

И. В. Пак, Р. М. Цой, Л. Л. Сергиенко, О. Н. Жигилева

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СИГОВЫХ РЫБ ОБЬ-ИРТЫШСКОГО БАССЕЙНА

Проведен сравнительный морфологический, цитогенетический и биохимический анализ сиговых рыб, обитающих в речных и озерных экосистемах. Показано, что частота спонтанных хромосомных нарушений в эмбриональных клетках выше у рыб из озерных систем. Обсуждаются причины исключительно высокой хромосомной мутабельности у чира. Отмечена специфичность сиговых рыб из р. Пур по уровню полиморфности и гетерозиготности.

С развитием нефтегазового комплекса в Тюменской области произошли значительные изменения в состоянии водных экосистем. С этим связано устойчивое сокращение запасов сиговых рыб в регионе и уменьшение объемов их добычи. Среди факторов, влияющих на численность популяций сиговых рыб, важное место занимает нарушение их генетического гомеостаза. Показателями, характеризующими степень генетического благополучия популяций, могут служить уровни хромосомной и биохимической изменчивости.

В настоящей работе приводятся данные по изменчивости морфологических признаков, спонтанной хромосомной мутабельности и гетерозиготности у сиговых рыб, представляющих природные популяции из речных и озерных экосистем Обь-Иртышского бассейна.

Материал и методы

Материалом исследования послужили развивающиеся эмбрионы и рыбы в возрасте трех лет: ряпушка сибирская — *Coregonus sardinella* Val.; пелядь — *C. peled* (Gmelin); пыжьян — *C. lavaretus* (Gmelin), чир — *C. nasus* (Pallas) и муксун — *C. muksun* (Pallas). Половозрелых рыб отлавливали в районе их нерестилищ, сбор половых продуктов осуществляли от текущих производителей. Свежеотцеженную икру от группы самок осеменяли спермой от нескольких самцов. Отмытую и набухшую оплодотворенную икру инкубировали в аппаратах Вейса. Развивающихся эмбрионов, начиная со стадии гастролы, периодически фиксировали по Карнуа и затем приготавливали давленные препараты по общепринятой ацетокарминовой методике. Состояние генетического аппарата рыб оценивали по частоте встречаемости аномальных анафаз и телофаз в делящихся клетках зародышей.

Морфометрический анализ трехлетних рыб проводили одновременно со сбором проб белых скелетных мышц для электрофоретического анализа. Возраст определяли по чешуе [Правдин, 1966]. Электрофорез мышц осуществляли в 7,5%-ном полиакриламидном геле. Растворы и буферные смеси готовили по прописям Дэвиса [Davis, 1964]. Гистохимическое выявление белков и ферментов проводили по стандартным методикам [Корочкин и др., 1977]. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ "Statan-1996" [Гашев, 1998] и с использованием стандартных методов [Лакин, 1980].

Результаты и обсуждение

Морфометрический анализ сиговых рыб выявил невысокую изменчивость по основным экстерьерным признакам (табл. 1, 2). Более высокие значения коэффициентов вариации в 1995 г. были зафиксированы у ряпушки сибирской (28,0 %) по массе тела. Ранее отмечалось, что для ряпушки являются характерными резкие колебания по массе тела между особями, что обуславливает большую изменчивость этого вида [Скрябин, 1979]. У чира из р. Пур в 1995 г. отмечен наиболее высокий коэффициент вариации в сравнении с пелядью, пыжьяном и ряпушкой. Это проявлялось присутствием в выборке некоторого количества особей с высокой и низкой для данного возраста массой (более 500 г в первом случае и менее 140 г — во втором). В 1998 г. рыбы отличались большей однородностью по массе тела (см. табл. 2).

Таблица 1

**Морфометрическая характеристика сиговых рыб,
обитающих в р. Пур (1995 г.)**

Признак	Вид (число экз.)							
	Пелядь (102)		Пыжьян (96)		Чир (68)		Ряпушка сибирская (98)	
	$x \pm m_x$	CV, %	$x \pm m_x$	CV, %	$x \pm m_x$	CV, %	$x \pm m_x$	CV, %
Масса тела, г	252,0± 4,55	18,2	297,7± 4,45	14,7	291,6± 10,6	30,2	90,8± 2,55	28,0
Длина тела, см	26,1± 0,16	6,0	27,6± 0,15	5,3	27,8± 0,28	8,4	20,1± 0,12	5,8
Индекс прогонистости, L/H	3,96± 0,03	5,2	3,80± 2,07	5,2	3,93± 0,02	4,2	4,49± 0,03	7,0
Индекс длины головы, %	19,5± 0,07	5,1	19,6± 0,10	5,1	19,4± 0,07	3,1	19,9± 0,11	5,7
Индекс толщины тела, %	13,5± 0,07	5,1	13,0± 0,06	4,7	13,2± 0,07	4,7	10,8± 0,09	7,9
Упитанность по Фультону	1,41± 0,01	9,4	1,41± 0,02	7,2	1,32± 0,02	10,1	1,09± 0,02	5,5

Таблица 2

Морфометрическая характеристика сиговых рыб, обитающих в р. Пур (1998 г.)

Признак	Вид (число экз.)			
	Пыжьян (64)		Чир (70)	
	$x \pm m_x$	CV, %	$x \pm m_x$	CV, %
Масса тела, г	325,7± 7,50		357,4± 8,58	
Длина тела, см	26,6± 0,20		28,7± 0,26	
Индекс прогонистости, L/H	3,78± 0,03		4,02± 0,03	
Индекс длины головы, %	20,4± 0,08		18,9± 0,10	
Индекс толщины тела, %	13,2± 0,08		13,3± 0,08	
Упитанность по Фультону	1,71± 0,02		1,51± 0,02	

Цитогенетический анализ развивающихся эмбрионов сиговых рыб, населяющих водоемы Тюменской области, выявил не очень разноречивую картину. Исключение составляет чир из р. Ляпин, что требует отдельного обсуждения. Если частота встречаемости у эмбрионов рыб спонтанных хромосомных нарушений в какой-то мере отражает стабильность и устойчивость их наследственного аппарата, то наиболее благополучными можно считать популяции пыжьяна и пеляди, обитающие в р. Войкар (табл. 3). Близка к ним по этому показателю пелядь из р. Ляпин. В отличие от рыб из речных экосистем, у эмбрионов пеляди, населяющей озера Ендырь и Челбаш, встречаемость хромосомных нарушений в 2 раза выше и несколько выше частоты (2,58 %), установленной для пеляди из оз. Ендырь в 1969 г. Возможно, в этом проявляются какие-то различия между речными и озерными экосистемами.

Частота хромосомных нарушений в эмбриональных (гаструла) клетках разных видов сиговых рыб, представляющих популяции из речных и озерных экосистем Обь-Иртышского бассейна

Популяция		Исследовано		Аномальные митозы на один зародыш, %± m %
Вид	Местообитание	зародышей	клеток	
1989 год				
Пелядь	р. Войкар	32	8772	1,38± 0,132
„	р. Ляпин	32	6940	2,00± 0,223
„	оз. Ендырь	32	3150	3,79± 0,487
„	оз. Челбаш	38	6536	3,49± 0,655
Пыжьян	р. Войкар	36	9358	1,28± 0,106
Муксун	р. Обь (Бол. Послон)	32	4036	2,82± 0,615
Чир	р. Ляпин	40	4274	23,82± 1,916
1992 год				
Пелядь	оз. Ендырь	40	3537	2,88± 0,272
Чир	р. Ляпин	20	2712	16,87± 0,520
1996 год				
Пелядь	оз. Ендырь	40	2810	19,47± 0,422
„	оз. Царево	40	3253	17,01± 0,375
„	оз. Челбаш	40	3200	13,96± 0,321
Муксун	р. Обь	40	4255	13,47± 0,316
Сиг	оз. Челябинской обл.	40	3536	11,32± 0,328
1998 год				
Чир	р. Ляпин	39	3111	16,39± 0,360

Особый интерес представляют результаты цитогенетического анализа эмбрионов чира. Необычно высокая встречаемость хромосомных перестроек в ранних эмбриональных клетках представителей этого вида сиговых свидетельствует о наличии механизмов, обеспечивающих нестабильность хромосомного аппарата. Здесь, очевидно, уместно отметить, что для чира характерна очень высокая (до 90 %) смертность эмбрионов при искусственном воспроизводстве этого вида. Для объяснения этого факта специалисты выдвигают различные причины: неподходящие гидрологические и гидрохимические условия прудов и озер, в которых осуществляется нагул производителей чира [Кузьмин, 1970; Буланов, Семенова, 1982],

неподходящие температурные условия во время выдерживания самок в садках и получения от них икры [Белоусов, Леонов, 1990].

По нашему мнению, причина здесь имеет более глубокую природу. Известно, что среди представителей рода *Coregonus* чир в эволюционном плане стоит несколько особняком. Так, у 18 обследованных видов сиговых (исключающих чира) среднее число хромосом составляет 79,3; $NF = 98,8$; среднее число мета- и субметацентрических хромосом 20,9 %. Только два вида сиговых — пелядь и муксун имеют $2n = 74$, у остальных четырнадцати $2n = 80$ [Решетников, 1980; Васильев, 1985]. Для чира установлены следующие признаки кариотипа: $2n = 58-60$, $NF = 92$, общее число мета- и субметацентрических хромосом составляет 56 % [Викторовский, Ермоленко, 1982]. При этом, несмотря на то что относительное число хромосомных плеч у чира значительно больше ($NF/2n = 56$), чем у всех других сиговых ($NF/2n = 1,25$), число акроцентриков у чира уменьшено на 4,5, больше, чем требуется для образования существующего числа метацентриков.

Совокупность приведенных материалов свидетельствует в пользу того, что у чира не завершен процесс эволюционного преобразования кариотипа, в становлении которого большое значение имеют парацентрические инверсии и транслокации. Последнее служит причиной формирования несбалансированных по хромосомам гамет и появления на свет большого количества неполноценных зародышей. В процессе эмбрионального развития чира можно отчетливо наблюдать проявление действия интенсивного отбора на уровне клеток и зародышей, в результате чего уже к середине эмбрионального периода встречаемость клеток с хромосомными нарушениями у сохранившихся особей становится минимальной. На восьмые сутки инкубации икры частота хромосомных нарушений у чира составила 28 %; на 40-е — 24 %, а к 170-м суткам — всего лишь 5 %.

Увеличение частоты хромосомных aberrаций у сиговых рыб на стадии гастрюлы в 1996 г., возможно, связано с попаданием в водоисточник рыбоводного завода (р. Иртыш) веществ, негативно воздействующих на хромосомный аппарат зародышевых клеток. Подтверждением этого является возрастание частоты хромосомных нарушений у всех видов рыб из разных водоемов.

Таблица 4

Моно- и полиморфные системы белков у сиговых рыб из р. Пур

Система	Вид (число экз.)			
	Пелядь (84)	Пыжьян (63)	Ряпушка сибирская (54)	Чир (70)
Лактатдегидрогеназа	4 (М)	4 (М)	4 (М)	4 (М)
Малатдегидрогеназа	3 (М)	3 (М)	3 (М)	3 (М)
Аспаратаминотрансфераза	1 (М)	1 (М)	1 (М)	1 (М)
Изоцетатдегидрогеназа	2 (М)	2 (М)	2 (М)	2 (М)
Супероксиддисмутаза	2 (М)	2 (1П)	2 (М)	2 (1П)
Миогены	5 (М)	5 (М)	5 (М)	5 (М)
Эстераза мышц	3 (П)	3 (П)	2 (П)	3 (П)

Примечание. М, П — моно- и полиморфный локусы.

Таблица 5

Доли полиморфных локусов, средняя гетерозиготность в популяциях сибирской ряпушки

Местообитание	Число	Полиморфность	Средняя на локус гетерозиготность (H_e)
---------------	-------	---------------	---

	локусов		
Ряпушка сибирская			
р. Пур	20	0,105	0,067± 0,024
р. Анадырь*	32	0,250	0,0766± 0,0269
р. Чаун*	23	0,478	0,1047± 0,0394
р. Енисей*	22	0,500	0,0844± 0,0284
Чир			
р. Пур	20	0,150	0,070± 0,022
р. Анадырь*	26	0,087	0,0206± 0,0181
р. Чаун*	21	0,095	0,0284± 0,0196
р. Енисей*	22	0,182	0,0439± 0,027

* По данным Л. Н. Ермоленко [1989, 1991].

Биохимический анализ белых скелетных мышц пеляди, пыжьяна, ряпушки сибирской и чира по 20 локусам выявил разный уровень полиморфности и гетерозиготности (табл. 4). Наиболее низкий уровень полиморфности по 99%-ному критерию был обнаружен у ряпушки сибирской, наиболее высокий — у пыжьяна. У пеляди и чира этот показатель был одинаков. Показатели средней гетерозиготности также были размытыми: наиболее высокий отмечен у пыжьяна, наименьший — у пеляди.

Сопоставление показателей полиморфности и гетерозиготности у ряпушки сибирской и чира из разных водоемов выявило специфичность популяций из р. Пур (табл. 5). Для ряпушки сибирской, обитающей в р. Пур, в сравнении с популяциями из рек Восточной Сибири характерны более низкая полиморфность и низкий показатель гетерозиготности. У чира из р. Пур показатели полиморфности и гетерозиготности являются промежуточными между гетерозиготностью чира из рек Анадырь и Чаун и чира из р. Енисея.

ЛИТЕРАТУРА

Белоусов И. Ю., Леонов А. Г. О рыбноводном качестве икры чира // 4-е Всесоюз. совещ. по биологии и биотехнике разведения сиговых рыб. Л.: НИИ озерного и речного рыбного хозяйства, 1990. С. 116–117.

Буланов Д. П., Семенова О. Б. Рыбоводно-биологическая характеристика производителей чира, выращенных в прудах ЦОС "Ропша" // Биологические основы разведения сиговых рыб в водоемах Европейской части СССР. Л.: НИИ озерного и речного рыбного хозяйства, 1982. С. 21–29.

Васильев В. П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985. 300 с.

Викторовский Р. Н., Ермоленко Л. Н. Хромосомный набор чира и пыжьяна и вопросы дивергенции кариотипов сигов // Цитология. 1982. Т. 24, № 7. С. 797–801.

Гашев С. Н. Статистический анализ для биологов (руководство по использованию пакета программ "Statan-1996"). Тюмень: ТюмГУ, 1998. 23 с.

Ермоленко Л. Н. Генетическая изменчивость и межпопуляционные отличия у сибирской ряпушки // Генетика. 1989. Т. 25, № 6. С. 1081–1087.

Ермоленко Л. Н. Генетическая изменчивость и межпопуляционные отличия у чира *Coregonus nasus* // Генетика. 1991. Т. 27, № 2. С. 299–303.

Кузьмин А. Н. Половое созревание и анализ нарушений гаметогенеза у самцов чира при выращивании их в прудах и озерах Северо-Запада СССР // Вопросы ихтиологии. 1970. Т.10, вып.1. С. 69–83.

Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И., Аронштам А. А., Боркин Л. Я., Малецкий С. И., Полякова Е. В., Манченко Г. М. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 275 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1980. 291 с.

Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М., 1966. 376 с.

Скрябин А. Г. Сиговые рыбы юга Сибири. Новосибирск: Наука, 1979. 212 с.

Davis B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application and human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1964. Vol. 121. P. 404.

ТюмГУ,

СибрыбНИИпроект, г. Тюмень

I. V. Pak, R. M. Tzoi, L. L. Sergienko, O. N. Zhigileva

**GENETIC VARIABILITY OF COREGONUS
FISH IN THE OB-IRTYISH RIVER BASIN**

A comparative morphological, cytogenetic and biochemical analysis of Coregonus fish inhabiting river and lake ecosystems has been performed. It is shown that frequency of spontaneous chromosome aberrations in embryonic cells is higher in the fish from the lake systems. Reasons of extremely high chromosome mutability in Coregonus nasus Pallas are discussed. A specific character of the Coregonus fish inhabiting the Pour river as to the level of polymorphy and heterozygosis is noted.