

121

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ имени Н.К.Кольцова

На правах рукописи  
УДК 575.17:597.59

ИЛЬИН Илья Исмаилович  
БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ РОСТАНА *FERRISOTTUS ELEPHI* DUB.  
(*ELVOTETIDAE*) В ИСХОДНОМ АРЕАЛЕ И РАЙОНАХ ИНТРОДУКЦИИ

03.00.15 - Генетика

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук

Москва, 1997

12

Работа выполнена в Институте биологии развития  
им. Н.К.Кольцова АН СССР

Научные руководители: член-корреспондент АН СССР  
А.В.Яблоков  
кандидат биологических наук  
М.В.Мина

Официальные оппоненты: доктор биологических наук  
В.Г.Митрофанов  
кандидат биологических наук  
А.К.Карпов

Ведущее учреждение: Институт общей генетики им.И.И.Вавилова  
АН СССР

Защита состоится "13" мая 1987г. в 10 час.  
на заседании спе-  
циализированной  
диссертационной  
комиссии при Институте  
биологии развития  
Москвы, ул.Ва-

С диссертацией  
можно ознакомиться  
в библиотеке  
Института  
(Москва, ул.В

Автореферат ]

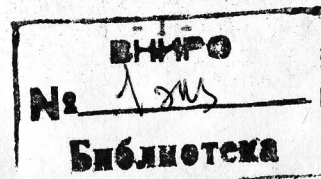
Ученый секретарь  
специализированной  
диссертационной  
комиссии  
кандидат био-

Актуальность темы. Случайное или намеренное расселение различных видов животных и растений часто оказывает значительное воздействие на природные экосистемы, влияет на эволюцию вселенных и местных видов. Подробные исследования этих процессов довольно редки, в частности, единичны работы по изучению влияния интродукции на генетическую структуру новообразованных популяций. Между тем, результаты таких работ важны для решения ряда вопросов эволюционной теории, а также практических задач, встающих в связи с необходимостью прогнозирования последствий акклиматизации. Ротан *Plecoglossus glehni* Durb. (Eleotridae, Pisces) на протяжении XX века неоднократно был интродуцирован из бассейна р.Амур в водоемы Европейской части СССР, ранее всего вблизи Петербурга (1916г.), а в конце 40<sup>х</sup> годов - в Московскую область. Важно отметить, что число интродуцентов было в обоих случаях невелико (например, все подмосковные популяции произошли, очевидно, от одной пары особей) и повторных интродукций в эти районы, видимо, не было. Эти и некоторые другие обстоятельства делают ротана удобным объектом для изучения популяционно-генетических эффектов вселения небольшого числа основателей в водоемы за пределами естественного ареала.

Цель и задачи исследования. Целью работы являлось изучение популяционно-генетических эффектов вселения ротана в водоемы Ленинградской и Московской областей. В соответствии с этим были поставлены следующие основные задачи:

1) Исследование в эксперименте генетических основ изучаемого белкового полиморфизма и связи этого полиморфизма с выживаемостью и темпом роста особей.

2) Изучение внутривидового разнообразия, определяемого различиями между внутривидовыми группировками по частотам аллелей и генотипов исследуемых белковых локусов.



3) Сравнение уровня внутривидовой изменчивости и межвидового разнообразия по исследуемым локусам в исходном и приобретенном ареалах.

4) Анализ действия эволюционных факторов на генетическую изменчивость популяций ротана, возникших при интродукции.

Научная новизна. Впервые изучен и описан полиморфизм ротана по нескольким ферментным локусам. В ходе эксперимента показана связь между этим полиморфизмом и выживаемостью, темпом роста и полом особей. Аналогичные данные получены для значительного числа выборок из природных популяций ротана, включая связь аллозимной изменчивости с возрастом и некоторыми морфологическими признаками. Сопоставление набора и частот аллелей, а также гетерозиготности по двум локусам в популяциях исходного ареала и районов расселения показало, что интродукция малого числа основателей не привела к снижению уровня генетической изменчивости (гетерозиготность даже выросла в новообразованных популяциях). Полученные данные говорят о наличии факторов, противодействующих снижению генетической изменчивости новообразованных популяций, ими служат, очевидно, различные формы уравновешивающего отбора, интенсивность которых возрастает после интродукции.

Практическое значение. Изучение преобразования генетической изменчивости в результате вселения небольшого числа особей в новые места обитания важно для научного обоснования акклиматизации и разведения хозяйственно ценных или редких видов, поскольку их приспособленность и биологические характеристики могут сильно зависеть от сохранившегося генофонда и уровня гетерозиготности. Высокая гетерозиготность, выявленная в европейских популяциях ротана, возможно, способствовала выживанию и интенсивному распространению этого вида после интродукции. По-видимому, важно обеспечить как можно более высокое аллельное раз-

нообразии в первых поколениях после интродукции, так как оно может послужить материалом для действия уравновешивающего отбора, противодействующего снижению изменчивости из-за генетического дрейфа. Создание такого разнообразия можно обеспечить подбором высокоизменчивых основателей или дополнительным внесением генетического материала. Важно контролировать уровень изменчивости и при дальнейшем расселении интродуцированного вида, поскольку он может несколько снизиться, как это произошло у ротана.

Разработанные методики и полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения ротана, а также ряда других видов рыб, с целью регуляции их численности и распространения.

Полученные на ротане данные о внутривидовой генетической гетерогенности свидетельствуют, что при характеристике аллелофонда и гетерозиготности популяций важно исследовать эти параметры у самок и самцов, у особей, различающихся по возрасту, темпу роста и морфологии.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на IV Всесоюзном совещании "Вид и его продуктивность в ареале" (Свердловск, 1984), I Всесоюзной конференции по проблемам эволюции (Москва, 1985), III Всесоюзном генетическом совещании (Саратов, 1985), VI Всесоюзной конференции по проблемам экологической физиологии и биохимии рыб (Вильнюс, 1985), III Всесоюзном совещании по генетике, селекции и гибридизации рыб (Тарту, 1986), на коллоквиумах лаборатории постнатального онтогенеза (1979-1986 гг.), на объединенных коллоквиумах генетических лабораторий Института биологии развития им. Н.К.Кольцова АН СССР.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, состоит из введения, восьми глав и

выводов. Работа содержит 16 таблиц и 7 рисунков. Список литературы включает 266 наименований, в том числе 193 - на иностранных языках.

#### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данном разделе рассмотрены результаты работ по изучению генетической (главным образом аллозимной) изменчивости в природных популяциях, которые предположительно возникли в результате интродукции небольшого числа особей за пределы исходного ареала. Согласно расчетам некоторых исследователей, в таких популяциях должно наблюдаться значительное снижение генетической изменчивости из-за эффекта основателя, или эффекта бутылочного горлышка (Maug, 1954; Nei et al., 1975). Приведены данные по сравнению генетической изменчивости различных видов популяций из центра и с периферии ареала, из открытых местообитаний и из пещер, с материка и с островов, а, также, в исходном и приобретенном ареалах для видов с известной историей интродукции. Наиболее подробно рассмотрены результаты исследований на рыбах.

В большинстве случаев не наблюдается значительной редукции гетерозиготности после интродукции. Это может свидетельствовать о несоблюдении условий, необходимых для проявления эффекта бутылочного горлышка (большое число основателей, повторные интродукции, быстрый рост численности популяций), либо о наличии факторов, противодействующих влиянию генетического дрейфа.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом для данной работы послужили выборки ротана из 27 природных водоемов, собранные в 1977-84 гг. В исходном ареале на Дальнем Востоке исследовано 16 популяций, которые можно отнести к пяти районам: аг Приморья (популяции 1-2), бассейн оз. Ханка (3-5), бассейн р. Кия (6-12), бассейн р. Сета (13), район Хабаровска (14-16). Изучались также популяции из двух районов интродук-

ции: из Ленинградской области (популяция 17) и из Московской (18-27), причем популяции 18-23 обитают неподалеку от места первой интродукции в Подмосковье, а популяции 24-27 - на значительном расстоянии от них. Из популяций 18-20 и 24 выборки брались неоднократно. Все подмосковные популяции произошли от одной пары особей, привезенных в Москву в конце 1940<sup>х</sup> гг. Лов ротана производили с помощью бредня с лещей 7 мм, а также сеткой Киналева на участках с глубинами до 1 м. У пойманных рыб измерялась длина тела, головы, челюстей, при вскрытии определялся пол и, у части особей, возраст по отолитам. В некоторых популяциях был выявлен полиморфизм по типу окраски ("темная" и "светлая" формы). Образцы мышц замораживали и хранили при -15<sup>о</sup>С, либо предварительно помещали в 2% раствор 2-феноксэтанола в 8,5% сахарозе, сохраняющем активность некоторых ферментов без замораживания. Предварительная консервация 2-феноксэтанолом применялась при сборе большей части выборок на Дальнем Востоке из-за значительной сложности замораживания материала в экспедиционных условиях.

Для изучения изозимной изменчивости использовали метод электрофореза в вертикальных блоках полиакриламидного геля, исследовали водорастворимые белки мышц. Два фермента - октанодегидрогеназу (ОДГ) и супероксиддисмутазу (СОД) изучали во всех популяциях, поскольку по ним выявлена четко интерпретируемая изменчивость и активность этих ферментов хорошо сохраняется при фиксации материала в 2-феноксэтаноле, что позволило исследовать их в дальневосточных популяциях. В нескольких подмосковных популяциях исследована изменчивость малатдегидрогеназы (МДГ) и малик-энзима (МЭ). Получены электрофоретические спектры по ОДГ - у 1876 особей, по СОД - у 1785, по МЭ - у 583 и по МДГ - у 474.

Для изучения характера наследования наблюдаемой белковой из-

менчивости и ее связи с темпом роста и выживаемостью было поставлено пять аквариумных скрещиваний.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СКРЕЩИВАНИЙ

Наследование электроморф. Методом электрофореза проанализированы родители и потомки в пяти аквариумных скрещиваниях (всего 135 особей) по ОДГ и СОД. Полученные результаты согласуются с ранее выдвинутой гипотезой (Ильин, 1982а) о том, что каждый из этих ферментов кодируется одним локусом (*Odh* и *Sed*, соответственно) и обладает димерной структурой. Сцепления этих локусов между собой и с полом не обнаружено.

Различия в жизнеспособности рыб с разными генотипами. Попытка выявления таких различий была предпринята на материале скрещивания №3 ( $\varnothing \text{Odh}^F \text{Odh}^S \text{Sed}^D \text{Sed}^H \times \sigma^r \text{Odh}^F \text{Odh}^F \text{Sed}^D \text{Sed}^D$ ) и №4 ( $\varnothing \text{Odh}^F \text{Odh}^F \text{Sed}^D \text{Sed}^H \times \sigma^r \text{Odh}^F \text{Odh}^F \text{Sed}^D \text{Sed}^F$ ), в которых изучены генотипы не только у особей, доживших до конца опыта (возраст рыб II,5мес.), но и у части рыб, погибших ранее. Выжившие особи имели значимо более высокую гетерозиготность, чем погибшие (в скрещивании №3 - по локусу *Odh*, №4 - по локусу *Sed*), причем наименьшая доля гетерозигот была отмечена для мальков, погибших на ранних стадиях опыта (I-4мес.). Так, доля гетерозигот в скрещивании №3 была равна у последних 27%, у выживших - 64%, при ожидаемой доле 50%; в скрещивании №4 - 62%, 91% и 75%, соответственно. При этом самцы и самки скрещивания №3 значительно отличались друг от друга по этому показателю (79% и 55%, соответственно), доля гетерозигот по обоим локусам была значимо выше у самцов.

Связь темпа роста с гетерозиготностью. Потомство скрещиваний №3 и 4 было разделено в возрасте I,5мес. на две группы - более крупных (К) и более мелких (М) рыб, которые в дальнейшем выращивались раздельно. В возрасте 4,5мес. эти группы были разделены по

тому же принципу, образовались новые: Мм (мелкие мелкие), Мк (мелкие крупные), Км и Кк (крупные мелкие и крупные крупные). К концу опыта размеры рыб в разных группах значительно выровнялись (аналогичное явление, компенсационный рост, известно у животных многих систематических групп) (Мина, Клевезаль, 1976). Выживаемость потомков оказалась наиболее высокой в группе самых крупных рыб (Кк), а наименьшей - у самых мелких (Мм) (рис. I). При этом в группах Кк и Мм наблюдалась значимо более высокая гетерозиготность по локусу *Sed*, чем в средних группах (рис. I). Высокий процент гетерозигот в группе Кк связан, видимо, с положительной корреляцией гетерозиготности и темпа роста. Аналогичный результат для группы Мм наблюдается, вероятно, из-за особенно большой гибели сеголеток в этой группе, вследствие чего выжили в основном гетерозиготы. Возможно, однако, что "U"-образная зависимость гетерозиготности от темпа роста не является результатом отбора, а отражает разнокачественность гетерозигот по связи с темпом роста.

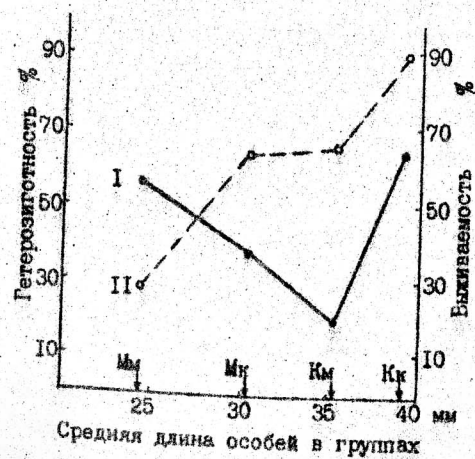


Рис. I: Доля гетерозигот (I) по локусу и выживаемость (II) у потомков скрещивания №3, разделенных на группы в соответствии с темпом роста в первые 4,5 мес.

Для более полного изучения связи гетерозиготности и темпа роста самцы и самки каждой из образованных в ходе опыта групп были разбиты по размерам на равные по численности подгруппы, и внутри каждой группы было проведено сравнение подгрупп по доле гетерозигот. Оказалось, что характер связи гетерозиготности и темпа роста различался у рыб разного пола: у самцов наблюдалась положительная связь этих параметров, а у самок - отрицательная. Анализ, проведенный другим способом, подтвердил этот факт. Следует отметить, что различия между самцами и самками по гетерозиготности и ее связи с темпом роста выявились еще до наступления половой зрелости рыб.

Таким образом, в ходе эксперимента наблюдалась селективная гибель рыб и дифференциация по скорости роста, зависящие, видимо, от генотипов по исследуемым локусам. Однако, связь гетерозиготности с выживаемостью и скоростью роста не является однозначной, а может меняться в ходе онтогенеза, по разному проявляясь у самцов и самок. Полученные данные не являются артефактом, поскольку в природных популяциях, послуживших источником материала для скрещиваний, выявлены аналогичные зависимости.

#### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ГОТАНА: ЗАВИСИМОСТЬ ЧАСТОТ АЛЛОЗИМОВ ОТ ПОЛА, ВОЗРАСТА, РАЗМЕРА И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ОСОБЕЙ

Изучение внутривидовой гетерогенности белковой изменчивости очень важно для анализа факторов, влияющих на ее поддержание и трансформацию в ходе интродукции.

Исследование изменчивости нескольких ферментных локусов в трех подвидовых популяциях. На выборках из популяций 18, 19 и 24 проведены наиболее подробные исследования зависимости частот аллозимов от нескольких биологических параметров особей. Изучалась изменчивость октанодегидрогеназы (локус *Odh*), малатде-

гидрогеназы (Me I) и малатдегидрогеназы-2 (*Mdh-2*). Значительные различия между самцами и самками, а также между особями разных возрастных классов обнаружены по локусам *Odh* и *Me*, по последнему выявлены также различия между особями с разным темпом роста. Изученные популяции сильно различались по частотам аллелей. В частности, популяции 18 и 19, обитающие поблизости друг от друга, полиморфны по локусу *Odh* и мономорфны по локусу *Mdh-2*, а в популяции 24, находящейся на большом расстоянии от них, напротив, обнаружен мономорфизм по *Odh* и полиморфизм по *Mdh-2*. Можно отметить наличие сходных для всех трех популяций процессов: снижение доли самцов, уменьшение частоты медленного аллеля и дефицита гетерозигот по локусу *Me* в старших возрастных группах, однако, каждая популяция отличается от других по возрастной динамике и межполовым различиям аллельных частот некоторых локусов. Степень сходства между популяциями сильно зависит от возрастного и полового состава сравниваемых групп. Так, самцы-трехлетки популяции 19 по локусу *Odh* оказываются ближе к самцам-трехлеткам популяции 18, чем к другим группам своей популяции, сходная картина обнаружена и по локусу *Me*, при этом межпопуляционные различия других возрастных и половых групп очень велики. Во всех популяциях возрастные колебания аллельных частот у самцов выше, чем у самок. Межпопуляционные различия и особенности внутривидовой структуры могут определяться различиями между особями-основателями, но, очевидно, на них влияет и специфика условий обитания в конкретных водоемах.

Изучение внутривидовой изменчивости ОДГ и СОД в исходном и приобретенном ареалах. Из большинства исследуемых популяций удалось получить относительно небольшие выборки (не более нескольких десятков особей), что сильно затрудняет изучение взаимосвязи частот аллозимов и биологических параметров рыб и

сравнение характера этой взаимосвязи в разных популяциях.

В значительном числе случаев выявлены различия по локусам *Odh* и *Seel* между самцами и самками. Для анализа использованы выборки не менее 20 особей (21-261) из популяций, полиморфных по этим локусам. Значимые различия по частотам генотипов между самцами и самками одинаковых размерно-возрастных групп обнаружены по *Seel* в 9 выборках из 18, по *Odh* - в 2 выборках из 5, очевидно, это явление довольно распространено в природных популяциях ротана. Аналогичные результаты получены и при изучении других видов животных, в том числе рыб. Следует отметить, что межполовые различия по частоте <sup>M</sup>генотипов могут возникнуть только в результате отбора, различно действующего на самцов и самок либо в данном поколении, либо (при сцеплении исследуемых признаков с полом) в предыдущих (Лд, 1963).

В ряде выборок обнаружена также зависимость аллозимных частот от темпа роста, возраста и некоторых морфологических признаков (тип окраски, соотношение длин челюстей). При изучении многих биологических параметров в выборках большого объема обычно обнаруживалась значимая зависимость частот аллозимов сразу от нескольких параметров. Это наблюдалось, в частности, при исследовании выборки из популяции 24. В ней обнаружены значимые межполовые различия по аллельным частотам локуса *Seel*. На этом же материале были выявлены по типу окраски две формы - "темная" и "светлая", видимо, различающиеся по образу жизни и некоторым морфологическим признакам (Блобенко, 1980а). Оказалось, что различия по локусу *Seel* возникают исключительно за счет особей "темной" формы, в то время как "светлые" самцы и самки практически не различаются (табл. I). В этой же выборке выявлена сложная зависимость аллельных частот того же локуса от размерного состава групп, причем они варьируют сходным образом у самцов и

Таблица I

Частота аллеля *Seel*<sup>M</sup> у самцов и самок двух форм ротана в популяции 24 (Мелькисарово, Московская область).

формы пола	"светлая"	"темная"	В сумме
самки	0,53 (16)*	0,72 (43)	0,67 (59)
самцы	0,55 (28)	0,48 (53)	0,52 (81)

\* В скобках число исследованных особей

самок одинаковых размерных групп, но на разных уровнях. Это свидетельствует о связи локуса *Seel* (или тесно сцепленных с ним локусов) с факторами, определяющими темп роста у ротана, что согласуется с экспериментальными данными. Аналогичный результат по взаимосвязи аллозимных частот, пола, типа окраски и размера получен для выборки из популяции 19 (Московская область) по локусу *Odh*. При этом межполовые различия по частотам аллозимов наблюдались только у особей "светлой" формы. Трудно допустить, что обнаруженная значимая зависимость частот аллозимов одновременно от нескольких биологических параметров особей является результатом случайного события или сцепления локусов *Seel* и *Odh* с наследственными факторами, определяющими эти параметры. По-видимому в данном случае изменчивость по *Seel* и *Odh* не является нейтральной при формировании внутрипопуляционной структуры, т.к. аллели этих локусов оказываются частотными маркерами различных внутрипопуляционных группировок.

Поскольку в эксперименте у сеголеток ротана были выявлены различия между самцами и самками по характеру корреляции с гетерозиготностью, сделана попытка аналогичного исследования выборок из природных популяций. Для анализа использовали сеголеток ротана в выборках, где их численность была не менее 40 осе-

бей. Самцы и самки из каждой популяции были разделены по длине на две равные по численности группы (условно "мелкие" и "крупные"), которые сравнивались по доле гетерозигот по локусу *Bed* (табл.2). Полученные данные в основном согласуются с экспериментальными.

Таблица 2.

Доля гетерозигот по локусу *Bed* у сеголеток разных размерных групп из трех природных популяций ротана

Популяция (№, район)	Пол	Число особей	% гетерозигот		
			"мелкие"	"крупные"	в сумме
4 (Приморский край)	♀	49	33,3	32,0	32,7
	♂	33	5,9	62,5	33,3
17 (Ленинградская область)	♀	15	100,0	87,5	93,3
	♂	25	45,5	85,5	68,0
24 (Московская область)	♀	47	50,0	30,4	40,4
	♂	68	68,8	61,1	64,7

СРАВНЕНИЕ ИЗМЕНЧИВОСТИ ОКТАНОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ И СУПЕРОКСИД-ДИСМУТАЗЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ РОТАНА В ИСХОДНОМ АРЕАЛЕ И РАЙОНАХ ИНТРОДУКЦИИ

Состав и частоты аллелей. В большинстве дальневосточных популяций изменчивости по локусу *Odh* не обнаружено. Лишь в трех популяциях выявлен второй аллель (*Odh<sup>B</sup>*), но его частота не превышала 0,05, т.е. практически этот локус можно считать мономорфным в исследованных популяциях из исходного ареала. Отсутствует изменчивость по *Odh* и в ленинградской популяции. Напротив, в Московской области в 6 популяциях выявлен значительный полиморфизм, причем все они расположены в Одинцовском районе, неподалеку от места первого вселения (популяции 18-23).

В дальневосточных популяциях встречается все 3 выявляемых у ротана аллелей по локусу *Bed* (табл.3), но в отдельных попу-

Таблица 3  
Частоты аллелей локусов *Odh* и *Bed*, средняя гетерозиготность (H) и число аллелей с частотой более 0,05 (n<sub>g</sub>) в популяциях ротана в исходном ареале и районах интродукции.

Район, популяция	Локус <i>Odh</i>		Локус <i>Bed</i>						H	n <sub>g</sub>			
	<i>Odh<sup>A</sup></i>	<i>Odh<sup>B</sup></i>	<i>Bed<sup>A</sup></i>	<i>Bed<sup>B</sup></i>	<i>Bed<sup>C</sup></i>	<i>Bed<sup>D</sup></i>	<i>Bed<sup>E</sup></i>	<i>Bed<sup>F</sup></i>					
ДАЛЬНИЙ ВОСТОК													
	г. Приморья	1	23	0,98	0,02	29	-	0,52	0,48	-	-	0,23	3
	2	21	0,95	0,05	22	-	0,02	0,32	0,32	-	-	0,18	3
ос. Ханга	3	20	0,95	0,05	25	-	0,02	0,16	0,16	-	-	0,25	3
	4	65	0,97	0,03	26,2	-	0,02	0,11	0,09	-	-	0,21	4
	5	16	1,00	-	17	-	0,06	0,03	0,12	-	-	0,16	4
р. Киз	6	28	1,00	-	37	-	0,05	0,05	-	-	-	0,05	3
	7	12	1,00	-	23	-	0,04	0,04	-	-	-	0,04	2
	8	5	1,00	-	9	-	0,07	0,07	-	-	-	0,07	2
	9	30	1,00	-	82	-	0,07	0,07	-	-	-	0,07	3
	10	17	1,00	-	37	0,03	0,07	0,07	-	-	-	0,09	3
	11	43	1,00	-	65	-	0,04	0,03	0,03	-	-	0,07	3
	12	4	1,00	-	6	-	0,02	0,02	0,08	-	-	0,08	3
р. Сета	13	12	1,00	-	32	-	0,02	0,02	0,09	-	-	0,11	3
	14	30	1,00	-	46	-	0,04	0,33	-	-	-	0,26	3
г. Хабаровск	15	9	1,00	-	34	-	0,06	0,28	-	-	-	0,29	4
	16	24	1,00	-	24	-	0,10	0,25	-	-	-	0,27	4



Таблица 3 (продолжение)

Район, популяция	Локус Odh		Локус Sed		Локус Sed <sup>D</sup> Sed <sup>F</sup> Sed <sup>G</sup> Sed <sup>H</sup>						H <sub>a</sub> <sup>a</sup> 0,05			
	№	и Odh <sup>F</sup> Odh <sup>S</sup>	№	и Sed <sup>A</sup> Sed <sup>B</sup>	Sed <sup>C</sup>	Sed <sup>D</sup>	Sed <sup>F</sup>	Sed <sup>G</sup>	Sed <sup>H</sup>					
ЕВРОПЕЙСКАЯ ЧАСТЬ СССР														
Ленинградская область	17	57	1.00	-	60	-	-	0.38	0.62	-	-	0.32	3	
Московская область	16	352	0.85	0.15	100	-	0.21	-	0.78	0.01	-	-	0.31	4
	19	479	.58	.42	262	-	.20	-	.44	.25	-	0.09	.60	6
	20	56	.58	.42	57	-	.20	-	.38	.34	-	.08	.63	6
	21	21	.93	.07	25	-	.20	-	.36	.32	-	.12	.39	6
	22	11	.77	.23	62	-	.22	-	.20	.58	-	-	.51	5
	23	45	.76	.24	44	-	.11	-	.44	.40	-	.05	.52	5
	24	250	1.00	-	203	-	.34	-	.07	.58	-	-	.28	4
	25	6	1.00	-	6	-	.25	-	.25	.50	-	-	.42	4
	26	82	1.00	-	79	-	-	-	.55	.45	-	-	.26	3
	27	4	1.00	-	4	-	.25	-	.63	.12	-	-	.25	4

\* Приведены значения наблюдаемой гетерозиготности. Во всех выборках, за исключением выборки из популяции 17, наблюдаемая и ожидаемая по формуле Харди-Вайнберга гетерозиготности значимо не различались. В популяции 17 обнаружен значительный избыток гетерозигот.

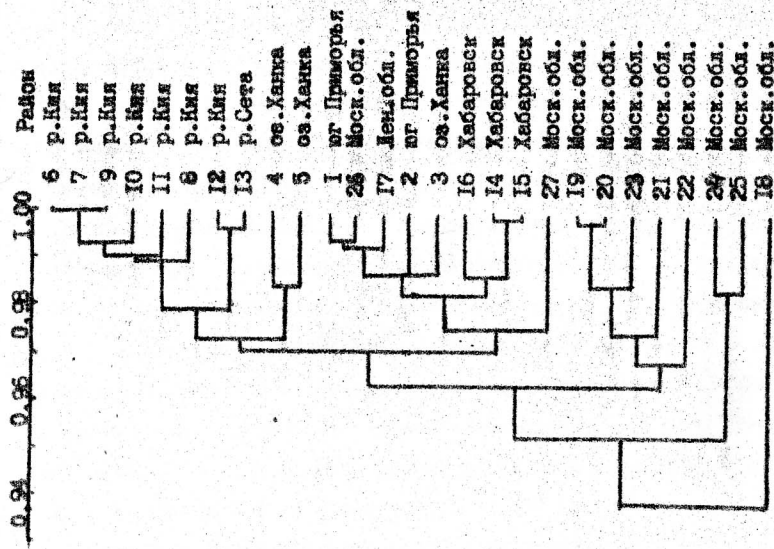
лящих присутствуют не более четырех (данные по аллелям Sed<sup>D</sup> и Sed<sup>B</sup> объединены из-за сложности выявления гетерозигот Sed<sup>D</sup>Sed<sup>B</sup>, последний аллель встречается очень редко). Каждый из пяти районов довольно хорошо отличается от остальных по набору и соотношению частот аллелей (исключение составляет значительное сходство между популяциями районов р.Кия и р.Сета), но во всех популяциях преобладает аллель Sed<sup>D</sup>, причем его частота везде выше 0,5. Кроме него, с высокой частотой встречается только аллель Sed<sup>F</sup>, частота остальных не превышает 0,12, а аллели Sed<sup>B</sup> и Sed<sup>H</sup> обнаружены только в одной выборке с частотой менее 0,05.

Несколько иная картина наблюдается в европейских популяциях. В большинстве из них частота Sed<sup>D</sup> ниже 0,5, причем в ленинградской и трех подмосковных популяциях преобладающим стал другой аллель (Sed<sup>F</sup>) (табл.3). Всего здесь выявлено 4 аллеля, причем их частота во всех случаях, кроме одного, выше 0,05. В восьми подмосковных популяциях с частотой 0,11-0,34 встречается аллель Sed<sup>B</sup>, в четырех - с частотой 0,05-0,12 - аллель Sed<sup>H</sup>, что значительно выше, чем в исходном ареале. Число аллелей с частотой более 0,05 на популяцию в среднем значительно выше, а частоты аллелей более выровнены в европейских популяциях по сравнению с дальневосточными. С учетом аллелей, частота которых выше 0,05, на Дальнем Востоке на популяцию приходится от 2 до 4 аллелей по обоим локусам, в большинстве выборок 3; в европейских популяциях - от 3 до 6 аллелей, в большинстве выборок 4-6 (табл.3). Средняя наблюдаемая гетерозиготность по обоим локусам варьирует в исходном ареале от 0 до 29%, в Ленинградской области составляет 32%, в Московской - от 25% до 63%, т.е. заметно выросла в результате обмена интродукций. В частности, в Ленинградской и Московской областях гетерозиготность в популяциях ротана выше, чем в районах, из которых, как полагают,

произошли интродуцированные особи. Следует отметить, что популяция I7 около Ленинграда (самая северная из исследованных) единственная, в которой наблюдается значимое отклонение частот генотипов от ожидаемого, причем за счет избытка гетерозигот.

Генетическое сходство между популяциями ротана. Сходство между популяциями по локусам *Oad1* и *Bed* определяли, используя показатель Животовского  $\bar{r} = \frac{\sum_{i=1}^n p_i q_i}{a}$ , где  $p_i$  и  $q_i$  - частоты одного и того же аллеля в каждом локусе в сравниваемых популяциях, а  $a$  - число локусов (Животовский, 1979, 1982). На основании полученных оценок односвязным методом построена дендрограмма (рис. 2) Картина генетического сходства по двум ферментным локусам в целом соответствует данным о географической близости популяций.

Рис. 2. Сходство между популяциями ротана (№№ I-27), определенное при их сравнении по частотам аллелей локусов *Oad1* и *Bed* при помощи показателя Животовского.



Так при  $\bar{r} > 0,985$  объединяются популяции 6-11 из бассейна р.Кля, 1 и 2 с юга Приморья, 14-16 из района Хабаровска, 19 и 20 с запада и 24 и 25 с севера Московской области. В ряде случаев наблюдается корреляция между  $\bar{r}$  и расстоянием между популяциями из одного района: популяции 4 и 5, расположенные в 1,5км друг от друга, более сходны между собой, чем с популяцией 3, находящейся в 50км от них; популяции 14 и 15 из окрестностей Хабаровска более сходны и более близки между собой, чем с популяцией 16; аналогичная ситуация наблюдается для подмосковных популяций 19 и 20, с одной стороны, и 18 и 21, с другой.

Межпопуляционное разнообразие в исходном ареале значительно ниже, чем в районах интродукции: при  $\bar{r}$  больше 0,985 в один кластер объединяются 14 из 16 дальневосточных популяций и только 2 из 10 подмосковных. Все дальневосточные популяции при  $\bar{r} = 0,971$  объединяются в один кластер, однако, такого объединения не наблюдается даже для популяций из окрестностей с.Андреевское (18-21), хотя их разделяет не более нескольких километров, они образуют кластер только при  $\bar{r} = 0,939$ .

Популяции Московской области можно разделить на две группы. Популяции 18-23 находятся в Одинцовском районе недалеко от места первичной интродукции ротана в Подмоскowie (с.Андреевское). В этом районе наблюдается наибольшее аллельное разнообразие и наиболее высокие значения гетерозиготности на всем исследованном ареале ротана (табл.3). Популяции 24-27 возникли при расселении ротана в Московской области, возможно, однако, не от андреевских. Эти популяции менее изменчивы и меньше отличаются от дальневосточных, чем андреевские. Таким образом, популяции из района первичной интродукции генетически наиболее изменчивы и своеобразны.

## О Б С У Ж Д Е Н И Е

Сравнение данных, полученных на ротане и других интродуцированных видах. В большинстве исследований влияния интродукции на популяционно-генетическую изменчивость возникают сложности с интерпретацией результатов, в основном, из-за недостатка данных о популяциях исходного ареала, об истории интродукций и расселения. Важно знать источник и время интродукции, число основателей, скорость увеличения численности новообразованных популяций, уровень миграций между ними и ряд других параметров. История интродукций ротана относительно хорошо изучена, существенно, что число основателей при вселении ротана в Московскую область было минимально — две особи, что должно, по представлению ряда авторов, способствовать значительной редукции генетической изменчивости и "U"-образному распределению аллельных частот внутри локусов в новообразованных популяциях (Maui, 1954; Nei et al., 1975; Fuergat, 1980). У ротана и большинства других видов, у которых сравнивалась генетическая изменчивость до и после интродукции, не наблюдается, однако, существенного снижения изменчивости. По отдельным локусам (в ряде случаев по большинству) она даже возрастает в новообразованных популяциях, в частности у *Stizostedion lucioperca*, *Cyprinus carpio* (Мисюнене, Вирбидкас, 1983; Тиглар, 1984). Следует отметить, что у этих видов, как и у ротана, повышение гетерозиготности наблюдается через небольшое число поколений после интродукции. Распределение частот аллелей также не соответствует теоретическим предсказаниям, сделанным при допущении преобладающей роли генетического дрейфа: как правило, теряются только немногие редкие аллели, а частоты остальных выравниваются. При рассмотрении литературных данных по интродукции других видов удалось обнаружить сообщения о ряде явлений, наблюдавшихся и у ротана: о смене частоты основного

аллеля по некоторым локусам, о более высокой изменчивости в районах первичной интродукции по сравнению с заселенными позднее, о большем межпопуляционном разнообразии в приобретенном ареале по сравнению с исходным, о внутривидовой гетерогенности по белковым локусам, включая различия в частотах аллозимов у самцов и самок и у особей разных возрастов.

Все это свидетельствует в пользу того, что результаты, полученные на ротане в значительной мере отражают закономерности влияния интродукции на популяционно-генетическую изменчивость и у других видов.

Влияние элементарных эволюционных факторов на генетическую изменчивость популяций, возникших в результате недавней интродукции. В "Кратком очерке по теории эволюции" Н.В.Тимофеева-Ресовского, Н.Н.Воронцова и А.В.Яблокова (1969, 1977) выделено 4 таких фактора: мутационный процесс, популяционные волны, изоляция и естественный отбор. Полученные на ротане данные, вкуче с литературными, позволяют предположить, что мутационный процесс не оказывает значительного влияния на генетическую изменчивость новообразованных популяций. Ни у ротана, ни у других видов не выявлено большого числа редких или отсутствующих в исходном ареале аллелей, что могло бы наблюдаться, например, при значительном увеличении темпа мутирования после интродукции. Тем не менее, вполне возможно, что некоторые аллели в новообразованных популяциях возникли в результате мутаций в первые поколения после вселения. У ротана в подмосковных популяциях с довольно высокой частотой встречаются аллели  $O_{dH}^B$  и  $S_{eH}^H$ , очень редкие в исходном ареале, вероятность их переноса с особями-основателями довольно мала.

Колебания численности популяций могут приводить к генетическому дрейфу — случайным изменениям аллельных частот. Резуль-

таты, полученные на ротане и некоторых других видах свидетельствуют о наличии факторов, противодействующих влиянию генетического дрейфа, так как изменчивость в новых популяциях, как правило не уменьшается, а иногда возрастает, даже при малом числе основателей. Более заметно влияние дрейфа у ротана проявилось, видимо, в ходе расселения в Подмоскowie: популяции, удаленные от места первичной интродукции в Одинцовском районе, потеряли аллели  $Och^S$  и  $Wed^H$ , встречающиеся в последнем с высокой частотой. Это могло произойти из-за многократного переноса небольшого числа особей из водоема в водоем (эффект основателя).

С большой долей уверенности можно предположить, что ротан в Ленинградскую и Московскую области был завезен только единожды в каждом случае; географическая изоляция между популяциями ротана этих районов интродукции пока также не нарушалась. Для ряда других интродуцированных видов более вероятно повторные заселения в одни и те же районы, что могло сильно повлиять на изменчивость новообразованных популяций. Есть основания полагать, что степень изоляции между популяциями ротана внутри отдельных районов на Дальнем Востоке была ниже, чем в Московской области, (в последнем случае значительно большую роль в переносе особей из одной популяции в другую играет человек). Этим, вероятно, отчасти объясняется более высокий уровень межпопуляционных различий в Подмоскowie. Данные о примерном соответствии межпопуляционного сходства по двум локусам с территориальной близостью популяций также свидетельствуют о значительном влиянии географической изоляции на исследуемую изменчивость. Пока нет оснований говорить о возникновении репродуктивной изоляции между ротаном из исходного и приобретенного ареалов.

Естественный отбор, как фактор поддержания изменчивости после интродукции малого числа основателей, не рассматривался

в основных работах по эффектам основателя и бутылочного горлышка. Результаты, полученные при изучении экспериментальных и природных популяций ротана, свидетельствуют о действии разных форм уравновешивающего отбора на изменчивость по исследуемым локусам. Неоднократно были обнаружены значимые различия по частотам аллелей и генотипов между группами особей, различающимися по полу, возрасту, темпу роста, выживаемости и морфологическим особенностям, все они могут способствовать сохранению полиморфизма. Значительное число аналогичных случаев известно и для других видов животных, в частности рыб. Например, межполовые различия по частотам генотипов различных белковых локусов выявлены у трески, мерлузы, фундуляса, нерки, ставриды (Frydenberg, 1969; Utter et al., 1970; Mitton, Koehn, 1975; Алтухов, Варнаевская, 1983; Коваль, 1984). Важную роль в поддержании изменчивости играет, видимо, преимущество гетерозигот. В ряде случаев показано увеличение избытка гетерозигот в нестабильных популяциях, при инбридинге, снижении численности (Грант, 1980). Избыток или преимущество гетерозигот по некоторым биологическим показателям были выявлены и в новообразованных популяциях, когда изучались первые поколения после интродукции, в частности у рыб (Лось, 1974; Мисонене, Вирбицкас, 1983), причем в исходных популяциях эти эффекты отсутствовали. У ротана избыток гетерозигот был обнаружен в опыте и у сеголеток популяции под Ленинградом (самый северный район распространения ротана).

Можно предположить следующую схему действия разных эволюционных факторов при интродукции. В результате вселения малого числа особей в новые местообитания происходит более или менее сильное снижение аллельного разнообразия из-за эффекта основателя. Это вызывает усиление действия разных форм уравновешивающего отбора уже в первые поколения после интродукции (в первую

очередь, видимо, преимущество гетерозигот в плодовитости и выживаемости), происходит некоторое выравнивание частот сохранившихся аллелей. Сохранению изменчивости способствует и часто наблюдаемый быстрый рост численности новообразованных популяций. Из-за ослабления стабилизирующего отбора повышается вероятность закрепления редких аллелей и вновь возникших мутаций в генофонде популяции. Благодаря действию уравнивающего отбора значительно увеличивается частота некоторых из них, возрастает гетерозиготность, которая может превзойти таковую в исходном ареале. Нередко происходит интенсивное расселение интродуцированного вида в доступные ему местообитания. Если расселение идет за счет небольшого числа основателей, возможна дополнительная утрата аллельного разнообразия, как это, видимо, произошло у ротана при расселении в Московской области. При этом, быстрого пополнения генофонда значительным числом новых мутаций не происходит. Изоляция и приспособление к конкретным условиям обитания усиливают межпопуляционные генетические различия. Степень этих различий и уровень внутрипопуляционной изменчивости варьирует на разных этапах после интродукции.

#### В В О Д И

1. В значительном числе случаев выявлена значимая зависимость частот аллелей и генотипов исследованных белковых локусов ротана ( $Odh$ ,  $Bed$ ,  $Ma$  и  $MaH-2$ ) от пола, возраста, темпа роста и некоторых морфологических признаков особей в выделяемых внутрипопуляционных группах. Как правило, параметр белковой изменчивости зависел одновременно от нескольких биологических показателей.

2. Наиболее часто различия по частотам аллелей наблюдались между самцами и самками. В природных популяциях и в эксперименте выявлены также межполовые различия по характеру связи гетерозиготности по локусам  $Odh$  и  $Bed$  с выживаемостью и темпом роста рыб

3. Обнаружена специфичность разных популяций ротана по отдельным компонентам внутрипопуляционной структуры. Значительные различия наблюдались даже между близкорасположенными популяциями.

4. Выявлены следующие изменения состава и частот аллелей в популяциях приобретенного ареала по сравнению с исходным:

а) суммарное число аллелей по локусу  $Odh$  равно, а по локусу  $Bed$  вдвое выше в исходном ареале, однако, среднее число аллелей на популяцию выше в районах расселения;

б) частота наиболее распространенных в дальневосточных популяциях аллелей  $Odh^F$  и  $Bed^D$  снизилась после интродукции, в ряде европейских популяций произошла смена основного аллеля по локусу  $Bed$  и значительно увеличились частоты аллелей  $Odh^B$ ,  $Bed^B$  и  $Bed^H$ , редких в исходном ареале;

в) частоты аллелей внутри популяций из районов расселения в среднем более выровнены, чем в дальневосточных популяциях.

5. В популяциях ротана в Московской области в среднем значительно увеличилась гетерозиготность и по локусу  $Bed$  и по локусу  $Odh$  (последний был практически мономорфен на Дальнем Востоке). Наибольший уровень аллозимной изменчивости наблюдался здесь в районе первичной интродукции. В популяции из Ленинградской области увеличилась гетерозиготность по локусу  $Bed$ , в основном за счет избытка доли гетерозигот по сравнению с ожидаемой.

6. Уровень межпопуляционного разнообразия по локусам  $Odh$  и  $Bed$  значительно выше в приобретенном ареале. Наибольшее значение этого параметра наблюдается в районе первичной интродукции в Московской области (Одинцовский район), различия между популяциями в этом небольшом районе выше, чем на всем исследованном исходном ареале.

7. Степень межпопуляционного генетического сходства в основном согласуется с территориальной близостью популяций и имеющимися данными о их родстве.

8. В результате интродукции ротана с Дальнего Востока в Европейскую часть СССР не произошло ожидаемой на основании гипотез эффекта основателя и бутылочного горлышка редукции популяционно-генетической изменчивости по исследованным локусам.

9. Механизмом поддержания и увеличения генетической изменчивости при интродукции служит, видимо, естественный отбор по исследованным локусам (или тесно сцепленным с ними). В новообразованных популяциях, вероятно, возрастает преимущество гетерозигот, усиливается дифференциальный отбор среди особей разного пола, а, возможно, и другие формы уравновешивающего отбора.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Ильин И.И. Изучение биохимического полиморфизма в природных популяциях ротана *Percettus glanis* Dyb. Сообщение I. Изомимные спектры октанодегидрогеназы, малатдегидрогеназы и маликэнзима ротана из трех подмосковных популяций. - Генетика, 1982, т. 18, № 9, с. 1537-1540.

2. Ильин И.И. Изучение биохимического полиморфизма в природных популяциях ротана *Percettus glanis* Dyb. Сообщение 2. Возрастная изменчивость и половые различия генотипических и аллельных частот локусов октанодегидрогеназы, малатдегидрогеназы и маликэнзима у ротана из трех популяций Московской области. - Генетика, 1982, т. 18, № 10, с. 1645-1652.

3. Голубцов А.С., Ильин И.И. Сравнение изменчивости двух белковых локусов ротана *Percettus glanis* в естественном ареале и районах интродукции. - В кн.: Микроэволюция. Сб. тез. I Всесоюз. конф. по проблемам эволюции. М., 1984, с. 36-37.

4. Ильин И.И., Голубцов А.С. Зависимость частот аллозимов от пола, возраста, размера и морфологических особенностей в популяциях ротана. - Там же, с. 41-42.

5. Голубцов А.С., Ильин И.И. Структура внутривидовой генетической изменчивости у ротана (*Eleotridae, Pisces*): различия между самцами и самками по частотам генотипов двух ферментных локусов. - В кн.: Генетика популяций. Материалы III Всесоюз. совещ. Саратов, 1985, с. 149-150.

6. Ильин И.И., Голубцов А.С. Аллоферментная изменчивость у дальневосточного ротана при интродукции в Европейскую часть

СССР. - Там же, с. 153-154.

7. Ильин И.И., Голубцов А.С. Электрофоретический анализ изоферментов супероксиддисмутазы и октанодегидрогеназы в скрещиваниях ротана *Percettus glanis* Dyb. Сообщение I. Наследование электроморф и зависимость выживаемости от генотипов особей. - Генетика, 1985, т. 21, № 9, 1542-1547.

8. Голубцов А.С., Ильин И.И. Электрофоретический анализ изоферментов супероксиддисмутазы и октанодегидрогеназы в скрещиваниях ротана *Percettus glanis* Dyb. Сообщение 2. Связь темпа роста с гетерозиготностью. - Генетика, т. 21, № 9, с. 1548-1556.

9. Ильин И.И., Голубцов А.С. Связь выживаемости, темпа роста и гетерозиготности по двум ферментным локусам у ротана. - Тез. докл. VI Всесоюзной конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Вильнюс, 1985, с. 83-84.

10. Ильин И.И., Голубцов А.С. Связь гетерозиготности по локусу *Wed* с темпом роста у ротана в экспериментальных группах и в природных популяциях. - Тез. докл. III Всесоюз. совещ. по генетике, селекции и гибридизации рыб. М., 1986, с. 85-86.