

Список использованных источников / References

- Берзин А.А., Кузмин А.А. 1975. Серые и гладкие киты Охотского моря. Сб. «Морские млекопитающие», Изд-во «Наукова думка», Киев, ч. 1: 30-32 [Berzin A.A., Kuzmin A.A. 1975. Gray and right whales of the Sea of Okhotsk. Pp. 30-32 in Marine mammals. Part. 2. Naukova Dumka, Kiev]
- Берзин А.А. 1995. Серые киты охотско-корейской (западной) популяции. Тез докл. Международной конф. по изуч. и охране морских млекопит. Голицыно, 11-12 окт., 1995, с. 12-13 [Berzin A.A. 1995. Gray whales of the western population. Pp. 12-13 in Abstracts of reports of the International conference on marine mammals study and conservation. Golitsyno, Oct. 11-12, 1995]
- Томилин А.Г. 1957. Звери СССР и прилегающих стран. Китообразные. М.: АН СССР, т. 9: 1-756 [Tomilin A.G. 1957. Mammals of the USSR and adjacent countries. Cetaceans. Moscow, AS USSR, vol. 9. 756 p.]
- Goerlitz D.S., Urban, J., Rojas-Bracho L., Belson M., Schaeff C.M. 2003. Mitochondrial DNA variation among Eastern North Pacific gray whales (*Eschrichtius robustus*) on winter breeding grounds in Baja California. *Can. J. Zool.*, 81(12): 1965-1972.
- Ilyashenko V.Yu. 2011. Gray Whale re-inhabits former species area. Paper SC/63/BRG 24 presented to the International Whaling Commission Scientific Committee. P. 1-10.
- LeDuc R.G., Weller D.W., Hyde J., Burdin A.M., Rosel P.E., Brownell (Jr) R.L., Würsig B., Dizon A.E. 2002. Genetic differences between western and eastern gray whales (*Eschrichtius robustus*). *J. Cetacean Res. Manage.* 4(1): 1-5.
- Rozhnov V., Mate B., Bradford A., Vertyankin V., Tsidulko G., Irvine L., Hayslip C., Poltev Yu., Ilyashenko V., Tyurneva O. 2011. Preliminary results Research Program of the Okhotsk-Korean Gray Whale (*Eschrichtius robustus*) Population Habitat Using Satellite Telemetry. Paper SC/63/BRG26 presented to the International Whaling Commission Scientific Committee. P. 1-13.
- Scammon C. 1869. The cetaceans of the western coast of North America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 21: 40-49.

Мещерский И.Г.<sup>1</sup>, Шпак О.В.<sup>1</sup>, Глазов Д.М.<sup>1</sup>, Литовка Д.И.<sup>2</sup>, Борисова Е.А.<sup>3</sup>, Языкова М.Г.<sup>4</sup>, Рожнов В.В.<sup>1</sup>

## **Белуха (*Delphinapterus leucas*) в морях Дальнего Востока: состав и распределение митохондриальных линий**

1. Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия
2. Чукотский филиал Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра, Анадырь, Россия
3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
4. Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

---

Meschersky I.G.<sup>1</sup>, Shpak O.V.<sup>1</sup>, Glazov D.M.<sup>1</sup>, Litovka D.I.<sup>2</sup>, Borisova E.A.<sup>3</sup>, Yazykova M.G.<sup>4</sup>, Rozhnov V.V.<sup>1</sup>

## ***Beluga whale (Delphinapterus leucas) in Far Eastern seas: mtDNA lines assortment and distribution***

- 1 A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Moscow, Russia
- 2 Chukotka branch of Pacific Research Fisheries Center, Anadyr, Russia
- 3 M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
- 4 K.A. Timiryazev Russian State Agrarian University MTAА, Moscow, Russia

Материалом для генетического исследования населения белух российского Дальнего Востока послужили образцы кожи, собранные методом биопсии, у мертвых животных или при животоотловах для научно-

To conduct a genetic research of beluga whale population inhabiting Russian Far East, we took skin remote biopsy samples as well samples taken from dead animals and from live animals during capture for educa-

просветительских целей в Охотском море: в Сахалинском заливе («сахалино-амурское летнее скопление», 2004-2011 гг.,  $n=136$ ); в заливах Николая, Ульбанский, Тугурский и Удская губа («шантарское летнее скопление», 2008-2011 гг.,  $n=189$ ); у западного побережья Камчатки (устье р. Харьюзово, 2010-2011, 35 особей) в Охотском море и в Анадырском лимане Берингова моря (2010-2011 гг.,  $n=77$ ). Для всех животных были определены нуклеотидные последовательности участка митохондриальной ДНК (мтДНК) общей длиной 559 п.н. (ген тРНК-пролина – 62 п.н. и контрольный регион – 497 п.н.) и для большинства – аллельный состав восьми или 19 микросателлитных локусов ядерной ДНК.

Анализ распределения частот аллелей позволил констатировать генетическую изолированность белух Охотского и Берингова морей и высокую степень генетической обособленности стад, летующих на западе (Сахалинский залив и Шантарский регион) и на востоке (западное побережье Камчатки) Охотского моря (Борисова и др. 2012). В то же время группы белух, образующих сахалино-амурское и шантарское летние скопления являются представителями единой популяции (Языкова и др. 2012). Учитывая указанные особенности, ее можно назвать «западно-охотоморской популяцией».

Анализируемый в данной работе характер распределения митохондриальных линий отражает не популяционную структуру, а устойчивые предпочтения в выборе мест летовок, формировавшиеся в процессе исторического освоения районов обитания (филопатрия). Всего у 437 проанализированных особей было отмечено 24 варианта (гаплотипа) нуклеотидной последовательности проанализированного участка, характер структурных отношений между которыми показан на рисунке, а количественная оценка присутствия в каждом районе – в табл. 1.

Все четыре исследованных района летовок достоверно ( $p<0,000001$ ) отличаются между собой не только по частотам встречаемости конкретных гаплотипов (критерий  $F_{st}$ ), но и по средней дистанции (критерий  $\Phi_{st}$ ) между присутствующими в каждом районе вариантами. В сахалино-амурском скоплении однозначно доминирует гаплотип S022 и его производные (S011, S051: S001, S053, S063). Данная группа белух характеризуется самым высоким уровнем гаплотипического и весьма высоким – нуклеотидного разнообразия. Следует отметить, что гаплотипы, имеющие в основе (участок длиной 409 п.н.) ту же последовательность, что и гаплотип S022, широко представлены и у белух, встречающихся вдоль обоих побережий Северной Америки и до архипелага Шпицберген на востоке

tional and scientific purposes from the Okhotsk Sea beluga whales in the following regions: the Sakhalinsky Bay (Sakhalin-Amur summer aggregation, 2004-2011,  $n=136$ ); Nikolaya, Ulbansky, Tugursky, and Udkaya Bays (Shantar summer aggregation, 2008-2011,  $n=189$ ); off the west coast of Kamchatka (the mouth of the Kharyuzovo River, 2010-2011, 35 individuals) in the Okhotsk Sea, and in the Bering Sea (the Anadyr Estuary, 2010-2011,  $n=77$ ). Nucleotide sequences of the mitochondrial DNA (mtDNA), with a total length of 559 bp (proline tRNA gene – 62 bp, and control region – 497 bp) were determined for all animals tested; allelic compositions at 8 or 19 nuclear DNA microsatellite loci were determined for most of the animals tested.

Estimation of the distribution of the allele frequencies showed genetic isolation between the Okhotsk Sea and the Bering Sea stocks. It also showed a high level of genetic isolation between the stocks that summer in the western Okhotsk Sea (the Sakhalinsky Bay and the Shantar Region) and in the eastern Okhotsk Sea (the west coast of Kamchatka) (Борисова и др. this book). Since the beluga whales from the Sakhalin-Amur and Shantar summer aggregations are members of the same population (Языкова и др. this book), they can be named the “western-okhotsk population”.

The mitochondrial lines distribution pattern that is being analysed in this paper reflects stable preferences in selection of summering areas (that were formed historically, during habitat enhancement), rather than the population structure. The same DNA fragment tested in 437 individuals was found to contain 24 nucleotide sequence variants (haplotypes). The structural comparison of the variants is shown in the figure, and the quantitative estimation of their presence in the animals from each summering area is shown in Table 1.

All the 4 summering areas demonstrated statistically significant differences ( $p<0.000001$ ) not only in the frequency of occurrence of particular haplotypes (according to  $F_{st}$ ), but also in the mean genetic distances (according to  $\Phi_{st}$ ) between the variants present in each study region. For example, the most frequently occurring haplotype for the Sakhalin-Amur aggregation was haplotype S022 and its derivatives (S011, S051, S001, S053, S063). This beluga whale aggregation is characterized by the highest degree of haplotype diversity and a rather high degree of nucleotide diversity. It should be noted that haplotypes having the same base sequence (of the 409-bp fragment) as haplotype S022 are often observed in beluga whales occurring along the both coasts of North America, up to the Svalbard Archipelago in the east (O’Corry-Crowe et al. 1997,

(O'Corry-Crowe et al. 1997, 2010, табл. 2).

| 2010, table 2.)

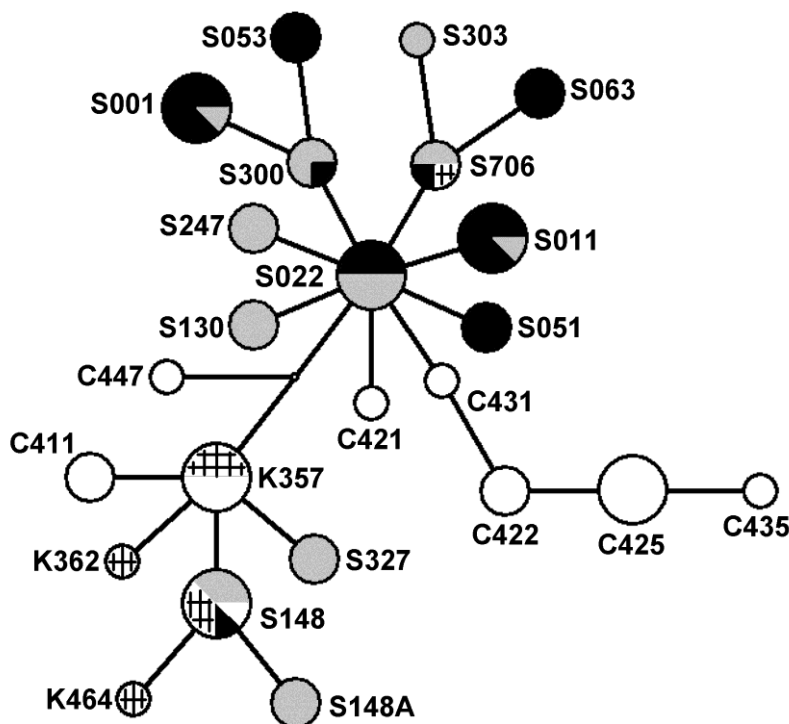


Рис. Медианная сеть гаплотипов участка гена тРНК-пролина и контрольного региона мтДНК (всего 559 п.н.), представленных в группах белух на Дальнем Востоке России. Минимальное расстояние между двумя соседними кружками соответствует одному мутационному событию. Диаметр кружков отражает частоту встречаемости гаплотипа: максимальный – доминирование, встречаемость не менее 15% в каком-либо из районов, средний – встречаемость не более 15%, но не менее, чем у двух особей в одном районе, минимальный – единичные встречи. Черный цвет заливки – сахалино-амурское, светло-серый – шантарское летние скопления, белый со штриховкой – западное побережье Камчатки, белый – Анадырский лиман.

Fig. Median-joining Network of haplotypes of mtDNA tRNA-Pro gene and the control region fragment (559 bp as a total) presented in beluga whale groups in Russian Far East. Minimal distance between two nearest circles corresponds to single mutative change. The circles diameter represents the haplotype occurrence: maximal for majority (15% or more in at least one locality), intermediate for occurrence less than 15%, but found for two or more individuals in one locality, minimal – single findings. Black circles – Sakhalin-Amur summer aggregation, grey – Shantar aggregation, crosslined white – Western Kamchatka, white – Anadyr' Estuary

В шантарском скоплении в целом также доминируют особи с гаплотипом S022, однако между рядом отдельных заливов в пределах самого региона обнаруживаются достоверные различия (Языкова и др. 2012). Они выражаются в нарастании при продвижении с востока на запад доли сильно дистанцированного от S022 гаплотипа S148 и его производных (S148A, S327). За счет значительных различий между доминирующими вариантами выборка шантарского скопления характеризуется повышенным уровнем нуклеотидного разнообразия.

Среди особей, летующих у западного побережья Камчатки, гаплотипы линии S148/K357 доминируют абсолютно. В Анадырском лимане преобладает гаплотип C425 и его производные, широко распространенные у белух уже в арктическом бассейне (табл. 2). Однако заметную долю здесь составляют и белухи с гаплотипом K357, доминирующим в районе западного побережья Камчатки. При этом, ни в каких других

The S022 haplotype was also the most frequent haplotype in the individuals of the Shantar aggregation, but within this aggregation there were statistically significant differences between belugas, depending on the bay (Языкова и др. this book). The differences consisted in an east-to-west increase in the presence of the S148 haplotype (that is essentially distanced from S022) and its derivatives (S148A, S327). These considerable differences between the dominant variants were the cause of samples from the Shantar aggregation.

As for the individuals that summer off the west coast of Kamchatka, haplotypes S148/K357 were found to be absolutely dominant in them. The haplotype prevailing in the Anadyr Estuary is haplotype C425 and its derivatives (they commonly occur in beluga whales of the Arctic Basin (table 2). However, the number of beluga whales with the K357 haplotype (that is dominant among belugas of west coast of Kamchatka) is also high. It is noteworthy that the S148/K357 haplotypes

районах, включая (по известным нам опубликованным данным) воды у берегов Северной Америки, гаплотипы линии S148/K357 не отмечены.

were not detected in any other region (according to the published data), including regions off the North America coasts.

Табл. 1. Встречаемость (%) и показатели разнообразия гаплотипов проанализированного фрагмента мтДНК (559 п.н.) белух в исследованных районах летовок. Жирным шрифтом показаны доминирующие (встречаемость >15%) варианты.

Table 1. Occurrence (%) of haplotypes of the analyzed mtDNA fragment (559 bp) and genetic diversity indices in beluga whale samples from studied summering localities. The major (occurrence >15%) haplotypes are given in bold.

Гаплотип <i>Haplotype</i>	Сахалино-амурское скопление Sakhalin-Amur aggregation	Шантарское скопление Shantar aggregation	Западная Камчатка Western Kamchatka	Анадырский лиман Anadyr' Estuary
S001	<b>27,2</b>	0,6	0	0
S011	<b>15,4</b>	0,6	0	0
S022	<b>34,5</b>	<b>49,2</b>	0	0
S051	8,1	0	0	0
S053	7,3	0	0	0
S063	3,7	0	0	0
S130	0	6,1	0	0
S247	0	2,7	0	0
S300	1,5	5,0	0	0
S303	0	0,6	0	0
S327	0	2,7	0	0
S706	1,6	9,9	2,9	0
S148	0,7	<b>18,2</b>	<b>45,7</b>	1,3
S148A	0	4,4	0	0
K357	0	0	<b>45,7</b>	<b>18,2</b>
K362	0	0	2,8	0
K464	0	0	2,9	0
C411	0	0	0	3,9
C421	0	0	0	1,3
C422	0	0	0	7,8
C425	0	0	0	<b>62,3</b>
C431	0	0	0	1,3
C435	0	0	0	2,6
C447	0	0	0	1,3
Общее число гаплотипов <i>Total number of haplotypes</i>	9	11	5	9
Индекс гаплотипического разнообразия <i>Haplotypic diversity (H)</i>	0,775	0,709	0,597	0,555
Индекс нуклеотидного разнообразия <i>Nucleotide diversity (π, %)</i>	0,290	0,313	0,143	0,263

Выявляемая ситуация представляется во многом парадоксальной. Состав и разнообразие митохондриальных линий в сахалино-амурском скоплении лучше всего отвечают ситуации гипотетического рефугиума, откуда белухи с окончанием ледниковой эпохи начали заселять более северные районы Па-

The situation observed is in many ways paradoxical. The composition of mitochondrial lines in the Sakhalin-Amur aggregation and their diversity are in the best accordance with that of population of hypothetical Ice Age refugium, from where, at the end of the ice age, beluga whales began to move north, occupying more northern

цифики, продвигаясь, согласно существующим предположениям (O’Corry-Crowe et al. 1997, 2010) и вдоль северо-западных берегов американского континента. Однако в настоящее время западно-охотоморская популяция, включающая белух сахалинско-амурского и шантарского скоплений, не может рассматриваться в качестве предковой для всей Северной Пацифики, так как в ее составе присутствуют и особи иной, эндемичной для азиатского побережья, филогенетической линии.

parts of the Pacific Ocean including (according to the existing assumptions – O’Corry-Crowe et al. 1997, 2010) waters along the northwestern coasts of the American continent. At the same time, we cannot consider the recent West Okhotsk Sea population (that includes the Sakhalin-Amur and Shantar stocks) to be the ancestor population for the whole North Pacific area, because this population includes individuals of different phylogenetic line that is endemic to the Asian coast.

Табл. 2. Присутствие в различных районах гаплотипов участка контрольного региона длиной 409 п.н., идентичных соответствующему фрагменту участка длиной 559 п.н.

Table 2. Occurrence of 409 bp mtDNA control region haplotypes identical to corresponding part of 559 bp fragment in different regions.

Гаплотип участка мтДНК 559 п.н., наши данные <i>559 bp fragment haplotype (our data)</i>	Идентичная последовательность для участка 409 п.н. <i>The same sequence for 409 bp fragment (O’Corry-Crowe et al. 1997; 2010)</i>
<b>C447:</b> Анадырский лиман / <i>Anadyr’ Estuary</i>	<b>hp1:</b> залив Кука (доминирует) / <i>Cook Inlet (major)</i> , залив Нортон / <i>Norton Sound</i> , восток Чукотского моря / <i>Eastern Chukchi Sea</i>
<b>S300:</b> сахалино-амурское и шантарское скопления / <i>Sakhalin-Amur and Shantar aggregations</i>	<b>hp2:</b> восток Чукотского моря (доминирует) / <i>Eastern Chukchi Sea (major)</i> , залив Кука / <i>Cook Inlet</i> , море Бофорта / <i>Beaufort Sea</i>
<b>S022:</b> сахалино-амурское и шантарское скопления (доминирует) / <i>Sakhalin-Amur and Shantar aggregations (major)</i> <b>S130:</b> шантарское скопление / <i>Shantar aggregation</i> <b>C421:</b> Анадырский лиман / <i>Anadyr’ Estuary</i>	<b>hp5:</b> заливы Нортон и Бристольский (доминирует) / <i>Norton Sound, Bristol Bay (major)</i> , залив Кука / <i>Cook Inlet</i> , восток Чукотского моря / <i>Eastern Chukchi Sea</i> , море Бофорта / <i>Beaufort Sea</i> , зап. побережье Гренландии / <i>West Greenland</i> , Шпицберген / <i>Svalbard</i>
<b>C422:</b> Анадырский лиман / <i>Anadyr’ Estuary</i>	<b>hp7:</b> залив Нортон (единично) / <i>Norton Sound (a single finding)</i>
<b>C425:</b> Анадырский лиман (доминирует) / <i>Anadyr’ Estuary (major)</i> также Белое море (Мещерский и др., неопубл. данные) / <i>also White Sea (Meschersky et al., unpublished data)</i>	<b>hp9:</b> море Бофорта / <i>Beaufort Sea</i> , зап. побережье Гренландии / <i>West Greenland</i> , Шпицберген / <i>Svalbard</i> - доминирует во всех вышеперечисленных районах / <i>as a major everywhere above</i> , также отмечен в / <i>also found in</i> восток Чукотского моря / <i>Eastern Chukchi Sea</i> , Белое море / <i>White Sea</i>
<b>C435:</b> Анадырский лиман / <i>Anadyr’ Estuary</i>	<b>hp14:</b> восток Чукотского моря / <i>Eastern Chukchi Sea</i> , море Бофорта / <i>Beaufort Sea</i> , Шпицберген / <i>Svalbard</i>

Белый кит» ИПЭЭ РАН Постоянно действующей экспедиции РАН по изучению животных Красной книги Российской Федерации и других особо важных животных фауны России при поддержке Русского географического общества и проекта «Современный статус белух амурского скопления (Охотское море, Россия): оценка устойчивости» (исполнитель ООО РОЦ «Дельфин и Я») при финансовой поддержке Ocean Park Corporation (Hong Kong); Georgia Aquarium Inc., SeaWorld Parks and Entertainment, Mystic Aquarium and Institute for Exploration, (USA); Kamogawa Sea World (Japan).

gram (the program is part of the Permanent expedition of Russian Academy of Science studying Red Book animals and other focus species of Russia) conducted by the Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, with the support of the Russian Geographical Society and the project “Current status of the Sakhalin-Amur beluga aggregation (The Okhotsk Sea, Russia): sustainability assessment” (contractor: “Dolphin and I” Ltd: rehabilitation and health center), with the financial support of Ocean Park Corporation (Hong Kong); and with the financial support of Georgia Aquarium Inc., SeaWorld Parks and Entertainment, Mystic Aquarium and Institute for Exploration, (USA); Kamogawa Sea World (Japan).

#### Список использованных источников / References

- Борисова Е.А., Мещерский И.Г., Шпак О.В., Глазов Д.М., Литовка Д.И., Языкова М.Г., Рожнов В.В. 2012. Оценка влияния географической изоляции на степень генетической обособленности в популяциях белухи (*Delphinapterus leucas*) российского Дальнего Востока. Наст. сборник. [Borisova E.A., Meschersky I.G., Shpak O.V., Glazov D.M., Litovka D.I., Rozhnov V.V. 2012. Evaluation of effect of geographical isolation on level of genetic distinctness in beluga whale (*Delphinapterus leucas*) populations in Russian Far East. This book.]
- Языкова М.Г., Мещерский И.Г., Шпак О.В., Глазов Д.М., Литовка Д.И., Борисова Е.А., Рожнов В.В. 2012. Молекулярно-генетический анализ сахалино-амурского и шантарского летних скоплений белухи (*Delphinapterus leucas*) в Охотском море. Наст. сборник. [Yazykova M.G., Meschersky I.G., Shpak O.V., Glazov D.M., Litovka D.I., Borisova E.A., Rozhnov V.V. 2012. Molecular genetic analysis of Sakhalin-Amur and Shantar beluga' (*Delphinapterus leucas*) summer aggregations in the Okhotsk Sea. This book.]
- O'Corry-Crowe G.M., Suydam R.S., Rosenberg A., Frost K.J., Dizon A.E. 1997. Phylogeography, population structure and dispersal patterns of the beluga whale *Delphinapterus leucas* in the western Nearctic revealed by mitochondrial DNA. *Mol. Ecol.*, 6: 955-970.
- O'Corry-Crowe G. M., Lydersen C., Heide-Jørgensen M.P., Hansen L., Mukhametov L.M., Dove O., Kovacs K.M. 2010. Population genetic structure and evolutionary history of North Atlantic beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from West Greenland, Svalbard and the White Sea. *Polar Biol.*, 33: 1179-1194.

Минзюк Т.В., Кавцевич Н.Н.

### **Миелопероксидаза и бактерицидные катионные белки в лейкоцитах серого тюленя (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791)**

Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск, России

Minzyuk T.V., Kavtsevich N.N.

### **Myeloperoxidase and bactericidal cationic peptides in leukocytes of gray seal (*Halichoerus grypus* Fabricius, 1791)**

Murmansk marine biological institute KSC RAS, Murmansk, Russia

У различных видов ныряющих млекопитающих активность ферментов АОС выше, чем у наземных животных (Руднева-Титова 1997, Галанцев и др. 1999).

Compared to terrestrial animals, diving mammals have higher levels of antioxidant enzyme activity (Руднева-Титова 1997, Галанцев и др. 1999).