

На правах рукописи

Карabanov

Карабанов Дмитрий Павлович

ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ
ЧЕРНОМОРСКО-КАСПИЙСКОЙ ТЮЛЬКИ
CLUPEONELLA CULTRIVENTRIS (NORDMANN, 1840)
ПРИ РАСШИРЕНИИ АРЕАЛА

03.00.10 – ихтиология

03.00.15 – генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2009

Работа выполнена в лаборатории Эволюционной экологии
Учреждения Российской академии наук Института биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина РАН

Научные руководители: доктор биологических наук, член-корреспондент РАН
Юрий Юлианович Дгебуадзе

кандидат биологических наук
Юрий Владиславович Слынько

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Юрий Степанович Решетников

кандидат биологических наук
Николай Сергеевич Мюге

Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук
Институт биологии Карельского Научного центра РАН

Защита диссертации состоится 23 декабря 2009 г. в 14 часов 00 минут на заседании
Совета Д 002.213.02 по защите докторских и кандидатских диссертаций при
Учреждении Российской академии наук Институте проблем экологии и эволюции
им. А.Н.Северцова РАН по адресу: 119071 г.Москва, Ленинский просп., д. 33.
Тел.: (495) 952-73-24. Факс: (495) 952-35-84.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук
РАН по адресу: 119071 г.Москва, Ленинский просп., д. 33.

Автореферат разослан 20 ноября 2009 г.

Учёный секретарь Совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций
кандидат биологических наук



Т.П.Крапивко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

За последние полвека крайне актуальной стала проблема проникновения и натурализации живых организмов за пределы их исторических ареалов (Дгебуадзе, 2002; Gollash et al., 2003; Swaminathan, 2003). Особый интерес представляют инвазии чужеродных видов в пресноводные экосистемы континентальных водоёмов. В речных бассейнах Понто-Каспийского стока значительное число вселяющихся видов – это представители морских экосистем, для которых происходит не только кардинальная смена среды обитания, но и типа экосистемы (например, в случае саморасселения морских и эстуарных видов – с морских на пресноводные). В настоящее время роль чужеродных видов в водоёмах земного шара всё увеличивается. Так, в Великих озёрах количество чужеродных видов рыб оставляет более 4% (Fuller et al., 1999), в ихтиофауне бассейна Волги – порядка 14% (Слынько и др., 2000). В случае успешной натурализации важно установить, какие конкретные адаптационные изменения произошли у вселенцев. Данный вопрос интересен как в теоретическом плане при исследовании адаптационных возможностей организмов, так и в прикладном аспекте для прогноза, контроля численности и борьбы с нежелательными последствиями проникновения чужеродных видов.

В настоящее время одним из самых распространённых и многочисленных представителей рыб-вселенцев в бассейнах рек Понто-Каспийского стока является черноморско-каспийская тюлька *Clupeonella cultriventris* (Normann, 1840). С 1960-х годов тюлька освоила пелагиаль водохранилищ нижней и средней Волги (Шаронов, 1971), а к началу XXI в. заселила Верхневолжские водохранилища вплоть до оз. Белого (Slynko et al., 2002). Успешной экспансии тюльки способствовало зарегулирование рек, связанное с ним значительное расширение пелагиали и развитие зоопланктона, а также увеличение трофности водоёмов (Циплаков, 1974). Наблюдающееся на современном этапе повышение среднегодовых температур воды и удлинение вегетационного периода также благоприятствует натурализации тюльки в северных водохранилищах (Осипов, 2006).

Следует отметить, что, несмотря на ряд специальных исследований (Световидов, 1945; Владимиров, 1950; Световидов, 1952) до сих пор многие вопросы, связанные с видовым статусом и структурой вида *C. cultriventris* остаются дискуссионными (Аннотированный каталог..., 1998; Богущкая, Насека, 2004; Kottelat, Freyhof, 2007).

Относительно хорошо изучена биология тюльки в её естественно-исторической части ареала – Понто-Каспийском бассейне (Световидов, 1952; Луц, 1981; Приходько, 1979, и др.). Проведен ряд исследований, посвящённых биологическим особенностям тюльки в новой среде обитания. Такие исследования выполнены для популяций тюльки Днестра (Владимиров, 1951), Днепра (Владимиров и др., 1964), рек Дон и Маныч (Троицкий, Цуникова, 1988). В Волжско-Камском бассейне изучена тюлька Куйбышевского (Кузнецов, 1973; Козловский, 1984, 1987; Kozlovsky, 1991), Камского и Воткинского водохранилищ (Пушкин, Антонова, 1977, Антонова, Пушкин, 1985; Горин, 1991). Подробно рассмотрены воспроизводство, рост, питание и роль тюльки в Верхневолжских водохранилищах (Кияшко, Слынько, 2003; Кияшко, 2004; Осипов, 2006). Имеются данные по особенностям липидного обмена (Халько, 2007), популяционной генетике (Слынько, Лапушкина, 2003) и RAPD-анализу (Столбунова, Слынько, 2005) тюльки в новых частях ареала.

Тем не менее, специальных исследований, посвящённых генетико-биохимическим адаптациям и популяционной структуре тюльки, как в пределах её исторического ареала, так и в новых частях ареала не проводилось. Изучение особенностей внутриклеточного метаболизма и его генетической детерминации позволяет определить стратегию генетико-биохимических адаптаций при экспансии данного вида. Сравнительный анализа популяционной структуры по всему ареалу тюльки позволит выяснить особенности микрофилогенеза отдельных групп популяций и уточнить таксономический статус вида.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы состояла в изучении генетико-биохимических адаптаций тюльки при расширении ареала. Для достижения этой цели были сформулированы следующие задачи:

1. На основании анализа локусов, кодирующих изоферменты, определить уровень генетического разнообразия в популяциях тюльки в исторической и новых частях ареала, а также изучить биологические особенности тюльки в водохранилищах Верхней Волги.
2. Провести филогеографический анализ популяционной структуры тюльки на всем протяжении её современного ареала и уточнить таксономический статус различных популяций вида *Clupeonella cultriventris*.
3. Дать оценку селективной значимости и адаптивного преимущества аллелей, частоты которых надежно дифференцируют популяции тюльки из разных частей современного ареала.

4. В результате экспериментов *in vitro* выявить особенности экспрессии изоферментов тюльки под действием основных градиентных факторов среды.
5. На примере Рыбинского водохранилища описать стратегию поддержания генетической гетерогенности в новообразованной популяции вселенца.

Научная новизна. Впервые методами биохимической генетики изучено генетическое разнообразие и популяционная структура черноморско-каспийской тюльки по всему ареалу. Получены современные данные о состоянии вида в водохранилищах Верхней Волги. Изучены физиологические и экологические адаптации вида к условиям северных водохранилищ. Установлена селективная значимость ряда генетических локусов по отношению к важнейшим абиотическим факторам среды.

Теоретическое и практическое значение. Результаты настоящей работы могут быть использованы при изучении микрофилогенеза новообразованных популяций видов-вселенцев. Полученные результаты расширяют представление о дифференциальной роли изоферментов в биохимических адаптациях рыб к различным факторам окружающей среды, что служит существенным вкладом в развитие общей теории адаптаций. Материалы работы могут быть применены для построения системы мониторинга и прогноза последствий биологических инвазий в водные экосистемы. Ряд данных может быть использован в работах по биохимической генетике и экологии рыб, а также для подготовки учебных пособий и лекций по эволюционной биологии и экологии инвазий.

Защищаемые положения. 1) На всем протяжении своего современного ареала черноморско-каспийская тюлька представляет собой генетически единую совокупность популяций *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840). 2) Успешной экспансии вида по каскаду Волжских водохранилищ способствовал сложный комплекс генетико-биохимических адаптаций к обитанию в пресных водах. 3) Популяции тюльки волжских водохранилищ формировались на основе пресноводных популяций Саратовских затонов. 4) Существенную роль в распределении генотипов тюльки в новообразованной популяции играют сезонные изменения абиотических и биотических факторов среды. 5) В ходе натурализации тюльки в крупных водохранилищах развивается процесс формирования внутривидовой пространственной неоднородности.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на отчетных лабораторных сессиях ИБВВ РАН (2001-2008 гг.). Основные положения работы были представлены на международных научных конференциях: «Экологические проблемы бассейнов крупных рек-3» (Тольятти, 2003); «Современные проблемы

физиологии и биохимии водных организмов» (Петрозаводск, 2004); «Чужеродные виды в Голарктике» (Борок, 2005); «Биология внутренних вод» (Борок, 2007); «Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб» (С.-Петербург, 2008).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ (из них 1 в журнале из списка ВАК).

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 217 наименований (из них 103 на иностранных языках), Приложения. Содержание работы изложено на 160 странице текста, включая 7 таблиц и 22 рисунка.

ГЛАВА I. ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СТАТУС, СОВРЕМЕННЫЙ АРЕАЛ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЧЕРНОМОРСКО-КАСПИЙСКОЙ ТЮЛЬКИ. МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ К НОВЫМ УСЛОВИЯМ ОБИТАНИЯ.

В главе проанализированы современные представления о биологических инвазиях чужеродных видов с акцентом на генетические процессы, протекающие в краевых популяциях. Отдельно рассмотрено возникновение в инвазионных популяциях адаптаций к условиям среды и успешность освоения чужеродными видами новых экосистем. Подробно описана инвазия черноморско-каспийской тюльки как пример успешного саморасселения видов-вселенцев. Рассмотрена таксономия и биологические особенности вида.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на выборках из различных популяций черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840), как в исторической, так и новоприобретенных частях ареала. Для изучения таксономического статуса вида в качестве материала сравнения использованы выборки из двух северокаспийских популяций анчоусовидной тюльки *Clupeonella engrauliformes* (Borodin, 1904). Сбор материала проводился летом и осенью 2002-2008 гг. с использованием малого пелагического трала с горизонтальным раскрытием 12 м., вертикальным – 2 м., ячеей в крыльях 30-10 мм., в кутке – 5 мм. Время одного траления – 15 мин. На ряде водоёмов применялся мальковый невод с горизонтальным раскрытием 25 м., вертикальным – 2 м., ячей в крыльях 20-10 мм., в кутке – 3 мм.

Устанавливался видовой состав уловов, проводились массовые промеры рыб, определялись возраст (по отолитам и чешуе) и пол рыб с применением традиционных методик ихтиологического анализа (Правдин, 1966). Для

исследований брались одноразмерные половозрелые особи с длиной тела (до конца чешуйного покрова) 60-80 мм., а также неполовозрелые особи с длиной тела 30-40 мм. Объём и места сбора материала представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика собранного материала.

Год сбора материала	Водоём	Количество экз.	Количество локусов
Черноморско-каспийская тюлька <i>Clupeonella cultriventris</i>			
2002	Рыбинское водохранилище (8 выборки)	529	12
2003	Рыбинское водохранилище (общая проба)	156	12
	Иваньковское водохранилище	40	12
	Угличское водохранилище	39	12
	Чебоксарское водохранилище	39	12
	Устье р.Дон	34	12
	Азовское море, Порт Кантон	40	12
2004	Рыбинское водохранилище (9 выборки)	489	17
	Куйбышевское водохранилище	39	12
	р. Волга у г. Саратов	30	14
	Волгоградское водохранилище	20	14
	Азовское море, Чумбур-Коса	39	12
	Днестровский лиман	39	12
	Манычский каскад водохранилищ (4 выборки)	126	12-17
2005	Рыбинское водохранилище (7 выборки)	238	17
	Шекснинское водохранилище	16	17
	Горьковское водохранилище (2 выборки)	80	13
	Сев. Каспий, Сулак	160	17
	р.Днепр (2 выборки)	80	16
	Азовское море, Чумбур-Коса	76	12
2006	Рыбинское водохранилище (общая проба)	198	12
2007	Рыбинское водохранилище (общая проба)	197	17
Анчоусовидная тюлька <i>Clupeonella engrauliformes</i>			
2005	Северный Каспий	37	12
2004	Северный Каспий	40	12
Всего:		2781	12-17

Основным методом генетико-биохимических исследований был выбран диск-электрофорез полипептидов в полиакриламидном геле (disc-PAGE) с последующим гистохимическим субстратспецифическим окрашиванием электрофореграмм (Глазко, 1988; Copeland, 2000; Smith, 2002; Walker, 2002). В качестве основных изучаемых ферментов использовались: α -глицерофосфат дегидрогеназа (α GPDH, E.C. 1.1.1.8); лактатдегидрогеназа (LDH, E.C. 1.1.1.27); малатдегидрогеназа NADP-

зависимая (Me, E.C. 1.1.1.40); глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа (G6PDH, E.C. 1.1.1.49); супероксиддисмутаза (SOD, E.C. 1.15.1.1); аспаратаминотрансфераза (AAT, E.C. 2.6.1.1); эстеразы эфиров карбоновых кислот: 2-нафтилацетат зависимая эстераза и D-эстераза (β -EST, и D-EST, E.C. 3.1.1.x); спектр общего белка (GP). Также проводилось изучение дополнительного набора ферментов: малатдегидрогеназы NAD-зависимой (MDH, E.C. 1.1.1.37), 6-фосфоглюконат дегидрогеназы (6PGDH, E.C. 1.1.1.44), щелочной фосфатазы (AP, E.C. 3.1.3.1). Для изучения криптической изменчивости и определения оптимальной концентрации PAg использовались различные концентрации разделяющего геля: от 4% до 10% с шагом в 1% (Vesterberg, Hansen, 1978; Ayala, 1982). Денситометрический анализ активности изоферментов проводили по индивидуальным электрофоретическим трекам с использованием пакета RFLPscan Plus v.3.12 (CSP, Inc.). Популяционно-генетический анализ проводился с использованием программы BIOSYS r.1.7 (University of Illinois, USA). Обработка, графическое представление материалов и статистический анализ проводился с использованием пакетов программ MS Office v.11 (Microsoft Corp.) и STATISTICA v.7 (StatSoft, Inc.).

Влияние основных абиотических факторов, которые могли бы оказывать лимитирующее действие на механизмы внутриклеточного метаболизма тюльки, оценивали в ряде биохимических экспериментов *in vitro*. В качестве модельных ферментов были выбраны: α GPDH, LDH, AAT и β -EST. Для выяснения влияния различных концентраций неорганических солей, карбамида, а также температуры было проведено 3 серии экспериментов, каждая в трёх повторностях с индивидуальным анализом 15-30 особей для каждой повторности.

При популяционно-генетическом анализе проводили оценку следующих параметров: частоты аллелей полиморфных локусов (p , q), определение равновесных частот аллелей, частоты генотипов, уровня полиморфизма (P) и гетерозиготности (H), относительной приспособленности (W). Расчёт этих параметров детально рассмотрен в ряде фундаментальных руководств (Ли, 1978; Алтухов, 2003; Хедрик, 2003; Nyquist, 1990). Оценку значимости сходства/различия между выборками проводили по критерию χ^2 Пирсона и показателю λ Колмогорова-Смирнова (Ивантер, Коросов, 2003). Для оценки генетических расстояний применялись дистанции Неи D_{1972} (Nei, 1972) и D_{1978} (Nei, 1978). Также для сравнения двух выборок и установления сходства между популяциями применялся критерий r и генетические дистанции D , предложенные Л.А.Животовским (1984).

ГЛАВА III. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЮЛЬКИ ПРИ ЕЁ НАТУРАЛИЗАЦИИ В ВЕРХНЕВОЛЖСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩАХ

В главе рассмотрены особенности пространственного распределения, размерно-возрастной и половой структур, питания тюльки по результатам обобщения многолетних данных пелагических уловов.

В Верхней Волге наибольшую по численности популяцию тюлька образовала в Рыбинском водохранилище. Менее чем за 10 лет она натурализовалась и распространилась по всему водоему и освоила биотопы пелагиали, в которых до середины 1990-х годов преобладали синец (*Abramis ballerus*) и корюшка (*Osmerus eperlanus*). К настоящему времени тюлька стала доминирующим видом в рыбной части сообщества пелагиали Рыбинского водохранилища (рис. 1). Об успешной натурализации тюльки в водохранилище свидетельствует её высокая численность, успешное размножение, а также ряд адаптивных изменений внутриклеточного метаболизма.

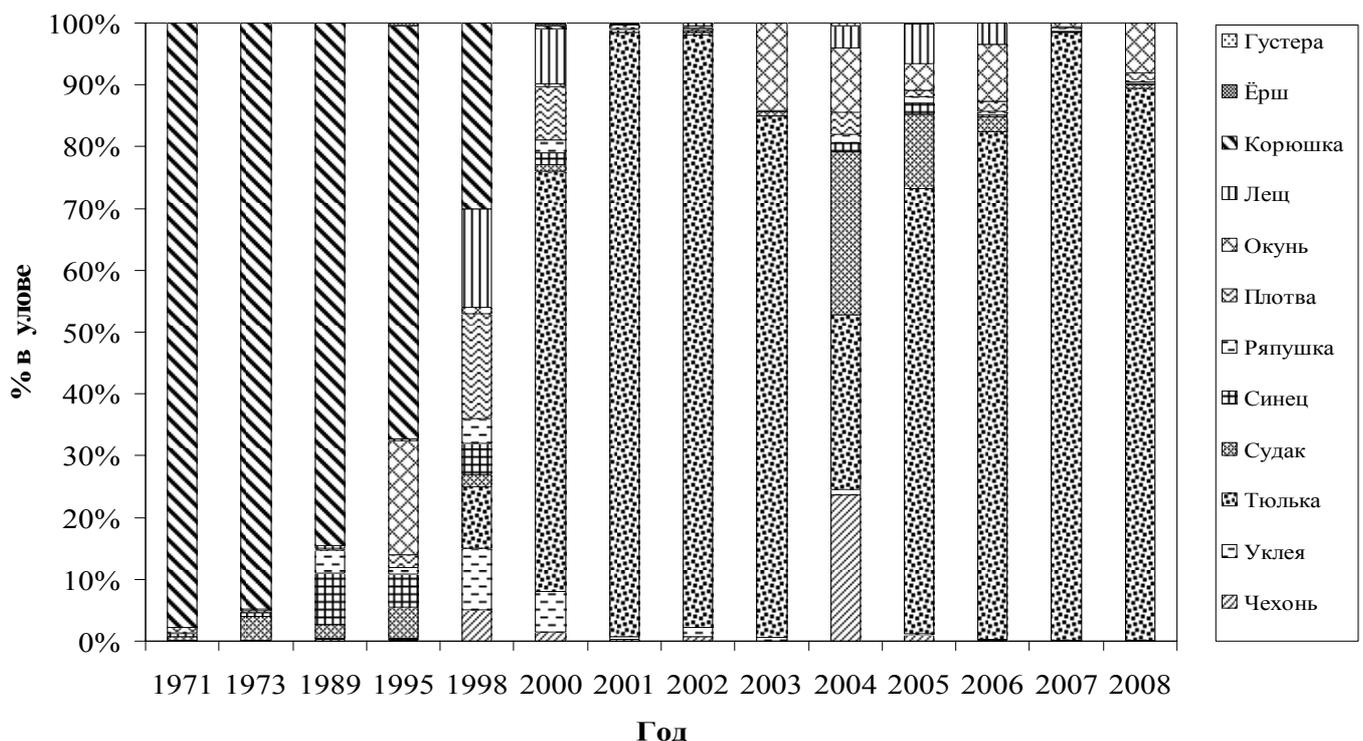


Рисунок 1. Относительная численность различных видов рыб в осенних опытных уловах пелагического трала в Рыбинском водохранилище.

Впервые тюлька была зарегистрирована в Рыбинском водохранилище в 1994г. (Слынько и др., 2000). В последующие годы численность тюльки была минимальна: летом 2000г. уловы тюльки были невелики: в среднем по водохранилищу 11 экз. на 15-минутное траление (Кияшко и др., 2006). Распределение её по водоёму было крайне неравномерным, а значительные уловы отмечались только в пелагиале речных плёсов водохранилища. Доминировала тюлька на небольшом количестве станций, в большинстве случаев основу

скоплений составляла молодь карповых, а также молодь и взрослые особи уклейки (*Alburnus alburnus*), ряпушки (*Coregonus albula*) и чехони (*Pelecus cultratus*). В последующие годы в летний период 2005-2008гг. характер распределения тюльки по водоёму оставался прежним, однако существенно изменился качественный и количественный состав уловов. Численность тюльки в контрольных уловах возросла и в среднем по плёсам составила 300-500 экз. за 15 мин лова.

В других водохранилищах Верхней Волги динамика численности популяций черноморско-каспийской тюльки имеет свои особенности. Так, в Горьковском водохранилище тюлька образует устойчивые скопления только в озеровидных расширениях. В речных участках этого водоёма она практически отсутствует и ловится лишь осенью. В водохранилищах речного типа – Угличском и Иваньковском, а также в русловой части Шекснинского водохранилища тюлька натурализовалась, но её популяции немногочисленны (доля в уловах около 1,5%).

По результатам многолетних наблюдений основу популяции тюльки Рыбинского водохранилища в летний период составляют половозрелые особи (до 80%), из которых большая часть приходится на рыб возрастом 1+. В осенний период ситуация кардинально меняется – в популяции количественно доминируют сеголетки (свыше 80%).

ГЛАВА IV. ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЮЛЬКИ ИССЛЕДОВАННЫХ ВОДОЁМОВ

На основании изучения 27 популяций на протяжении 2002-07 гг. по 12-17 генетическим локусам черноморско-каспийская тюлька характеризуется следующими параметрами. Доля полиморфных локусов $P=0,23-0,41$ (для большинства популяций $P=0,31$) (при критерии $k=0,95$). Средняя гетерозиготность, вычисленная прямым подсчётом $H_{об}=0,101-0,211$ (для большинства популяций $H_{об}=0,14$ s.e. 0,06). Количество аллелей на локус 1,35 (s.e. 0,05). Черноморско-каспийская тюлька по уровню полиморфизма незначительно отличается от ряда других видов сельдёвых, хотя уровень гетерозиготности у неё несколько выше. Так, для *Clupea harengus* $P=0,36$, $H_{об}=0,07$ (Andersson et al., 1981; Jorstad, 2004), для *Clupea pallasii* $P=0,31$, $H_{об}=0,06$ (Fujio, Kato, 1979, цит. по: Nevo et al., 1984), а для *Clupeonella engrauliformes* $P=0,35$, $H_{об}=0,05$ (наши данные).

ГЛАВА V. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ВНУТРИВИДОВАЯ СТРУКТУРА *CLUPEONELLA CULTRIVENTRIS* НА ВСЕМ ПРОТЯЖЕНИИ АРЕАЛА

Одним из основных вопросов, активно обсуждавшимся на протяжении многих лет, служит таксономический статус различных крупных географических

популяций тюльки. У черноморско-каспийской тюльки в связи с большим географическим ареалом ранее выделяли 3 подвида: черноморская тюлька *C. delicatula delicatula*, каспийская тюлька *C. delicatula caspia*, азовская тюлька *C. delicatula azovi* и отдельная пресноводная форма - чархальская тюлька *C. delicatula m. tscharchalensis*, обитавшая в оз. Чархал (Владимиров, 1950; Световидов, 1952). В дальнейшем разделение вида на подвиды было поставлено под сомнение (Аннотированный ..., 1999). Вместе с тем, в ряде работ (Богущкая, Насека, 2004; Kottelat, 1997; Kottelat, Freyhof, 2007) обосновывается выделение азово-черноморской, каспийской и манычской популяций тюльки как отдельных подвидов или видов. Таким образом, для популяционно-генетических исследований крайне важным является достоверность отнесения различных популяций тюльки к одному и тому же виду. В противном случае любые сравнения, например морских и пресноводных тюлек, становятся некорректными.

Для определения иерархической структуры была проведена UPGMA-кластеризация крупных групп популяций тюльки из разных бассейнов на основании дистанций Нэи (Nei, 1972, 1975), с использованием в качестве репера данных по северо-каспийской популяции анчоусовидной тюльки. Представленные результаты свидетельствуют, что на всем протяжении своего современного ареала черноморско-каспийская тюлька представляет собой генетически единую совокупность популяций, надежно дифференцированную от родственного вида – анчоусовидной тюльки (рис. 2). Значимых генетических различий межвидового уровня (по классификации Ayala, 1975) между азово-черноморской, каспийской и манычской тюлькой не наблюдается (дистанция 0,036), тогда как между черноморско-каспийской и анчоусовидной тюлькой различия достигают величины 0,69, что может характеризовать их как надежные таксономические виды.

В пределах кластера черноморско-каспийской тюльки можно выделить 2 субкластера: Понто-Каспийский, Волжский и Манычский в статусе популяционных групп (генетическая дистанция 0,045). Не исключено, что их формирование вызвано длительным обитанием тюльки в морских и пресноводных водоёмах. Отсутствие значимых различий пресноводных популяций Днепра в сравнении с лиманными черноморскими популяциями, вероятно, может быть объяснено исторической молодостью этих пресноводных групп, в которых изменения частот аллелей ещё не достигли существенных значений. Близость Рыбинской и Волгоградской популяций тюльки объясняется их высокой внутривидовой гетерогенностью, которая, вероятно, связана с началом формирования

субпопуляционной структуры (эффект Валунда) для Рыбинского водохранилища и притоком мигрантов из дельты Волги для Волгоградского водохранилища.

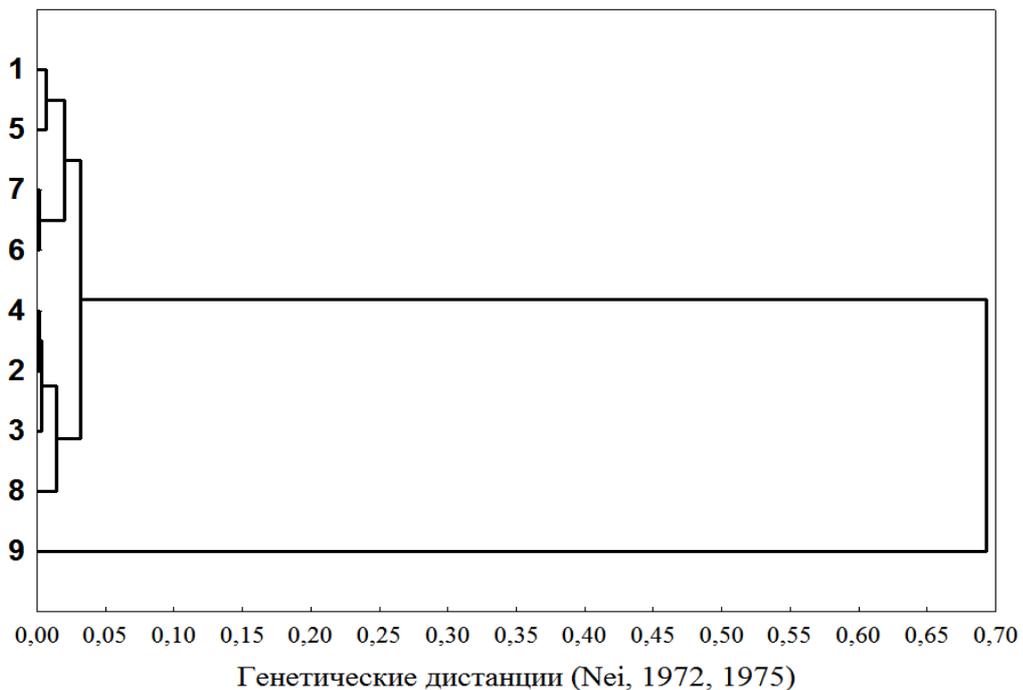


Рисунок 2. Иерархическая структура основных групп популяций *C. cultriventris* с реперным видом *C. engrauliformes* на основании популяционно-генетического анализа 12 локусов. Результат иерархической кластеризации (UPGMA) на основании генетических дистанций Нэи (Nei, 1972, 1975). Популяции: 1- Северный Каспий, 2- Волгоградское водохранилище., 3- Горьковское водохранилище, 4- Рыбинское водохранилище, 5- Азовское море, 6- Днестровский лиман, 7- р. Днепр, 8- Маныч, 9- *C. engrauliformes* (Северный Каспий).

Таким образом, есть все основания полагать, что современная популяционная структура вида *C. cultriventris* связана не столько с удалённостью новообразованных популяций от исторического ареала, сколько, вероятно, временем существования в пресных водах. Представленные данные позволяют говорить о возможном наличии физиологических рас тюльки, обитающей в высоко- и низко-минерализованных водах, маркируемых рядом аллелей изученных генетических локусов, но не о существовании независимых видов.

Существенное значение в понимании формирования современной популяционно-генетической структуры тюльки дает исследование популяций бассейна р. Маныч. Существует мнение (Доманевский и др., 1964; Биологические..., 2004) что заселение тюлькой маньчских водохранилищ произошло из Волги после создания Волго-Донского канала через Цимлянское водохранилище. Представленные данные позволяют выдвинуть другую гипотезу. При анализе популяционно-генетических показателей методом Многомерного шкалирования маньчская популяция обособляется как от волжских, так и от морских групп (рис. 3). В области Пространств 1-2 маньчская популяция

единственная занимает III четверть. В Пространстве 1 популяция Маныча располагается в значениях <0 , что сближает её с пресноводной тюлькой волжской группы. При рассмотрении расположения манычской тюльки относительно других групп в совокупности Пространств 1-2-3 можно отметить некоторую близость её к тюльке Азовского моря и, в меньшей степени – Каспия (рис. 3).

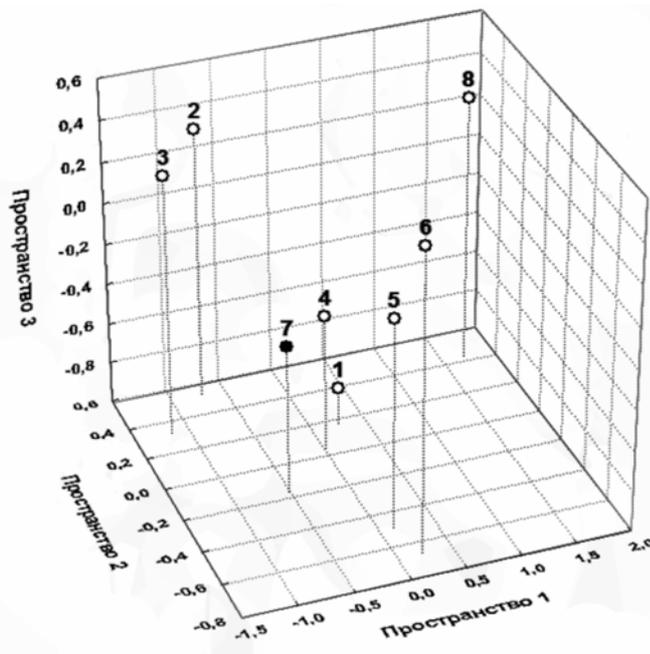


Рисунок 3. Расположение манычской популяции тюльки при Многомерном шкалировании относительно основных групп популяций *C. cultriventris* с маркерным видом *C. engrauliformes* в результате популяционно-генетического анализа 12 локусов. Построение на основании генетических дистанций Нэи (Nei, 1978). Популяции: 1- Северный Каспий, 2- Волгоградское водохранилище, 3- Рыбинское водохранилище, 4- Азовское море, 5- Днестровский лиман, 6- р. Днепр, 7- Маныч, 8- *C. engrauliformes* (Северный Каспий).

Если предположить, что тюлька проникла в Маныч из Волги после строительства Волго-Донского канала, то популяционно-генетические характеристики должны быть схожими с таковыми Волги с поправкой на изменение частот аллелей в локальных условиях (более высокая минерализация воды в Маныче). Но, в таком случае, скорость микроэволюционных преобразований именно в этом водоёме должна быть очень высокой, чтобы менее чем за век могли столь сильно измениться генно-частотные характеристики. Против столь высокой скорости генетических преобразований у тюльки свидетельствует значительное сходство между популяциями Днепра и Черноморских лиманов (рис. 2 и 3). Приток мигрантов в Днепр из лиманов сильно затруднён, в связи с чем наблюдаемые различия между популяциями, скорее всего, являются результатом микроэволюционных преобразований в популяциях в связи с адаптацией к местным условиям. Однако, проявление различий между популяциями Днепра и лиманов не столь велико. Также возможно, что тюлька

проникла в Маныч по системе каналов из Таганрогского залива через Дон. Но и в этом случае за срок около 70 лет должно произойти существенное перераспределение частот аллелей. Возможно, в исторический период существовал обмен рекрутами между тюлькой Маныча и Азовского моря, который в настоящее время маловероятен в связи с высокой изоляцией водохранилищ Маныча.

В естественноисторической части ареала тюльки уровень гетерозиготности несколько выше, чем в новообразованных популяциях (0,14 против 0,12). Однако доля полиморфных локусов выше в новообразованных популяциях, чем в нативных (0,31 против 0,29). Для черноморско-каспийской тюльки клинальности в географическом распределении аллелей основных генетических локусов не обнаружено (рис. 4).

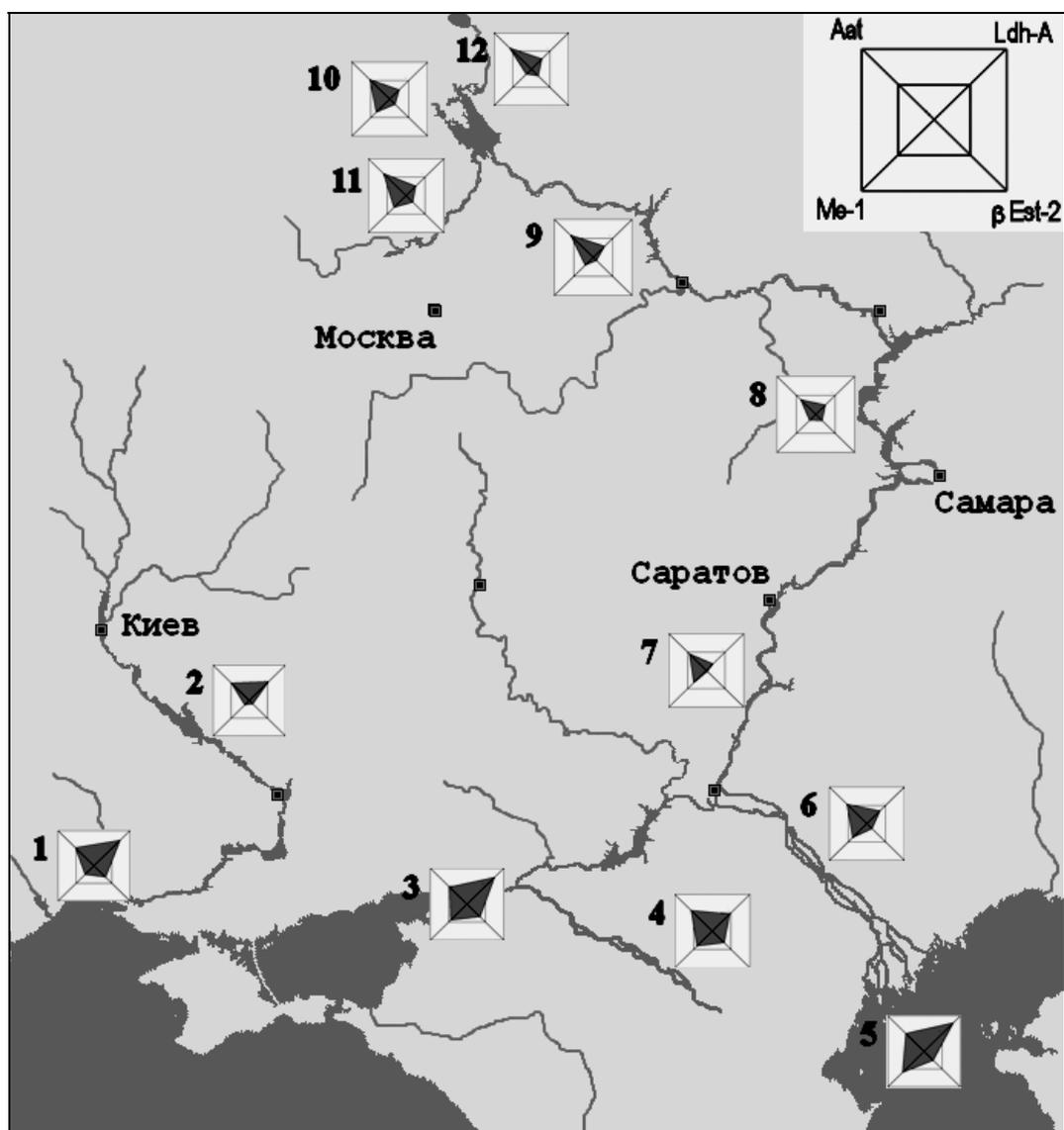


Рисунок 4. Распределения аллелей локусов Ldh-A, Aat, Me-1 и β -Est-2 черноморско-каспийской тюльки в ареале. 1- Днестровский лиман; 2- русловая часть р. Днепр; 3- Таганрогский залив, Азовское море; 4- р. Маныч, Пролетарское водохранилище; 5- Северный Каспий, устье р. Сулак; 6- Волгоградское водохранилище; 7- р. Волга у г. Саратов; 8- Куйбышевское водохранилище; 9- Горьковское водохранилище; 10- Рыбинское водохранилище; 11- Угличское водохранилище; 12- Шекснинское водохранилище.

Вероятно, наблюдаемая особенность распределения частоты аллеля *Ldh-A100* связана с историческим «морским» происхождением этого аллеля. Косвенно данное предположение можно доказать крайне высокой концентрацией аналогичного аллельного варианта в популяции облигатно морского родственного вида *C. engrauliformes*. В популяциях атлантической и тихоокеанской сельдей *Clupea harengus* и *C. pallasii* также преобладает аналогичный аллелизм ЛДГ (Jorstad, 2004). Приняв это предположение, можно объяснить довольно высокую концентрацию аллеля *Ldh-A100* в днепровских популяциях как следствие их филогенетической молодости, когда частоты «морского» аллеля ещё не приведены к оптимальному для пресноводных экосистем значению. Соответственно, низкая частота этого аллеля в Волжских популяциях является прямым следствием исторической длительности обитания тюльки Волги в пресноводных условиях.

Особенности наблюдаемого распределения аллелей *Ldh-A*, вероятно, кроется в микрофилогенезе волжских популяций тюльки. Филогенетически волжская тюлька происходит от тюльки Каспийского моря (Столбунова, Слынько, 2005). Характерное лишь для Волги преобладание аллеля *Ldh-A'120* можно объяснить особым физиологическим статусом пресноводных тюлек, связанным с особым происхождением этих популяций. Наиболее вероятно, что волжские популяции тюльки происходят от жилой тюльки, обитавшей в затоках и ильменях у г. Саратов (Световидов, 1952). Согласно предположению И.В.Шаронова (1971) после создания каскада водохранилищ именно эта пресноводная тюлька могла получить возможность расселиться по акватории Саратовского водохранилища, а в дальнейшем и по всей Волге.

Если принять предположение о происхождении волжских популяций тюльки от формы, адаптированной к условиям пресных вод, то становится понятным и высокая скорость расселения этого вида. Генетически и морфологически черноморско-каспийская тюлька на протяжении всего ареала однотипна. Таким образом, вероятно, тюлька Саратовских затонов представляла собой пресноводную физиологическую расу *C. cultriventris*. Маркером этой расы может служить аллель *Ldh-A'120*. Косвенно, это предположение подтверждается максимальной концентрацией данного аллеля именно в популяции тюльки, выловленной у г.Саратов в 2004 г. – частота аллеля $p(Ldh-A'120) = 0,82$.

Таким образом, на основании популяционно-генетических данных установлено, что в современном ареале *Clupeonella cultriventris* является генетически единым видом, что также подтверждается и данными RAPD-анализа ядерного генома (Слынько и др., в печ.). Крупные группы популяций объединены

как общим происхождением, так и постоянным обменом мигрантами, в результате чего обеспечивается генетическое единство вида во всём ареале. Некоторую обособленность демонстрирует только совокупность популяций тюльки водохранилищ Средней и Верхней Волги.

ГЛАВА VI. ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ ТЮЛЬКИ БАССЕЙНА ВОЛГИ

Установленные особенности распределения аллелей ряда локусов и дифференциация пресноводных популяций тюльки, вероятнее всего обусловлены селективным значением тех или иных аллелей. Селективное значение аллелей любого генетического локуса связано с конкретными физиологическими преимуществами продуцируемых аллозимов. При вселении тюльки в пресноводные водоёмы произошло изменение качественного состава среды обитания гидробионта и связанное с этим изменение физиологических характеристик ферментов. Для изучения селективности аллелей – маркеров пресноводных тюлек, были проведены эксперименты *in vitro* по влиянию солей, карбамида и температуры на изоферменты тюльки.

Большинство аллозимов отличаются друг от друга по своим функциональным особенностям. Возможным показателем дивергенции изоферментов могут служить различия в их устойчивости к воздействию солей при различном качественном составе действующего агента и разной экспозиции.

В результате работы установлены достоверные различия по воздействию активных агентов – SO_4^{2-} ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и Cl^- (NaCl) по экспрессированию ферментов Ldh-A и β -Est-2. Во всех случаях отмечается достоверное снижение активности и увеличение времени окрашивания изученных ферментов. При повышении концентрации соответствующего агента негативные эффекты усиливаются. Для Ldh-A и β -Est-2 можно отметить общую закономерность: происходит репрессия всех аллоформ, при этом число изоферментов не изменяется. Этот процесс в большей степени выражен при воздействии сульфат-анионов, чем при воздействии хлоридов.

При воздействии солей на изоферменты β -Est-2 установлено отсутствие каких-либо различий между аллельными вариантами. Для аллелей Ldh-A определена следующая закономерность: продукты аллеля Ldh-A100 гораздо более устойчивы к воздействию хлоридов, чем продукты варианта Ldh-A'120 (рис. 5). В свою очередь, гомотетрамеры Ldh-A'120 несколько более устойчивы к воздействию сульфат-ионов. Вероятно, данная физиологическая адаптация связана с условиями

внешней среды: продукты аллеля *Ldh-A100* более приспособлены к работе в условиях повышенной минерализации в морях с высокой хлоридностью воды, а продукты аллеля *Ldh-A'120* адаптированы для работы в условиях пресных вод.

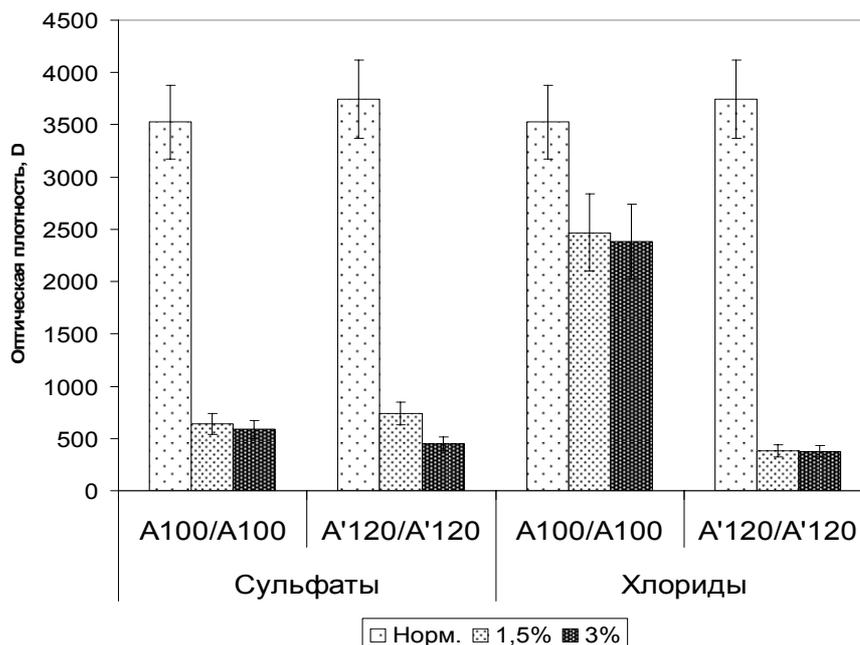


Рисунок 5. Влияние хлоридов и сульфатов разной концентрации на аллозимы лактатдегидрогеназы-А черноморско-каспийской тюльки. Норм. – активность изоферментов в физиологическом растворе; 1,5% и 3% - активность изоферментов при соответствующей концентрации анионов.

Черноморско-каспийская тюлька относится к категории эврибионтных видов, в том числе по параметрам солености и температуры (Приходько, 1979). Переход морского вида к обитанию в пресных водах должен вести к значительным изменениям в системах осморегуляции и азотистого обмена. Морские костистые рыбы – типичные аммонотелические организмы, но способные выдерживать значительные концентрации карбамида в тканях, хотя и в несравненно меньших концентрациях, чем хрящевые рыбы (Шмидт-Ниельсон, 1982). Таким образом, устойчивость изоферментов к различным концентрациям карбамида может служить показателем их физиологического статуса (Кирпичников, 1987), в частности при изменении среды обитания с «морской» на «пресноводную». Изоферменты тюльки показали большую устойчивость к карбамиду, сохраняя остаточную активность даже при 4М концентрации. В проведенных экспериментах было установлено, что продукты аллелей *Ldh-A100* и β -Est-2 *a*41* демонстрируют большую устойчивость, нежели их аллельные варианты. Так, при воздействии 2М карбамида на гомополимер *A100* происходит снижение активности на 30-50%, тогда как такая же концентрация агента для альтернативной гомозиготы *A'120* приводит к почти полной репрессии. Для изозимов β -Est-2 имеется подобная

тенденция: относительное уменьшение эстеразной активности для продуктов гомозигот β -Est-2 a^*41/a^*41 меньше, чем для альтернативного варианта. Вероятно, наблюдаемые различия в активности изоферментов связаны с приспособленностью этих аллозимов к работе в морских условиях.

Так как расселение тюльки по рекам шло в северном направлении, то можно ожидать наличие температурной селективности аллозимов. В результате экспериментов *in vitro* установлено, что теплоустойчивость изоферментов класса эстераз выше, чем лактатдегидрогеназы-А. Продукты аллеля Ldh-A100 демонстрируют большую теплоустойчивость, чем аллозимы Ldh-A'120, однако и продукт аллеля Ldh-A'120 сохраняет, хоть и в меньшей степени, свою активность во всём температурном диапазоне. В динамике изменения активности при повышении температуры этих изоферментов также наблюдаются существенные различия. Так, гомозиготы A'100/A'100 незначительно изменяют свою активность при повышенных температурах, тогда как для их альтернативных гомозигот характерно сильное равномерное снижение активности при повышении температуры. Вероятно, такие отличия связаны с приспособленностью продуктов аллеля Ldh-A'100 к функционированию в условиях более высоких температур. Все основные изоферменты β -Est при температуре 7°C имеют практически одинаковую активность. При повышении температуры до 35°C в значительной степени репрессируются оба аллозима Est-2, а изоферменты фракции Est-1 снижают свою активность на 30-60%. Однако этот процесс компенсируется возрастанием активности изоферментов Est-3, за счёт чего суммарная эстеразная активность снижается незначительно. Этот компенсационный механизм работает вплоть до повышения температуры до 50°C. Начиная с 65°C, как правило, все изоферменты β -Est инактивируются. В целом, подобная картина зависимости изменения эстеразной активности от температуры была описана ранее (Koehn et al., 1971) для североамериканской карповой рыбы палевого нотрописа *Notropis stramineus*.

В результате проведённых экспериментов *in vitro* можно сделать вывод о функциональной дивергенции аллелей Ldh-A и β -Est-2 черноморско-каспийской тюльки. Аллель Ldh-A'120 можно условно назвать «волжским аллелем». Он демонстрирует черты приспособленности к функционированию в пресных, низкоминерализованных водах р.Волги. Аллель β -Est-2 b^*45 , вероятно, имеет морское происхождение и, скорее всего, связан с особенностями метаболизма жирных кислот в морских и эстуарных популяциях тюльки. Установление этих эколого-генетических маркеров для Волжских популяций тюльки позволяет

рассмотреть процесс расселения, микрофилогенеза и происхождения новообразованных популяций тюльки.

ГЛАВА VII. ФОРМИРОВАНИЕ И РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ АДАПТАЦИЙ *CLUPEONELLA CULTRIVENTRIS* В УСЛОВИЯХ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Для установления генетических адаптаций к конкретным условиям существования, следует рассмотреть наличие половой, онтогенетической и сезонной зависимости в распределении аллелей. Модельным водоёмом для этих наблюдений было выбрано Рыбинское водохранилище. Здесь на протяжении 2002-2007 гг. проводился мониторинг генетического состояния популяции тюльки по всем четырём плёсам (Центральному, Волжскому, Шекснинскому и Моложскому).

Таблица 2. Уровень межпопуляционной дифференциации по ряду полиморфных локусов у тюльки Рыбинского водохранилища.

Локус	Год наблюдений								
	2002 (начальный этап)			2004			2007 (современный этап)		
	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}
Ldh-A	0,035	0,03	0,005	0,023	0,007	0,016	0,03	0,046	0,015
Me-1	0,008	0,005	0,013	0,124	0,117	0,008	0,196	0,18	0,019
β -Est-2	0,183	0,179	0,005	0,133	0,118	0,017	0,087	0,017	0,071
Среднее (на локус)	0,075	0,074	0,008	0,081	0,093	0,014	0,104	0,081	0,035

На основании полученных данных определён уровень пространственной подразделённости для популяции Рыбинского водохранилища (табл. 2) на разных этапах вселения тюльки. На начальном этапе (2002 г.) внутривидовая дифференциация отсутствовала, а основная часть генетической изменчивости возникала в условиях, приближенных к панмиксии ($F_{IT} \approx F_{IS} \gg F_{ST}$). Позже (2004 г.) наблюдалось образование внутривидовых группировок, что отражает возросший почти в два раза коэффициент F_{ST} . На современном этапе (2007 г.) наблюдается высокая панмиксия внутри популяции Рыбинского водохранилища ($F_{IT} > F_{IS} > F_{ST}$), но уже явно выражен процесс образования локальных стад тюльки, что характеризует значительно возросший коэффициент F_{ST} .

Представленные данные по высокой панмиксии тюльки объясняются биологическими особенностями вида. Тюлька – стайный пелагический вид, совершающий большие пищевые и нерестовые миграции. Расстояния акватории Рыбинского водохранилища не являются достаточным препятствием для

регулярного межгруппового скрещивания. Намечающаяся некоторая пространственная дифференцировка между наиболее удалёнными группировками рыб, вероятно, связана с наличием локальных нерестилищ и тяготеющих к ним местных стад, что характерно и для многих других рыб (Алтухов, 2003; Wilmot et al., 1994).

По данным многолетних наблюдений, значительную часть популяции тюльки Рыбинского водохранилища составляют особи возрастом 0+ - 1+. Особенно большое количество сеголетков встречается в осенних уловах, когда их численность достигает 50-80%. Для тюльки на первом году жизни в целом наблюдается равное соотношение полов, тогда как у старших возрастных групп преобладают самки.

Важным вопросом при генетических исследованиях является изучение селективности тех или иных генотипов у разных полов и возрастных групп. Прямая оценка селективной ценности особей с определённым генотипом для тюльки затруднена в связи со сложностями искусственного получения потомства, содержания и выращивания молоди этого вида. В связи с этим оценки интенсивности отбора производились через обратный расчёт относительной приспособленности генотипов как меры вероятности выживания особей с тем или иным генотипом (Ли, 1978; Хедрик, 2003).

Установлено, что в результате различной селективной ценности изменяются не только частоты аллелей в группах ювенильных и половозрелых рыб, но и частоты конкретных генотипов. Так, если в группе неполовозрелых рыб по локусу *Ldh-A* относительная приспособленность (вероятность выживания) гетерозигот максимальна, то у половозрелых особей более вероятно выживание рыб гомозиготных по аллелю *Ldh-A100*.

Для ювенильных особей высокий уровень гетерозиготности обеспечивает более широкую норму реакции по отношению ко многим абиотическим факторам. В частности это выражается в более широком диапазоне летальных температур молоди по сравнению с половозрелыми рыбами (Смирнов, 2005), что также, возможно, связано с большим уровнем гетерозиготности у неполовозрелых рыб (Redding, Schreck, 1979).

Изменение генетических характеристик в течение года в популяциях позвоночных животных – распространённое явление (Динамика..., 2004). Если для

проходных и полупроходных рыб такие данные имеются, то для жилых форм этот вопрос недостаточно изучен (Алтухов, 2003). Сезонная динамика генно-частотных характеристик в случае тюльки интересна ещё и тем, что это короткоцикловый вид, срок жизни основной массы особей которого в Рыбинском водохранилище, как правило, не превышает 3-х лет, а основу нерестовой группы составляют впервые перезимовавшие рыбы возрастом 1+ (Кияшко и др., 2006). Таким образом, при перезимовке даже небольшие преимущества особей определенных генотипов сильно увеличивают их шансы на успешное размножение в следующем сезоне.

При сравнении типа и интенсивности отбора в течение года для разных генетических локусов тюльки наблюдается различная динамика относительных приспособленностей генотипов (как отношение наблюдаемых частот генотипов, испытавших давление отбора, к равновесным). Для локуса *Ldh-A* характерны существенные изменения приспособленности и давления отбора в течение сезона (рис. 6). Сильнее всего отбор действует при переходе к зиме, когда полностью меняется относительная приспособленность гомозигот. В весенний период тип отбора изменяется на балансирующий, а максимальная приспособленность перемещается на гетерозиготы.

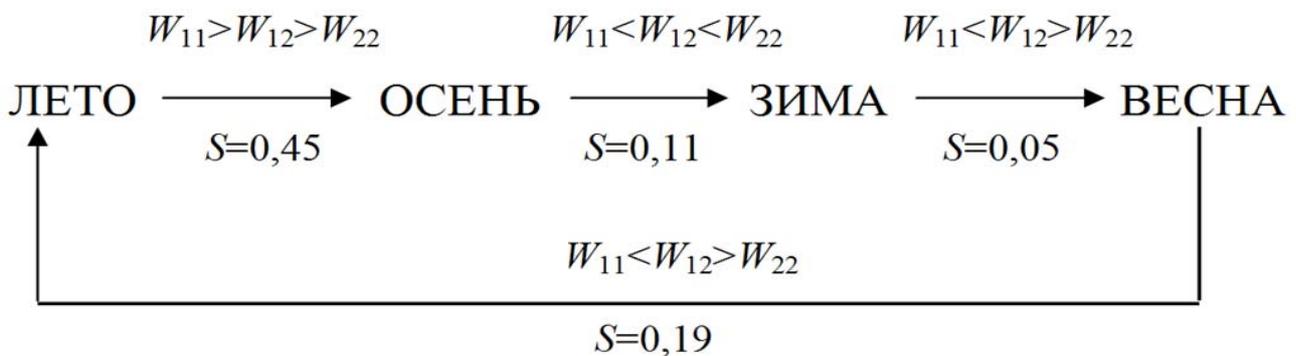


Рисунок 6. Схема изменения интенсивности и типа отбора в популяции тюльки Волжского плёса Рыбинского водохранилища в течение сезона 2005-06 гг. на примере локуса *Ldh-A*. Условные обозначения: S – интенсивность отбора (мера вероятной выживаемости особей); W_{11} , W_{12} , W_{22} – относительные приспособленности (вероятность выживания того или иного генотипа) гомозигот (1_1 и 2_2) и гетерозигот (1_2).

Наблюдаемые колебания генетических показателей свидетельствуют о сложных сезонных перестройках генетической структуры популяции, связанными с изменениями возрастной структуры и условиями зимовки основной части популяции – сеголетков и особей возраста 1+, что происходит как непосредственно под влиянием меняющихся абиотических факторов, так и, вероятно, со сменой качественного и количественного состава пищевых организмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для тюльки, расселившейся по всей Волге, генотипическое разнообразие чётко проявилось в биохимических адаптациях на уровне изоферментов. Это прослеживается для аллозимов мышечной лактатдегидрогеназы-А. Аллельный вариант *Ldh-A100*, вероятнее всего, имеет исторически «морское» происхождение, что проявляется в его большей устойчивости к хлоридам и карбамиду, а также более высокой термотолерантности, чем для продуктов альтернативного аллеля. На популяционном уровне такая гипотеза подтверждается особенностями географического распределения аллелей *Ldh-A*. В морях частота аллеля *Ldh-A100* максимальна, а у родственного, облигатно морского вида – *Clupeonella engrauliformes* изофермент представлен только продуктом аналогичного аллеля. В популяциях атлантической и тихоокеанской сельдей *Clupea harengus* и *C. pallasii* также преобладает аналогичный аллозим *Ldh-A* (Jorstad, 2004).

Частота варианта *Ldh-A'120* возрастает в пресноводных экосистемах, что прослеживается на популяциях тюльки Волги и Маныча. При сравнительном рассмотрении генетических характеристик этих двух групп популяций становится возможным проследить скорость микроэволюционных преобразований в условиях частичной изоляции. Своеобразие волжских популяций тюльки (значительное преобладание аллеля *Ldh-A'120*) можно объяснить происхождением их от жилой пресноводной формы, обитавшей в затонах у г.Саратов. Вероятно, популяция этой жилой формы возникла в период Хвалынской трансгрессии Каспийского моря около 40 тыс. л. назад (Бардюкова, 2007) и сохранилась в последовавший затем регрессионный период в системе пойменных Саратовских затонов. Длительное обитание в пресноводных экосистемах обусловило возникновение и закрепление ряда адаптаций к обитанию в условиях низкоминерализованных вод, что отразилось в существенном перераспределении аллельных частот локуса *Ldh-A*. Для Днепра подобных палеоисторических процессов не отмечено, а проникновению тюльки вверх по реке препятствовали Днепровские пороги. После начала гидростроительства на Днепре в начале XX века гидрологический режим реки сильно изменился: пороги исчезли и возникли водохранилища. В результате этого произошло расселение тюльки из солоноватоводных лиманов в Днепр. Так как эволюционный возраст этих популяций очень мал и такого срока недостаточно

для существенного изменения генетических показателей, то и наблюдаемая дивергенция между популяциями тюльки черноморских лиманов и Днепра невелика и не достигает таких значений, как для Волги и Каспийского моря.

При изучении стратегии биохимических адаптаций интересно исследование эколого-генетических особенностей тюльки изолированных популяций в высокоминерализованных водоёмах (Маньч, Карачуновское водохранилище). Изоляция Карачуновского водохранилища, расположенного в месте слияния рр. Боковая и Боковенька с р. Ингулец произошла около века назад. Вероятно, с той же поры существует изолированная популяция тюльки этого водоёма. В бассейне современного Маньча, вероятней всего, тюлька обитала с периода существования Кумо-Маньчского прогиба, соединявшего Каспийское море с Азовским и Черным морями. После поднятия суши и изоляции морей формируется современная долина реки Маньч, в которой сформировались реликтовые популяции тюльки. Длительное существование таких локальных популяций в условиях высокой минерализации вод привело к наблюдаемому паритетному соотношению частот аллелей Ldh-A. Следовательно, в случае изоляции происходят адаптационные изменения к условиям обитания, что выражается в сдвиге генетических характеристик и изменении физиологического оптимума. При длительной изоляции эколого-генетические характеристики популяции сдвигаются к своим оптимальным значениям для данного водоёма, а со временем обеспечивается полное соответствие генотипа условиям среды и очень долгое устойчивое состояние системы, что наблюдается в случае реликтовых популяций тюльки Маньча.

Таким образом, современная филогеографическая ситуация, сложившаяся в результате саморасселения тюльки по рекам Понто-Каспийского стока, определяется как широкой экологической пластичностью, значительными миграционными способностями вида, так и изменениями генетической структуры популяций. На основании генетико-биохимических и данных RAPD-PCR (Слынько и др., в печ.) можно заключить, что выделение независимых видов (Kottelat, Freyhof, 2007) среди различных крупных географических групп популяций тюльки безосновательно.

Важную роль в распределении генотипов тюльки в новообразованной популяции играют сезонные изменения абиотических факторов. Сезонные изменения интенсивности и типа отбора приводят к возникновению высокого генотипического разнообразия внутри популяции. Создание такой генетической

гетерогенности обеспечивает поддержание широкой нормы реакции у тюльки в условиях северных водохранилищ, что позволяет этому виду пережить наиболее критический период существования – зимовку.

ВЫВОДЫ

1. Показатели генетического разнообразия у черноморско-каспийской тюльки ($P=0,23-0,41$; $H_{ob}=0,101-0,211$) по уровню полиморфизма сопоставимы, а по уровню гетерозиготности значимо превышают таковые у других сельдевых рыб. На внутривидовом уровне значимой дифференциации по показателям генетического разнообразия между популяциями тюльки не наблюдается, в том числе при сравнении исторической и новых частей ареала.
2. Сравнительный анализ распределения частот генов в популяциях *Clupeonella cultriventris* из азово-черноморского и каспийского бассейнов свидетельствует, что между ними отсутствуют значимые генетические различия видового уровня; таковые обнаруживаются только при сравнении черноморско-каспийской и анчоусовидной тюльки.
3. На внутривидовом уровне черноморско-каспийская тюлька в пределах ее современного ареала генетически подразделяется на три популяционные группы: Понто-Каспийскую (с реками Днепр и Дон), Волжскую и Манычскую.
4. Установлено, что одними из наиболее надежных маркеров Волжской и Манычской популяционной групп служат аллели локуса *Ldh-A*. Манычские, и в наибольшей степени волжские популяции характеризуются значительным преобладанием аллеля *Ldh-A'120*. В Понто-Каспийской группе, как в морских, так и в пресноводных популяциях преобладает аллель *Ldh-A100*. Такого рода перераспределение аллелей маркерного локуса связано с длительностью существования пресноводных популяций в бассейнах Волги и Маныча со времени последних трансгрессий Каспийского моря.
5. Аллозим *Ldh-A100* черноморско-каспийской тюльки обладает более высокой теплоустойчивостью, переносит более высокие концентрации неорганических ионов и мочевины. Регуляция ферментативной активности

эстераз происходит не только за счёт различий между аллозимами, но и путём изменения ферментативной активности отдельных локусов.

6. В результате вселения тюльки в крупные водохранилища в популяции нарастает тенденция по формированию пространственной подразделённости, а на распределение частот аллелей оказывает влияние эффект Валунда.
7. С момента вселения наиболее крупная северная краевая популяция тюльки Рыбинского водохранилища испытывает значительное, зависящее от сезона, давление отбора, под влиянием которого происходят существенные изменения в геномном балансе. В результате этого процесса поддерживается высокая гетерогенность в популяции вселенца.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шляпкин И.В., Слынько Ю.В., Касьянов А.Н., Карабанов Д.П. Морфометрическая и генетико-биохимическая характеристика рыб, интенсивно расселяющихся в бассейнах Волги и Дона // «Экологические проблемы бассейнов крупных рек-3». Тез. докл. межд. конф. Тольятти: ИЭВБ РАН, 2003. С. 326.
2. Карабанов Д.П. Влияние различных солей на экспрессию изоферментов каспийской тюльки на примере эстераз эфиров карбоновых кислот // Актуальные проблемы биологии и экологии. Сыктывкар: КомиНЦ РАН, 2004. С. 81-83.
3. Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Различия в теплоустойчивости некоторых изоферментов черноморско-каспийской тюльки (*Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840) // «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов». Сб. докл. межд. конф. Петрозаводск: ИБ КарелНЦ РАН, 2004. С. 60-61.
4. Karabanov D.P., Slynko Yu.V. Genetic-biochemistry adaptations of *Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840 at expansion in Volga river basin // “Alien species in Holarctic (Borok-2)”. Book of Abstr. II Int. Symp. Russia, Borok, 2005. P. 195-196.
5. Карабанов Д.П. Функциональные различия в теплоустойчивости и активности некоторых изоферментов черноморско-каспийской тюльки (*Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840) // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных. Саранск: МордвГУ, 2005. С. 101-104.

6. Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Функциональные различия между изоформами и аллоформами эстераз черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* Nordmann, 1840 Рыбинского водохранилища // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Петрозаводск: ИБ КарелНЦ РАН, 2005. С. 63-70.
7. Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Некоторые особенности использования метода PAGE при изучении популяций рыб Южного Региона России // Современные технологии мониторинга и освоения природных ресурсов южных морей России. Ростов-на-Дону: ЮжНЦ РАН, 2005. С. 81-82.
8. Карабанов Д.П. Географическая изменчивость частот аллелей лактатдегидрогеназы (К.Ф. 1.1.1.27) черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordm., 1840) // «Биология внутренних вод». Мат. междунар. шк.-конфер. Борок: ИБВВ РАН, 2007. С. 88-93.
9. Голованова И.Л., Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Активность пищеварительных карбогидраз тюльки *Clupeonella cultriventris* из различных частей ареала // Вопр. рыболовства. 2007. Т.8. №1. С. 110-119.
10. Карабанов Д.П. Особенности устойчивости некоторых изоферментов черноморско-каспийской тюльки (*Clupeonella cultriventris* (Nordm., 1840)) к высоким концентрациям карбамида *in vitro* // Ихтиологические исследования на внутренних водоемах. Саранск: МордвГУ, 2007. С. 68-70.
11. Карабанов Д.П., Слынько Ю.В. Особенности распределения аллелей лактатдегидрогеназы (LDH, Е.С. 1.1.1.27) черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordm., 1840) // «Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб». Тез. докл. межд. конф. С.-Пб.: ГосНИОРХ, 2008. С. 15-16.
12. Карабанов Д.П. Современная структура и происхождение волжских популяций тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) на основании эколого-генетических данных // Водные экосистемы: трофические уровни и проблемы поддержания биоразнообразия. Вологда: ВЛ ГосНИОРХ, ВГПУ, 2008. С. 297-299.
13. Карабанов Д.П. Современная популяционная структура черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordm., 1840) (CLUPEIDAE) // Совр. пробл. науки и образования. 2008. №6. С. 28.