

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

ФИЛОГЕОГРАФИЯ И ИНВАЗИИ ЕВРОПЕЙСКИХ ГОРЧАКОВ: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ТАКСОНОМИЮ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Н.Г. Богуцкая

*Зоологический институт Российской академии наук,
Санкт-Петербург 199034; e-mail: office@zin.ru*

Целью настоящего доклада является анализ истории расселения европейского горчака в понто-каспийском бассейне - как палеоистории (в масштабе значительных временных отрезков), так и сравнительно недавнего расширения ареала (интродукции и инвазии). Данные по морфологии, таксономии, распространению (в разные периоды), старые архивные и литературные данные (Van Damme et al., 2006) в объединении с данными изучения последовательностей традиционного в молекулярной систематике рыб митохондриального гена *cyt b* (Bohlen et al., 2006) позволили обосновать новую гипотезу, описывающую как филогеографические события, так и расселение новейшего времени. Эта гипотеза включает следующие основные положения:

- горчак, предковый для комплекса *Rhodeus sericeus sensu lato*, имел широкий евразийский ареал до среднего-познего плиоцена, когда произошло полное разобщение западной (комплекс *Rhodeus amarus*) и восточной (комплекс *Rhodeus sericeus*, в настоящее время включающий как минимум три описанные вида: *R. sericeus*, *R. pseudosericeus*, *R. mantschuricus*) групп;

- в раннем плейстоцене (при максимуме оледенения) произошло обособление эгейских популяций (в настоящее время вид *R. meridionalis*) и южно-каспийского горчака;

- в черноморском бассейне во время плейстоцена существовали три основные рефугиума а) в бассейне нижнего Дуная (*R. amarus s. str.*), б) в низовьях рек северо-западного Причерноморья, в) в западном Закавказье (в настоящее время вид *R. colchicus*);

- расселение из двух европейских рефугиумов по двум основным направлениям: из бассейна Дуная в Эльбу, Одер, далее на запад и юг до бассейнов Дрима и Струмы; в северном и восточном направлениях в бассейнах Южного Буга, Днепра, Дона с проникновением в Вислу и Волгу;

- области распространения горчаков в Европе до 1100 г.н.э. были весьма ограниченны, и основным вектором их расселения в период от, примерно, 1150 до 1560 года были непреднамеренные интродукции, связанные со стремительным развитием аквакультуры карпа в Западной Европе;

- уменьшение ареала произошло снова в течение похолодания, имевшего место в начале второй половины 2-го тысячелетия н.э. (Малый ледниковый период, "the Little Ice Age"), и с конца 18 века началось новое расселение, в значительной степени связанное, прямо или косвенно, с антропогенными факторами.

Работа поддержана Программой Президиума РАН "Биоразнообразие и динамика генофонда".

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *DAPHNIA GALEATA* SARS В РАЗНОТИПНЫХ ОЗЕРАХ ТОДЖИНСКОЙ КОТЛОВИНЫ (РЕСПУБЛИКА ТЫВА)

Е.И. Зуйкова¹, Н.А. Бочкарев¹, А.В. Катохин²

¹Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630091; e-mail ih@eco.nsc.ru

²Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук Новосибирск 630090; e-mail katokhin@bionet.nsc.ru

Несмотря на многочисленные экологические и эволюционные исследования, знания по ракообразию рода *Daphnia* представляют собой набор отдельных фрагментов, нередко никак не связанных друг с другом. Большинство работ, выполненных по дафниям экологами, не подкреплены надежным анализом морфологии и индивидуального развития этих животных, а в систематике до сих пор часто используются описательные признаки, что приводит к затруднениям и явным ошибкам при определении видов. Возможно, что такие чрезвычайно полиморфные виды, как, например, *D. galeata* являются эволюционно молодыми и плохо дифференцированными. Поэтому в последние десятилетия активно развиваются популяционно-генетические исследования разных видов дафний. Но такие работы проводятся главным образом на лабораторных клонах дафний, а число исследований генетической структуры природных популяций дафний весьма ограничено, особенно это касается изученности популяций дафний из различных регионов России.

Вид *Daphnia galeata* обнаружен в составе зоопланктона шести крупных озер Тоджинской котловины (Республика Тыва, бассейн реки Большой Енисей). Так как эти озера связаны речными системами и расположены в непосредственной близости друг от друга, то можно было предположить полное смешение генофондов и преобладание в этих озерах морфологически сходных форм. Реально имеет место совсем иная ситуация. Нами выявлено более шести различных морфотипов дафнии. В некоторых озерах выявлен только один морфотип, а в других озерах сосуществуют несколько различных форм. В связи с этим проведено изучение межгодовой и сезонной изменчивости морфологических признаков, генетического полиморфизма *D. galeata* из озер Тоджинской котловины и сравнение их с дафниями этого же вида из географически удаленных местообитаний (оз. Чаны). Для изучения генетического полиморфизма проведен анализ мтДНК для участка гена 16S рДНК с использованием специфических праймеров S1 и S2 (Schwenk et al., 1998). Перед выделением ДНК каждую особь фотографировали для последующего определения и измерения морфологических признаков. К настоящему времени нами просеквенированы участки указанного маркера для образцов дафний из озер Шурам-Холь, Борзу-Холь, Тоджа, Чаны. и выявлены межпопуляционные различия. В результате BLAST-поиска в геномных базах данных было найдено, что качественные последовательности этого генетического маркера для палеарктических образцов вида отсутствуют, поэтому полученные нами последовательности оказались наиболее близкими к последовательностям образцов *D. galeata mendotae* из озер Канады и *D. mendotae* из водоемов Северной Америки. Для уточнения таксономического статуса вида *D. galeata* из озер Тоджинской котловины и их эволюционной истории предполагается проведение дальнейших исследований их генетической структуры с привлечением дополнительных маркеров.

МИТОГЕНОМИКА ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ СЕМЕЙСТВА КАРПОВЫХ (CYPRINIDAE)

Луданный Р.И.¹, Хрисанфова Г.Г.¹, Столбунова В.В.², Слынько Ю.В.², Рысков А.П.¹, Семенова С.К.¹

¹ Институт биологии гена Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Вавилова д. 34/5; e-mail: lruslan@yandex.ru

² Институт биологии внутренних вод Российской академии наук, 152742, п/о Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл.

Проанализированы закономерности изменчивости отдельных участков митохондриального генома нескольких представителей одного из наиболее многочисленных семейств пресноводных рыб - карповых (сем. Cyprinidae). Показаны различные диагностические возможности маркеров разного типа (белок-кодирующие и некодирующие участки мтДНК). На основании полиморфизма контрольного региона (КР) мтДНК проведен сравнительный анализ межпородной изменчивости нескольких пород домашнего карпа (*Cyprinus carpio*) отечественной и зарубежной селекции, а также дикого сазана из бассейна рек Дальнего Востока и Восточной Азии.

Сопоставление полиморфизма КР, а также генов *cox1*, *cox2*, *cox3* в различных популяциях плотвы (*Rutilus rutilus*) и леща (*Abramis brama*) из водоемов России использовалось для выявления и оценки внутри- и межвидовой дивергенции. Среднее содержание GC-оснований у разных видов по трем генам составляло в среднем 40%, и оказалось наибольшим (52.1%) в гене *cox2* плотвы. У всех изученных карповых рыб наибольшая внутривидовая изменчивость характерна для КР. Она составляет 4.6% для леща, 6,2% для плотвы и 0.1-1.2% для карпа и сазана. Вариации доли полиморфных сайтов по оставшимся *cox*-генам не превышали 2%, но были у плотвы несколько выше, чем у леща и карпа с сазаном.

Полиморфизм КР оказался пригодным для дифференциации 7 пород карпа отечественной и европейской селекции и популяций сазана из р. Амур, а также пород и видов азиатского карпа. На дендрограмме генетических различий все выборки образовали две отдельных, не сходных между собой группы. В одну из них объединились все представители амурского сазана. Другую группу составили, с одной стороны, дикие виды и породы карпа с территории Азии (Китай, Вьетнам и Япония), а с другой стороны – все породы домашнего карпа европейской и отечественной селекции.

Среди последних в четкие дифференцированные кластеры выделены только представители ангелинского и ропшинского карпа. Представители других отечественных и зарубежных пород (черепетского чешуйчатого и рамчатого, ставропольского, алтайского зеркального (приобская и чумышская популяции), европейского венгерского карпа образовали многочисленные смешанные кластеры.

Уровень межвидовых различий плотвы и леща составил 9% (КР), 6.2% (*cox2*), 11.4% (*cox1*), 24.9% (*cox3*). Обсуждаются возможности использования предлагаемого набора маркеров для расчета возможного времени дивергенции и происхождения от общего предка таких пар, как плотва и лещ, а также карп и сазан с территории России, Европы и разных регионов Азии.

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПО ГЕНАМ ЦИТОХРОМА *b* И ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ 1 НА ПОПУЛЯЦИОННОМ, ВИДОВОМ И РОДОВОМ УРОВНЯХ

Ю.Ф. Картавцев

Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690041; e-mail: Kartavtsev_yu48@hotmail.com

ДНК митохондрий (мтДНК) – это кольцевая молекула, длиной около 16000-18000 пар нуклеотидов (пн.). Как показывают литературные данные, мтДНК всех рыб имеет сходную организацию (Lee et al., 2001; Kim et al., 2004; Kim et al., 2005; Nagase et al., 2005; Nohara et al., 2005) и мало, чем отличается и у других позвоночных животных, включая человека (Anderson et al., 1981; Bibb et al., 1981; Wallace, 1992; Kogelnik et al., 2005).

Полный состав митохондриального генома (митогенома) включает: контрольный регион (CR или D петля), где сосредоточены сайт начала репликации и промоторы, большая (16S) и малая (12S) субъединицы рРНК, 22 тРНК и 13 полипептидных генов.

Филогенетические исследования обычно используют последовательности единичных генов, в том числе и генов ядерной ДНК, хотя в последние годы все чаще используют для этих целей и полный митогеном. Наиболее популярны в филогенетике последовательности генов цитохрома *b* (*Cyt-b*) и цитохром оксидазы 1 (*Co-I*), которые используются для сравнения таксонов на уровне вид – семейство (Johns, Avise, 1998; Hebert et al., 2004; Картавцев, Ли, 2006). Много последовательностей, несущих филогенетический сигнал, получено для разных групп также по гену 16S рРНК.

Последовательности отдельных генов могут давать различный филогенетический сигнал из-за различных темпов замен. Это относится и к разным участкам одного и того же гена. Кроме того, при сопоставлении многочисленных таксонов, особенно высокого ранга, возникают проблемы с эффектами гомоплазии и недостаточной информационной емкостью наборов последовательностей для филогенетических целей (Hilish et al., 1996, Miya et al., 2001). Тем не менее для идентификации видов, за редкими исключениями, достаточно сравнения даже относительно коротких последовательностей, например гена цитохром оксидазы 1 (*Co-I*, 654 пн.).

Проанализированы алгоритмы мер нуклеотидного разнообразия и другие меры генетической дивергенции на молекулярном уровне (Картавцев, Ли, 2006). На основе базы данных по *p*-расстояниям проведено сопоставление генетической дивергенции в популяциях (1) и в таксонах различного ранга, таких как близнецовые виды (2), виды одного рода (3), виды различных родов одного семейства (4). Исходя из теории и алгоритмов расчета расстояний по первичным последовательностям ДНК, а также фактических оценок по литературным источникам, рекомендуется при анализе собственных данных специально подбирать подходящую модель, из восьми имеющихся. В тоже время, эмпирические данные для более чем 24000 видов позвоночных и беспозвоночных животных, убеждают в реалистичности и интерпретируемости полученных рядов данных, по *p*-расстоянию или его различным оценкам. Это является свидетельством применимости данной меры для большинства внутривидовых и межвидовых сравнений генетической дивергенции до уровня семейства по двум сопоставленным генам. Данные по *p*-расстоянию выявляют различные и увеличивающиеся уровни генетической дивергенции последовательностей сопоставленных генов *Cyt-b* и *Co-I* в четырех проанализированных группах сравнения. Средние не взвешенные значения расстояний для четырех групп равны: *Cyt-b* (1) 1.55 ± 0.56 , (2) 5.52 ± 1.34 , (3) 10.69 ± 1.34 , (4) 18.51 ± 2.09 , и *Co-I* (1) 0.55 ± 0.19 , (2) 4.91 ± 0.83 , (3) 9.66 ± 0.72 , (4) 14.69 ± 1.02 . Выявляются также различия между самими генами в степени дивергенции на четырех проанализированных уровнях, хотя суммарные средние

расстояния по двум генам статистически значимо не отличаются. Это согласуется с многочисленными данными о разной скорости эволюции этих и других генов и их различных участках и неоднородности темпов эволюции. Результаты проведенного анализа нуклеотидной, а также аллозимной дивергенции в пределах видов и в таксонах животных разного ранга, во-первых, хорошо согласуются с другими данными этого рода, включая и белковые маркеры генов и, во-вторых, эти данные позволяют сделать обобщение о том, что в животном мире на молекулярном уровне преобладает филетическая эволюция, а видообразование идет, в основном, по типу *DI* (географическая модель). Преобладание типа видообразования *DI* не означает отсутствия других типов. Их имеется не менее семи. Распознавание различных способов видообразования это задача, на пути решения которой видится построение количественной генетической модели (теории) видообразования.

“Штрих-код жизни” (Barcoding of Life – <http://barcoding.si.edu/>) – это международный проект, организованный в 2004 году и призванный объединить усилия специалистов различного профиля (генетиков, зоологов, ботаников, специалистов по информатике и музейному делу) для того, чтобы каждому виду обитающих на Земле животных и растений дать точную специфическую метку и распространить эту информацию для всех интересующихся.

Идея штрих-кодирования видов широко поддержана в мире. Образовался международный Консорциум проекта “Штрих-код жизни”, в который к 2005 г. вступило **69** организаций из 31 страны (университеты, естественно-научные музеи, зоопарки, ботанические сады, агентства, занимающиеся природоохранной деятельностью, и т.д.), а в 2006 г. их численность составила **133**. Конечная цель проекта – идентифицировать все известные и пока неизвестные виды и дать возможность легко определять принадлежность того или иного организма к конкретному виду. Сейчас биологами описано около 1 млн. 700 тыс. видов животных и растений (не считая микробов). Предполагается, что всего существует не менее 10 млн. видов, то есть большинство их еще не выявлено.

Сформированы два подпроекта: “Все рыбы” (Fish-BOL; будут даны “штрих-коды” **20 000** видов морских и пресноводных рыб) и “Птицы Северной Америки” (10 000 видов должны быть кодированы к 2010 году). К 2006 г. уже кодированы - **2453** видов рыб.

Создание базы данных будет сопровождаться разработкой специальной программы по переустройству на современной основе музейных коллекций, начиная с коллекции музея Института биологии моря ДВО РАН, Биолого-почвенного института ДВО РАН, Зоологического института РАН, Института биологических проблем севера и других учреждений. Эта работа предполагает: 1) сопровождение всех типовых (паратиповых) образцов цветными цифровыми фотографиями, 2) ваучерным представлением типовых экземпляров рыб (подготовка технической документации и ее компьютерное обеспечение в соответствии с мировыми стандартами), 3) ведением специальных крио-коллекций спиртовых образцов тканей и 4) инкорпорированием данных в мировые базы данных, начиная с Fish-BOL (<http://www.fishbol>), GenBank, NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) и FishBase (<http://fishbase.com/search.php>).

ПЕРВЫЙ ОПЫТ УЧАСТИЯ В ШТРИХ-КОДИРОВАНИИ ВИДОВ РЫБ РОССИИ НА ОСНОВЕ ПЕРВИЧНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА CO-1

Ю.Ф. Картавец¹, С.Н. Шарина¹, А.Ю. Чичвархин², А.С. Соколовский¹,
А.А. Баланов¹, К.А. Винников³, В.Н. Иванков³

¹Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690041; e-mail: Kartavtsev_yu48@hotmail.com

²Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022

³Дальневосточный государственный университет, Владивосток 690095

По программе штрихкодирования (barcoding) видов рыб на основе ДНК (Fish-BOL, <http://www.fishbol>) определена первичная последовательность нуклеотидов (далее последовательность) около 200 образцов митохондриальной ДНК (мтДНК) гена цитохром оксидазы 1 (*Co-1*). Более подробно проанализированы Камбалообразные рыбы, исследованные на основе двух генов – цитохрома Б (*Cyt-b*) и *Co-1* (по шесть последовательностей для каждого гена). Исходная длина последовательностей варьировала в диапазоне 1158 – 1180 пн (пар нуклеотидов) для гена *Cyt-b* и 614 – 732 пн для гена *Co-1* и после выравнивания составила 1114 пн и 589 пн, соответственно для *Cyt-b* и *Co-1*. С учетом данных генного банка (GenBank; NCBI) проанализировано 67 последовательностей по *Cyt-b* и 21 последовательность по *Co-1* для 34 и 15 видов Камбалообразных рыб, а также для трех и двух видов Окунеобразных, использованных как внешняя группа. Проведенный для гена *Cyt-b* анализ нуклеотидного состава выявил существенное смещение пропорции (Т+С) : (А+G), подтверждая ранее полученные данные для белок-кодирующих генов.

Для сравнения дивергенции на предварительном этапе вычисляли попарные *p*-расстояния для всех изученных последовательностей камбалообразных рыб. Это позволило составить грубое представление о нуклеотидном разнообразии на четырех различных филогенетических уровнях: (1) внутривидом, (2) внутривидовом, (3) внутрисемейственном и (4) внутриотрядном. Значения средних *p*-расстояний по гену *Cyt-b* составили для четырех отмеченных категорий: (1) 0.46±0.19%, (2) 11.74±2.26%, (3) 17.51±3.13% и (4) 25.60±0.42%, соответственно (средняя ± SE). Значения средних *p*-расстояний по гену *Co-1* составили для этих четырех категорий: (1) 0.09±0.06%, (2) 10.97±1.87%, (3) 11.98±0.63% и (4) 20.09±0.17%, соответственно. Возрастание уровня генетической дивергенции с увеличением ранга таксона отмечалось и ранее для обширного набора видов (Johns, Avise, 1989; Hebert et al., 2003; Ward et al., 2005; Kartavtsev et al., 2007a, 2007b), что может быть объяснено преобладанием в природе географической модели видообразования и далее независимой филогенетической эволюцией.

Филогенетические деревья получали на основе четырех подходов: ближайшего соседства (NJ), Байесового (BA), максимального правдоподобия (ML) и максимальной парсимонии (MP). NJ, BA, ML и MP подходы дают в значительной степени близкие итоги, показывая монофилетичность представителей 6 исследованных семейств Камбалообразных рыб. Хорошо обособленными генетически являются большинство родов и видов камбал, хотя имеются также случаи генетической идентичности номинально различных таксонов видового ранга, что ведет к формированию парафилетических групп. Главный вывод состоит в том, что диагностика видов (или штрихкодирование) и по гену *Co-1* и по гену *Cyt-b* является высоко эффективной в силу низкой внутривидовой и высокой межвидовой изменчивости этих маркеров. Обсуждаются также некоторые вопросы синонимии в семействе Камбаловые, методические подходы для точного секвенирования, построения филогенетических древ, поддержания коллекций, баз данных и сопровождения ваучерных экземпляров цветными цифровыми фотографиями.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРЕМАТОД СЕМЕЙСТВА OPISTHORCHIIDAE, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОПИСТОРХОЗА, КЛОНОРХОЗА И МЕТОРХОЗА

А.В. Катохин, С.В. Шеховцов, В.А. Мордвинов, С.Е. Пельтек

*Институт цитологии и генетики, Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск 630090; e-mail: katokhin@bionet.nsc.ru*

Разработка высокочувствительных и высокоспецифичных молекулярно-генетических методов, основанных на применении олигонуклеотидных проб, для выявления трематод семейства Opisthorchiidae и точного определения их видовой принадлежности представляет собой важную и актуальную задачу с большим эпидемиологическим и медицинским значением. В настоящее время виды семейства Opisthorchiidae (роды Opisthorchis, Clonorchis, Metorchis) можно надежно различить только на стадии марит, т.е. взрослых особей, обитающих в печеночных ходах и человека и животных. Однако для оценки качества среды проживания людей по всему ареалу обитания паразитов и разработки соответствующих профилактических мер необходимы методы диагностики описторхиид на более ранних стадиях – в водных животных, выступающих промежуточными хозяевами.

Для изучения генетической гетерогенности популяций трематод семейства Opisthorchiidae нами разработаны молекулярные маркеры трех типов: 1) рибосомальный маркер ITS2 (internal transcribed spacer 2) для различения видов внутри семейства и родов (в том числе для выявления скрытых, морфологически не проявленных видов), 2) митохондриальные маркеры COX1 (ген цитохром оксидазы I) и ND1 (NADH дегидрогеназа I) – для изучения межвидовой и межпопуляционной изменчивости.

Чтобы выяснить степень полиморфности фрагментов генетических маркеров, разрабатываемых в рамках проекта, был предпринят сбор природного материала в различных точках ареала *O. felineus*. Было проанализировано 8 образцов из р. Обь, г. Новосибирск, 14 образцов *O. felineus* из трех географических точек Ханты-Мансийского Автономного Округа, образец мариты *Clonorchis sinensis* (из р.Амур, г. Хабаровск), а также образцы марит *Metorchis bilis* (г. Новосибирск). Материал представляет собой в основном метацеркарии, выделенные из рыб (язи, плотва), а также мариты, выведенные в хомьяках из этих метацеркарий.

Праймеры для амплификации ITS2 были разработаны на основе данных, полученных для *C. sinensis* (AF217094, AF217097, AF217099) и для *O. viverrini* (AF408147, AY584735). Праймеры для амплификации фрагмента COX1 были разработаны на основе данных, опубликованных для *C. sinensis* (AF096229, AF188122), для *O. viverrini* (AY055380), для *O. felineus* и *Metorchis bilis* (Pauly et al., 2003). Праймеры для амплификации фрагмента митохондриального гена ND1 были разработаны на основе данных, опубликованных для *C. sinensis* (DQ116944, AF229851) и для *O. viverrini* (DQ119551, DQ882172, DQ882173).

Несколько просеквенированных последовательностей ITS2 *O. felineus*, собранных в окрестностях г. Новосибирск уже депонированы в GenBank (DQ513403-DQ513407). В настоящее время проводится подготовка последовательностей всех трех генетических маркеров для указанных образцов для аналогичного депонирования.

Анализ полученных нуклеотидных последовательностей трех генетических маркеров указанных образцов показывает, что с их помощью можно надежно определять таксономический статус не только марит семейства Opisthorchiidae, но и индивидуальных метацеркарий, выделенных из карповых рыб.

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ МУЗЕЙНОГО ДЕЛА В ИБМ

Д.Л. Питрук

Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение Российской академии наук, Владивосток 690041; e-mail: pitruk@imb.dvo.ru

Музей Института биологии моря – один из самых молодых естественнонаучных музеев Дальнего Востока. Основы научной коллекции Музея были заложены в конце 60-х годов, когда был создан Отдел биологии моря Дальневосточного филиала Сибирского отделения АН СССР. Тогда коллекция создавалась при Лаборатории хорологии, которой руководил академик О.Г.Кусакин, позднее – при других лабораториях гидробиологического направления.

Как самостоятельная структура Института, Музей был создан 10 октября 1994 г. по инициативе А.В. Жирмунского и директора Института биологии моря В.Л.Касьянова. Первым директором Музея и его организатором был К.А. Лутаенко. В настоящее время Музей интенсивно растет и развивается. Штат Музея составляет 12 человек, его структура представлена двумя отделами – фондовым и экспозиционным. Каждый год пополняются научные коллекции фондового отдела Музея, в экспозиционном зале появляются новые разделы и периодические выставки, разрабатываются новые экскурсии.

За прошедшее время коллективу Музея удалось превратить его в один из наиболее известных музеев Владивостока. Музей имеет крупнейшие в азиатской части России научные коллекции морских животных, собранные за более чем 30-ти летнюю историю существования Института. В этих коллекциях сосредоточены сборы морских животных (от простейших до позвоночных) и растений, собранных от Дальневосточных морей до тропической зоны Тихого и Индийского океанов. Многие из этих коллекций уникальны. Так, в Музее находится крупнейший в мире скелет синего кита, длина которого при жизни составляла 29 м; научная коллекция рифостроящих кораллов (склерактиний и восьмилучевых кораллов) Музея - одна из крупнейших в мире. В настоящее время коллекции Музея содержат около 111,5 тыс. единиц хранения (кишечнополостные, членистоногие, моллюски, иглокожие, рыбы, остракоды, черви, планктон, мейобентос, водные растения, и др.). Это одна из самых больших морских коллекций в России.

Коллекции Музея пополняются в экспедициях Института, выполняемых в северной части Тихого океана, в частности, в результате рейсов НИС «Профессор Опарин» и во время многочисленных экспедиций по акватории залива Петра Великого на НИС «Профессор Насонов». В последнее время возобновилось пополнение коллекций тропических животных, в первую очередь кораллов, которое происходит как за счет экспедиций НИС «Профессор Опарин», так и «сухопутных» командировок сотрудников Института во Вьетнам, в частности, в Совместный Российско-Вьетнамский Научный и Технологический Тропический Центр.

Коллекция рыб Музея представлена, в основном, видами из северо-западной Пацифики, собранными, преимущественно, сотрудниками Института биологии моря как во время морских экспедиций в Японское, Охотское и Берингово моря (преимущественно на судах ТИНРО), так и в ходе выполнения работ в прибрежной зоне залива Петра Великого. Часть коллекций была собрана во время международных экспедиций с участием российских, японских и американских специалистов.

К настоящему времени значительная часть коллекций Музея каталогизирована, идет заполнение электронной базы данных, которая будет интегрирована в базу данных Института.

В связи с постоянным пополнением коллекций, остро ощущается нехватка помещений для их хранения. В частности, особенно острая ситуация сложилась с хранением коллекций зоопланктона. Для создания нормальных условий хранения коллекций Музея Института, в 2002 году руководством РАН было принято решение о строительстве второй очереди Института биологии моря, значительную часть которой будут представлять помещения для хранения коллекций и для работы с ними. В настоящее время составлен проект пристройки к зданию

Института, которая органично сольется с существующими помещениями Института. Новые помещения планируется оснастить современным оборудованием для хранения коллекций и их изучения.

РЕШЕНИЕ СЛОЖНЫХ ВОПРОСОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ, ФИЛОГЕНИИ И ФИЛОГЕОГРАФИИ СИГОВЫХ РЫБ (COREGONIDAE, SALMONIFORMES) С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕННЫХ МАРКЕРОВ

Д.В.Политов

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской академии наук,
Москва 119991; e-mail: dvp@vigg.ru

Сиговые рыбы (Coregonidae, Salmoniformes) широко распространены в арктической и бореальной зоне Восточного и Западного полушарий, причем максимальное видовое разнообразие наблюдается в сибирских реках ледовитоморского бассейна. В этом же регионе наблюдается и высокий эндемизм, поскольку к эндемикам Сибири относятся, по мнению большинства исследователей, тугун (*Coregonus tugun*), муксун (*C. muksun*), пелядь (*C. peled*), байкальский омуль (*C. migratorius*) и ряд других форм спорного статуса. Таким образом, в российских водах представлен основной генофонд рыб этого семейства, важных в экологическом, экономическом и природоохранном аспектах. Чрезвычайная пластичность морфометрических признаков, однообразие окраски и отсутствие таких внешних признаков как костные выросты или шипы сильно затрудняет идентификацию видов и внутривидовых форм сиговых. Наличие средовой и онтогенетической компоненты в наблюдаемой морфологической изменчивости и разная интерпретация диагностической и филогенетической ценности признаков привели к тому, что в обширной литературе по сиговым взгляды на число описываемых видов, их родственные связи, таксономические взаимоотношения на родовом, подродевом, видовом и внутривидовом уровнях сильно отличаются у разных авторов. Даже в случае с формами, имеющими выраженные морфологические различия, вопрос надежной идентификации остается актуальным. Во-первых, иногда анализировать необходимо не целые экземпляры взрослых рыб со всеми видовыми особенностями, а филе или тушки, лишённые голов, на которых расположены основные важнейшие морфологические признаки сиговых. Во-вторых, трудности возникают, когда нужно идентифицировать видовую принадлежность молоди, особенно личинок, где выявление диагностических признаков затруднено их слабым развитием и малыми размерами рыб. Наконец, фенотипическая идентификация у сиговых осложняется из-за пластичности пропорций тела и меристических признаков, часто интерградирующих между видами и в то же время имеющими различные значения в разных частях ареала и даже у симпатрических форм одного видового комплекса. Наконец, широко распространено явление межвидовой гибридизации сиговых (включая межродовую *Coregonus* x *Stenodus*), что еще более осложняет как изучение филогении, так и идентификацию. В настоящее время в связи с развитием молекулярно-генетических методов анализа появилась возможность проводить видовую диагностику, а также оценивать родство популяций, видов и надвидовых таксонов непосредственно по сходству или различию первичной последовательности биологических макромолекул, а именно ДНК и белков.

Анализ как изоферментов, так и мтДНК показал, что даже основные подразделения типового рода сиговых – р. *Coregonus* по молекулярным данным не соответствуют общепринятым под родам *Coregonus* и *Leucichthys*. Вместо этого выявлены такие группы, связанные общим происхождением: 1) комплекс арктического омуля *C. autumnalis* complex (включая берингийского омуля *C. laurettae*, т.н. ряпушки Великих озер *C. artedii*, *C. hoyi*, *C. zenithicus* и др., ирландский поллан *C. pollan*), 2) комплекс европейской *C. albula* и сибирской *C. sardinella* ряпушек, к которому относится также и пелядь; 3) комплекс сигов с нижним ртом: европейский сиг *C. lavaretus*, пыжьян *C. pidschian*, сельдевидный сиг *C. clupeaformis*, муксун *C. muksun* и в меньшей степени чир *C. nasus*. Не имеют близких родственников среди видов этого рода тугун, акадийский сиг *C. huntsmani*. Для практически всех этих видов нами разработана система молекулярной идентификации на основании изоферментов (из которых наиболее важное

значение имеет креатинкиназа) и ПЦР-ПДРФ-анализа локусов мтДНК *ND-1*, *ND-2* и *ND-5/6*. С помощью этих маркеров не удалось, однако, четко дифференцировать, например, пыжьяна и муксуна, формы ряпушек, многочисленные формы сига с нижним ртом дискуссионного статуса. В связи с этим начаты работы по разработке методов диагностики на основании типирования видов и внутривидовых форм сига по митохондриальному локусу *CO-I*, хорошо зарекомендовавшему себя для молекулярного штрих-кодирования рыб. Данные по сиговым, в т.ч. по эндемикам России, предполагается включить в международную базу, создаваемую в рамках проекта FishBOL.

▪

ОПЫТ ПИЛОТНОГО ПРОЕКТА В РАМКАХ ИНИЦИАТИВЫ FISH-BOL В ЗООЛОГИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ РАН

О.Н. Пугачев, А.В. Балушкин, Н.Г. Богуцкая, А.М. Насека, В.В. Сподарева

*Зоологический институт Российской академии наук,
Санкт-Петербург 199034; e-mail: office@zin.ru*

Инициатива "The Fish Barcode of Life", направленная на создание банка информации о нуклеотидных последовательностях гена *Co-1* у рыб, привлекательна для зоологов-таксономов не только возможностью использования этого ДНК-маркера для идентификации или филогенетических построений. Наиболее существенным представляется сам метод унификации сведений о генетическом разнообразии и его носителях, поиск оптимизации связей самого объекта изучения (ваучерного экземпляра), традиционных зоологических сведений о нем и генетической информации. Инициатива FISH-BOL изначально направлена на создание единого, цельного комплекса сведений о каждом изучаемом экземпляре и сохранении самого экземпляра в отличие от многих исследований, когда разрывается связь между конкретным экземпляром и данными о его ДНК, что часто затрудняет или делает невозможной правильную трактовку и/или перепроверку получаемых генетических данных. Фактически, FISH-BOL ставит целью создать новый тип виртуальной коллекции, объединяющей коллекцию рыб и их ДНК-маркеров.

Зоологический институт РАН в лице сотрудников лаборатории ихтиологии участвовал в проекте, поддержанном за счет небольшого гранта из "The genome Canada funding". Это позволило заложить основу коллекции ваучерных экземпляров, с одной стороны, и представить ткани для выделения ДНК и сиквенирования в лабораторию Университета г. Гельф в Канаде (Biodiversity Institute of Ontario & Department of Integrative Biology, University of Guelph). Основой для этого послужили коллекционные сборы А.М. Насеки и Н.Г. Богуцкой в экспедициях 2005-2006 годов на территории бывшего СССР. Собраны и каталогизированы в коллекции ЗИН РАН ваучерные экземпляры (150), в FISH-BOL направлены фотографии, названия видов с необходимыми комментариями по таксономии и номенклатуре и точные данные о местонахождении (включая географические координаты). Поскольку данный проект носил характер пилотного, нашей задачей было представить наибольшее количество видов из разных точек Северной Евразии, чтобы заложить основу будущих специальных, целенаправленных сборов. Нами представлены материалы по 120 видам из Ладожского озера, Невы, Западной Двины, Дуная, Днестра, Днепра, Дона, рек Каспийского моря от Волги до Самура, верхней Оби, Иртыша, Енисея, рек и озер Балхашского бассейна, Амура, озера Ханка.

Экспедиционная активность сотрудников ЗИН РАН, развитие приборного парка лаборатории молекулярной систематики, создание оригинальных подходов к хранению информации о коллекциях, как традиционных (фиксированные экземпляры), так и генетических (коллекций тканей и выделенной ДНК) позволит расширить участие ЗИН РАН в инициативе FISH-BOL, прежде всего, в соответствующей программе Российской академии наук.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА *COI* МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК БЕЛЬЮГ РОДА *ZOARCES*

О.А. Радченко, И.А. Черешнев, А.В. Петровская

Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан 685000; e-mail: radchenko@ibpn.ru

Впервые определены нуклеотидные последовательности гена *COI* митохондриальной ДНК у бельдюг рода *Zoarces* из Тауйской губы Охотского моря: восточной бельдюги *Z. elongatus* Kner, 1868 и симпатричной с ней новой формы *Zoarces* sp., различающихся большим комплексом морфологических признаков. Эти бельдюги сравнивались с европейской бельдюгой *Z. viviparus* Linnaeus, 1758 из Финского залива Балтийского моря.

Полученные на основе филогенетического анализа последовательностей гена *COI* мтДНК филогенетические деревья, так же, как и оценки дивергенции мтДНК, показывают большее генетическое сходство между географически разобщенными *Zoarces* sp. и *Z. viviparus* ($d = 0.87\%$), чем между симпатричными *Zoarces* sp. и *Z. elongatus* ($d = 2.35\%$). Проведенный ранее анализ рестрикционной изменчивости гена цитохрома *b* мтДНК у бельдюговых рыб показал, что степень дивергенции между *Z. elongatus* и *Zoarces* sp. составляет 4.54%, т.е. почти в 2 раза выше, чем полученная в настоящей работе оценка генетического расстояния. Значения дивергенции последовательностей мтДНК, основанные на результатах анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов, далеко не всегда совпадают с данными секвенирования мтДНК. Это может быть вызвано как низкой разрешающей способностью первого метода исследования, так и разной скоростью эволюции выбранных генов *COI* и цитохрома *b* митохондриального генома. Тем не менее, в обоих случаях полученные оценки дивергенции между мтДНК *Z. elongatus* и *Zoarces* sp. сопоставимы с генетическим расстоянием между видами одного рода. Такой результат выглядит несколько неожиданно, поскольку *Zoarces* sp. морфологически довольно сильно отличается и от *Z. viviparus*, и от *Z. elongatus*. Уровень различий между *Zoarces* sp. и этими видами примерно одинаковый, тогда как *Z. viviparus* и *Z. elongatus* морфологически более сходны друг с другом, чем каждый из них с *Zoarces* sp. Объяснение этого феномена может быть получено только при сравнительном генетическом исследовании остальных видов рода – *Z. gillii*, *Z. americanus* и *Z. andriashevi*, что позволит выявить предковое состояние генома и наметить пути эволюции и расселения бельдюг. В этой связи следует упомянуть обоснованное предположение некоторых авторов, согласно которому северная часть Охотского моря рассматривается как центр формирования прибрежной группы семейства бельдюговых рыб.

О ВОЗМОЖНОСТЯХ И ОГРАНИЧЕНИЯХ мтДНК “ШТРИХ-КОДИРОВАНИЯ” НА ПРИМЕРЕ ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

С.В. Шедько

Биолого-почвенный институт

Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022;

e-mail:shedko@ibss.dvo.ru

Конечной целью проекта “штрих-кодирования” биоты в целом (Barcode Of Life, BOL) и рыб в том числе (проект FISHBOL) является создание электронной системы, позволяющей проводить идентификацию организмов (определение их таксономической принадлежности), исходя из нуклеотидных последовательностей одного из участков мтДНК (гена CO-I). Судя по всему, основным импульсом к развитию данного проекта послужил прогресс в разработках полноцикловых систем автоматического секвенирования и их ожидаемая миниатюризация. Появление в недалеком будущем компактных ДНК-сканеров, оптимизированных под выполнение строго определенных задач (поэтому – дешевых), может принести немалую коммерческую выгоду их производителям, но лишь при условии широкого использования этих приборов, что, собственно, и подразумевается проектом BOL.

Инициаторы и сторонники мтДНК “штрих-кодирования” полагают, что на основе анализа нуклеотидных последовательностей сравнительно небольшого (порядка 660 пн) фрагмента мтДНК может быть получено робастное филогенетическое дерево, топология которого может служить адекватным отражением филогенетических отношений и таксономической структуры носителей данных вариантов мтДНК. Выбор для этих целей именно митохондриальной ДНК обусловлен высокой скоростью ее эволюции, что определяет ее исключительную разрешающую способность, позволяющую зачастую дифференцировать даже варианты мтДНК, обособившиеся сравнительно недавно, к примеру, тысячу или несколько тысяч лет назад. Однако частое несоответствие филогенетических схем на генном (мтДНК) и видовом уровнях ставит под сомнение обоснованность проекта BOL.

Использование мтДНК для решения вопросов филогении, систематики и филогеографии пресноводных рыб Восточной Азии вскрыло множество фактов локальной или обширной интрогрессивной гибридизации и переносов мтДНК от одного вида к другому. Такие случаи обнаружены среди карповых (Cyprinidae), лососевых (Salmonidae), бычковых (Gobiidae), колюшковых (Gasterosteidae), керчаковых (Cottidae) и других групп рыб. Ситуация не является уникальной и свойственной только пресноводной ихтиофауне данного региона. В целом, согласно результатам недавнего обзора (Funk, Omland, 2003), пара- или полифилетические отношения видов, оцененные по результатам анализа мтДНК, выявлены примерно для ¼ из 371 рассмотренных видов рыб. Подавляющее большинство из них является результатом интрогрессивной гибридизации. Поэтому становится заведомо ясным, что даже при наличии показательного филогенетического дерева мтДНК, вопросы определения таксономической принадлежности какой-то (в целом, возможно до ¼) доли изучаемых образцов не могут быть однозначно решены в рамках мтДНК “штрих-кодирования”. То есть, конечная цель проекта FISHBOL – создание универсальной системы идентификации образцов рыб на основе тотального мтДНК “штрих-кодирования” ихтиофауны – не может быть достигнута уже только исходя из широкого распространения среди рыб явления межвидового переноса мтДНК.

В то же время, мтДНК “штрих-кодирование” может и оказывается весьма полезным инструментом для первоначальной оценки положения в системе миниатюрных видов рыб (к примеру, *Aphyocypris*, *Hemigrammocypripis*, *Paedocypris*) и других видов с “невыврачительной” морфологией (миноговые и др.). Однако и в этих случаях для окончательного решения таких вопросов требуются данные по другим независимым генным генеалогиям или маркерам.