ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА (ФГУП «ГОСРЫБЦЕНТР»)

Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб

BIOLOGY, BIOTECHNOLOGY OF BREEDING AND CONDITION OF COREGONID FISH STOCKS

Восьмое международное научно-производственное совещание

(Россия, Тюмень, 27-28 ноября 2013 года)

VIII International Scientific and Practical Workshop

(Tyumen, Russia, November, 27-28, 2013)

Материалы совещания

Научное издание

Под общей редакцией доктора биологических наук А.И. Литвиненко, доктора биологических наук Ю.С. Решетникова

Тюмень ФГУП «Госрыбцентр» 2013

ECOGICAL AND PHYSIOLOGICAL OPTIMUM TEMPERATURE AND UPPER TEMPERATURE LIMITS OF COREGONID FISH LIFE

Golovanov V.K.

Federal State Institution of Science Institute for Biology of Inland Waters. I.D. Papanina Russian Academy of Sciences (FGBUN IBIW RAS)

Summary

A brief review of the experimental data in 8 species of Coregonid fish that characterize the values of their ecological and physiological optimum and upper temperature limits of life in the first year of life have been done.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ТУГУНА, COREGONUS TUGUN (PALLAS), ПО МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАРКЕРАМ

Гордон Н.Ю. 1 , Бочкарев Н.А. 2 , Матвеев А.Н. 3 , Селюков А.Г. 4 , Политов Д.В. 1

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН)

²Институт систематики и экологии животных СО РАН (ИСиЭЖ СО РАН)

³Иркутский государственный университет (ИГУ)

⁴Тюменский государственный университет (ТюмГУ)

Тугун *Coregonus tugun* (Pallas) — эндемик России, один из ценнейших видов сиговых рыб, запасы которого неуклонно сокращаются практически во всех бассейнах, где он обитает (от Оби до Яны). Уязвимость этого вида подчеркивается тем, что в ряде притоков Оби (Томь, притоки Тобола) тугун исчез в прошлом веке (Москаленко, 1971). Как короткоцикловый вид, тугун признан перспективным объектом искусственного разведения в системах с замкнутым водоснабжением (Селюков и др., 2010).

Морфологические различия тугуна из бассейнов Оби и Енисея слабо выражены, в то время как ленский тугун выделяется Л.С. Бергом (1948) в отдельный подвид С. t. lenensis Berg на основании более крупной чешуи и более короткого спинного плавника. Однако Ф.Н. Кириллов (1972) подвергал эту идею критике, поскольку более тщательное изучение ленского тугуна показало вариабельность числа чешуй в боковой линии в пределах бассейна Лены и перекрывание пределов значений с типовым западным подвидом С. t. tugun, в частности, с енисейским тугуном. Тугун является немигрирующим жилым видом, обитающим в реках, и никогда не выходит в эстуарии и тем более в морские воды, хотя и доходит до низовьев рек. Расселение этого вида, таким образом, могло происходить лишь в позднеплейстоценовое время, когда ныне обособленные бассейны крупных сибирских рек были связаны. Понимание генетических связей и филогеографической истории тугуна возможно на основе анализа молекулярных маркеров, хорошо зарекомендовавших себя как эффективные инструменты анализа родственных взаимоотношений сиговых рыб (Бодали и

др., 1994; Vuorinen et al., 1998; Reist et al., 1998; Politov et al., 2000, 2002, 2007; Baldina et al., 2007). Настоящая работа призвана стать первым вкладом в оценку генетической дифференциации тугуна трех крупнейших стад обского, енисейского и ленского бассейнов по комплексу молекулярных маркеров ядерной (аллозимы) и цитоплазматической (мтДНК) локализации.

Материалы и методы

Использованы выборки тугуна, собранного авторами в р. Северная Сосьва (44 экз., бассейн р. Оби, 2011 г., коллектор А. Г. Селюков), в 2008-2009 гг. в р. Нижняя Тунгуска (36 экз., басс. р. Енисея, 2008, коллектор А.Н. Матвеев), р. Чая (9 экз., басс. р. Лены, 2010, коллектор А.Н. Матвеев), р. Лены вблизи устья р. Буотамы (44 экз., 2013, коллекторы Д.В. Политов, Н.А. Бочкарев). Для аллозимного анализа использовались свежезамороженные ткани скелетной мышцы и печени тугуна из рр. С. Сосьвы, Н. Тунгуски и Лены, для анализа мтДНК – фиксированные этиловым спиртом ткани тугуна из рр. С. Сосьвы, Н. Тунгуски и Чаи. В сравнительном анализе использованы также материалы по другим представителям рода Coregonus, проанализированным ранее (Politov et al., 2000, 2004; Baldina et al., 2007), а также других представителей рода Coregonus из коллекции лаборатории популяционной генетики ИОГен РАН. Аллозимный анализ проводился в крахмальном геле с использованием локусов AH-1*, AH-2*, ADH*, CK-A1,2*, CK-3*, EST-2*, EST-D*, G3PDH-1*, G3PDH-2* GPI-A,1,2*, GPI-B1,2*, mIDHP-1,2*, mIDHP-3,4*, IDDH-1,2*, LDH-A1,2*, LDH-B1,2*, sMDH-A1,2*, sMDH-B1,2, sMEP-1,2*, mMEP1,2*, PGDH*, PGM-1*, PGM-2*, SOD-1*, SOD-2*. Препараты тотальной ДНК выделяли из тканей печени или скелетных мышц с помощью набора реактивов DNAPrep («ООО Лаборатория Изоген»). С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали фрагмент мтДНК, кодирующий субъединицу 1 NADH-дегидрогеназного комплекса (ND-1) с фланкирующими последовательностями (Cronin et al., 1993). ПЦР-продукт обрабатывали 18 рестрикционными эндонуклеазами: Ase I, Ava II, BsaJ I, Bsp1286 I, BstN I, BstU I, Dde I, Dpn II, Hae III, Hha I, Hinc II, Hinf I, Hph I, Msp I, Nci I, Rsa I, Ssp I, Taq I. После электрофореза в агарозном геле фрагменты ДНК окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем в ультрафиолетовом свете. Более подробно методики анализа полиморфизма аллозимов и мтДНК описаны ранее (Politov et al., 2000, 2002, 2004, 2007; Baldina et al., 2007).

Результаты

Из исследованных 37 аллозимных локусов изменчивыми оказались следующие: ADH^* , CK-A1, 2^* , G3PDH- 1^* , G3PDH- 2^* GPI-A1, 2^* , GPI-B1, 2^* , IDHP-1, 2^* , IDHP-3, 4^* , IDDH-1, 2^* , LDH-A1, 2^* , LDH-B1, 2^* , sMDH-A1, 2^* , sMDH-B1,2, mMEP-1, 2^* , sMEP3, 4^* , $PGDH^*$, PGM- 1^* , PGM- 2^* , sSOD- 2^* . Значения F_{ST} (доли межпопуляционной компоненты в общей изменчивости) по локусам варьировали от 0,002 (IDDH-1, 2^*) до 0,301 (IDHP-1, 2^*). Среднелокусное значение F_{ST} со-

ставило 0,056 (5,6% изменчивости относится к межпопуляционной). Таким образом, тугун имеет характерный для сиговых в целом уровень генетической дифференциации. Дифференциация между популяциями тугуна Оби и Лены и Енисея по аллозимам (табл.) ниже (0,027), чем в парах Обь - Енисей (0,054) и Енисей - Лена (0,046). Эту же тенденцию иллюстрирует ординация особей в пространстве главных компонент по аллозимным данным (рис. 1).

Таблица — Попарные значения $F_{\rm ST}$ по аллозимным локусам (ниже диагонали), нуклеотидная дивергенция мтДНК (выше диагонали), гаплотипическое (h) и нуклеотидное (π) разнообразие в популяциях тугуна

Популяция	Обь	Енисей	Лена	h	π
Обь	1	0,025415	0,016754	$0,566\pm0,071$	0,00233
Енисей	0,054	-	0,009773	$0,710\pm0,053$	0,00237
Лена	0,027	0,046	-	$0,849\pm0,067$	0,00894

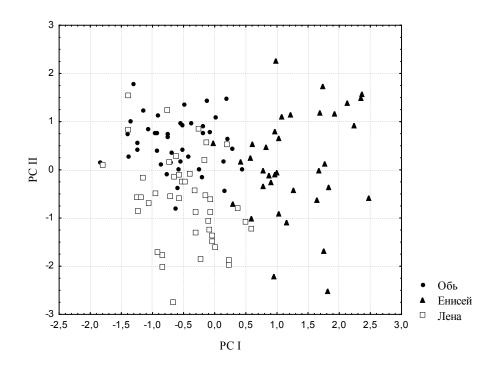


Рисунок 1 - Ординация особей тугуна из популяций Оби, Енисея и Лены в пространстве главных компонент по аллозимным данным

Набор митохондриальных гаплотипов каждого из трех исследованных бассейнов оказался уникальным (рис. 2). В С. Сосьве мы обнаружили два частых и три более редких гаплотипа, в Н. Тунгуске два частых и два более редких, в меньшей по объему выборке из Чаи – пять гаплотипов. Таким образом, в каждой из популяций наблюдается высокая гаплотипическая изменчивость (выше у ленского тугуна, см. табл.) и неповторяющийся набор вариантов мтДНК. Из рис. 3 видно, что с сетью гаплотипов других видов тугун соединяется через варианты Т10309 и Т10310, характерные для бассейна Лены,

и которые, следовательно, можно признать наиболее древними, а западные гаплотипы – производными, при этом обские варианты, вероятно, произошли независимо от ленских, а не от енисейских. Таким образом, можно предположить, что тугун как вид появился в области, связанной с древним ленским бассейном, распространяясь затем на запад по протяженным пресноводным пост-ледниковым озерам и другим водоемам, соединявшим ныне обособленные современные бассейны Оби, Енисея и Лены (Шапошникова, 1976). При этом, дифференциация тугуна Лены и Енисея между собой по мтДНК (см. табл.) несколько ниже (0,0098), чем ленского и енисейского тугуна с обским (0,0168 и 0,0254 соответственно).

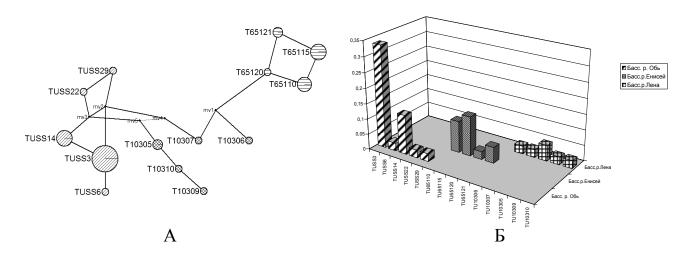


Рисунок 2 - Медианная сеть (А) и распределение частот гаплотипов (Б) мтДНК у тугуна из бассейнов трех сибирских рек.

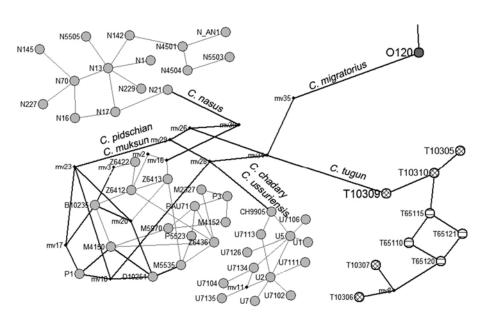


Рисунок 3 - Фрагмент медианной сети гаплотипов тугуна и других видов рода *Coregonus*

Положение тугуна в роде *Coregonus* ранее исследовалось несколькими группами исследователей с использованием разнообразных методов. Несмотря на то, что формально тугун, как вид с конечным ртом, относится к подроду Leucichthys, он не имеет тесного родства ни с ряпушками, ни с омулями (как, впрочем, те же ряпушки и омули оказались не родственными друг другу). Положение тугуна в системе сигов рода *Coregonus* определённо обособленное. Это очевидно и по результатам кариологических исследований (Фролов, 2000), и по аллозимным данным (Ермоленко, 1991; Бодали и др., 1994; Vuorinen et al., 1998; Sendek, 2002). В то же время по изменчивости контрольного региона мтДНК тугун мог бы быть отнесен к линии ряпушек и пеляди, хотя бутстрэпподдержка этой связи и невысока (Reist et al., 1998), и она не подтверждается данными других авторов (Суханова, 2004). Наше исследование, основанное на гораздо более репрезентативном материале, подтвердило особое положение тугуна и показало, что ни по аллозимам, ни по мтДНК, тугун не является близким родственником сигов из других эволюционных линий. Он кластеризуется отдельной ветвью в центре медианной сети гаплотипов, ближе к собственно сигам группы lavarerus-pidschian-muksun, байкальским сигам и омулю (см. рис. 3), и не связан с более специализированными линиями настоящих омулей и ряпушек-пеляди (в данной публикации не представлены из-за ограниченного места).

Работа поддержана Программами фундаментальных исследований РАН «Живая природа» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов» и «Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем».

Список литературы

Берг, Л. С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран : Ч. 1. - М. : Издательство АН СССР, 1948. - 468 с.

Бодали, Р. А. Генетические связи пяти видов сиговых рыб Сибири / Р. А. Бодали, Д. А. Вуоринен, Ю. С. Решетников, Д. Д. Рист // Вопросы ихтиологии. - 1994. - Т. 34, № 2. - С. 195-203.

Ермоленко, Л. И. Генетическая дивергенция сигов рода *Coregonus* / Л. И. Ермоленко // Генетика. - 1991. - Т. 27, № 3. - С. 515-522.

Кириллов, Ф. Н. Рыбы Якутии. - М. : Наука, 1972. - 359 с.

Москаленко, Б. К. Сиговые рыбы Сибири. - М. : Пищевая промышленность, 1971. - 184 с.

Селюков, А. Г. Применение установок замкнутого водоснабжения для формирования маточных стад сиговых рыб (на примере тугуна) / А. Г. Селюков, Л. А. Шуман, Е. В. Ефремова // Вестник Тюменского университета. - 2010. - \mathbb{N} 27. - С. 122-129.

Суханова, Л. В. Молекулярно-филогенетическое исследование байкальского омуля *Coregonus autumnalis migratorius* (Georgi) / Л. В. Суханова // Дис. ... канд. биол. Наук: 03.00.15. - Иркутск, 2004. - 88 с.

Фролов, С. В. Изменчивость и эволюция кариотипов лососевых рыб. - Владивосток : Дальнаука, 2000. - 229 с.

Шапошникова, Г. Х. История расселения сигов рода *Coregonus* // Зоогеография и систематика рыб. - Л. : Наука, 1976. - С. 54-67.

Baldina, S. N., Gordon, N. Y., Politov, D. V. Genetic relationships of the Ussuri cisco, *Coregonus ussuriensis* Berg 1906, in view of mtDNA data // Advances in Limnology. 2007. V. 60. P. 83-89.

Cronin, M. A., Spearman, W. J., Wilmot, R. L., Patton, J. C., Bickham, J. W. Mitochondrial DNA variation in chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction (PCR) products // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1993. V. 50. № 4. P. 708-715.

Politov, D. V., Bickham, J. W., Patton, J. C. Molecular phylogeography of Palearctic and Nearctic ciscoes // Annales Zoologici Fennici. 2004. V. 41. P. 13-23.

Politov, D. V., Borovikova, E. A., Gordon, N. Yu. Penzhina river cisco *Coregonus subautumnalis* Kaganovsky does not belong to the Arctic cisco species complex: first genetic evidence based on allozyme data // Advances in Limnology. 2007. V. 60. P. 69-81.

Politov, D. V., Gordon, N. Yu., Afanasiev, K. I., Altukhov, Y. P., Bickham, J. W. Identification of Palearctic coregonid fish species using mtDNA and allozyme genetic markers // Journal of Fish Biology. 2000. V. 57 (Suppl.). P. 51-71.

Politov, D. V., Gordon, N. Yu., Makhrov, A. A. Genetic identification and taxonomic relationships of six Siberian *Coregonus* species // Biology and Management of Coregonid Fishes, Archiv fuer Hydrobiologie Special Issues - Advances in Limnology. 2002. V. 57. P. 21-34.

Reist, J. D., Maiers, L. D., Bodaly, R. A., Vuorinen, J. A., Carmichael, T. J. The phylogeny of New and Old World coregonine fishes as revealed by sequence variation in a portion of the d-loop of mitochondrial DNA. // Archiw für Hydrobiologie Special Issues - Advances in Limnology. 1998. V. 50. P. 551-561.

Sendek, D. S. Electrophoretic studies of Coregonid fishes from across Russia // (ed. by T. Todd, G. Fleischer) Archiv für Hydrobiologie - Advances in Limnology. 2002. P. 35-55.

Vuorinen, J. A., Bodaly, R. A., Reist, J. D., Luczynski, M. Phylogeny of five *Prosopium* species with comparisons with other Coregonine fishes based on isozyme electrophoresis // Journal of Fish Biology. 1998. V. 53. № 5, P. 917–927.

DIFFERENTIATION OF TUGUN, *COREGONUS TUGUN* (PALLAS), POPULATION BY MOLECULAR GENETIC MARKERS

Gordon N.Yu.¹, Bochkarev N.A.², Matveev A.N.³, Selyukov A.G.⁴, Politov D.V.¹

¹Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow ²Institute of Animal Systematics and Ecology SB RAS, Novosibirsk ³Irkutsk State University ⁴Tyumen State University

Summary

Tugun Coregonus tugun (Pallas) is an endemic to Russia distributed from Ob to Yana river basins. Population genetic structure of this valuable and endangered

species was studied by two sets of molecular markers. High and typical for Coregonid fish levels of allozyme and mtDNA variation was observed in samples from Ob, Yenisey and Lena Rivers. Tugun from Lena river is putatively ancestral to population of Middle and Western Siberia however since the sample from Yenisey does not look intermediate between Lena and Ob, penetration to Ob and Yenisey could be independent events. Dispersal of this species from territory of nowadays Yakutia westward putatively took place during Pleistocene along freshwater connection between presently separated basins of great Siberian rivers. Our data confirmed that tugun genetically stands apart from other *Coregonus* species and does not have close relatives that assumes its long isolate evolution.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОСПРОИЗВОДСТВА СИГОВЫХ РЫБ В Р. СЫНЯ (НИЖНЯЯ ОБЬ)

Госькова О.А.

ФГБУН Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН (ФГБУН ИЭРиЖ УрО РАН)

Размножение сиговых рыб, обитающих в низовьях Оби, инкубация их икры, зимовка части производителей проходят преимущественно в горных реках восточного склона Приполярного и Полярного Урала. В приустьевых участках поймы нерестовых рек протекает нагул молоди после ската с нерестилищ и отчасти производителей после их зимовки (Экология рыб..., 2006). Уральские притоки Нижней Оби можно считать «ключевыми местообитаниями» (Павлов, Мочек, 2005) для сиговых рыб, где необходим мониторинг состояния ценных биоресурсов. Река Сыня – один из крупных полярноуральских притоков Оби, где размножаются пять видов сиговых рыб (Юданов, 1932; Москаленко, 1971). Бассейн Сыни пока еще не подвержен техногенному загрязнению, на его малонаселенной территории сохраняются традиционные для коренных народов Севера формы природопользования: оленеводство, сезонные рыболовство, охота (Экологическое состояние ..., 2002). Воспроизводство сиговых рыб в Сыне отличается нестабильностью из-за периодических зимних заморов на нерестилищах вследствие перемерзания мелководных участков русла в отдельные годы (Госькова, 2009).

С 1992 г. нами ежегодно проводятся исследования численности генераций, распределения молоди на нагул в пойме после ската с нерестилищ, нерестовой миграции и биологических характеристик производителей разных видов сиговых рыб. Эти исследования — составная часть многолетнего мониторинга воспроизводства сиговых рыб в уральских притоках, который позволяет выявить влияние экологических факторов и демографическое состояние их популяций (Богданов, 2010). Весной на одном и том же створе в период покатной миграции молоди сиговых рыб с нерестилищ для количественной оценки численности генераций, а также смертности икры после заморов использовали метод учета стока (Павлов и др.,1981; Богданов, 1987). С 1994 г. ежегодно сразу