

На правах рукописи

РЯЗАНОВА
Ирина Николаевна

ЭВОЛЮЦИЯ КЕРЧАКОВ (*MYOXOCERPHALUS* И *MEGALOCOTTUS*)
ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ НА ОСНОВАНИИ
КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ

03.00.10 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Владивосток – 2008

Работа выполнена в Институте биологии моря им. А.В. Жирмунского
Дальневосточное отделение Российской Академии наук

Научный руководитель	доктор биологических наук, старший научный сотрудник Фролов Сергей Владимирович
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук, старший научный сотрудник Картавцев Юрий Федорович
	кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Вдовин Александр Николаевич
Ведущая организация	Зоологический институт РАН

Защита состоится "26" декабря 2008 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 005.008.02 при Институте биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН по адресу: 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17. Телефон: (4232) 310-905, факс: (4232) 310-900, e-mail: inmarbio@mail.primorye.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН.

Автореферат разослан " " ноября 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Костина Е.Е.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Семейство керчаковых (Cottidae) – многочисленная и сложная по составу группа рыб. Центральное положение в семействе принадлежит большой группе бычков–керчаков подсем. *Муохосерphalinae*, к которому относятся рода *Муохосерphalus* и *Megalocottus*. Первый род объединяет двенадцать широко распространенных в северных морях видов, три из них обитают в северной Атлантике, а девять в морях Дальнего Востока России: пять видов рода известны из Японского моря и девять видов (два эндемичных) из Охотского моря (Федоров и др., 2003; Соколовский и др., 2007). Второй род представлен одним видом – дальневосточная широколобка *Megalocottus platycephalus*. В нем выделяют два подвида: северная дальневосточная широколобка *M. platycephalus platycephalus* и южная дальневосточная широколобка *M. platycephalus taeniopterus*, которые широко распространены в прибрежных водах окраинных морей северо-западной части Тихого океана (Федоров и др., 2003; Соколовский и др., 2007). Центром видообразования данных групп рыб, согласно гипотезе Шмидта (1950), является северная часть Охотского моря.

Морфологические особенности видов рода *Муохосерphalus* достаточно хорошо изучены. Однако значительная вариабельность их морфологических признаков часто затрудняет определение видовой принадлежности особей. Следствием этого является отсутствие единого мнения о количестве и систематическом положении ряда видов рода *Муохосерphalus* в дальневосточных морях России.

Кариологически виды рода изучены крайне слабо. Имеются данные о кариотипе одного из атлантических видов европейского керчака *M. scorpius* (Васильев, 1985) и наши данные о кариотипах дальневосточного керчака *M. stelleri*, снежного керчака *M. brandtii* и керчака яок *M. jaok* из Японского моря (Миллер-Рязанова, 2000; Рязанова, 2005, 2007), охотского керчака *M. ochotensis* и дальневосточного керчака *M. stelleri* из Охотского моря (Рязанова и др., 2008; Рязанова, Фролов, 2009). Эти результаты показали, что данные о кариотипах позволяют не только надежно дифференцировать исследованные виды, но и делать

заклучения о степени дивергенции и направлениях эволюции кариотипов исследованных видов.

Цель и задачи исследования работы. Целью работы являлось: на основании сравнительного анализа кариотипов видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* из Японского и Охотского морей разработать предполагаемую схему эволюции их кариотипов в данном регионе. Для осуществления данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать с помощью рутинного окрашивания кариотипы представителей родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* из Японского и Охотского морей и выявить в них маркерные хромосомы
2. Выявить маркерные хромосомы в кариотипах представителей родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* из Японского и Охотского морей с помощью Ag – NOR окрашивания
3. Провести сравнительный анализ кариотипов видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* для уточнения их родственных отношений
4. Разработать схему эволюции кариотипов исследованных видов.

Научная новизна работы. Ранее кариологические исследования дальневосточных видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus*, за исключением наших работ (Миллер-Рязанова, 2000; Рязанова, 2005, 2007; Рязанова и др., 2008; Рязанова, Фролов, 2009), не проводились. Нами впервые исследованы кариотипы дальневосточного керчака *Myoxocephalus stelleri*, керчака яок *M. jaok*, снежного керчака *M. brandtii*, многоиглого керчака *M. polyacanthocephalus*, охотского керчака *M. ochotensis* и дальневосточной широколобки *Megalocottus platycephalus* из Японского и Охотского морей.

Впервые с помощью Ag – NOR окрашивания хромосом исследованы кариотипы *Myoxocephalus stelleri*, *M. brandtii*, *M. jaok*, *M. ochotensis*, *Megalocottus platycephalus* из Японского и Охотского морей.

Полученные результаты показали, что кариотипы исследованных видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* имеют ряд общих маркерных признаков, указывающих на их близкое родство.

Анализ кариотипов показал разную степень дивергенции кариотипов *M. stelleri* из Японского и Охотского морей, что указывает на необходимость уточнения их видового статуса.

Разная степень дивергенции кариотипов исследованных видов позволяет сделать заключение о разной степени продвинутости или примитивности исследованных видов керчаков. На основании этого предложена схема эволюции их кариотипов.

Теоретическое и практическое значение работы. Кариотип является хорошим дифференцирующим признаком, позволяющим часто надежно различать близкородственные виды, и может использоваться как эффективный дополнительный маркер при решении таксономических задач в ихтиологии. На основании характеристик кариотипов исследованных видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей составлена таблица для их определения. Представляется, что полученные нами с помощью методов сравнительной кариологии результаты уточнят существующую схему вероятных филогенетических отношений родов и видов трибы *Myoxocephalini*. Комплексный анализ кариологических и морфологических данных позволит составить современное представление о последовательности дивергенции, направлениях и темпах эволюции видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus*, уточнить их родственные отношения.

Результаты работы могут быть использованы в курсе лекций по теории эволюции для студентов ВУЗов биологических специальностей.

Вклад автора. Личное участие заключается в планировании сбора материалов в трех экспедициях 2006, 2007, 2008 г.г. в зал. Одян Охотского моря. Осуществляла самостоятельно сбор материала, приготовление препаратов, микроскопические исследования, интерпретацию полученных данных и формулирование научных выводов. Все заимствованные данные, использованные в работе, имеют ссылки на их источники.

Апробация работы. Материалы работы были представлены на конференции молодых ученых «Биомониторинг и рациональное использование морских и пресноводных гидробионтов» (Владивосток, 1999), на международном симпозиуме «Современные достижения в популяционной, эволюционной и экологической

генетике» (Владивосток, 2007), на VIII съезде Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова (Симферополь, 2007), на ежегодных конференциях ИБМ ДВО РАН (1999, 2000, 2001, 2006).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы (205 источников, из которых 116 на иностранном языке), проиллюстрирована 1 картой-схемой, 1 схемой, 15 таблицами, 10 рисунками. Общий объем работы 128 страниц.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю д.б.н. С.В. Фролову за критические замечания, помощь и постоянную поддержку в работе, чл.-кор. РАН И.А. Черешневу (ИБПС ДВО РАН, г. Магадан) за консультации и критические замечания в ходе работы над рукописью. Большое спасибо за консультации сотрудникам лаборатории ихтиологии ИБМ ДВО РАН к.б.н. А.А. Баланову, к.б.н. В.Е. Харину. Я также признательна сотрудникам лаборатории искусственного воспроизводства лососевых и аквакультуры во главе с Б.П. Сафроненковым (МагаданНИРО, г. Магадан) за помощь в сборе материала, к.б.н. М.Ю. Засыпкину (ИБПС ДВО РАН, г. Магадан) за техническую поддержку работы в полевой сезон.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Рассмотрены разные точки зрения на систематическое положение некоторых видов рода *Myoxocephalus* в Японском и Охотском морях. Приведена современная систематика и описано распространение видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus*. Рассмотрены биологические особенности видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей. Дан обзор родственных отношений и направлений эволюции дальневосточных видов рода *Myoxocephalus* на основании морфологических исследований. Освещена имеющаяся в палеонтологической литературе информация о нахождении ископаемых остатков Cottidae, в том числе и видов рода *Myoxocephalus*. Суммированы генетические и кариологические исследования видов рода *Myoxocephalus*.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

В основу работы положен материал, собранный автором в весенне-летний периоды 2000-2007 г.г., с апреля по август. Объектами исследования стали шесть видов керчаков родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* из Японского и Охотского морей. Рыб отлавливали удочкой, ставным неводом, сетью. Видовую принадлежность особей устанавливали по морфологическим признакам (Неелов, 1979). Проанализированный материал представлен в таблице 1.

Таблица 1. Объем исследованного материала

Вид	Исследовано					
	Самок	Самцов	Всего особей	Метафаз		
				Giemsa	Ag-NOR	Всего
<i>Myoxocephalus</i>	зал. Петра Великого (Японское море)					
<i>M. stelleri</i>	4	5	9	422	183	605
<i>M. brandtii</i>	6	7	13	207	94	301
<i>M. jaok</i>	5	2	7	211	-	211
	зал. Одян (Охотское море)					
<i>M. stelleri</i>	6	7	13	269	186	455
<i>M. ochotensis</i>	1	6	7	274	142	416
<i>M. jaok</i>	4	5	9	187	89	276
<i>M. polyacanthocephalus</i>	-	1	1	88	-	88
<i>Megalocottus</i>						
<i>M. platycephalus</i>	5	3	8	213	199	412
Всего	31	36	67	1 871	893	2764

2.2. Современные методы кариологического анализа

Рассмотрены методы исследования кариотипов рыб, основанные на использовании различных тканей. Обоснован выбор методики, примененной в работе.

2.3. Приготовление препаратов

Материалом для работы послужили хромосомные препараты, приготовленные по методу воздушного высушивания из суспензии клеток переднего отдела почки (Фролов, 1989) с небольшими модификациями (Рязанова, 2005).

2.4. Окрашивание хромосом

Для первичного анализа кариотипа хромосомы окрашивали 4% раствором азура-эозина по Романовскому (красителя Giemsa) в дистиллированной воде.

Для выявления ядрышкообразующих районов хромосом их окрашивали по методу Ag-NOR-окрашивания (Howell, Black, 1980).

2.5. Анализ препаратов и кариограмм

Хромосомные препараты просматривали, используя микроскоп «Nikon PLANKTON-TEAM». Лучшие метафазные пластинки фотографировали при помощи фотокамеры DFC 300 FX встроенной в микроскоп Leika DMP-4500.

Использовали общепринятую в кариологии рыб классификацию хромосом (Levan et al., 1964). Субмета-субтелоцентрические хромосомы (СМ-СТ), размеры коротких плеч которых не позволяют однозначно определить их морфологию как СМ или СТ, в описании NF обозначены +2.

Кариотипы всех исследованных видов были стабильны, изменчивости по числу хромосом у исследованных особей не обнаружено, различия между кариотипами самцов и самок не выявлены.

В сравнительном плане проанализирован кариотип европейского керчака *M. scorpius* из Белого моря (Васильев, 1985).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Кариотип дальневосточного керчака *Myoxocephalus stelleri* из залива

Петра Великого Японского моря

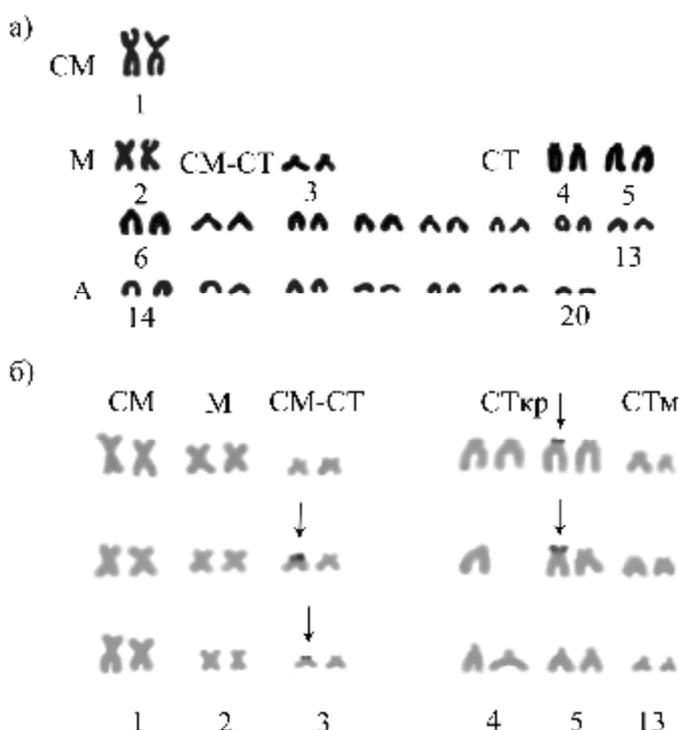


Рис. 1. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. stelleri* из зал. Петра Великого Японского моря. а: $2n = 40$, $NF = 44+2$, М – мета-, СМ – субмета-, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе; СТкр, СТм – соответственно крупные, мелкие субтелоцентрические хромосомы.

Кариотип *M. stelleri* из Японского моря состоит из 40 хромосом, число хромосомных плеч 44+2, включает в себя 2 М, 2 СМ, 2 СМ-СТ, и 34 СТ и А хромосомы (рис. 1 а). Пары М, СМ, СМ-СТ хромосом и первые две пары крупных СТ хромосом рассматриваются нами как маркерные в кариотипе *M. stelleri*. Третья пара крупных СТ хромосом – дополнительный маркер кариотипа данного вида. Ядрышкообразующие районы множественные, наиболее часто локализованны в коротких плечах крупных СТ хромосом, которые могут рассматриваться как двойные маркеры кариотипа япономорского *M. stelleri* (рис. 1 б).

3.2. Кариотип дальневосточного керчака *Myoxocephalus stelleri* из залива Одян Охотского моря

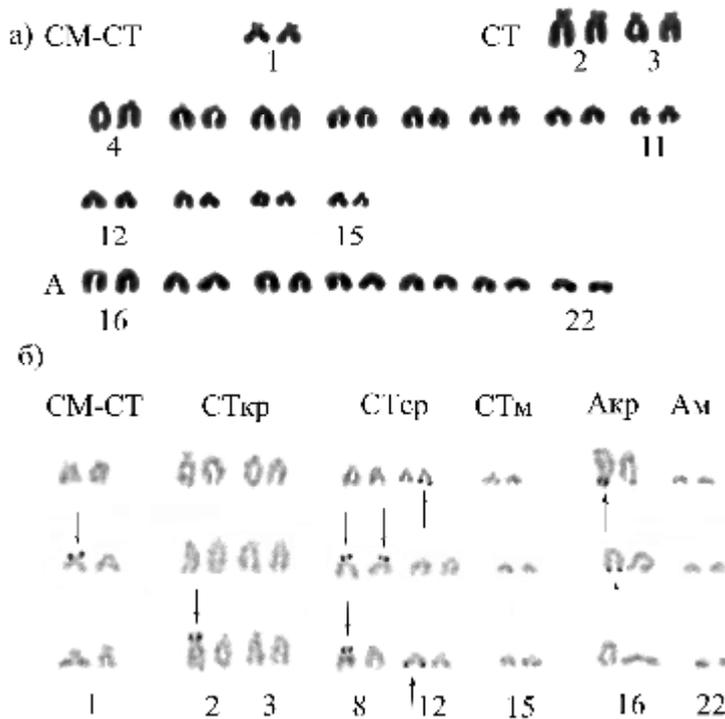


Рис. 2. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. stelleri* из зал. Одян Охотского моря. а: $2n = 44$, $NF = 44+2$, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе; индексы кр, ср, м – соответственно крупные, средние и мелкие хромосомы.

Кариотип охотоморского *M. stelleri* – $2n = 44$, $NF = 44+2$, и включает 2 СМ-СТ, 28 СТ и 14 А хромосом (рис. 2 а). СМ-СТ и две пары крупных СТ хромосом, рассматриваются нами как маркерные для его кариотипа. Дополнительный маркер кариотипа – третья пара крупных СТ хромосом. ЯОР множественные, наиболее часто локализованы в коротких плечах крупных и средних СТ хромосом, маркерных для его кариотипа (рис. 2 б).

3.3. Кариотип снежного керчака *Myoxocephalus brandtii*

Кариотип *M. brandtii* из зал. Петра Великого Японского моря – $2n = 44$, $NF = 46+2$, включает 2 М, 2 СМ-СТ, 18 СТ и 22 А хромосомы (рис. 3 а). Пары М, СМ–СТ хромосом и две пары крупных СТ хромосом являются маркерными для его кариотипа. Дополнительный маркерный признак – пара крупных А хромосом (рис. 3 а: № 12). ЯОР множественные, наиболее часто локализованы в теломерных районах средних А хромосом, являющихся маркерными для кариотипа *M. brandtii* (рис. 3 б).



Рис. 3. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. brandtii* из зал. Петра Великого Японского моря. а: $2n = 44$, $NF = 46+2$, М – мета-, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе.

3.4. Кариотип керчака – яок *Myoxocephalus jaok*

Кариотип *M. jaok* из зал. Петра Великого Японского моря – $2n = 24$, $NF = 44$ и включает 16 М, 4 СМ и 4 А хромосомы (рис. 4). Кариотипы *M. jaok* из Японского и Охотского морей идентичны (рис. 4, 5 а).

В кариотипе *M. jaok* из Охотского моря ЯОР одиночные, локализованы в теломерных районах длинных плеч одной – двух крупных СМ хромосом, которые могут считаться маркерными для его кариотипа (рис. 5 б).

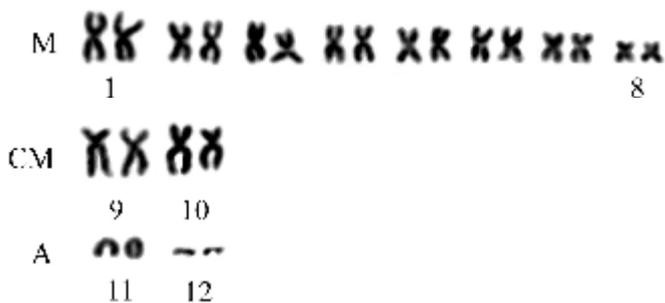


Рис. 4. Кариограмма *M. jaok* из зал. Петра Великого Японского моря. $2n = 24$, $NF = 44$, М – мета-, СМ – субмета-, А – акроцентрические хромосомы.



Рис. 5. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. jaok* из зал. Одын Охотского моря. а: $2n = 24$, $NF = 44$, М – мета-, СМ – субмета-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе, индексы кр, ср, м – соответственно крупные, средние и мелкие хромосомы.

3.5. Кариотип охотского керчака *Myoxocephalus ochotensis*

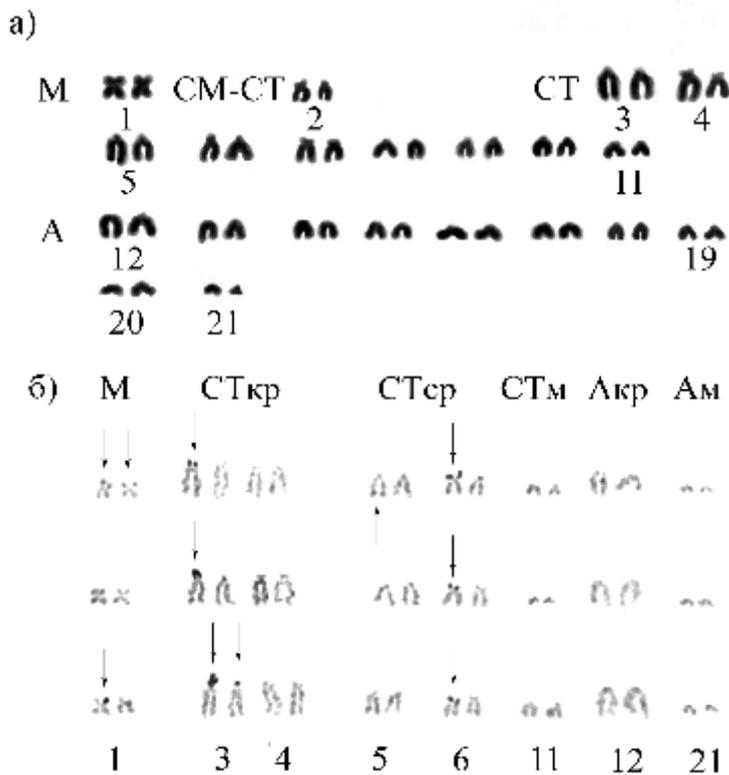


Рис. 6. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. ochotensis* из зал. Одын Охотского моря. а: $2n = 42$, $NF = 44+2$, М – мета-, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе; индексы кр, ср, м – соответственно крупные, средние и мелкие хромосомы.

Кариотип *M. ochotensis* из зал. Одын Охотского моря – $2n = 42$, $NF = 44+2$, включает 2 М, 2 СМ-СТ, 18 СТ и 20 А хромосом (рис. 6 а). М, СМ-СТ хромосомы и две пары крупных СТ хромосом рассматриваются нами как маркерные в его

кариотипе. ЯОР множественные наиболее часто окрашиваются в коротких плечах крупных СТ хромосом, которые рассматриваются нами как маркерные для его кариотипа (рис. 6 б).

3.6. Кариотип многоиглого керчака *Myoxocephalus polyacanthocephalus*

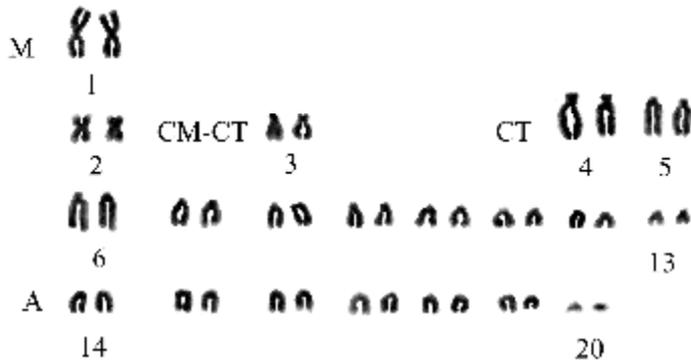


Рис. 7. Кариограмма *M. polyacanthocephalus* из зал. Одян Охотского моря. $2n = 42$, $NF = 44+2$, М – мета-, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы.

Кариотип *M. polyacanthocephalus* из зал. Одян Охотского моря – $2n = 40$, $NF = 44+2$, включает 4 М, 2 СМ-СТ и 34 СТ и А хромосомы (рис. 7). Пары крупных М, мелких М, СМ–СТ хромосом и две пары крупных СТ хромосом рассматриваются нами как маркерные для его кариотипа. Дополнительным маркером его кариотипа является третья пара крупных СТ хромосом.

3.7. Кариотип дальневосточной широколобki *Megalocottus platycephalus*

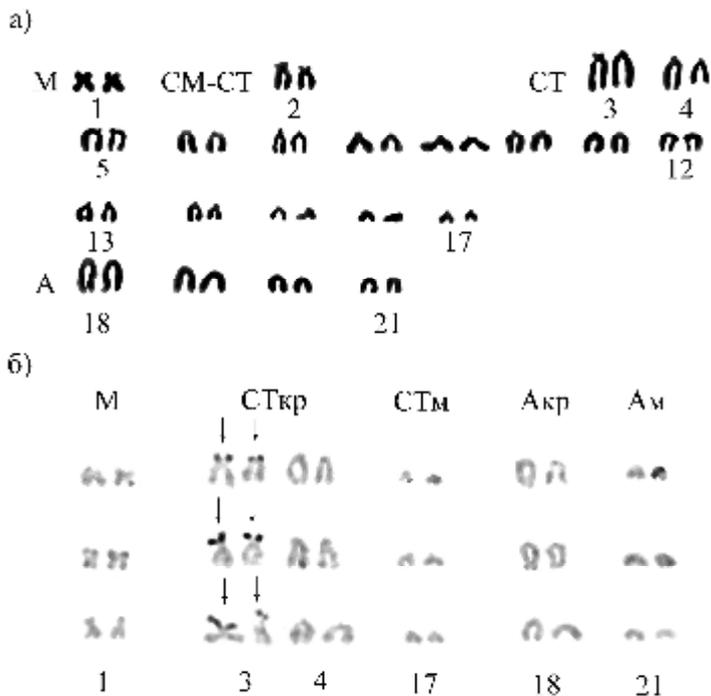


Рис. 8. Кариограмма (а) и фрагменты кариотипов (б) *M. platycephalus* из зал. Одян Охотского моря. а: $2n = 42$, $NF = 44+2$, М – мета-, СМ-СТ – субмета-субтело-, СТ – субтело-, А – акроцентрические хромосомы; б: ЯОР указаны стрелками; цифры – порядковые номера пар хромосом в кариотипе; индексы кр, м – соответственно крупные и мелкие хромосомы.

Кариотип *Megalocottus platycephalus* из зал. Одян Охотского моря – $2n = 42$, $NF = 44+2$, включает 2 М, 2 СМ-СТ, 30 СТ и 8 А хромосом (рис. 8 а). Пары М, СМ–СТ хромосом, две пары крупных СТ хромосом и пара крупных А являются маркерными для его кариотипа. ЯОР одиночные, локализованы в коротких плечах одной – двух крупных СТ хромосом, являющихся двойными маркерами кариотипа *M. platycephalus* (рис. 8 б).

ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАРИОТИПОВ ВИДОВ *MYOXOCERPHALUS* И *MEGALOCOTTUS* ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ

При общем сходстве структуры кариотипов видов *Myoxocerphalus* и *Megalocottus* наблюдаются и различия по основным его характеристикам – числу хромосом, числу хромосомных плеч и морфологии хромосом, наличию в них маркерных для каждого вида и для групп видов хромосом (табл. 2).

Таблица 2. Характеристики кариотипов исследованных видов родов *Myoxocerphalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей

Вид	Признаки кариотипа						
	2n	NF	М	СМ	СМ-СТ	СТ	А
<i>Myoxocerphalus</i>	зал. Петра Великого (Японское море)						
<i>M. stelleri</i>	40	44+2	2	2	2	20	14
<i>M. brandtii</i>	44	46+2	2	-	2	18	22
<i>M. jaok</i>	24	44	16	4	-	-	4
	зал. Одян (Охотское море)						
<i>M. stelleri</i>	44	44+2	-	-	2	28	14
<i>M. ochotensis</i>	42	44+2	2	-	2	18	20
<i>M. jaok</i>	24	44	16	4	-	-	4
<i>M. polyacanthocephalus</i>	40	44+2	4	-	2	20	14
<i>Megalocottus</i>							
<i>M. platycephalus</i>	42	44+2	2	-	2	30	8

На основании характеристик кариотипов исследованных видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей составлена таблица для их определения.

Ключ к определению керчаков родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей России на основании кариологических данных

1 (2) $2n > 24$	3
2 (1) $2n = 24$	<i>Myoxocephalus jaok</i>
3 (4) $2n = 40$	5
4 (3) $2n > 40$	7
5 (6) $M = 2, CM = 2$	<i>Myoxocephalus stelleri</i> (Японское море)
6 (5) $M = 4, CM$ нет.....	<i>Myoxocephalus polyacanthocephalus</i>
7 (8) $2n = 42$	9
8 (7) $2n = 44$	11
9 (10) $CT = 18, A = 20$	<i>Myoxocephalus ochotensis</i>
10 (9) $CT = 30, A = 8$	<i>Megalocottus platycephalus</i>
11 (12) $CT = 18, A = 22$	<i>Myoxocephalus brandtii</i>
12 (11) $CT = 28, A = 14$	<i>Myoxocephalus stelleri</i> (Охотское море).

4.1. *Myoxocephalus stelleri* и *M. brandtii* из Японского моря

Кариотипы *M. stelleri* ($2n = 40, NF = 44+2$) и *M. brandtii* ($2n = 44, NF = 46+2$) (рис. 1 а, б; 3 а, б) имеют ряд общих признаков (пары М и СМ–СТ хромосом, две пары крупных СТ хромосом, пару крупных одноплечих хромосом и большое число СТ–А хромосом, множественные ЯОР), указывающих на их таксономическую близость (Рязанова, 2005).

Наряду с общими признаками, кариотипы различаются по числу хромосомных плеч, числу и морфологии хромосом. Различаются кариотипы и по числу и локализации активных ЯОР (у *M. stelleri* их 2, у *M. brandtii* – 3). Эти различия предполагают независимую длительную эволюцию этих видов. Согласно предположению об эволюции кариотипов рыб в сторону уменьшения числа хромосом (Васильев, 1985; Фролов, 1995, 2000), наиболее рано дивергировавшим из них и сохранившим большее число предковых признаков следует считать *M. brandtii* ($2n = 44, NF = 46+2$), а *M. stelleri* – более молодым ($2n = 40, NF = 44+2$). Данное предположение не совпадает с мнением морфологов, что наиболее древним

видом, обладающим полным набором примитивных признаков является *M. stelleri*, а *M. brandtii* – сравнительно молодой вид (Неелов, 1979).

4.2. *Myoxocephalus stelleri*, *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus* из Охотского моря

Кариотипы *M. stelleri* (Охотское море) ($2n = 44$, $NF = 44+2$), *M. ochotensis* ($2n = 42$, $NF = 44+2$) и *M. polyacanthocephalus* ($2n = 40$, $NF = 44+2$) имеют ряд общих признаков, указывающих на их таксономическую близость: одинаковое число хромосомных плеч, пару М (кроме *M. stelleri*), пару СМ–СТ хромосом, две пары крупных маркерных СТ хромосом одинаковых размеров, пару крупных одноплечих хромосом (кроме *M. ochotensis*), большое число одноплечих хромосом, множественные ЯОР (*M. stelleri*, *M. ochotensis*) (рис. 2 а, б; 6 а, б; 7).

Различаются кариотипы данных видов по числу двуплечих хромосом, по числу и морфологии одноплечих хромосом, по числу и локализации ЯОР (*M. stelleri*, *M. ochotensis*). Сходство числа хромосомных плеч в кариотипах этих видов позволяют предположить, что данные различия могут быть объяснимы произошедшими в их кариотипах в ходе эволюции робертсоновскими транслокациями. Различие кариотипов *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus* по размеру пары мелких маркерных М хромосом указывает на принадлежность этих видов к разным эволюционным линиям. *M. stelleri* и *M. ochotensis*, по кариологическим данным, относятся к наиболее рано дивегировавшим видам. Более продвинутым в сравнении с ними является *M. polyacanthocephalus*. Полученные данные о наиболее ранней дивергенции *M. stelleri* хорошо согласуются с результатами морфологических исследований. В отношении *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus* результаты кариологического и морфологического анализов не совпадают, так как *M. ochotensis* на основании морфологических исследований был отнесен к филогенетически более молодой, а *M. polyacanthocephalus* к более древней группе видов (Неелов, 1979).

4.3. *Myoxocephalus jaok* и другие виды *Myoxocephalus*

Кариотип *M. jaok* ($2n = 24$, $NF = 44$) резко отличается от кариотипов всех исследованных видов по числу, морфологии хромосом и числу хромосомных плеч (рис. 1 а, б-7 а, б). Различия по числу и морфологии хромосом могут быть объяснимы большим числом робертсоновских транслокаций, значительно

уменьшивших число хромосом в его кариотипе. Отличие же кариотипа *M. jaok* от кариотипа *M. brandtii* по числу хромосом и числу хромосомных плеч может объясняться принадлежностью этих видов к разным эволюционным линиям. В кариотипах исследованных видов (япономорский и охотоморский *M. stelleri*, *M. ochotensis* и *M. polyacanthocephalus*) $NF = 44+2$, а в кариотипе *M. jaok* нет пары SM–CT хромосом, которую мы обозначаем как +2, поэтому $NF = 44$ (табл. 2). Для кариотипа охотоморского *M. jaok*, в отличие от кариотипов япономорского и охотоморского *M. stelleri*, *M. brandtii* и *M. ochotensis*, характерны одиночные ЯОР (рис. 1 б-3 б, 5 б, 6 б).

Кариологически *M. jaok*, в сравнении с другими исследованными видами, является наиболее продвинутым, что не согласуется с предположением о древности данного вида, основанным на анализе его морфологических признаков (Неелов, 1979).

4.4. *Myoxocephalus scorpius* и дальневосточные виды *Myoxocephalus*

Кариотипы *M. scorpius* ($2n = 36-38$, $NF = 44$) и дальневосточных видов рода *Myoxocephalus* достаточно сходны. Наличие пары М хромосом (за исключением охотоморского *M. stelleri*), двух пар крупных СТ хромосом одинаковых размеров, большое число одноплечих СТ и А хромосом указывает на их таксономическую близость. Однако, в отличие от дальневосточных видов *Myoxocephalus*, стабильных по числу хромосом, для кариотипа *M. scorpius* свойствен робертсоновский полиморфизм. Кариотипы *M. scorpius* и дальневосточных видов рода различаются по числу и морфологии двуплечих и одноплечих хромосом. Указанные различия могут быть объяснены произошедшими в ходе эволюции робертсоновскими транслокациями. Согласно кариологическим данным, *M. scorpius* в сравнении с исследованными нами видами рода (кроме *M. jaok*) является более молодым, что совпадает с результатами морфологических исследований (Шмидт, 1950; Неелов, 1979).

4.5. *Myoxocephalus stelleri* из Японского и Охотского морей

Несмотря ряд общих признаков кариотипов *M. stelleri* из Охотского и Японского морей (наличие пары SM-CT, двух пар СТ, пары крупных одноплечих хромосом), указывающих на их таксономическую близость, обнаружены существенные различия по числу и морфологии двуплечих и одноплечих хромосом

(рис. 1 а, 2 а). Различия их кариотипов объясняются изменениями, произошедшими в ходе их эволюции, что подтверждается возможностью вывести один кариотип из другого по простой схеме робертсоновских перестроек.

Кариотипы *M. stelleri* из Охотского и Японского морей имеют множественные ЯОР, но различаются по их числу (охотоморский *M. stelleri* – 5 ЯОР, япономорский *M. stelleri* – 2 ЯОР) и локализации на хромосомах (рис. 1 б, 2 б). Различия кариотипов *M. stelleri* из Охотского и Японского морей указывают на необходимость уточнения видового статуса одного из них. Ранее япономорская популяция вида была описана Джорданом и Старксом (Jordan, Starks, 1904) как *M. raninus*. Согласно Международному кодексу зоологической номенклатуры это название может являться пригодным для обозначения япономорского таксона, как старшее пригодное название.

4.6. *Megalocottus platycephalus* и виды *Myoxocephalus*

Кариотипы *Megalocottus platycephalus* ($2n = 42$, $NF = 44+2$) и видов рода *Myoxocephalus* имеют ряд общих признаков: одинаковое число хромосомных плеч $NF = 44+2$ (исключение *M. brandtii*, *M. scorpius* и *M. jaok*), сходные маркерные хромосомы (пара М, пара СМ–СТ хромосом (за исключением *M. scorpius*), две пары крупных СТ хромосом, пара крупных А хромосом (за исключением *M. scorpius* и *M. ochotensis*), большое число одноплечих хромосом (кроме *M. jaok*), локализация ЯОР в паре крупных СТ хромосом (за исключением *M. brandtii* и *M. jaok*) (рис. 1 а, б-8 а, б).

Различаются кариотипы *Megalocottus platycephalus* и видов *Myoxocephalus* по числу двуплечих и одноплечих хромосом, что может являться, учитывая сходство чисел хромосомных плеч в их кариотипах (за исключением *M. brandtii*), следствием большего или меньшего числа произошедших робертсоновских транслокаций. Наиболее близок *Megalocottus platycephalus* к наименее продвинутым (по кариологическим данным) видам рода *Myoxocephalus* – охотоморскому *M. stelleri* ($2n = 44$), *M. brandtii* ($2n = 44$) и *M. ochotensis* ($2n = 42$), более продвинутыми в сравнении с ним являются *M. polyacanthocephalus* ($2n = 40$) и *M. jaok* ($2n = 24$).

Кариологический анализ показал значительную эволюционную близость *Megalocottus platycephalus* и видов *Myoxocephalus*. Полученные результаты вполне согласуются с выводами морфологических исследований, согласно которым род

Megalocottus очень близок роду *Myoxocephalus* (Шмидт, 1950; Андрияшев, 1954; Неелов, 1979; Линдберг, Красюкова, 1987).

4.7. Маркерные признаки в кариотипах керчаков

Число хромосом, 2n

Наиболее близким к предковому в роду *Myoxocephalus*, вероятно, является кариотип охотоморского *M. stelleri* $2n = 44$. Остальные виды керчаков можно расположить в следующем порядке: *M. brandtii* ($2n = 44$), *M. ochotensis* ($2n = 42$), *Megalocottus platycephalus* ($2n = 42$), *M. polyacanthocephalus* ($2n = 40$), япономорский *M. stelleri* ($2n = 40$), *M. scorpius* ($2n = 36-38$) (табл. 2).

Изменчивость числа хромосом

В отличие от кариотипа *M. scorpius* из Белого моря, для которого описан робертсоновский полиморфизм, кариотипы всех исследованных видов керчаков стабильны по числу хромосом.

Наличие SM-CT хромосом и число хромосомных плеч, NF

Кариотипы керчаков по числу хромосомных плеч разделяются на три группы. Первая группа: $NF = 46+2$ – *M. brandtii*; вторая группа: $NF = 44+2$ – охотоморские виды и япономорский *M. stelleri*. Кариотипы керчаков, относящихся к этим группам, содержат пару маркерных SM-CT хромосом. Третья группа: $NF = 44$ – *M. scorpius* и *M. jaok*. В их кариотипах нет пары SM – CT хромосом (табл. 2).

Маркерные хромосомы кариотипов:

Крупные субтело- и акроцентрические хромосомы (CT-A)

Две пары крупных CT хромосом есть в кариотипах всех (за исключением *M. jaok*) исследованных видов керчаков. В ряду одноплечих хромосом в кариотипах исследованных видов (за исключением *M. ochotensis* и *M. scorpius*) выделяется еще одна пара крупных хромосом, которую также можно считать маркером кариотипов видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* (рис. 9).

Субметацентрические хромосомы (SM)

Крупные SM хромосомы, превышающие размеры четырех крупных маркерных CT хромосом, имеются в кариотипах япономорского *M. stelleri* и *M. scorpius*. Кариотип *M. jaok* также содержит две пары крупных SM хромосом, которые по своим размерам крупнее маркерных SM хромосом в кариотипах япономорского *M. stelleri* и *M. scorpius* (рис. 9).

Метацентрические хромосомы (М)

За исключением охотоморского *M. stelleri*, как минимум одна пара М хромосом имеется в кариотипах всех исследованных видов, но у разных видов они различаются размерами.

В кариотипах япономорского *M. stelleri* и *M. scorpius* это пара крупных М хромосом. У *M. brandtii* это мелкие М хромосомы, чьи размеры больше СМ-СТ хромосом, но меньше размеров двух пар крупных маркерных СТ хромосом. В кариотипе *M. ochotensis* М хромосомы равны по размерам СМ-СТ хромосомам и меньше размеров двух пар крупных маркерных СТ хромосом. В кариотипах *Megalocottus platycephalus* и *M. polyacanthocephalus* размеры М хромосом меньше размеров пары СМ-СТ хромосом и гораздо меньше размеров двух пар крупных маркерных СТ хромосом. В кариотипе *M. polyacanthocephalus* содержится пара крупных М хромосом, ее размеры больше размеров крупных маркерных СТ хромосом (рис. 9).

Число и локализация ядрышкообразующих районов (ЯОР)

Исследованные виды керчаков (за исключением *M. jaok* и *Megalocottus platycephalus*) имеют множественные ЯОР, но различаются по максимальному числу активных ЯОР. Наибольшее число ЯОР окрашивается у охотоморского *M. stelleri* – 5 (в кариотипе *M. ochotensis* 4 активных ЯОР, у *M. brandtii* 3). Для видов *Megalocottus platycephalus* и *M. jaok* характерны одиночные ЯОР (рис. 9).

4.8. Предполагаемое направление эволюции кариотипов керчаков Японского и Охотского морей

Разработана вероятная схема эволюции кариотипов керчаков в направлении уменьшения числа хромосом ($2n$) путем робертсоновских транслокаций (рис. 9). Принимая кариотип охотоморского *M. stelleri* ($2n = 44$, $NF = 44+2$) за наиболее близкий к предковому, можно предположить, что эволюция кариотипов керчаков шла в четырех направлениях.

К одному из эволюционных направлений относится *M. ochotensis* ($2n = 42$, $NF = 44+2$), дивергировавший от охотоморского *M. stelleri* с образованием в его кариотипе, вследствие одной робертсоновской транслокации, пары мелких М хромосом.

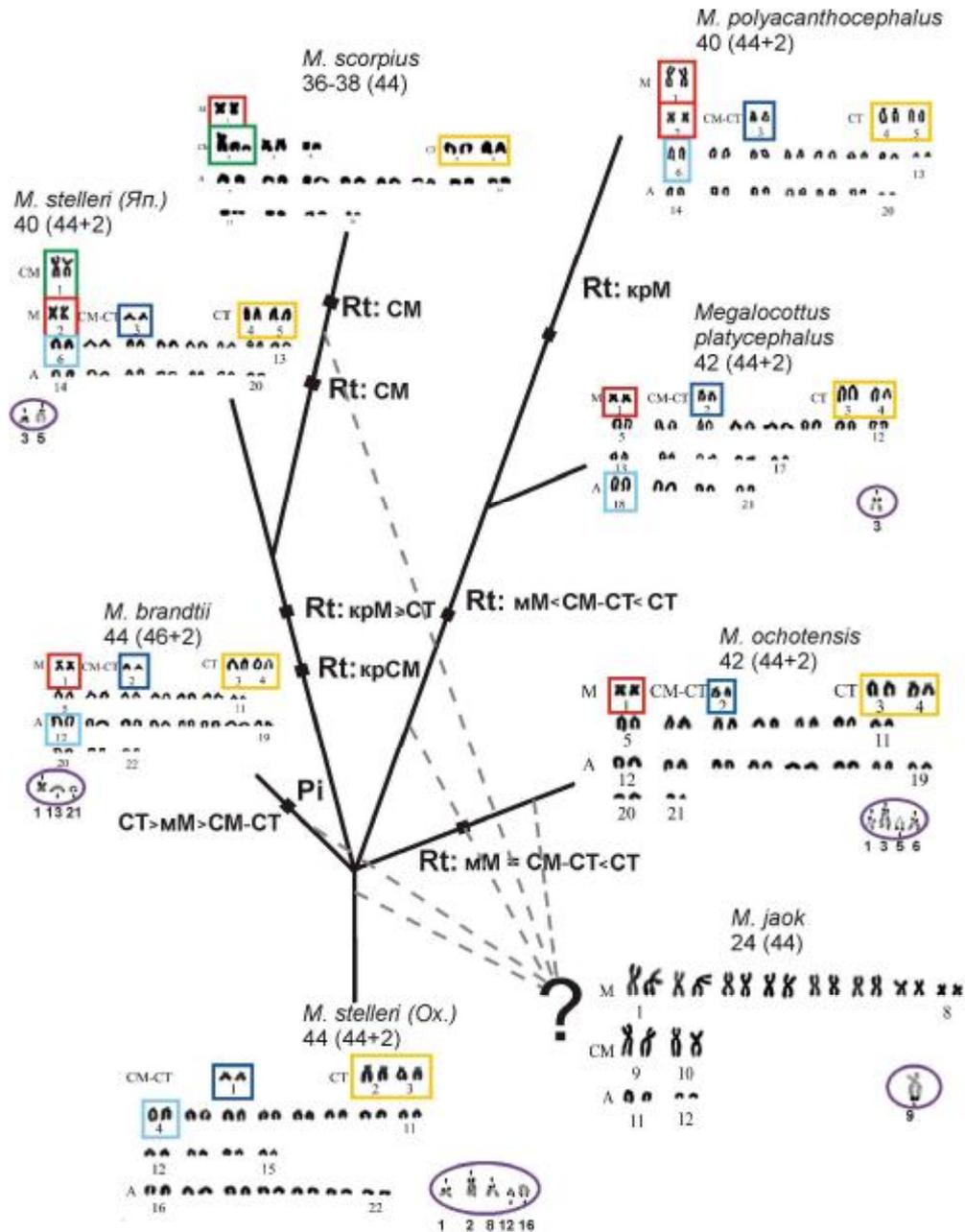


Рис. 9. Схема эволюции кариотипов керчаков. Маркерные хромосомы: — метацентрические, — субметацентрические, — субтелоцентрические, — крупные одноплечие, — субмета-субтелоцентрические, — ЯОР-несущие; Rt-робертсоновская транслокация, Pi-перичентрическая инверсия.

Виды *Megalocottus platycephalus* ($2n = 42$, $NF = 44+2$) и *M. polyacanthocephalus* ($2n = 40$, $NF = 44+2$), относящиеся к другой эволюционной линии, дивергировали с образованием, вследствие робертсоновской транслокации, пары мелких М хромосом, отличающейся по размерам от пары М хромосом в кариотипе *M. ochotensis*. В результате второй робертсоновской транслокации в

кариотипе *M. polyacanthocephalus* образовалась еще одна пара крупных, маркерных для его кариотипа, М хромосом.

Япономорский *M. stelleri* ($2n = 40$, $NF = 44+2$) и *M. scorpius* ($2n = 36-38$, $NF = 44$) дивергировали с образованием в них, в результате двух робертсоновских транслокаций, крупных М и крупных СМ хромосом. В кариотипе *M. scorpius* кроме этих маркерных хромосом содержатся две пары СМ хромосом, которые могли образоваться в результате еще двух робертсоновских транслокаций.

M. brandtii ($2n = 44$, $NF = 46+2$) может являться представителем отдельной эволюционной ветви в роде *Myoxocephalus*, так как отличается от кариотипов исследованных видов по числу хромосомных плеч ($NF = 44+2$). Вероятно, в формировании его кариотипа участвовали не робертсоновские транслокации, а возможно, перичентрическая инверсия. Дивергенция кариотипа *M. brandtii* шла с образованием пары мелких маркерных М хромосом.

M. jaok ($2n = 24$, $NF = 44$), в сравнении с исследованными видами, является наиболее кариологически продвинутым и может быть либо заключительным звеном любого из представленных эволюционных направлений, либо отдельной эволюционной ветвью, эволюционировавшей независимо. Если предположить, что эволюция кариотипов керчаков шла в обратном направлении – увеличение числа хромосом ($2n$) путем робертсоновских разделений, то кариотип *M. jaok* обладал бы полным набором предковых признаков, а кариотипы исследованных видов могли бы быть выведены от него. Но у рыб случаи спонтанного разделения двуплечих хромосом крайне редки (Горшков, Горшкова, 1981; Горшкова, Горшков, 1983; Phillips, Kapuscinski, 1987, 1988; Фролов, 1988, 2000).

Разработанная схема эволюции кариотипов керчаков представляется логичной. В ней отражены как общие маркерные признаки предкового кариотипа и кариотипов видов, относящихся к разным эволюционным направлениям, так и маркерные признаки, на основании которых виды, относящиеся к определенному эволюционному направлению, объединены в группы. Разработанная схема согласуется со схемой распределения группы *Myoxocephalini* в северной части Тихого океана (Шмидт, 1950). Но она не вполне совпадает со схемой филогении керчаковых рыб, предполагаемой на основании исследования морфологических признаков (Неелов, 1979), согласно которой охотоморский *M. stelleri*, *M.*

polyacanthocephalus, *M. jaok* и *M. brandtii* относятся к филогенетически более древней группе, а *M. ochotensis* к наиболее молодой группе видов. Кариологические исследования показали, что к наиболее рано дивегировавшим видам относятся *M. stelleri* из Охотского моря, *M. brandtii* и *M. ochotensis*, а *M. polyacanthocephalus*, япономорский *M. stelleri* и *M. scorpius* – более продвинутые и молодые в сравнении с ними. Кариотип *M. jaok* ($2n = 24$) резко отличается от кариотипов всех исследованных видов, его значительная дивергенция позволяет считать *M. jaok* кариологически самым продвинутым и молодым.

ВЫВОДЫ

1. Исследование кариотипов видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей позволило выявить маркерные хромосомы, характерные для каждого вида, которые позволяют уточнить таксономический статус видов, установить общие и различающие признаки их кариотипов, выявить их родственные отношения, определить порядок дивергенции исследованных видов.
2. Составлен ключ для определения видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей на основании признаков их кариотипов.
3. На основании проведенного кариологического исследования видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей разработана вероятная схема эволюции их кариотипов в направлении уменьшения числа хромосом. Наиболее примитивным согласно кариологическим данным является охотоморский *Myoxocephalus stelleri*, а наиболее продвинутым *M. jaok*.
4. *Megalocottus platycephalus* кариологически близок видам рода *Myoxocephalus* и органично встраивается в предполагаемую схему эволюции их кариотипов. Это соответствует схеме филогении видов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus*, разработанной на основании морфологических данных.
5. Дивергенция кариотипов родов *Myoxocephalus* и *Megalocottus* Японского и Охотского морей от охотоморского *Myoxocephalus stelleri* шла в четырех направлениях: 1) *M. ochotensis*; 2) *Megalocottus platycephalus* + *M. polyacanthocephalus*; 3) япономорский *M. stelleri* + *M. scorpius*; 4) *M. brandtii*.

Положение *M. jaok* на основании полученных данных в предложенной схеме не ясно.

6. Существенные различия кариотипов *Myoxocephalus stelleri* из Охотского и Японского морей ($2n = 44$ и $2n = 40$ при одинаковом $NF = 44+2$) вызывают сомнение в их принадлежности к одному виду и указывают на необходимость уточнения видового статуса япономорского *M. stelleri* и, возможно, восстановлении для него ранее сведенного в синонимию названия *M. raninus*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Миллер (Рязанова) И.Н. Кариотип дальневосточного керчака *Myoxocephalus stelleri* Tilesius (Scorpaeniformes, Cottidae) из залива Петра Великого // Биомониторинг и рациональное использование морских и пресноводных гидробионтов. Тезисы докладов конференции молодых ученых. В.: ТИНРО, 1999. С. 72-73.
2. Миллер (Рязанова) И.Н. Кариотип дальневосточного керчака *Myoxocephalus stelleri* из залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2000. Т. 26, № 2. С. 121 – 124.
3. Рязанова И.Н. Исследование кариотипа снежного керчака *Myoxocephalus brandti* Steindachner (Cottidae) из залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2005. Т. 31, № 4. С. 280–284.
4. Рязанова И.Н. Кариотип керчака *Myoxocephalus jaok* (Cottidae) из залива Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2007. Т. 33, № 4. С. 312–314.
5. Рязанова И.Н., Фролов С.В. Механизмы изменчивости кариотипов керчаковых рыб // Достижения и перспективы генетики, селекции та биотехнологии. К.: Логос. 2007. Т. 1. С. 295-300.
6. Ryasanova I.N., Borisenko S.A., Frolov S.V. The karyotype of the endemic sculpin *Myoxocephalus ochotensis* (Scorpaeniformes, Cottidae) from the Okhotsk sea // Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International Symposium. Abstracts. Vladivostok. 2007. P.31.
7. Рязанова И.Н., Борисенко С.А., Фролов С.В. Сравнительный анализ кариотипа охотского керчака *Myoxocephalus ochotensis* (Pisces: Cottidae) из залива Одыя Охотского моря // Биология моря. 2008. Т. 34, № 3. С. 225–228.

Ирина Николаевна

Рязанова

ЭВОЛЮЦИЯ КЕРЧАКОВ (*MYOXOCERPHALUS* И *MEGALOCOTTUS*)
ЯПОНСКОГО И ОХОТСКОГО МОРЕЙ НА ОСНОВАНИИ
КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ

03.00.10 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук