отклонения выборочного разнообразия от разнообразия генерации или популяции в целом рассчитывали, используя G_{ST} -статистику (Nei, 1975), по формуле $G_{ST} = (H_T - \hat{H}_S)/H_T$, где $H_T = 1 - \sum \hat{p}^2$, $\hat{H}_S = 1/n \sum H_S$, $H_S = 1 - \sum p^2$, где p – частота i -го аллеля, H_S – разнообразие выборки, H_T – разнообразие всей рассматриваемой подразделенной популяции или генерации, как если бы она представляла единое панмиктическое сообщество, \hat{H}_S – среднее разнообразие генерации или популяции, n – число выборок, \hat{p} – средняя частота аллеля во всей подразделенной генерации или популяции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 2 приведены частоты аллелей исследованных локусов в каждой из восьми выборок. По локусам *Mu1*, *Mu2*, *Mu4* значения χ^2 ни в одном

Таблица 2. Частота встречаемости аллеля (pA) исследованных локусов в выборках *M. yessoensis* из бухты Алексева

Гене-рация	№ выборки	Локусы									
		<i>My1</i>		<i>My2</i>		<i>My3</i>		<i>My4</i>		α - <i>Gpdh</i>	
		N	pA	N	pA	N	pA	N	pA	N	pA
I	1	49	0.959	79	0.57	54	0.75	79	0.576	79	0.918*
	2	79	0.925	79	0.576	79	0.759	79	0.62	82	0.933
	3	70	0.943	70	0.564	59	0.795	70	0.65	64	0.945*
II	4	136	0.985	136	0.559	137	0.788	135	0.637	154	0.899
	5	102	0.946	102	0.564	96	0.786	102	0.618	97	0.943
	6	106	0.972	106	0.571	83	0.705	103	0.573	105	0.914*
III	7	100	0.955	100	0.55	89	0.753	100	0.585	89	0.972
IV	8	90	0.95	90	0.589			90	0.561		
M \pm m		0.954 \pm 0.006		0.568 \pm 0.004		0.762 \pm 0.012		0.603 \pm 0.012		0.932 \pm 0.009	

Примечание: N – объем выборки (для таблиц 2, 4).

* Распределение генотипов не соответствует закону Харди–Вайнберга.

случае не превышают критического. Значимое несоответствие наблюдаемого распределения фенотипов закону Харди–Вайнберга отмечено для одной выборки по локусу *My3* и для трех выборок по локусу α -*Gpdh*.

Как видно из материала, приведенного в табл. 2, все исследованные локусы можно разбить на две группы по величине частоты аллеля А в выборках. Первую группу образуют локусы, у которых частота аллеля в выборках может превысить принятый критерий полиморфности – 0.95 (Айала, 1984). К ним относятся локусы *My1* и α -*Gpdh*. Вторую группу образуют локусы, у которых частота аллеля А ни в одном случае не превышает критерий полиморфности. К ним относятся локусы *My2*, *My3*, *My4*.

Частота аллеля А локуса *My1* колеблется по выборкам от 0.925 до 0.985 превышая критерий полиморфности в 4 выборках и имея незначительное превышение над критерием средней величины аллеля А, полученной из совокупности выборок (0.954 \pm 0.006). Однако, как показали наши предыдущие исследования, частота аллеля этого локуса варьирует по ареалу (Приморье, о-в Сахалин, проливы Курильских о-ов, залив Муцу) от 0.985 до 0.044 при постоянном соответствии распределения генотипов закону Харди–Вайнберга во всех исследованных выборках, что несомненно подтверждает полиморфизм данного локуса, выраженный двухаллельной кодоминантной системой (Кодолова и др. 2005). Кроме того,

исходя из результатов предыдущих исследований, частота аллеля локуса *My1* может использоваться как один из критериев идентификации популяций (Логвиненко и др., 1982; Кодолова и др., 2005). Поэтому мы считаем необходимым рассмотреть динамику временных изменений частот аллелей данного локуса, так как при наличии возрастной или сезонной изменчивости будет необходимо внести определенные ограничения на его использование при изучении популяционной структуры приморского гребешка.

Для локуса α -*Gpdh* средняя величина частоты аллеля А составляет 0.932 \pm 0.009 при том, что уровень критерия полиморфности превышен только в одной выборке (№ 7). Естественно, что мы имеем право трактовать данный локус как полиморфный.

Исходя из принятого критерия полиморфности, полиморфизм локусов II группы не подлежит сомнению, так как значения средних частот аллеля А локусов *My2*, *My3*, *My4* значительно ниже критических значений критерия так же, как и частоты данного аллеля в любой из исследованных выборок.

Попарное сравнение выборок по частоте аллеля А каждого локуса (табл. 3) выявило достоверные различия в 8 из 126 случаев. При этом различия могут быть столь велики, что даже доверительные интервалы частот аллелей не перекрываются как, например, между выборками № 2 и № 4 (рис. 1, *My1*), № 4 и № 7 (рис. 1, α -*Gpdh*). Однако,

Таблица 3. Результаты сравнения выборок *M. yessoensis* по частоте аллеля А (А) и гетерозиготности (Б) (критерий Фишера с использованием ϕ -преобразования)

№ выборки	А							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1		----- -	----- -	----- -	----- -	----- -	----- +	--0-- 0
2	----- -		----- -	+----- -	----- -	+----- -	----- -	--0-- 0
3	----- -	----- -		+----- -	----- -	----- -	----- -	--0-- 0
4	+----- -	+----- -	+----- +		+----- -	----- -	----- +	+0-- 0
5	----- -	----- -	----- -	+----- +		----- -	----- -	--0-- 0
6	----- -	----- -	----- -	-++- +	----- -		----- +	--0-- 0
7	----- -	----- -	----- -	----- +	----- -	----- -		--0-- 0
8	--0-- 0	--0-- 0	--0-- 0	+0-- 0	--0-- 0	--0-- 0	--0-- 0	
Б								

Примечание. “-” – различия недостоверны, “+” – различия достоверны, 0 – нет сравнения. Расположение локусов в ячейке: верхняя строка – *My1, My2, My3, M4*, нижняя – α -*Gpdg*.

несмотря на полученные в ряде случаев различия и их величину, все исследованные выборки образуют по частотам аллелей любого локуса единую группу, которую нельзя ни разделить на более мелкие группы, ни дискретно выделить какую-либо выборку из общего ряда, так как доверительные интервалы частот аллелей перекрываются и крайние варианты связаны рядом переходов (рис. 1). Все эти выборки, безусловно, относятся к единой популяции.

Большая часть различий (5 из 8) получена при сравнении выборок по частоте аллеля А локуса *My1* (табл. 3, рис. 1). Эти различия не связаны с возрастом, так как одновозрастные выборки могут достоверно различаться между собой, в то время как выборки разных возрастов не имеют достоверных различий. Так, например, две выборки возрастом 11 мес. (№ 4 и № 8) достоверно различаются между собой, тогда как одна из них (№ 8) не отличается статистически от выборки возрастом 4 года (№ 3).

Различия между выборками по частотам аллеля А того же локуса не отражают и сезонной изменчивости. Выборки, собранные в разные сезоны, могут не иметь достоверных различий по частоте аллелей данного локуса, как, например, выборка № 1 (ноябрь) и № 3 (июнь). С другой стороны, две выборки, собранные в мае (№ 4 и № 8), достоверно различаются между собой.

Данные различия нельзя объяснить и принадлежностью выборок к разным генерациям, так как выборки из одной генерации могут достоверно различаться по частоте аллеля данного локуса, в то время как выборки из разных генераций не имеют между собой достоверных различий. Так, например, выборка № 5 (возраст 1 год 4 мес.) из генерации II достоверно отличается от выборки № 4 (11 мес.) из той же генерации, но не имеет достоверных различий с выборкой № 8 (возраст 11 мес.), относящейся к генерации IV.

Не выявлено также зависимости числа достоверных различий между выборками по частоте ал-

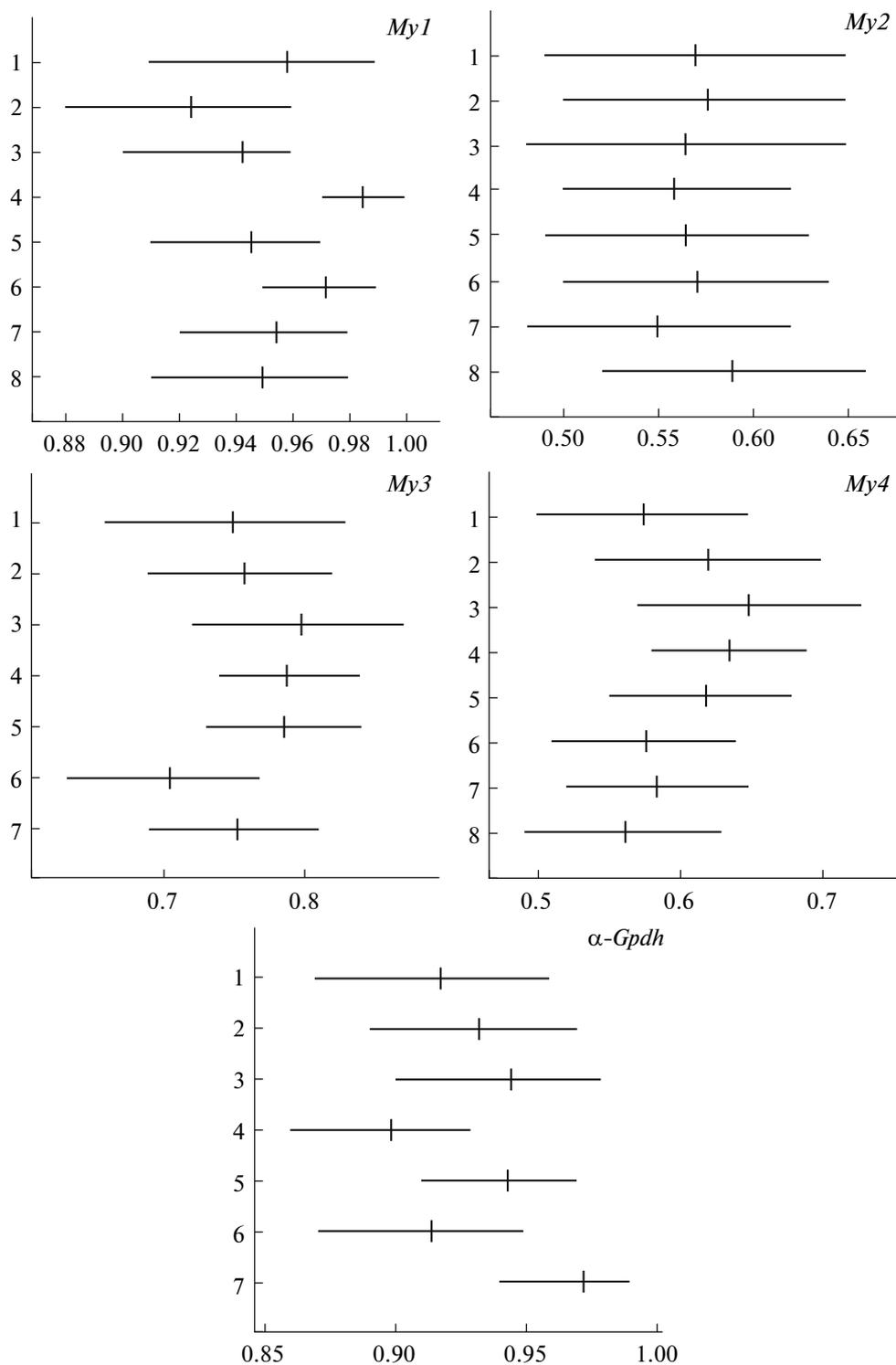


Рис. 1. Распределение частоты аллеля А исследованных локусов.

По оси ординат – номера выборок. По оси абсцисс: вертикальная линия – частота аллеля, горизонтальная линия по обе стороны частоты – доверительный интервал $p = 0.95$. Обозначение выборок см. табл. 1. Для рис. 1, 2.

леля этого локуса и от года сбора проб. Например, две выборки (№ 1 и № 8), собранные с временным интервалом в 8 лет (1979–1987 гг.), достоверно не различаются между собой, тогда как выборка

№ 4, собранная в мае 1980 г., имеет достоверные отличия от выборки № 5, собранной в ноябре того же года (табл. 1). Таким образом, статистически достоверные различия между выборками, об-

Таблица 4. Гетерозиготность (H) исследованных локусов в выборках *M. yessoensis* из бухты Алексева

Генерация	№ выборки	Локусы					
		<i>My1</i>	<i>My2</i>	<i>My3</i>	<i>My4</i>	<i>α-Gpdg</i>	M ± m
I	1	0.08	0.506	0.351	0.494	0.113	0.309 ± 0.091
	2	0.126	0.468	0.354	0.405	0.134	0.298 ± 0.071
	3	0.114	0.529	0.338	0.529	0.078	0.318 ± 0.097
II	4	0.029	0.559	0.277	0.519	0.201	0.317 ± 0.099
	5	0.088	0.5	0.385	0.49	0.093	0.311 ± 0.092
	6	0.057	0.425	0.421	0.505	0.095	0.301 ± 0.093
III	7	0.07	0.48	0.36	0.45	0.056	0.283 ± 0.092
IV	8	0.1	0.533	—	0.522	—	—
M ± m		0.083 ± 0.011	0.5 ± 0.015	0.355 ± 0.017	0.489 ± 0.015	0.11 ± 0.017	

Примечание. “—” — нет данных

наруженные нами по частоте аллелей локуса *My1*, не имеют временной направленности.

Рассматривая возникшие достоверные различия между выборками по локусу *α-Gpdh* (3 случая) мы также не обнаружили их связи с возрастом моллюсков, сезоном и годом взятия проб.

Во всех случаях достоверные различия по частоте аллелей получены между выборками с крайними значениями частот. При этом в 93.7% случаев сравнений достоверные различия между выборками вообще отсутствуют. В целом ни по одному локусу не удалось обнаружить достоверного изменения частот аллелей, связанного с временной изменчивостью.

Тем не менее, при анализе распределения частот аллелей генераций I и II, графически представленных на рис. 1, бросаются в глаза колебания частот аллелей локусов *My3*, *My4*, *α-Gpdh* внутри каждой генерации. Практически для каждой генерации эти колебания имеют тенденцию к определенной направленности временных изменений. При этом по одному и тому же локусу эта направленность выглядит по-разному в зависимости от генерации.

Например, с возрастом частота аллеля А локуса *My3* в выборках генерации I (№ 1–3) повышается, а в выборках генерации II (№ 4–6) понижается (рис. 1, табл. 2). Такая же тенденция отмечена и по локусу *My4* (рис. 1, табл. 2). По локусу *α-Gpdh* (рис. 1, табл. 2) в выборках генерации I (№ 1–3) с возрастом наблюдается незначительное повышение частоты аллеля А, но в генерации II (№ 4–6) происходит циклическое изменение частоты этого аллеля с возрастом: сначала понижение, а затем повышение до исходной величин

ны. Однако проведенное статистическое сравнение не выявило достоверных различий между временными процессами, протекающими в генерациях, ни по среднему уровню, ни по параллельности. Поэтому все эти возрастные изменения частот аллелей локусов *My3*, *My4*, *α-Gpdh* можно рассматривать как случайные колебания частот аллелей вокруг средней частоты, видимо, характерной для популяции.

Достоверное различие между генерациями I и II в средних уровнях процессов было получено при сравнительном анализе динамики частоты аллеля А локуса *My1* (рис. 1). Визуально в обеих генерациях отмечено возрастное циклическое изменение частоты аллеля А. Но в генерации I оно не сопровождается достоверными различиями между выборками (№ 1–3), тогда как в генерации II отмечено достоверное понижение частоты этого аллеля от выборки № 4 к выборке № 5 и вторичное повышение частоты к выборке № 6. При этом, если по частоте аллеля А выборка № 4 достоверно отличалась от большинства выборок, то частота данного аллеля в выборке № 5 достигла значений очевидно характерных для популяции и перестала достоверно отличаться от частот аллеля А в остальных выборках, также как и частота данного аллеля в выборке № 6, несмотря на некоторое ее повышение. Таким образом, в младшей выборке генерации II частота аллеля А локуса *My1* достоверно отклоняется от характерных для данной популяции значений, но достигает этих значений с переходом в следующую возрастную группу данной генерации, где, очевидно, происходит их дальнейшая стабилизация.

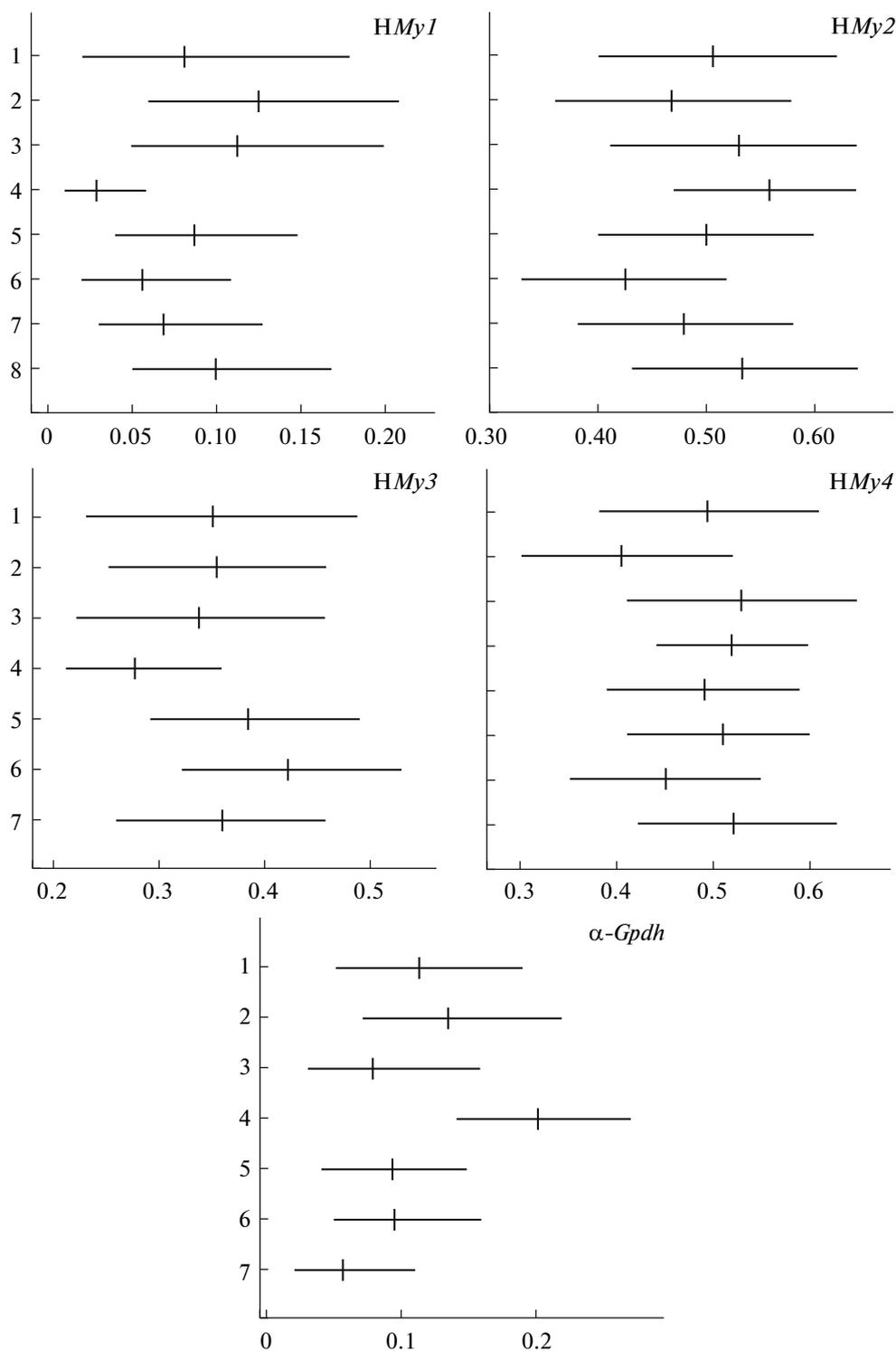


Рис. 2. Распределение выборок по значениям гетерозиготности (H) исследованных локусов. По оси абсцисс: вертикальная линия – гетерозиготность.

В табл. 4 приведены значения гетерозиготности исследованных выборок по каждому локусу, а также значения средней гетерозиготности каждой выборки по всем локусам. Как видно из пред-

ставленного материала, наименьшие значения гетерозиготности отмечены для локусов *My1* и *α -Gpdh*. Значительно более высокие значения этого параметра обнаружены для локуса *My3*.

И, наконец, наиболее высокие значения гетерозиготности получены для локусов *My2* и *My4*.

При попарном сравнении выборок по значениям гетерозиготности в 11 случаях из 126 были получены достоверные различия (табл. 3). При этом в 5 случаях эти различия обнаружены по локусу *My1*, в 4 случаях — по локусу α -*Gpdh* и по одному случаю приходится на локусы *My2* и *My3*.

На рис. 2 графически приведено распределение значений гетерозиготности каждого исследованного локуса по выборкам при значимости доверительных интервалов ≤ 0.05 . Из рис. 2 видно, что различия между выборками по значениям гетерозиготности могут быть настолько велики, что даже доверительные интервалы практически не перекрываются, как, например, по локусу *My1* у выборок № 4 и № 2. Тем не менее по тем же причинам, что и в случае с частотами аллелей, ни одну выборку, ни по одному локусу мы не можем дискретно выделить из общего ряда: все они представляют единую совокупность.

Различия в значениях гетерозиготности между выборками не связаны с возрастом выборок. Одновозрастные выборки могут достоверно различаться между собой по значениям гетерозиготности какого-либо локуса, в то время как разновозрастные могут не иметь статистически значимых различий. Так, например, по гетерозиготности локуса *My1* две выборки возрастом 11 мес. (№ 4 и № 8) различаются между собой при значимости $p \leq 0.001$, тогда как одна из них (№ 8) не отличается достоверно от выборки в возрасте 4 лет (№ 6) (табл. 3).

Эти различия нельзя считать следствием сезонных изменений, так как выборки, полученные в одном и том же сезоне, могут достоверно различаться между собой как, например, № 4 и № 8 (локус *My1*), тогда как одна из них (№ 8) по этому же локусу не отличается достоверно от выборки № 5, полученной в другом сезоне.

Наличие различий между выборками не зависит от принадлежности выборок к той или иной генерации. Две выборки, относящиеся к одной и той же генерации, могут достоверно различаться между собой, как, например, № 4 и № 5 (*My1*), тогда как одна из них (№ 5) не отличается статистически от всех выборок из остальных генераций.

Не зависит количество достоверных различий и от временного интервала между временем взятия выборок. Так, например, получены достоверные различия по значениям гетерозиготности локуса *My1* между выборками, собранными с интервалом в 6 мес. (№ 1 и № 4), тогда как между выборками № 1 и № 7, собранными с интервалом в 8 лет, не обнаружено достоверных различий.

Из представленного материала (табл. 3, рис. 2) видно, что все случаи достоверных различий по гетерозиготности выборок обнаружены при сравнении выборки № 4 со всеми остальными выборками и не зависят ни от возраста или сезона сбора выборок, ни от принадлежности к какой-либо генерации. При этом различия могут наблюдаться по гетерозиготности любого исследованного локуса (исключая *My4*). Выборка № 4 находится в возрасте 11 мес. и относится к самым младшим исследованным нами возрастным группам. Однако столь четкие отличия этой выборки от всех остальных, безусловно, не являются следствием ее возраста, так как выборка № 8, относящаяся к той же возрастной группе (табл. 1), не отличается по данному признаку ни от одной выборки (кроме № 4) в пределах всех исследованных локусов. Значения гетерозиготности выборки № 4 занимают крайнее положение по четырем из пяти исследованных локусов (рис. 2). При этом оно может быть как минимальным (*My1*, *My3*), так и максимальным (*My2*, α -*Gpdh*).

Таким образом, достоверные различия между выборками по гетерозиготности являются следствием крайнего значения этого параметра у одной из выборок и не могут служить отражением временной изменчивости.

Тем не менее, при анализе распределения значений гетерозиготности, графически представленном на рис. 2, можно отметить колебания этого параметра по выборкам внутри каждой генерации. Эти колебания могут создавать тенденцию к определенной направленности временной изменчивости значений гетерозиготности в зависимости от генерации. В то же время статистическое сравнение генераций I и II по временной направленности процессов изменчивости локусов *My2*, *My3*, *My4* не выявило значимых различий между ними ни по среднему уровню, ни по параллельности процессов. Очевидно, что отмеченные нами различия в направлении изменчивости нужно рассматривать как случайные колебания гетерозиготности внутри каждой генерации.

Однако по локусам *My1* и α -*Gpdh* различия в динамике изменчивости между исследуемым поколением достигают достоверного уровня значимости ($p \leq 0.95$). По локусу *My1* гетерозиготность выборок обеих генераций сначала повышается от младшей возрастной группы к старшей (№ 1–2 и № 4–5), а затем снова падает (рис. 2). Несмотря на то, что это отмечено в обеих генерациях, различие по среднему уровню процессов, происходящих в генерациях I и II, статистически достоверно. По локусу α -*Gpdh* отмечена статистически достоверная ($p \leq 0.05$) непараллельность процессов, происходящих в генерациях I и II. В

Таблица 5. Оценка генетического разнообразия генераций *M. yessoensis* по исследованным локусам (G_{ST})

Генерация	Число выборок	H_T	$^{\wedge}H_S$	G_{ST} , %
I–IV	8	0.308	0.307	0.357
I	3	0.311	0.31	0.193
II	3	0.309	0.308	0.356
I–II	6	0.31	0.309	0.323

Примечание. H_T – разнообразие всей рассматриваемой подразделенной популяции или генерации, как если бы она представляла единое панмиктическое сообщество, $^{\wedge}H_S$ – среднее разнообразие генерации или популяции.

генерации I происходит повышение гетерозиготности от младшей возрастной группы к следующей по возрасту (№ 1–2) и затем падение в самой старшей группе генерации, а в генерации II гетерозиготность резко падает от самой младшей возрастной группы к следующей по возрасту (№ 4–5) и затем стабилизируется в этом положении (рис. 2).

Анализ средних значений гетерозиготности каждой выборки по всем исследованным локусам (табл. 4) выявил достаточно узкие пределы колебаний от 0.298 до 0.318 (выборка № 8 не учитывалась, ввиду отсутствия данных по двум локусам). Визуально можно отметить некоторое возрастное уменьшение средних значений в генерации II (№ 4–6), тогда как в генерации I (№ 1–3) наибольшее среднее значение отмечено в самой старшей выборке. Статистическое сравнение выборок как по средним значениям мультилокусной гетерозиготности (T_d), так и по ранговому критерию Вилкоксона ни в одном случае не выявило достоверных различий по данному признаку.

В целом, рассматривая гетерозиготность как некую оценку изменчивости, следует отметить, что исходя из представленного анализа, все исследованные нами генерации находятся на тождественных уровнях изменчивости.

На основе использования G_{ST} -статистики Нея (Nei, 1975; Алтухов и др., 1997) было исследовано отклонение внутривыборочного разнообразия от общего разнообразия генераций. В табл. 5 приведено значение G_{ST} для всех генераций, рассматриваемых в совокупности как единая популяция (I–IV), для генерации I и II по отдельности и для совокупности, состоящей из двух генераций (I и II), рассматриваемых как единая популяция. Представленные данные во всех случаях свидетельствуют об очень небольших различиях между внутривыборочным и генерационным разнообразием. Наименьшее различие получено при исследовании генерации I, что отражает отсутствие достоверных различий по частотам аллелей меж-

ду выборками, относящимися к этой генерации. Однако статистическое сравнение (критерий Фишера с использованием ϕ -преобразования), полученных значений G_{ST} не выявило достоверных различий между ними. В соответствии с работами Нея (Nei, 1975) и Алтухова с соавт. (1997) данный результат является свидетельством как генетической стабильности поколений, так и отсутствия их генетической дифференциации.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ временной динамики генетической изменчивости *M. yessoensis* показал, что все выборки по частотам аллеля и по значениям гетерозиготности любого исследованного локуса образуют единую группу, которую невозможно ни разделить на подгруппы, ни дискретно выделить какую-либо выборку из общего ряда, так как доверительные интервалы частот аллелей и значений гетерозиготности всех выборок перекрываются и крайние варианты связаны рядом переходов. При этом достоверные различия между выборками по частотам аллелей обнаружены лишь в 6.3% случаев из 126 сравнений, а по значениям гетерозиготности в 8.7% из 126 случаев сравнений. В преобладающем большинстве случаев эти различия не связаны с возрастом выборки, сезоном и годом ее сбора или принадлежностью выборок к той или иной генерации, а являются результатом сравнения крайних вариантов.

Детальный анализ достоверных различий между выборками выявил, что по частотам аллелей в 50%, а по значениям гетерозиготности в 100% случаев различие определяется самой младшей (11 мес.) выборкой генерации II (№ 4). Эта выборка занимает крайнее положение по частотам аллелей, а также по значениям гетерозиготности локусов *My1* и α -*Gpdh* относительно всех остальных выборок исследованных генераций. Частота аллеля А локуса *My1* в этой выборке максимальная, а локуса α -*Gpdh* – минимальная, по сравнению с другими выборками. Следующая по старшинству выборка генерации II (№ 5) возрастом 1 год 4 мес. не отличается статистически по частотам аллелей и гетерозиготности данных локусов ни от одной из исследованных выборок (исключая № 4), в том числе и от выборки того же возраста (№ 1), но относящейся к генерации I.

Видимо за период времени, продолжающийся пока выборка возрастом 11 мес. (№ 4) достигла возраста 1 год 4 мес. (№ 5), в генерации произошло понижение частоты аллеля А локуса *My1* и, соответственно, повышение гетерозиготности по данному локусу. За этот же период в этой генерации произошло повышение частоты аллеля А ло-

куса α -*Gpdh* с понижением гетерозиготности этого локуса. Данные изменения частот аллелей затронули только два локуса из пяти исследованных нами. Можно предположить, что резкое преобладание частот одного аллеля (А) над частотами другого аллеля (В) (табл. 2) в этих локусах создало неустойчивую систему, при которой повышается вероятность изменения частот аллелей под воздействием каких либо факторов окружающей среды.

Можно было бы предположить, что еще скопление личинок, осевших на коллекторах генерации II, изначально имело соотношение частот аллелей локусов *My1* и α -*Gpdh*, подобное таковому в выборке № 4. В таком случае, очевидно, произошло воздействие факторов, приводящее частоты аллелей к значениям, не отличающимся от частот аллелей данной популяции. Однако исследование пространственного распределения частот аллелей приморского гребешка по акватории Российского Приморья от залива Посыет до бухты Владимир и залива Анива, проведенное авторами (Логвиненко и др., 1982; Кодолова и др., 2005), не показало достоверных различий между локальностями по частотам аллелей этих локусов. Поэтому трудно представить, откуда мог бы быть получен на коллекторах материал, достоверно отличающийся от других выборок.

С другой стороны, в литературе есть сведения о временной динамике генетической изменчивости другого двустворчатого моллюска — черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* (Жуковская, Кодолова, 1997). Авторами при исследовании пяти культивируемых генераций этого вида из двух географически удаленных марихозийств были выявлены достоверные циклические изменения частот аллелей локуса *Lap* у младшей возрастной группы (1 год) каждой генерации под действием неблагоприятных для одного из аллелей факторов в первый для этой генерации осенне-зимний период. Прекращение действия этих факторов вызывало возвращение к первоначальному состоянию соотношения частот аллелей, а переход группы в следующую возрастную категорию делал ее значительно менее уязвимой, что и обеспечило в дальнейшем генетическую стабильность генераций по данному локусу вне зависимости от сезона. Это явление, заключающееся в возвращении популяции к первоначальному генетическому состоянию после прекращения давления отбора, известно как “генетический гомеостаз” (Lerner, 1954).

Таким образом, и в нашем случае можно предположить изменение частот аллелей локусов *My1* и α -*Gpdh* как следствие действия неблагоприятных факторов во время первого осенне-зимнего

периода жизни генерации в выборке № 4, ранее не отличавшейся по частотам аллелей этих локусов от остальных выборок.

Эти факторы могли понизить частоту аллеля В локуса *My1* и частоту аллеля А локуса α -*Gpdh* во время указанного периода жизни генерации II. После прекращения действия этих факторов, частоты аллелей обоих локусов достигли уровня частот, аналогичного уровню частот остальных исследованных выборок и, видимо, оптимального для всей популяции. Но очевидно, что эти факторы, достоверно меняющие соотношение аллелей в первый год жизни генерации, действуют не всегда, так как выборка № 8 аналогичного возраста (11 мес.), относящаяся к генерации IV, не имела достоверных отличий ни от одной из исследованных выборок.

В нашем материале из двух самых младших по возрасту выборок (№ 4 и № 8) только одна достоверно отличалась по частотам аллелей локусов *My1* и α -*Gpdh* как от выборки ее возраста, так и от большинства выборок старших возрастов. Соответственно, достоверное изменение частот аллелей обоих локусов при переходе младшей возрастной группы в следующую по старшинству произошло только лишь в одной (II) генерации. Это обстоятельство дало основу для достоверно разного направления и силы выраженности процессов динамики генетической изменчивости при сравнении генераций I и II по частотам аллелей и гетерозиготности данных локусов. Изменение частот аллелей и их соотношения в какой либо возрастной группе предполагает эпизодическое действие определенных факторов в ограниченный период жизни генерации, по окончании которого происходит восстановление частот аллелей до уровня других генераций этой же популяции. Как показали результаты нашего исследования и исследования других авторов (Yotsutani *et al.*, 1995; Жуковская, Кодолова, 1997) наиболее подвержены действию экологических факторов младшие возрастные группы моллюсков.

На основании результатов анализа можно сделать вывод об отсутствии достоверно направленной временной изменчивости исследованных поколений по исследованным генетическим параметрам локусов *My1*, *My2*, *My3*, *My4*, α -*Gpdh*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты нашего исследования в целом показали стабильность частот аллелей и значений гетерозиготности пяти полиморфных локусов у поколений приморского гребешка культивируемых в заливе Алексева на протяжении 9 лет. Частоты исследованных алле-

лей не зависят от возраста моллюсков и не подвержены сезонной изменчивости. Статистически подтвержденные отклонения частот, отмеченные у одной из младших выборок (№ 4) через полгода были приведены к единым для всей популяции величинам.

Частоты аллелей описанных нами локусов, безусловно, могут быть использованы в качестве биохимико-генетических маркеров для детального изучения популяционной структуры приморского гребешка и генетического мониторинга культивируемых поколений. При этом для исследования популяционной структуры во избежание ошибок необходимо использовать моллюсков не моложе трехлетнего возраста, а генетический мониторинг культивируемых поколений надо проводить с самого младшего возраста, что позволит получить наиболее полную информацию о закономерностях динамики генетической изменчивости приморского гребешка.

Авторы выражают благодарность Ю.Э. Брегману (ТИНРО ДВО РАН) за организацию сбора материала и определение возраста моллюсков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айала Ф.* Введение в популяционную и эволюционную генетику. М.: Мир, 1984. 232 с.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Омельченко В.Т.* Популяционная генетика лососевых рыб. М.: Наука, 1997. 288 с.
- Голубцов А.С.* Внутрипопуляционная изменчивость животных и белковый полиморфизм. // М.: Наука, 1988. 165 с.
- Долганов С.М.* Аллозимные маркеры у приморского гребешка *Mizuchopecten yessoensis* (Jay) // Генетика. 1995. Т. 31. № 6. С. 825–832.
- Долганов С.М., Пудовкин А.И.* Генетическая изменчивость гребешка *Mizuchopecten* (*Patinopecten*) *yessoensis* в Приморье // Генетика. 1997. Т. 33. № 10. С. 1387–1394.
- Долганов С.М., Пудовкин А.И.* Популяционно-генетическая структура гребешка *Mizuchopecten* (*Patinopecten*) *yessoensis* на Сахалине и южных Курильских островах. // Генетика. 1998. Т. 34. № 10. С. 1411–1419.
- Жуковская Е.А., Кодолова О.П.* О временной динамике генетической изменчивости черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Изв. РАН. Сер. биол. 1997. № 3. С. 297–305.
- Кодолова О.П., Болотецкий Н.М., Жуковская Е.А., Правдухина О.Ю.* Разнообразие типов популяционной структуры беспозвоночных животных в связи с биологическими и биогеографическими характеристиками // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М: КМК, 2005. С. 227–237.
- Логвиненко Б.М., Кодолова О.П., Правдухина О.Ю., Брегман Ю.Э.* О генетическом и морфологическом разнообразии приморского гребешка (*Patinopecten yessoensis*) в трех заливах Японского моря // Зоол. журн. 1982. Т. LXI. Вып. 11. С. 1643–1651.
- Плохинский Н.А.* Алгоритмы биометрии // М.: Изд-во МГУ, 1980. С. 1–199.
- Правдухина О.Ю., Кодолова О.П., Логвиненко Б.М.* Генетическое разнообразие приморского гребешка в районах Японского моря и Курильских островов. // Применение научных разработок ученых – биологов в рыбном хозяйстве. М: Изд-во МГУ, 1987. С. 91–92.
- Правдухина О.Ю., Кодолова О.П.* О генетическом разнообразии пресноводного моллюска *Unio tumidus* Phil. (*Bivalvia*, *Unionidae*) // Висн. Житом. пед. ун-ту, 2002. № 10. С. 12–16.
- Скарлато О.А.* Двустворчатые моллюски умеренных широт западной части Тихого океана. Л: Наука, 1981. 479 с.
- Fujio Y., Yamanaka R., Smith P.G.* Genetic variation in marine molluscs // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1983. V. 49. № 12. P. 1809–1817.
- Hebert P.* Ecological differences between genotypes in a natural population of *Dafnia magna* // Heredity. 1974a. V. 33. № 3. P. 327–337.
- Hebert P.* Enzyme variability in natural populations of *Dafnia magna*. II. Genotypic frequencies in permanent populations // Genetics (USA). 1974b. V. 77. № 2. P. 323–334.
- Hebert P.* Enzyme variability in natural populations of *Dafnia magna*. III. Genotypic frequencies in intermittent populations // Genetics (USA). 1974c. V. 77. № 2. P. 335–341.
- Hilbish T.J.* Demographic and temporal structure of an allele frequency cline in the mussel *Mytilus edulis* // Mar. biol. 1985. V. 86. P. 163–171.
- Jonson F.M., Borrows P.M.* Isozyme variability in species of the genus *Drosophila*. VIII. The alcohol dehydrogenase polymorphism in North Carolina populations of *D. melanogaster* // Biochem. Gen. 1976. V. 14. № 1–2. P. 47–58.
- Kijima A., Mori K., Fujio Y.* Population differences in gene frequency of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* on the Okhotsk sea coast of Hokkaido // Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 1984. V. 50 № 2 P. 241–248.
- Lerner I.M.* Genetic homeostasis. Edinburgh: Oliver, Boyd, 1954. P. 1–350.
- Nei V.* Molecular population genetics and evolution. Amsterdam: North-Holland Publ., 1975. P. 1–278.
- Varvio A.* On the causes of seasonal genetic changes in gerris lacustris // Hereditas. 1981. V. 94. № 1. P. 139–142.
- Yotsutani M., Kosaka Y., Fujio Y.* Change of homozygote excess during growth in the Japanese scallop, *Patinopecten yessoensis* // Tohoku J. Agr. Res. 1995. V. 46. № 1–2. P. 35–45.

**Temporal Dynamics of Genetic Diversity of Japanese Scallop
Mizuhopecten yessoensis (Jay, 1856)**

O. Yu. Pravdukhina and O. P. Kodolova

Biology Department, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

e-mail: pravdukhina_olga@mail.ru

Received November 29, 2009

Abstract—The season and age-related dependence of the distribution of the frequency of alleles and of five polymorphous loci have been studied for eight cultivated samples of the Japanese scallop *M. yessoensis* (Jay) from Alexeev Bay (Popov Island, Sea of Japan) using polyacrylamide gel electrophoresis. The consistency of the frequency of alleles and of heterozygotes was revealed for samples with an age greater than one year independently of the season and age. Samples of the younger (11 months) mollusks can have reliable deviations of the frequency of allele and of heterozygotes. However, as the sample reaches a certain age, these genetic parameters correspond to values general to the whole population. The episodic influence of ecological factors on the younger age groups of mollusks is discussed.