

Казахский национальный университет имени аль-Фараби

УДК 575.17:597.2/.5

На правах рукописи

АДЫРБЕКОВА КАМИЛА БОЛАТҚЫЗЫ

Генетический анализ усачей рода *Luciobarbus* Heckel, 1843 Арало-Сырдарьинского бассейна на основе изменчивости ядерных и митохондриальных ДНК маркеров

8D05104 - Генетика

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научный консультант:
Исбеков К.Б., д.б.н., профессор.

Зарубежный научный консультант:
Ignacio Doadrio., доктор, профессор.
Национальный музей естественных
наук (Испания).

Республика Казахстан
Алматы, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	6
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1 Краткая история и физико-географическая характеристика основных водоемов Арало-Сырдарьинского бассейна.....	12
1.2 Редкие и исчезающие виды рыб и вопросы их сохранения.....	15
1.2.1 Антропогенные и эколого-биологические факторы, влияющие на распространение рыб.....	17
1.3 Биogeография и эволюция рода <i>Luciobarbus</i> , Heckel 1843.....	17
1.3.1 Ареал рода <i>Luciobarbus</i> в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна.....	19
1.4 Современные условия обитания и численность усачей Арало-Сырдарьинского бассейна	20
1.4.1 Распространение усачей в ирригационных сетях рисоводческих хозяйств Кармакшинского района Кызылординской области.....	22
1.5 Биологические особенности усачей Арало-Сырдарьинского бассейна.....	25
1.6 Полиплоидия у рыб и роль в видообразовании.....	27
1.7 Применение молекулярно-генетического анализа для изучения вопросов филогенетики рыб	28
1.7.1 Применение ядерных маркеров ДНК.....	29
1.7.2 Применение митохондриальных маркеров ДНК.....	30
1.7.3 Комплексный анализ ядерных и митохондриальных маркеров.....	30
1.8 Генетическая паспортизация ремонтно-маточного стада в аквакультуре.....	31
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	33
2.1 Материалы исследований.....	33
2.1.1 Отбор половозрелых особей для формирования ремонтно-маточного стада.....	35
2.1.2 Краткая характеристика рыбоводного хозяйства.....	36
2.1.3 Отбор проб для молекулярно-генетического анализа.....	37
2.2 Методы исследований.....	37
2.2.1 Картирование точек сбора материала.....	37
2.2.2 Проведение биологического и морфологического анализа.....	38
2.3 Молекулярно-генетические методы.....	39
2.3.1 Выделение геномной ДНК.....	39
2.3.2 Оценка чистоты выделенной ДНК.....	39
2.4 Применение митохондриальных маркеров.....	39
2.4.1 Применение митохондриального маркера <i>cytb</i> и условия ПЦР.....	39
2.4.2 Электрофорез и секвенирование митохондриального маркера <i>cytb</i> ..	40

2.4.3	Применение митохондриального маркера <i>COI</i> и условия ПЦР.....	40
2.5	Применение ядерных маркеров.....	40
2.5.1	Применение ядерных маркеров для оценки генетической структуры.....	40
2.5.2	Полимеразная цепная реакция (ПЦР) ядерных маркеров.....	41
2.5.3	Электрофорез и секвенирование ядерных маркеров.....	41
2.5.3	Применение ядерных маркеров для генетической паспортизации...	42
2.6	Обработка статистических данных морфобиологического анализа..	42
2.7	Обработка и анализ молекулярных данных ядерных маркеров.....	42
2.8	Обработка и анализ молекулярных данных митохондриальных маркеров.....	44
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	46
3.1	Биологическая и морфологическая характеристика усачей Арало-Сырдарьинского бассейна.....	46
3.2	Статистический анализ морфометрических признаков усачей.....	48
3.3	Результаты генетического анализа усачей	51
3.3.1	Результаты оценки чистоты выделенной ДНК.....	51
3.4	Результаты применения микросателлитных локусов для оценки генетического разнообразия.....	51
3.4.1	Оценка частоты нуль-аллелей и обнаружение мономорфных локусов.....	53
3.4.2	Оценка генетического разнообразия аллелей по микросателлитным локусам	53
3.4.3	Оценка генетической изменчивости усачей.....	56
3.4.4	Генетическая структура рода <i>Luciobarbus</i> по ядерным маркерам...	57
3.4.5	Анализ частных аллелей для рода <i>Luciobarbus</i> при идентификации по ядерным маркерам.....	61
3.4.6	Оценка естественной гибридизации среди особей.....	61
3.5	Результаты анализа митохондриального гена <i>cytb</i>	63
3.5.1	Внутрипопуляционное генетическое разнообразие аральского усача по результатам митохондриального гена <i>cytb</i>	63
3.5.2	Филогенетический анализ рода <i>Luciobarbus</i> с помощью митохондриального гена <i>cytb</i>	65
3.6	Результаты применения митохондриального гена <i>COI</i>	69
3.7	Результаты применения микросателлитных локусов для генетической паспортизации усачей.....	70
3.7.1	Аллельное разнообразие аральского усача по отобранным локусам.....	71
3.7.2	Генетическая паспортизация ремонтно-маточного стада аральского усача <i>L. brachycephalus</i>	73
3.7.3	Необходимость генетического мониторинга при формировании ремонтно-маточного стада аральского усача в промышленных условиях.....	75

3.8	Вопрос сохранения естественных популяций усачей Арало-Сырдарьинского бассейна.....	76
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	79
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	81
	ПРИЛОЖЕНИЕ А - Фотографии исследованных станций сбора материалов и изученных экземпляров усачей.....	102
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б - Синтезированные олигонуклеотиды и первичные данные ядерных маркеров.....	105
	ПРИЛОЖЕНИЕ В - Хромотограммы нуклеотидных последовательностей митохондриального маркера.....	111
	ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Полученные нуклеотидные последовательности усачей рода <i>Luciobarbus</i> Арало-Сырдарьинского бассейна.....	129
	ПРИЛОЖЕНИЕ Д - Акт внедрения результатов исследований и методическая рекомендация.....	135

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

STR-локусы (микросателлиты) - short tandem repeats представляют собой тандемные повторы ДНК размером от 2 до 6 нуклеотидов. Имеют высокие скорости мутирования, что приводит к накоплению популяционно-специфических мутаций и позволяет использовать информацию об изменчивости микросателлитных локусов для анализа структуры популяций.

Аллель - это разные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых локусах парных хромосом.

Автополиплоиды - организмы, у которых один и тот же хромосомный набор x (геном) повторяется несколько раз. К автополиплоидам относятся триплоиды ($2n=3x$), тетраплоиды ($2n=4x$) и так далее.

Аллополиплоид - полиплоидный организм, образовавшийся в результате гибридизации разных видов.

Викарирующие виды - систематически близкие, биологически сходны виды, замещающие друг друга географически и имеющие соприкасающиеся ареалы (географический викариат) или же встречающиеся в пределах одного ареала.

Гексаплоид - организм, содержащий шестикратный набор хромосом

Ген - участок молекулы ДНК, который кодирует информацию для синтеза белка.

Генетический автостоп - процесс, при котором изменение частоты одного гена в популяции происходит вместе с изменением частоты смежных генов, которые находятся на том же хромосомном участке.

Генетический дрейф - случайные изменения частот аллелей и генотипов, происходящие в небольшой полиморфной популяции при смене поколений.

Генотип - совокупность всех генов организма, которые определяют его наследственные характеристики.

Интрогрессия - процесс, при котором гены одного вида проникают в геном другого вида через межвидовое скрещивание.

мтДНК - митохондриальная ДНК, находящаяся в митохондриях, органоидах эукариотических клеток.

Полиморфизм - изменчивость, характеризующаяся наличием нескольких вариантов или форм в пределах популяции или вида.

Симпатрия - зона перекрывания ареалов двух видов или форм, то есть способность двух видов или форм сосуществовать на одной территории.

Эволюционный консерватизм - концепция, при которой в процессе эволюции преобладает сохранение стабильных, уже эффективно функционирующих характеристик, механизмов или стратегий.

Эффективный размер популяции - среднее количество особей в популяции, генный вклад которых обеспечивает её выживание и успешное размножение.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

STR	short tandem repeat (анализ коротких tandemных повторов)
mtDNA	(мтДНК) митохондриальная ДНК
COI	фрагмент мтДНК цитохром-с-оксидазы
cytb	цитохром b
ПЦР	полимеразная цепная реакция
F	(forward) прямой
R	(reverse) обратный
п.о.	пар оснований
мкл	микролитр
об/мин.	оборотов в минуту
ddH ₂ O	двойная дистиллированная вода, которая прошла процесс дистилляции дважды для удаления из неё примесей и растворённых веществ
n	количество исследованных экземпляров
min	минимальное значение показателя
max	максимальное значение показателя
M	среднее значение показателя
σ	среднеквадратическое отклонение
CV	коэффициент вариации
РCoA	(principal coordinate analysis) анализ главных координат
экз.	экземпляров
РМС	ремонтно-маточное стадо
МСОП	Международный союз охраны природы
р.	река
вдхр.	водохранилище
г.	город
с.	село
et al.	и другие

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика диссертационного исследования. В диссертационной работе изучена генетическая структура усачей рода *Luciobarbus* Heckel, 1843 Арало-Сырдарьинского бассейна. Проведен генетический анализ усачей на основе изменчивости ядерных и митохондриальных ДНК маркеров.

Актуальность исследования. В Арало-Сырдарьинском бассейне встречается два вида усачей: аральский *L. brachycephalus* и туркестанский *L. conocephalus*. В прошлом усачи - ценные промысловые виды Аральского моря и реки Сырдарьи. Огромное негативное влияние на размножение популяции усачей оказало зарегулирование стока рек Сырдарьи и Амударьи, впоследствии это привело к серьезному нарушению естественного воспроизводства и катастрофического сокращения численности. Плотины без рыбоходов преградили усачу пути к традиционным нерестилищам и сократили его численность, поэтому усачи Арало-Сырдарьинского бассейна занесены в Красную книгу РК, а также включены в IUCN Red list (МСОП), где туркестанский усач имеет охранный статус *Vulnerable* (уязвимые), а аральский - *Endangered* (находящийся под угрозой исчезновения). Ввиду их статуса и во избежание потенциального ущерба популяциям и поддержания экологического принципа «поймал - отпусти» проводился отбор проб для генетического анализа. Виды *L. brachycephalus* и *L. conocephalus* имеют в значительной мере совпадающие ареалы. Морфологически эти виды очень близки и они сложно поддаются видовой идентификации по внешним признакам, уточнение видового статуса и систематического положения усачей (предложения по исследованию в Красной Книге Республики Казахстан) требуют молекулярно-генетических исследований с помощью ядерных и митохондриальных маркеров. К тому же, вопросы выяснения видовой принадлежности туркестанского усача *L. conocephalus* остается до сих пор не изученным.

Установлено, что на территории Республики Казахстан вовсе исчезли эндемики сырдарьинский лжелопатонос *Pseudoscaphyrinchus fedtschenkoi* и щуковидный жерех *Aspioluceus esocinus* (Красная Книга РК, 2008). Вероятно, в будущем популяция усачей будет поддерживаться в основном за счет искусственного воспроизводства. Следовательно, в настоящее время единственный и решающий способ восстановить численность усачей является искусственное воспроизводство с учетом оценки генетического разнообразия. До настоящего времени специализированных генетических исследований по усачам, обитающим в Арало-Сырдарьинском бассейне, не проводилось. Все вышесказанное определяет актуальность выбранного исследования.

Объекты исследования. Усачи рода *Luciobarbus* Арало-Сырдарьинского бассейна.

Цель исследования. Провести генетический анализ и оценить генетическое разнообразие усачей рода *Luciobarbus* Арало-Сырдарьинского бассейна на основе ядерных и митохондриальных ДНК маркеров.

Задачи исследования. В соответствии с целью работы были сформулированы следующие задачи:

1. Провести картирование мест обитания усачей в Арало-Сырдарьинском бассейне. Изучить биологические и морфологические характеристики усачей Арало-Сырдарьинского бассейна.
2. Оценить генетическое разнообразие усачей Арало-Сырдарьинского бассейна на основе использования микросателлитных локусов.
3. Изучить генетическую структуру рода *Luciobarbus* из Арало-Сырдарьинского бассейна на основе ядерных маркеров.
4. Оценить внутривидовое генетическое разнообразие аральского усача по результатам гена *cytb* митохондриальной ДНК.
5. Провести филогенетический анализ рода *Luciobarbus* с помощью гена *cytb* митохондриальной ДНК.
6. Провести генетическую паспортизацию ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus* содержащихся в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник» на основе ядерных и митохондриальных ДНК маркеров.

Методы исследования. В ходе работы были использованы картографические, морфометрические, молекулярно-генетические и статистические методы.

Научная новизна исследования. Выборки, используемые в работе, покрывают значительную часть современного ареала двух видов.

Впервые обширно и углубленно было оценено генетическое разнообразие рода *Luciobarbus* из Арало-Сырдарьинского бассейна на основе 15 из 17 информативных микросателлитных локусов ДНК.

Впервые изучена генетическая структура рода *Luciobarbus* из Арало-Сырдарьинского бассейна основанная на ядерных маркерах. Обнаружены частные аллели для рода *Luciobarbus* позволяющие идентифицировать изученные виды.

Впервые определена нуклеотидная последовательность мтДНК-маркера *cytb* усачей Арало-Сырдарьинского бассейна.

Впервые изучено внутривидовое генетическое разнообразие и построена сеть гаплотипов для аральского усача по результатам гена *cytb* митохондриальной ДНК.

Впервые проведен филогенетический анализ рода *Luciobarbus* на основе гена *cytb* митохондриальной ДНК и по результатам которых проведена их дифференциация и уточнен видовой статус *L. conocephalus*.

Впервые проведена генетическая паспортизация ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus* содержащихся в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник» на основе 4 из 10 микросателлитных локусов и гена *COI* митохондриальной ДНК.

Впервые по результатам исследований даются методические рекомендации по сохранению популяционных генофондов вида, обоснованные с позиций природоохранной генетики.

Теоретическая значимость. Поскольку исследование находится на стыке генетики и ихтиологии, полученные результаты могут иметь влияние на развитие данных областей науки, как в фундаментальном, так и прикладном аспекте. Полученные результаты способствуют расширению знаний о генетической структуре редких и исчезающих видов ихтиофауны Казахстана и могут быть использованы в эволюционной биологии (микроэволюционные процессы), популяционной генетике, в систематике рыб, сравнительной филогенетике, вопросах видообразования и выявления ихтиогеографических закономерностей в бассейнах Центральной Азии, где распространены усачи.

Практическая значимость. Результаты, полученные в ходе настоящего исследования, могут быть использованы для разработки эффективных, научно-обоснованных планов по сохранению и восстановлению усачей. Особенно важны полученные данные при планировании реинтродукции усачей, искусственном разведении вида, требующем учета популяционно-генетической структуры, для предотвращения деградации генофондов вида и критического исчезновения в будущем. Несмотря на сокращение биоразнообразия нативной ихтиофауны, до настоящего времени специализированных генетических исследований по ценным, редким и эндемичным видам рыб не проводилось, а именно генетическая паспортизация. Проведенная генетическая паспортизация РМС аральского усача *L. brachycephalus* необходима для направленного формирования производителей и дальнейшего их использования при искусственном воспроизводстве для выращивания жизнестойкого рыбопосадочного материала при зарыблении водоемов. Результаты данных исследований могут быть использованы природоохранными, рыбохозяйственными, и другими организациями, деятельность которых направлена на охрану, воспроизводство и рациональное использование рыбных ресурсов. Разноплановые комплексные молекулярно-генетические исследования необходимы для сохранения генофонда и развития аквакультуры. Эти методы эффективны, перспективны в аквакультуре и доказывают необходимость их использования на рыбопитомниках в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Впервые в исследованных точках отлова (гидроузел в г. Кызылорда и рисовые чеки) поймано четыре экземпляра туркестанского усача, что предполагает широкий ареал туркестанского усача, так как ранее в исследованных точках отлова встречались лишь представители аральского усача. Результаты морфо-биологического анализа демонстрируют, что усачи двух видов близки друг к другу по совокупности внешних морфо-биологических признаков и их определение без специальных морфологических методов затруднено, особенно у молоди. Для видовой идентификации необходимо проведение дополнительных молекулярных подходов.

2. Апробировано 17 новых специфичных микросателлитных локусов для рода *Luciobarbus*, из них 15 оказались информативными для оценки

генетического разнообразия усачей и по количеству аллелей на 15 локусов составили от 2 до 12, со средним значением 6.

3. Изучена генетическая структура, основанная на ядерных маркерах для представителей рода *Luciobarbus*, которые эффективно разграничили виды усачей, также они могут быть полезны для внутривидовой генетической идентификации. Выявлено, что в пределах ареала у некоторых особей аральского усача обнаружены ядерные генотипы туркестанского усача. Отмечены частные аллели для туркестанского усача, такие как: M1447, M0244 и M4215 которые демонстрируют четкую дифференциацию при разделении их на кластеры.

4. При оценке внутривидового генетического разнообразия аральского усача принадлежащих к единому бассейну Арал-Сырдарья, при подсчете индексов гаплотипного разнообразия, всего выявлено 19 гаплотипов по результатам анализа гена *cytb* митохондриальной ДНК.

5. На основе филогенетического анализа рода *Luciobarbus* с использованием гена *cytb* митохондриальной ДНК проведена дифференциация видов, в ходе которой уточнен видовой статус туркестанского усача, обитающего в Арало-Сырдарьинском бассейне. Результаты анализа показали, что туркестанский усач представляет собой самостоятельный вид, а не подвид.

6. Впервые проведена апробация генетической паспортизации ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus* на основе 4 из 10 ядерных маркеров и гена *COI* митохондриальной ДНК. Выявлена принадлежность исследуемых образцов с точностью совпадения нуклеотидной последовательности до 99,86 %, данный результат подтверждает принадлежность сформированного ремонтно-маточного стада усача содержащихся в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник» к виду аральский усач. Микросателлитные локусы *Barb37*, *Barb79*, *BC8*, *BC37* рекомендованы для генетической паспортизации производителей аральского усача.

Личный вклад автора. Автор диссертационной работы в полной мере внес свой вклад при выборе концепции исследования. Определения цели диссертации, постановка задач исследования, анализ литературных данных, планирование и выполнение методик, статистическая обработка результатов, обобщение и обработка полученных данных, оформление выполнено полностью автором диссертации. Кроме того, автор способствовал публикации всех научных работ: подготовка рукописи, построение графиков, анализ результатов, корреспонденция и ответы рецензентам.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа была выполнена самим диссертантом и финансирована в рамках научно-технической программы BR10264236 «Научно-технологическое обеспечение комплексного развития аквакультуры Казахстана путем разработки и внедрения инновационных технологий и новых объектов рыбоводства» (2021-2023 гг.), где автор был ответственным исполнителем по разделу генотипирования усачей. Прикладная часть диссертации была выполнена в лаборатории генетики гидробионтов ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства».

Фундаментальная часть диссертации и основные молекулярно-генетические методы были выполнены в лаборатории молекулярной систематики, отделе биоразнообразия и эволюционной биологии в Национальном музее естественных наук (г. Мадрид, Испания) в период зарубежной стажировки докторанта.

Апробация работы. Результаты исследований и основные положения диссертации были представлены на международных научных конференциях:

-Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии» (Астрахань, РФ, 2021 г.);

-Международная научно-практическая конференция к 70-летию Алтайского филиала ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства» Развитие рыбной отрасли: Актуальные проблемы и пути их решений (Усть-Каменогорск, Казахстан, 2022 г.);

-Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (Алматы, Казахстан, 2023 г.);

-Международная научно-практическая конференция «Рыбохозяйственные научные исследования: опыт, проблемы и перспективы», посвящённый 90-летию Балхашского филиала ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства» (Балхаш, Казахстан, 2023 г.);

-Были внедрены результаты научных работ в РГКП «Камышлыбашский рыбоводный питомник» и получен акт внедрения по проведению генетической паспортизации ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus*.

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 9 печатных работах, в том числе 2 статьи в изданиях, входящих в первый (Q1) и во второй (Q2) квартили базы данных Scopus и Web of Sciences; 1 статья в журнале входящая в перечень КОКСНВО МНВО РК; 4 тезиса в материалах международных конференций и 2 методические рекомендации (Комитет рыбного хозяйства Министерства экологии и природных ресурсов Республики Казахстан).

Структура диссертации. Диссертационная работа включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, список использованной литературы и приложения. Диссертация изложена на 136 страницах компьютерного текста, с соблюдением необходимых стандартов, включает 13 таблиц, 18 рисунков. Список использованной литературы содержит 304 источника.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Краткая история и физико-географическая характеристика основных водоемов Арало-Сырдарьинского бассейна

В конце эоцена — начале раннего олигоцена эвстатический подъем уровня Мирового океана, и поднятие областей Альпийской складчатой системы вызвали разделение бассейнов к северу от основного моря Тетис. В результате образовались три суббассейна: Западный, Центральный и Восточный Паратетис [1;2], которые существовали вдоль южной окраины Евразии приблизительно 33 млн лет назад [3-5]. Тектоническое поднятие Альп и Карпатских орогенных поясов привело к образованию большого бассейна, который простирался от Альп до Аральского моря и имел связь с Средиземным морем на юге. С изоляцией Паратетиса от Средиземного моря в олигоцене произошло значительное изменение в составе планктонных флор и фауны, характерных для открытых морей, с переходом к менее разнообразным формам, типичным для солоноватых или пресноводных условий. Это сопровождалось развитием застойных условий на дне [5;6]. В позднем миоцене и особенно в плиоцене и четвертичном периоде размеры Паратетиса значительно сократились. В результате тектонического поднятия Карпатских гор и Кавказа образовались отдельные бассейны, такие как современные Черное, Каспийское и Аральское моря [4;7].

Когда-то Аральское море было четвертым по площади внутренним водоемом в мире [8]. Аральское море как уникальный внутриматериковый водоем образовалось в одноименной котловине. Согласно имеющимся данным, Аральская котловина сформировалась примерно 21,12 млн лет назад в середине Кайнозойской эры [9]. Первоначальной водой, заполнившей котловину, была вода Мирового океана. Общая площадь котловины составляет 350 тыс. км². В Хвалынский период Каспийское и Аральское озеро-море были соединены проливом с Азовским морем через долину Маныча [10]. В последующие эпохи они были отчленены от Мирового океана и некоторое время существовали как единый внутриматериковый бассейн [9]. В бассейне реки были отмечены палеогеновые и неогеновые отложения, сложенные глиной и кварцем [11].

После потери связи с Мировым океаном, а затем с Каспийским морем, Аральское море, как внутриматериковый бессточный бассейн, стало зависимым от стоков двух крупнейших среднеазиатских рек – Амударьи и Сырдарьи [12]. Постепенно вода Аральского моря стала преснее, чем обычная морская вода, и в нем водились преимущественно пресноводные виды рыб. Из двух рек, питавших Арал, с момента впадения в него постоянно действовала река Сырдарья. Согласно имеющимся данным, река Сырдарья образовалась в конце третичного и начале четвертичного периодов [9].

Одна из физико-географических особенностей замкнутого Аральского моря — постепенное изменение его морфометрических характеристик, связанное с непостоянством объема воды в нем, что обусловлено различиями в

высотном положении уровня и изменениями площади водной поверхности моря [13].

Арал разделился на два водоема — Большое и Малое море (Северное Аральское море) в 1988-1989 гг. Эти два «плеса» существовали и раньше, при едином Арале их соединял знаменитый пролив Берга [14].

Сезонные колебания уровня воды в Аральском море характеризуются чёткой периодичностью. Максимальные подъёмы уровня обычно происходят летом, когда на них влияет паводковая волна стока Амударьи и Сырдарьи. Осенью уровень воды снижается, что связано с интенсивным испарением, особенно после прохождения речного паводка. Зимний минимум уровня объясняется недостаточным поступлением воды из рек в море [13].

Несмотря на то, что Аральское море расположено в южной зоне, ежегодно на его поверхности образуется лёд. Льдообразование начинается примерно во второй декаде ноября в прибрежных районах на севере и северо-востоке моря. В конце месяца первичные льды появляются и у южных берегов. В открытом море лёд фиксируется со второй декады декабря, а у западного побережья — обычно в первой декаде января. Максимальное развитие ледяного покрова наблюдается в середине февраля [14].

Гидрохимические особенности Аральского моря заключаются не только в уникальном составе солей в воде, но и в особенностях содержания и распределения растворённого кислорода и основных биогенных веществ. В водах моря на протяжении всего года наблюдается высокое содержание растворённого кислорода, иногда достигающее 150-200% пересыщения в глубоких слоях. Это связано с интенсивной фотосинтетической активностью водной растительности, обусловленной мелкими глубинами и высокой прозрачностью воды, а также с ограниченным потреблением кислорода относительно небольшим планктоном и низким содержанием органических веществ, подверженных окислению, поступающих в море с речным стоком [13].

В процессе усыхания во второй половине XX века озеро Арал из солоноватого превратилось в солёное. Малый Арал остаётся солоноватым, в то время как остаточные водоёмы на месте Большого Арала стали гиперсолёными. В последние три десятилетия уровень воды в море неуклонно снижается из-за уменьшения речного стока. Это ускоряет льдообразование на севере и востоке, сокращает летний теплозапас и понижает температуру замерзания, что усиливает охлаждение воды. Меньшее количество биогенных веществ, поступающих с речными водами, также приводит к снижению биологической продуктивности. Обмеление моря продолжается, и в будущем Арал может разделиться на несколько отдельных бассейнов [13].

На нынешнем этапе состояние Аральского моря признано глобальным экологическим бедствием из-за резкого снижения уровня воды. Это приводит к повышению солёности, что влияет на ландшафт, биоразнообразие и приводит к негативным социальным и экономическим процессам в регионе. Открытое дно

озера становится источником мелкодисперсной пыли, поднимаемой пыльными бурями и распространяющейся на большие расстояния [15].

Исторически Аральское море и его бассейн имеют хорошую изученность. Значительный вклад в методические вопросы изучения Аральского моря внесли труды В.В. Бартольда [16] и Л.С. Берга [17].

Берг Л.С. в 1908 году опубликовал монографию «Аральское море. Опыт физико - географической монографии». Он опроверг гипотезу о пересыхании моря, показав, что были только колебания уровня воды в связи с временными климатическими изменениями. Л.С. Берг считал, что к исчезновению водоема может привести чрезмерное использование вод Сырдарьи и Амударьи для нужд орошения среднеазиатских почв. Современное представление об Аральском море и существующих проблемах в связи с его усыханием изложено во многих работах [18- 26].

Изъятие огромных объемов воды из Сырдарьи и Амударьи и, соответственно, доли их стока, питавшего Аральское море, продолжало расти. Стало очевидным необходимость применения дренажа и промывного режима орошения. Однако промывной режим орошения на фоне дренажа не привел к ожидаемому положительному эффекту: площадь засоленных почв на орошаемых землях увеличилась и достигла 50% от площади орошаемых земель. Ускорил процесс снижения уровня воды в Аральском море резко возросший забор воды из Сырдарьи и Амударьи на промывку засоленных земель [17]. В результате сброса в реки коллекторно-дренажных вод увеличилось ее загрязнение ядохимикатами, а также резко возросла минерализация речной воды, к примеру, в низовьях рек минерализация достигла 2-3 г/л [27]. Как отмечает Всемирный банк, засоление орошаемых земель в бассейне Аральского моря представляет угрозу «фундаментального и сложного характера» для всех аспектов безопасности (водной, экологической, социальной, продовольственной и т.д.) стран данного региона [21].

Сокращение огромной водной поверхности и падение уровня Аральского моря, обуславливая трансформацию природной среды Приаралья, также сопровождаются климатическими изменениями. Эта тенденция оказывающее заметное влияние на водные ресурсы Центральной Азии характеризуется как аридное потепление [23].

В течение последних 100 лет произошли колоссальные изменения в экосистеме Аральского моря и бассейна реки Сырдарьи. С учетом климатических изменений и антропогенного влияния, изменились практически все характеристики этих объектов [29].

Истоки Сырдарья находятся в Центральном (Внутреннем) Тянь-Шане. Основной сток Сырдарья формируется на территории Кыргызстана. Затем Сырдарья пересекает Узбекистан и Таджикистан и впадает в Аральское море на территории Казахстана. По своей протяженности Сырдарья является наиболее крупной рекой Средней Азии, по водоносности она уступает только Амударье. Самое крупное водохранилище на Сырдарье – Шардаринское. Многолетние наблюдения за стоком рек показывают, что маловодные годы чередуются с

многоводными, причем, маловодные годы чаще бывают по 2-3 раза подряд, многоводные, чаще по одному. В различные годы по оценке уровня водности, поверхностный сток рек подвержен значительным колебаниям [30].

Бассейн реки Сырдарья является вторым по водоносности речным бассейном в Центральной Азии. В горной части формируется основная часть стока р. Сырдарья. Условно основное течение р. Сырдарья можно разделить на три части: верхнее течение в Кыргызстане, где образуется большая часть водного стока; среднее течение в Узбекистане и Таджикистане, а также нижнее течение в Казахстане, до впадения в Аральское море. Наиболее крупными притоками Сырдарьи на территории Казахстана являются реки Арыс, Келес, Бадам, Бугунь, Боролдай, а также мелкие реки, вытекающие с юго-западных склонов хребта Каратау [29].

Арало-Сырдарьинский бассейн занимает площадь около 345 тыс. км². Основной рекой бассейна является р. Сырдарья, особенно в её нижнем течении [30]. В пределах Казахстана протяженность реки от Шардаринского вдхр. до Аральского моря составляет 1627 км, из них на территории Кызылординской 1281 км, Туркестанской области-346 км [18].

1.2 Редкие и исчезающие виды рыб и вопросы их сохранения

Рыбы являются одной из наиболее уязвимых групп животных, находящихся под угрозой исчезновения, что обусловлено их значительным хозяйственным значением для человечества. Рыбы являются важным объектом промысла их популяции, зачастую страдают от чрезмерного вылова. На сегодняшний день рыбы представляют собой наиболее разнообразную группу позвоночных животных, насчитывая 37 102 известных видов [31].

Опасность для рыбных популяций обусловлена множеством факторов, среди которых можно выделить рыболовство, деградацию среды обитания, загрязнение водоемов, присутствие инвазивных видов и изменения климата. Однако чаще всего угроза возникает в результате синергии этих факторов. Комплексное воздействие на экосистемы и чрезмерная нагрузка на окружающую среду приводят к истощению биоразнообразия, что требует принятия срочных и эффективных мер для его сохранения [32].

Работы по выявлению редких и исчезающих рыб были начаты американскими исследователями в начале 60-х годов, американское общество герпетологов и ихтиологов создало Комиссию по охране холоднокровных животных, которой было поручено заняться изучением состояния редких и исчезающих видов в США. Эта комиссия пришла к выводу, что к тому времени, по крайней мере, 14 видов североамериканских пресноводных рыб исчезли [33].

Таким образом, в 1964 году при Международном союзе охраны природы и природных ресурсов (МСОП) был создан специальный комитет, в задачи которого входило изучить состояние пресноводных (и частично проходных) рыб во всем мире. Из 10 336 пресноводных рыб, статус сохранения которых был оценен МСОП, 10 видов рыб вымерли в дикой природе по состоянию на

2021 год. Считается, что почти 30 процентов пресноводных видов находятся под угрозой исчезновения [34].

Красная книга Казахстана является важным инструментом для сохранения и управления биоразнообразием в стране. Она предоставляет собой информацию о статусе видов и служит основой для разработки стратегий и планов по сохранению биоразнообразия. На данный момент, по имеющимся литературным данным 18 видов круглоротых и рыб занесены в Красную книгу Казахстана [35;36]. Установлено, что на территории Республики Казахстан вовсе исчезли сырдарьинский лжелопатонос *Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi*, щуковидный жерех (лысач) *Aspioluceus esocinus* и остролючка *Capoetobrama kuschakewitschi* [37].

В последние годы одной из важнейших глобальных проблем, стоящих перед человечеством, стало сохранение биологического разнообразия Земли. Несомненно, что наиболее уязвимым компонентом биоразнообразия, самым чутким интегрированным индикатором его неблагоприятных изменений являются редкие виды животных и растений [38-41].

Одним из основных способов сохранения ценных видов рыб сейчас признаётся искусственное воспроизводство [42-44].

Во всем мире в настоящее время предпринимаются попытки увеличения численности редких и исчезающих видов рыб, обсуждаются методы и принципы их охраны [45-53].

Сохранить отдельно взятый вид или его популяцию невозможно без охраны всей экосистемы в целом. Поэтому одна из первых и самых важных мер спасения редких и исчезающих видов – это сохранение уникальных водных экосистем путем создания заповедников, заказников и национальных парков. В некоторых случаях заповедными могут быть места размножения редких и исчезающих видов, которые послужат своеобразным рефугиумом [54;55].

В настоящее время представляется чрезвычайно актуальным создание в Казахстане специализированных, хорошо оборудованных центров по содержанию (рекреации) редких и исчезающих представителей ихтиофауны, где сохранялся бы их генофонд и отрабатывались бы методические вопросы искусственного разведения. Современным подходом в сохранении исчезающих видов является криоконсервация их генома, или создание низкотемпературных генетических банков, где сперма, икра, гонады и соматические клетки могут храниться в течение длительного времени.

Проблема сохранения особо ценных видов животных не только как единица биоразнообразия, объектов промышленного и любительского лова, но и как носителей генетической информации является особенно актуальной.

Становится очевидным, что в большинстве случаев нельзя ограничиться охраной только определенных видов рыб и их мест обитания, необходимо сохранение экосистем в целом, а также перестройка всех механизмов управления рыболовством и охраны рыб [56]. При этом пренебрежение биологическими особенностями объектов охраны часто приводит к тому, что все усилия оказываются бесполезными, а иногда даже вредными. Особое

внимание необходимо уделять истории становления отдельных видов рыб и их естественных сообществ [57].

1.2.1 Антропогенные и эколого-биологические факторы, влияющие на распространение рыб

Резкое снижение численности многих видов рыб особенно усилилось во второй половине XX века и в большинстве вызвано комплексным воздействием антропогенных и эколого-биологических факторов [55]. Антропогенные, такие как зарегулирование водного стока, загрязнение водоёмов, любительский лов, промысел, браконьерство и другие.

Основной причиной изменений в Арало-Сырдарьинском бассейне является строительство плотин и регулирование стока воды на реке Сырдарья. Например, плотина Кокарал, строительство которой началось в 2005 году и имеет длину 13 километров, была возведена с целью поддержания уровня Малого Арала на отметке 42 метра. Однако, как и другие сооружения, например, плотина Басыкара, не оснащена рыбоходом, что ограничивает возможность рыбы подниматься в реку из моря для нереста.

Попадание огромного количества биогенных элементов, таких как отходы животноводства, канализационные стоки и удобрения, способствует усилению эвтрофикации водоемов. Это приводит к зарастанию водоемов, цветению воды, заиливанию дна и часто вызывает массовые заморы рыбы. В результате этих процессов во многих водоемах происходят изменения поло-возрастной структуре рыб, периодичности нереста, а также полная смена ихтиофауны: длинноциклические и более ценные виды рыб заменяются на короткоциклические, менее ценные [55,58].

Негативное воздействие на ихтиофауну водоемов Казахстана носит комплексный и многофакторный характер, включая проблемы трансграничных рек, загрязнение водоемов, гидростроительство, повышенную рекреационную нагрузку, отсутствие рыбозащитных устройств и браконьерство [59-62]. С учетом указанных проблем становится очевидной необходимость создания ремонтно-маточных стад ценных видов рыб.

1.3 Биogeография и эволюция рода *Luciobarbus*, Heckel 1843

В литературе семейство карповых (Cyprinidae) среди пресноводных рыб представлено 285 родами [63] и около 3200 видами [64].

Таксономическое положение семейства неоднократно пересматривалось, и различные авторы рассматривали его как сложную систему. В частности, Chen и соавторы [65], выделили 10 подсемейств, среди которых 7 были предложены ранее. Автор Howes G.J. [66], классифицировал семейство на подсемейства *Cyprininae*, *Gobioninae*, *Acheliognathinae*, *Leuciscinae*, *Cultrinae*, *Alburninae* и *Rasborinae*. Позднее Cavender T.M. и Coburn M.M. [67], предложили разделить семейство на две основные линии: карповых и ельцовых, а Nelson J.S. и соавторы [68], признали 12 подсемейств, среди которых выделяются *Cyprininae* и *Barbinae*.

Тем не менее, классификация подсемейства *Cyprininae* оставалась предметом множества обсуждений и пересмотров в различных исследованиях [69-76]. В частности, работы Tan M. и Armbruster J.W. [77] предложили разделение семейства карповых на множество семейств, подняв ранг подсемейств, при этом некоторые из них, к примеру, род *Puntius* оказался в неопределённом или спорном статусе *incertae sedis*.

Так, в подсемейство *Barbinae* сем. *Cyprinidae* авторы [77] включают такие роды, как: *Aulopyge* Heckel 1841, *Barbus* Daudin 1805, *Capoeta* Valenciennes 1842, *Cyprinion* Heckel 1843, *Luciobarbus* Heckel 1843, *Scaphiodonichthys* Vinciguerra 1890 и *Semiplotus* Bleeker 1860. В то же время объем подсемейства растет за счет описания новых таксонов – в том числе родового уровня, например, род *Paracapoeta* Turan, Kaya, Aksu & Bektaş 2022 [78].

Род *Luciobarbus* включает рыб среднего и крупного размера, широко распространенных в реках, впадающих в Персидский залив, частично Северной Африки, Средиземного, Черного, Каспийского и Аральского моря [79-81]. Как и многие другие карповые, данный род долгое время входил в состав рода *Barbus*. Первоначально род *Luciobarbus* считался младшим синонимом рода *Barbus* [82]. На основе кладистического анализа качественных остеологических признаков Doadrio I. [83] выделил в роде усачей *Barbus sensu stricto* два подрода: *Barbus* и *Luciobarbus*. Это подразделение на две ветви было дополнительно подтверждено молекулярными данными [83-85]. Как показали исследования Лёвина Б.А. [86], фенетические отношения выборок, образующих два кластера, соответствуют филетической схеме подродов *Barbus* и *Luciobarbus*. Также было установлено [87], что *Barbus sensu stricto* и *Luciobarbus* значительно различаются по пластическим признакам костей черепа. В работах Лёвина Б.А. было выявлено, что меристический признак CSOf (число отверстий в надглазничном сейсмочувствительном канале) также является существенным для различения этих подродов [86], поскольку у видов подрода *Luciobarbus* число отверстий значительно больше, чем у видов подрода *Barbus*.

Последующие морфологические и молекулярные исследования привели к признанию родового уровня [88-92]. Предполагается, что окончательное разделение усачей на две эволюционные линии произошло около 8 млн. лет назад [83], в то время как Tsigenopoulos, C.S. и соавторы оценивают этот процесс как состоявшийся примерно 10,3 млн. лет назад [93], с учётом ранее предложенных оценок скорости мутаций. Согласно калибровке, проведённой Gante H.F., разделение *Barbus* и *Luciobarbus* произошло около 27,6 млн. лет назад [94]. Он также указывает, что самые древние окаменелости *Barbus* и *Luciobarbus* датируются 19,0 млн. лет и 17,7 млн. лет соответственно, и предполагает, что эти данные могут недооценивать реальное время расхождения между этими родами [94]. Оценки дивергенции, представленные в исследованиях Levin B.A. и соавторов, указывает на то, что расхождение между родами произошло в позднем олигоцене, примерно 27 млн. лет назад [95].

Существует вывод о распространении карповых в геологическом времени, который согласуется с классической биогеографической теорией, впервые сформулированной [96], известной как теория расселения на север [97]. Эта теория предполагает, что нынешнее распространение пресноводных рыб в Европе произошло в результате расселения из Юго-Восточной Азии через Восточную Азию в Южную Сибирь, далее в сторону Центральной Европы и Средиземноморье [96;98]. Теория северного расселения подтверждается не только летописью ископаемых костей, но и историческим распространением других позвоночных, а также палеогеография региона. Таким образом, закрытие Тургайского пролива в конце эоцена, несомненно, оказало огромное влияние на распространение биоты и многих наземных организмов [99;100].

Автор Lundberg, J. G. [101] считает, что нынешнее географическое распределение карповых определяется совокупностью исторических изменений, связанных с геологической эволюцией региона, поскольку они являются преимущественно пресноводными рыбами с низкой способностью к расселению и непереносимостью солености [102].

Внутри рода *Luciobarbus* с течением времени были выделены две линии, одна из которых включает виды *Luciobarbus* с Пиренейского полуострова, а вторая состоит из остальных видов этого рода, в который входят североафриканские и восточные виды [82;86-89]. Текущие систематические знания об этом роде основаны на нескольких ревизиях с использованием морфологических, остеологических и молекулярных подходов, при этом к настоящему времени описано 47 видов [31; 103-108].

1.3.1 Ареал рода *Luciobarbus* в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна

В водоемах, на территории Казахстана встречается два вида усачей рода *Luciobarbus*: аральский усач *Luciobarbus brachycephalus* Kessler, 1872 и усач булат-маи *Luciobarbus capito* Güldenstädt, 1773, которые относятся к понтокаспийскому пресноводному фаунистическому комплексу и имеют в значительной мере совпадающие ареалы [35;110;111]. Аральский усач *L. brachycephalus* представлен двумя подвидами: каспийским *L. brachycephalus caspius* Berg в бассейне Каспия и номинативным в бассейне Арала *L. brachycephalus brachycephalus* Kessler. Усач булат-маи *L. capito* также представлен двумя подвидами: номинативным *L. capito capito* в южной части Каспия, не встречаясь в казахстанской, и в бассейне Аральского моря как туркестанский усач *L. capito conocephalus* Kessler [110].

На карте отмечено условное расселение усачей в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна (рисунок 1).

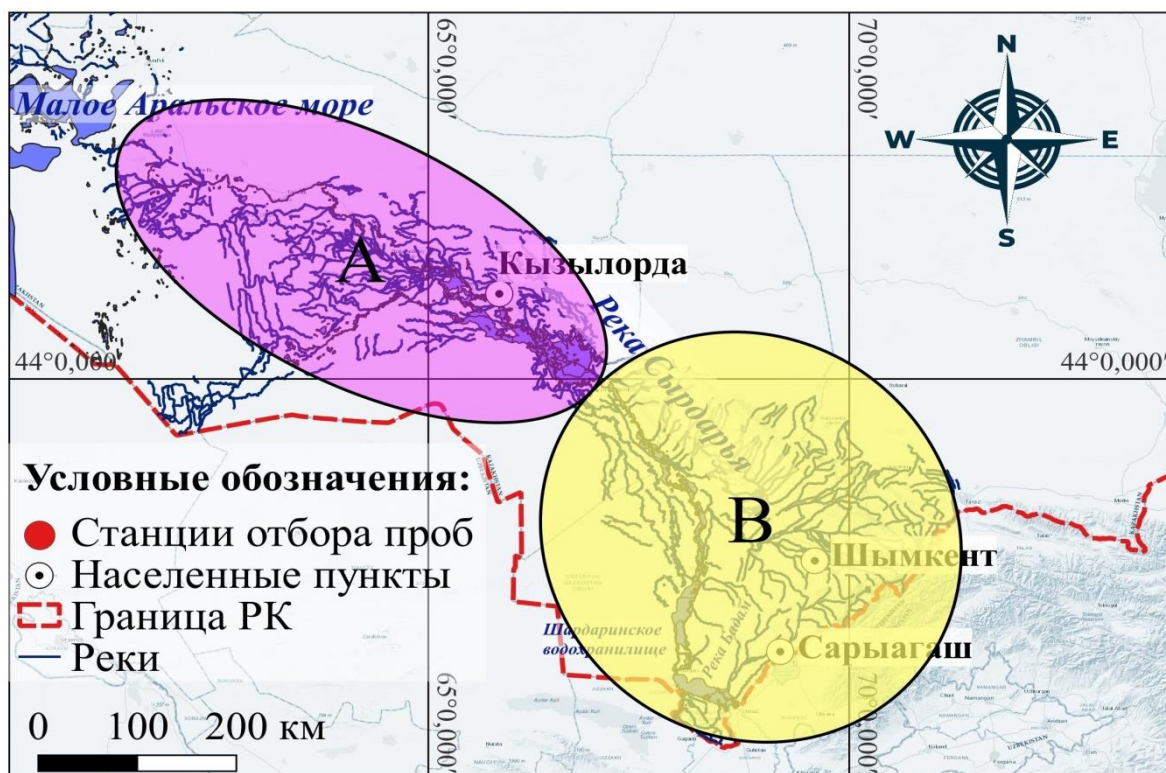


Рисунок 1 - Распространение аральского усача *L. brachycephalus* (А) и туркестанского усача *L. conocephalus* (В).

В настоящее время в международных базах данных [63;110;112] таксономии рыб не рассматриваются подвиды рыб, в том числе и усачей *L. brachycephalus brachycephalus*; *L. brachycephalus caspius*; *L. capito conocephalus*. Следовательно, необходимо уточнение актуальной информации в таксономии данного рода.

1.4 Современные условия обитания и численность усачей Арало-Сырдарьинского бассейна

В прошлом усачи - ценные промысловые виды Аральского моря и реки Сырдарьи, но сегодня занесены в Красную Книгу Казахстана. В связи с этим, исследования современного их состояния крайне ограничены, как в связи с их малочисленностью, так и по причине специального биологического разрешения на отлов.

Огромное негативное влияние на размножение популяции усачей оказало зарегулирование стока рек Сырдарьи и Амударьи, впоследствии это привело к серьезному нарушению естественного воспроизводства и катастрофического сокращения численности. В работе Jiang H., [112] описано, что популяция *L. brachycephalus* сократилась как минимум на 30% за последние 30 лет. Эти виды были занесены МСОП (IUCN) в IUCN Red list, где имеют охранные статусы *Endangered* (находящийся под угрозой исчезновения) и *Vulnerable* (уязвимые) [34;113]. Усачи включены также в Красную книгу РК [35], где одним из предложений по исследованию является уточнение систематического

положения в роде *Luciobarbus*. По литературным данным, вопрос об уточнении систематики рода до сих пор также является актуальным [35;109] и требует проведения молекулярно-генетического анализа.

Усачи морфологически очень сходны, различаясь лишь по нескольким признакам. Ранее, при совпадении ареалов, основой их разделения служили особенности экологии обитания и образа жизни (проходные и жилые формы) [109]. Согласно изданию Красной книги РК 2010 года, типичная проходная форма находилась на грани исчезновения, в то время как численность туводной формы повсеместно резко сокращалась [35]. В течение последних 15 лет данные о проходной форме отсутствуют.

Систематическое положение, таксономический ранг и родственные Арало-Сырдарьинской популяции в нескольких работах этой группы проводили исключительно сравнительно-морфологическим методом; при этом результаты исследований разных авторов зачастую существенно различаются [114-118].

Колоссальное негативное влияние на размножение аральской популяции усачей оказало зарегулирование стока рек Сырдарьи и Амударьи, повлекшее за собой падение уровня моря, гибель молоди в ирригационных системах, резорбцию половых продуктов рыб в связи с большим отбором воды на орошение. Все вышеперечисленное привело к катастрофическому сокращению численности усачей и серьезному нарушению естественного воспроизводства. Плотины без рыбоходов преградили усачу пути к традиционным нерестилищам [119].

В море усач встречался повсеместно, особенно в прибрежье, встречался в Сырдарье - как в самой реке и ее притоках, так и в Шардаринском вдхр. [109]. Также нужно отметить, что в 1930-1931 годах аральский усач из низовьев Сырдарьи был вселен в реку Иле (бассейн Балхаша) в районе нынешнего города Конаев, затем было выпущено более 18 тысяч сеголетков и двухлетков. В первые годы после вселения усач изредка встречался в уловах, но затем до 1949 года вовсе не был обнаружен, что позволило предположить неудачу акклиматизации. В дальнейшем на различных участках вновь стал попадаться разновозрастной усач [120-123]. В низовье реки Иле в начале 1980-х годов нерестовое стадо насчитывало около 3 тысяч экземпляров [123]. В реке Иле выше вдхр. Капшагай в 1991-1993 гг. подростный усач не отмечался, а его ранняя молодь в пробах была единична [124].

Туркестанский усач *Luciobarbus conocephalus* населяет водоемы бассейна Арала, но в отличие от аральского усача, является типично жилой, пресноводной формой, не совершающих миграций на далекие расстояния [116]. В Аральском море встречался преимущественно в прибрежных опресненных участках и был вовсе редок [116]. Туркестанский усач живет небольшими группами или одиночно и образует скопления лишь в нерестовый период. Был отмечен в равнинных участках рек Сырдарьи и Чу, сбросных и магистральных каналах ирригационных систем, а также в пойменных озерах [125;126]. Казахская часть ареала включает бассейн Сырдарьи от Шардаринского

вдхр. до низовьев, в том числе бассейны рек, стекающих с юго-западных склонов хребта Каратау (Арыс, Боген) [109]. В отчетах экспедиций в реке Арыс, также были отмечены наличие двух этих видов.

До зарегулирования стока реки Сырдарьи основными факторами, влиявшими на изменение численности аральского усача, были величина и характер стока рек, от чего в значительной степени зависели условия захода в реку производителей и ската молоди в море [127]. Гидромелиоративное строительство на реках бассейна, повлекшее за собой расчленение рек на участки, сокращение их стока и падение уровня, снижение скорости течения, уменьшение мутности привело к серьезному нарушению естественного воспроизводства усача. Огромное количество молоди усача погибло в ирригационных системах, поскольку скат совпадал по времени с наибольшими отборами воды из рек на орошение полей. Перекрытие Сырдарьи Казалинской плотиной окончательно подорвало естественное размножение проходного аральского усача [128-136].

Согласно архивным материалам, добывался аральский усач в Аральском море круглый год, но в основном (около 90% всего вылова) в период массовый нерестовой миграции к дельтам рек. Концентрация его на сравнительно небольших участках и на довольно длительный срок (до 3 месяцев) создавала благоприятные возможности для промысла.

Средние уловы аральского усача в Арале по десятилетиям составляют:

- 1930-1939 гг. – 1140 тонн;
- 1940-1949 гг. – 812 тонн;
- 1950-1959 гг. – 870 тонн;
- 1960-1969 гг. – 870 тонн;
- 1970-1979 гг. – 326 тонн [137].

Уже в середине 1960-х годов в связи с зарегулированием стока реки Сырдарьи возникла проблема сохранения запасов аральского усача. Более того катастрофическое падение уровня Аральского моря и вызванное этим повышенная минерализация привели к тому, что к началу 1980-х годов оба вида - аральский и туркестанский усачи - перестали обитать в самом море [138].

1.4.1 Распространение усачей в ирригационных сетях рисоводческих хозяйств Кармакшинского района Кызылординской области

В ирригационной сети рисоводческих хозяйств Кармакшинского района Кызылординской области в 2003 году Балымбетовым К.С. и соавторами [139] было отловлено и промерено более 300 экземпляров молоди усачей *Luciobarbus* spp., преимущественно сеголеток, размером от 4 до 16 см и массой от 3 до 45 г. Эта молодь была впоследствии выпущена в пруды Аманоткельского рыбхоза для формирования маточного стада.

В том же году биоморфологическому анализу подверглись 43 особи, из которых 25 были отнесены к подвиду аральский усач, а 18 - к подвиду туркестанский усач [138].

Согласно данным Мамилова Н.Ш. и соавторов [138], в бассейне Сырдарьи имеются районы, где усачи достигают значительной численности, особенно в ирригационных системах рисоводческих хозяйств Кызылординской области. В период с мая по июль усач широко распространяется по каналам, когда вода поступает в ирригационную сеть в достаточном количестве. Годовики и старшие возрастные группы в большом количестве заходят в мелкие водоводы и на рисовые поля, покидая магистральный канал. В то же время в оросительные каналы и на поля пассивно выносятся пелагическая икра и личинки этих видов. С уменьшением расхода воды в августе-сентябре, когда вода стремится выйти из ирригационных систем в Сырдарью, усачи поднимаются вверх по каналам.

Однако наличие на каналах гидротехнических сооружений препятствует свободному выходу рыб из каналов в реку. Эта миграция становится особенно проблематичной при резком снижении притока воды. Огромное количество молоди усача остается в мелких и магистральных оросительных каналах, рисовых полях, сбросных водоемах. Отмечается, что часть молоди усача во время сбрасывания воды успевает подняться через оросительные каналы в реку, либо уходить в сбросные каналы [103].

Для проведения рыбоводных работ в августе и сентябре 2003 г, с разрешения Кызылординского областного территориального управления Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан была организована экспедиция для изучения и возможности отлова молоди усачей из пересыхающих ирригационных систем рисоводческих хозяйств Кармашинского района Кызылординской области. Группой было обследовано озеро, образованное дренажными водами сбросных каналов в окрестностях поселка Акжар и 11 точек на водоподающей и водосбросной ирригационной сети рисоводческих хозяйств. В ирригационной сети было отловлено 4 экземпляра аральского и 4 экземпляра туркестанского усачей, размером от 4 до 12 см. Облов каналов в августе 2003 года был затруднен высоким уровнем воды, и поздним началом осушения каналов. На нескольких участках рисоводческих хозяйств (Простое товарищество «Бекенов и КО», ПТ «Оразахун», ПТ «III – Интернационал, ПТ «III - Интернационал» и ПТ «Достык и Ко» и ТОО «Жусалы») было отловлено и промеряно 322 экземпляра молоди усачей *Luciobarbus* spp. Доля усачей *Luciobarbus* spp. по подсчетам авторов в общем количестве учтенной рыбы составила около 0.59 %. Размеры молоди усачей *Luciobarbus* spp. колебались от 6.0 до 16.0 см, масса - от 3.0 до 45.0 г, при средних показателях - 10.7 см и 16,3 г соответственно. Несколько экземпляров были переданы на кафедру зоологии и ихтиологии Казахского Национального Университета им. аль-Фараби для дальнейшего исследования [138].

Весной 2005 г. в устье р. Сырдарья сотрудниками Аральского филиала Казахского научно-исследовательского института рыбного хозяйства было отловлено и исследовано 17 особей взрослых усачей, морфологически отнесенных к аральскому усачу. Их длина без хвостового плавника составляла

в среднем 44,3 см, а масса 1236 граммов. По половой принадлежности самок было вдвое больше, чем самцов, а возраст колебался от 3 до 7 полных лет [119].

В ирригационных каналах Кызылординского гидроузла в 2006 году, ближе к головной части было обнаружено несколько экземпляров усачей *Luciobarbus* spp. При обследовании ирригационных каналов Кармакшинского района на рисоводческих хозяйствах около поселка Жусалы удалось также обнаружить усачей *Luciobarbus* spp. Предполагалось, что в ирригационной системе молодь усачей может быть представлена только сеголетками, которые, вероятно, выросли из пассивно скатившейся через водозаборы икры. Однако в сборах разных лет встречались двухлетки и трехлетки. Это, вероятно, связано с тем, что в ирригационную систему попадает не только икра, но и молодые рыбы, а также с тем, что часть рыб, попавших в рисовые чеки, могла перезимовать в коллекторах, если не промерзли зимой, или в ямах по трассе каналов. Вместе с тем среди исследованных рыб отмечены особи с морфопатологическими изменениями в органах. Авторы предполагают, что это может быть результатом устойчивости отдельных экземпляров к действию неблагоприятных факторов или смещения в ирригационной системе особей из относительно благополучных и сильно загрязненных участков бассейна [138].

Работы по отлову молоди аральского усача в рисовых чеках Кармакшинского района Кызылординской области проводились в ТОО «Баубек-Баба». Спасенная молодь аральского усача, отловленная в рисовых чеках, показана на рисунке 2 (А), выпуск спасенной молоди (Б) был осуществлен в низовье реки Сырдарьи.



А - лов молоди из рисовых чеков;

Б - выпуск спасенной молоди

Рисунок 2 – Лов и выпуск молоди аральского усача из рисовых чеков [140]

Отлов молоди усачей в коллекторах оросительных сетей Кызылординской области и выпуск ее в естественные водоемы не обеспечивает восстановления численности природных популяций, коэффициент промыслового возврата от выпуска такой молоди ничтожно мал. В связи с этим существует острая необходимость зарыбления водоемов более крупной

молодь, способной быстро выйти из-под пресса хищных рыб и способствовать образованию локальных популяций. Одним из необходимых этапов является проведение эколого-генетического мониторинга РМС и выпускаемой молоди.

1.5 Биологические особенности усачей Арало-Сырдарьинского бассейна

Усачи в среднем половой зрелости достигают в 5-8 лет. Массовое созревание самок происходит в возрасте 7-8, самцов 6-7 лет. По достижении половой зрелости, после нагула в море, аральский усач, поднимаясь по рекам, совершал нерестовые миграции. Нерестовые скопления в море перед миграцией в реки начинались при температуре воды около 16°C. К предустьевым пространствам миграции состоялись в марте или начале апреля. Массовые, достаточно выраженные миграции усача в реки обычно отмечались в июне или августе. В реках усачи зимуют, а весной, с наступлением нерестовой температуры, начинают нереститься. Основная масса самок, достигнув половой зрелости, нерестится раз в два года, хотя иногда наблюдается ежегодный нерест. Это определяется скоростью накопления необходимых питательных веществ и энергии. Нерест усачей порционный, происходит в русле рек, на участках за песчаными косами или островами с твердым дном, глубиной 1-2,5 м и с течением, хорошо выраженным, но не быстрым (обычно до 0,5 м/с). В конце апреля - начале мая, при температуре воды 17-18°C, усач начинает нереститься в Сырдарье. Икрометание продолжается все лето, но наиболее интенсивно оно проходит при температуре 20-23°C. Нерест усача происходит в ночное время. Половые продукты вымечаются в толще воды, где и происходит оплодотворение [109].

В Аральском море промысел усача обычно основывался на возрастных группах от 5+ до 8+, которые составляли около 80% от общего улова [137]. Максимальный возраст аральского усача, зарегистрированный в Казахстане, составил 22 года. Самка такого возраста была выловлена в 1959 году в реке Сырдарья у города Кызылорда [141]. Объемы уловов усача в 1950- годах приравнивались уловам воблы, занимавшей на Арале одно из первых мест по объему промысла.

В литературе почти нет никаких сведений о биологии туркестанского усача из Аральского моря. Почти все имеющиеся публикации посвящены усачу рек и водохранилищ соседних среднеазиатских республик. В пределах Казахстана есть некоторые материалы по Шардаринскому водхр. [142; 143], Богеньскому [144], рекам Боген [145] и Чу [146]. Сроки достижения половозрелости у туркестанского усача растянуты. Так, в разных водоемах он впервые нерестится, достигнув возраста 2-7 лет, а основная масса рыб в 4-6 лет. Самцы обычно созревают на год раньше самок и в дальнейшем нерестятся не ежегодно, а через 2-3 года [126; 146-148]. Противоречивы и сведения о характере и местах нереста туркестанского усача. Некоторые авторы [148-150] предполагают, что эта рыба мечет икру в реках на течении с песчано-

каменистым грунтом, другие [151;152] утверждают, что она нерестится в среднеазиатских водохранилищах.

В литературе встречаются сведения о том, что плодовитость аральского усача значительно выше, чем у туркестанского [153]. Максимальный возраст туркестанского усача в Богеньском вдхр. был отмечен Кузнецовой В.М., как 10+ лет [154].

На территории Южно-Казахстанской области протекает река Арыс – основной приток р. Сырдарьи в пределах Казахстана. Это зарегулированный водоток. Значительная часть стока в среднем течении через Арыс-Туркестанский канал используется для орошения сельскохозяйственных полей. В нижнем течении река Арыс зарегулирована Шаульдерской гидроэлектростанцией, что также оказывает существенное влияние на условия обитания ихтиофауны. В верхнем течении основу ихтиофауны составляет туркестанский усач [114]. Скот молоди рыб на ранних стадиях развития, возможен на всем протяжении реки, а миграции - связанные с питанием и нерестовые, возможны только на локальных участках. В районе впадения реки Бадам и вниз по течению на расстоянии до 15 км отмечались высокие концентрации туркестанского усача. В большинстве популяция туркестанского усача представлена особями длиной 25-40 см и весом от 300 до 1200 г. Концентрации усача в р. Арысь в районе впадения р. Бадам составляют от 8 до 31 шт. на один километр. Наибольшее разнообразие видового состава ихтиофауны наблюдается в нижнем течении реки Арыс, ниже Шаульдерской ГЭС. В этом участке, где русло реки до впадения в реку Сырдарью не зарегулировано, обитают как аральский, так и туркестанский усачи. Однако численность туркестанского усача здесь ниже, чем аральского [114].

В ходе полевой экспедиции летом 2011 г. [155] сотрудниками Научно-производственного центра рыбного хозяйства было промерено 30 особей усача из числа спасенной молоди ТОО «Баубек-Баба» из рисовых чеков Кармакшинского района.

Длина промеренных особей усачей *Luciobarbus* spp. без хвостового плавника в среднем составляла 11,2 см, а масса тела — 34,4 г. Кроме того, в 2015 году, ниже Айтекской плотины (Кызылординская область) в Сырдарье на ставные сети с ячейками размером 40-70 мм отловлены 16 особей аральского усача. У выловленных рыб измеряли длину и массу, отбирали чешую для определения возраста и, не травмируя, выпускали обратно в реку. Стандартная длина рыб в среднем составила - 38,06 см, а масса в среднем 698 г. В категории возрастного состава аральского усача были зарегистрированы особи возраста 5+. Анализируя возрастной состав и размерно-весовые показатели аральских усачей, выловленных ниже Айтекской плотины в р. Сырдарья, было предположено, что эти особи аральского усача принадлежат туводной форме, особи которых видимо постоянно обитают и размножаются там же [155].

Таким образом, на основании литературных источников и полевых наблюдений сотрудников Научно-производственного центра рыбного хозяйства можно предположить, что в низовьях реки Сырдарья, вероятно,

сохранились небольшие самовоспроизводящиеся популяции аральского и туркестанского усачей.

1.6 Полиплоидия у рыб и роль в видообразовании

Установлено, что кариотипы некоторых рыб характеризуются большим количеством хромосом. Разные виды различаются по структуре и форме хромосом [156;157]. В процессе эволюции наблюдались существенные преобразования кариотипов, которые приводили как к уменьшению, так и к значительному увеличению числа хромосом. Большая изменчивость по кариотипам объясняется тем, что рыбы представляют собой древнюю, очень гетерогенную группу животных, эволюция которых длится несколько сотен миллионов лет [158].

Подсемейство Cyprininae включает около 400 близкородственных полиплоидных видов [85; 159]. Большинство полиплоидов в этом семействе являются либо тетраплоидами ($2n=100$), либо гексаплоидами ($2n=150$) [160;161], к примеру, диплоидный набор ($2n$) тетраплоидного аральского усача состоит из 24 метацентрических, 46 субметасубтело - и 30 акроцентрических хромосом [162].

Полиплоидия у рыб связана с такими признаками, как длительность жизни, быстрый темп роста, большие размеры тела и приспособляемость к окружающей среде [163;164]. В работе Van de Peer. и соавторов [165] предполагается, роль полиплоидии велика в быстрой адаптации и в устойчивости к стрессовым условиям.

Полиплоидия у карповых рыб проявляет явный адаптивный потенциал, способствуя повышенной устойчивости к изменениям окружающей среды и увеличению видового разнообразия, что также подтверждается исследованиями Li, X. и Guo, B. [166], в которых рассматривается эволюционное значение полиплоидизации.

Экологическое видообразование у гексаплоидных африканских усачей рода *Labeobarbus* было продемонстрировано в исследованиях Levin B. и соавторов [167], где шесть пар симпатрических экоморф с одинаково дивергентными фенотипами находились на разных стадиях экологической и генетической дифференциации, что подтверждает сложность процессов видообразования и адаптивной дивергенции в этих популяциях.

Полиплоидия возникла независимо у различных отрядов рыб. Отряд карпообразных Cypriniformes является отрядом рыб с наиболее высоким количеством полиплоидных видов [168]. Интрогрессия и гибридизация обычны для пресноводных рыб, в частности для семейства карповые, в нем отмечаются различные уровни пloidности [87; 169;170]. К примеру, среди семейства карповых род *Barbus sensu lato* характеризуется как необычайно богатая видами группа. Для этой группы было предложено, по крайней мере, три события полиплоидизации, и тетраплоидия, по-видимому, возникла независимо в двух случаях от предкового диплоидного состояния, тогда как гексаплоиды, по-видимому, были монофилетическими [171]. В этом отношении, другие роды

появляются как сестринские группы некоторых монофилетических групп усачей, позволяет предположить, что гексаплоиды могли возникнуть в результате аллополиплоидии [87; 172]. Исследование гена в мтДНК, кодирующего цитохром *b*, у двадцати видов показало, что азиатские храмули — монофилетичная группа, возникшая, вероятно, путём аллополиплоидизации от тетраплоидных ($2n=100$) евразийских усачей рода *Luciobarbus* Heckel 1843 в среднем миоцене около 14 млн. лет назад [173]. Эволюционно аллотетраплоидное состояние *Luciobarbus* было обнаружено Chenuil A. и соавторами [174].

Роль полиплоидии в видообразовании и диверсификации внутри африканских усачей рода *Labeobarbus* аллополиплоидного происхождения была изучена в работе Levin B. и соавторов [175], где авторы выявили четыре независимые эволюционные радиации, обнаруженные в географически изолированных реках, происходящих от разных предковых популяций и демонстрирующие сходные полиморфизмы строения ротового аппарата.

1.7 Применение молекулярно-генетического анализа для изучения вопросов филогенетики рыб

Изучение систематики и таксономического состава пресноводных рыб имеют большое практическое значение, поскольку достаточное количество таких данных способствует сохранению уникальных видов и в целом биоразнообразия [176;177]. Как правило, идентификация и таксономия видов рыб традиционно основываются на морфометрических и меристических характеристиках, таких как форма тела, количество лучей плавников или чешуй в боковой линии, а также на других признаках. Тем не менее, морфологические признаки не всегда стабильны на разных стадиях развития и часто не поддаются оценке. Кроме того, сходная морфология, возникающая вследствие параллелизмов или конвергенции, может вовсе затруднить определение видов рыб и оставить вопрос открытым для решения другими методами [178].

Соответственно исследования видовой принадлежности рыб требуют высокого уровня точности. Поэтому, морфологические методы в изучении таксономии видов должны дополняться молекулярными подходами. Большинство запутанных вопросов таксономии рыб, структуры вида и внутривидовой изменчивости не могут быть решены с использованием традиционных морфологических методов и индикаторных признаков [179-181]. Кроме того, данные на основе маркеров мтДНК имеют ряд преимуществ перед морфологическими подходами. Во-первых, идентификация видов не требует полноразмерных экземпляров. Во-вторых, ДНК более стабильна, чем морфологические признаки. В-третьих, возможность различить некоторые виды со сходной морфологией, такие как близкородственные виды. В-четвертых, ДНК неизменна на всех стадиях развития организма, благодаря чему идентификация видов возможна на любой стадии развития — от икринки до взрослой особи.

На сегодняшний день существует множество молекулярных методов для изучения диких популяций рыб и искусственно выращиваемых [182].

В основном, в филогенетических исследованиях используются маркеры митохондриальной и ядерной ДНК, как указано в ряде обзоров [183-187].

Молекулярно-генетические маркеры ДНК можно разделить на два класса: ядерные и митохондриальные [188]. Маркеры ядерной ДНК, такие как микросателлиты имеют бипарентальное наследование. Маркеры митохондриальной ДНК наследуются только по материнской линии, демонстрируя высокий уровень мутаций, и не рекомбинируют [189]. Из-за полной дупликации генома большинство молекулярных исследований были основаны на аллозимном электрофорезе, митохондриальной ДНК, и реже на микросателлитах [83; 85; 92; 177; 190-195].

В контексте филогеографических исследований усачей их огромное генетическое разнообразие представляет собой очень интересную модель для изучения. Поскольку род *Luciobarbus* является аллополиплоидным, тетраплоидом, образовавшимся в результате древней гибридизации [173], использование ядерных маркеров для их изучения представляется весьма оправданным. Для сохранения генетических ресурсов усачей необходимы исследования их генетической дифференциации и структуры популяции.

1.7.1 Применение ядерных маркеров ДНК

В последние три десятилетия микросателлиты, представляющие собой последовательности, состоящие из коротких повторяющихся элементов (1–6 пар нуклеотидов), приобрели наибольшее распространение в популяционно-генетических исследованиях рыб. Эти маркеры характеризуются высоким уровнем аллельного полиморфизма, что делает их одним из оптимальных инструментов для анализа генетического разнообразия популяций [196-198].

Микросателлиты, вне зависимости от вида, могут сохранять свои свойства высоко-полиморфных генетических маркеров. В свою очередь, полиморфизм одних и тех же локусов в зависимости от вида может отличаться – вплоть до того, что локус, проявляющий высокий уровень полиморфизма у одного вида, может быть мономорфным у другого, даже филогенетически близкого вида. Именно эти регионы ДНК, не находящиеся под давлением отбора, эволюционируя, постепенно накапливают наследуемые в потомстве дифференциальные признаки, анализ которых позволяет проводить межвидовую и внутривидовую идентификацию [196-200].

Некоторые микросателлитные локусы имеют очень большое количество аллелей на локус (> 20), что делает их очень полезными для применения в идентификации родитель-потомок в смешанных популяциях, в то время как другие имеют меньшее количество аллелей и могут быть более подходящим для анализа популяционной генетики и филогенеза [201;202].

Недостатком микросателлитного анализа является то, что он требует больших усилий, времени и затрат на создание панели, секвенирование и ПЦР-анализ праймеров; в дополнение к этому, микросателлиты могут

сопровождаться неспецифическим продуктами [196]. Микросателлиты могут амплифицироваться не только у тех видов, у которых они были идентифицированы, но и у других филогенетически близких видов. Характеристика и апробация большого количества микросателлитов для поиска подходящих локусов является утомительной и напряженной задачей [198].

1.7.2 Применение митохондриальных маркеров ДНК

Анализ изменчивости мтДНК является одним из популярных методов изучения популяционной генетики рыб [203;204]. Работа с митохондриальным геномом удобна благодаря некоторым его особенностям: большое количество копий на одну клетку, гаплоидность, отсутствие рекомбинаций, высокая скорость нуклеотидных замен по сравнению с большинством ядерных маркеров, наследуемость по материнской линии [205]. Маркеры мтДНК пользуются успехом во многих генетических исследованиях, призванных ответить на вопросы филогении и структуры популяций рыб и в отдельных случаях могут детектировать гибридизацию и интрогрессию, а также важны для целей видовой идентификации и часто используются в программах по сохранению и восстановлению видов [206].

Митохондриальный ген цитохрома *b* (*cytb*) широко используется в систематических исследованиях для разрешения дивергенций на многих таксономических уровнях в качестве молекулярного маркера для определения филогенетического родства [83; 207-217]. После коррекции и выравнивания полная последовательность *cytb* обычно составляет 1140 п.о [218]. Ген *cytb* содержит как медленно, так и быстро эволюционирующие позиции кодонов, а также более и менее консервативные участки [207]. В целом, данный маркер мтДНК неплохо зарекомендовал себя и для целей генетической идентификации. Однако, отметим, что наиболее популярным для целей видовой идентификации животных является так называемый штрих-кодовый участок другого гена мтДНК - первая субъединица цитохромоксидазы с (*COI*), состоящий примерно из 650 п.о. [219].

Наряду с этим, мтДНК обладает и рядом ограничений. Например, из-за своей клональной наследуемости филогеография и филогения, реконструируемые по маркерам мтДНК, отражают лишь материнскую генетическую линию, не учитывая отцовскую. Это может привести к получению недостаточных данных о генетической идентичности и структуре популяций. В связи с этим, в данной работе использовали также маркеры яДНК.

1.7.3 Комплексный анализ ядерных и митохондриальных маркеров

Полиплоидность и сравнительно медленная скорость эволюции структурных генов рыб не позволяют отдать предпочтение одному виду ДНК-маркеров. Для увеличения достоверности результатов генетической дифференциации часто используют ядерные и митохондриальные маркеры в комплексе [220].

Важно отметить, что хотя и существует тенденция к совпадению между результатами митохондриальных и ядерных маркеров в филогенетических и филогеографических исследованиях, результаты по ним не всегда соответствуют друг другу [221-223]. Из-за гаплоидности митохондриального генома, наследственные полиморфизмы теряются быстрее, чем в ядерном геноме [221]. Это особенно важно для аллополиплоидных организмов, таких как род *Luciobarbus* [224], чей геном состоит из двух (или более) субгеномов.

Исследования, которые полагаются исключительно на митохондриальную ДНК для определения филогенетических отношений и филогеографии, иногда могут отражать не истинные отношения между таксонами, а лишь матрилинеальные. По этой причине, когда это возможно, в эти исследования следует включать и ядерные маркеры. Нашей целью было впервые использовать нейтральные ядерные маркеры, такие как микросателлиты, чтобы попытаться решить филогеографию рыб рода *Luciobarbus* Арало-Сырдарьинского бассейна, мотивируя это запутанностью в систематике усачей Казахстана и отсутствием генетических данных.

1.8 Генетическая паспортизация ремонтно-маточного стада в аквакультуре

В настоящее время распространена практика искусственного выращивания и одомашнивания рыб. Следовательно, необходимо применение наиболее совершенных способов мониторинга генетических процессов, протекающих в искусственно воспроизводимых популяциях и стадах рыб. Результаты молекулярно-генетических анализов должны ложиться в основу подбора пар производителей для скрещивания, селекции и получения жизнестойкого потомства с наименьшим отходом на стадиях развития и выращивания [225].

Молекулярно-генетические исследования рыб позволят достоверно определить таксономическую принадлежность каждой особи и составить индивидуальные генетические паспорта. Основным показателем в генетическом паспорте являются микросателлитные маркеры, определяющие индивидуальность каждой особи, что важно для подбора пар производителей при скрещивании для получения эффекта гетерозиса, повышения выживаемости личинок и мальков рыб и, соответственно, повышения качества выращивания [226].

Современные методы, такие как манипуляции, с полом и хромосомным набором, криоконсервация гамет, трансгенез, геномное картирование и использование ДНК-маркеров, перешли от стадии экспериментов к практике и могут быть успешно внедрены в программы разведения в аквакультуре [227].

Выращивание аквакультурных видов в зонах обитания диких популяций может привести к непроизвольной гибридизации. Отсутствие признаков, адаптированных к локальным природным условиям, способствует деградации природных популяций [228]. Генетические методы позволяют оценивать

влияние искусственно воспроизводимых линий и пород на приспособленность в природных популяциях [229].

Популяции усачей обоих видов в Арало-Сырдарьинском бассейне катастрофически сокращаются, вероятно, в будущем эти популяции будут поддерживаться в основном за счет искусственного воспроизводства, как это происходит с некоторыми видами рыб семейства Осетровые (Acipenseridae), обитающих в р. Жайык. Отметим, что редкие виды отряда Осетрообразные (Acipenseriformes), для которых не была реализована программа искусственного воспроизводства, фактически вымерли. Например, сырдарьинский лжеопатонос *Pseudoscaphirhynchus fedtschenkoi* не был зарегистрирован с 1960-х годов и считается вымершим как в природе, так и в неволе [230]. Также поиски китайского веслоноса *Psephurus gladius*, одной из крупнейших пресноводных рыб в мире и эндемика бассейна реки Янцзы, не дали положительных результатов [231].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы исследований

Выборки охватывают большую часть известного ареала распространения обоих видов усачей в пределах РК. Все пробы собраны при наличии соответствующих разрешений (биологическое обоснование на изъятие аральского усача *L. brachycephalus* в научных целях из Арало-Сырдарьинского бассейна для формирования ремонтного стада и их последующего искусственного воспроизводства) от Комитета рыбного хозяйства Министерства экологии и природных ресурсов Республики Казахстан.

Отлов усачей проводили в летне-осенний период 2022 года в Кызылординской и Туркестанской областях на пяти станциях, расположенных в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна (таблица 1).

Таблица 1 – Станции сбора материала

№	Станция	Вид	n=81	Координаты	
1	с. Байыркум (Туркестанская обл.)	<i>L. brachycephalus</i>	7	42° 7' 32.4"N	68° 8' 55.7"E
2	Гидроузел в г. Кызылорда	<i>L. brachycephalus</i>	21	44° 57' 20.9"N	65° 19' 32.6"E
		<i>L. conocephalus</i>	2		
3	с. Басыкара (Кызылординская обл.)	<i>L. brachycephalus</i>	25	45° 45' 29.9"N	62° 19' 31.6"E
4	Рисовые чеки (с. Интернационал, Кызылординская обл.)	<i>L. brachycephalus</i>	22	45° 16' 31.4"N	64° 14' 27.0"E
		<i>L. conocephalus</i>	2		
5	р. Бадам (Туркестанская обл.)	<i>L. conocephalus</i>	2	42° 14' 45.8" N	69° 45' 48.0" E

Согласно данным уловов, количество особей сокращается вверх по течению р. Сырдарья. Так, если в пределах Кызылординской области близ г. Кызылорда, гидроосоружения Басыкара и рисовые чеки количество особей варьировала от 21-25, то на территории Туркестанской области близ с. Байыркум и в р. Бадам отмечено от 2-7 экземпляров.

На карте нанесены точки сбора материала в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна, где локальности обозначены цифрами: 1-5 (рисунок 3).



Рисунок 3 - Станции сбора материала в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна

Отлов выполнен капроновыми ставными и сплавными сетями с ячейей от 40 до 80 мм, толщина нити в пределах от 0,55 мм до 1,0 мм. Проверку ставных сетей выполняли через каждые 1,5-2 часа. Для сбора рыб на берегу водоема устанавливали садки. Объем садков составлял 1х0,8х0,8 м, размер ячеей 5х5 мм (фотографии приведены в приложении А., рис.А.3).

В период научно-исследовательских работ на рисовых чеках Кармакшинского района Кызылординской области (Приложение А., рис. А.1-А.6) и во время проведения мелиоративных работ по спасению молоди, для последующего биологического и морфологического анализов зафиксировано 30 экз. молоди усачей *Luciobarbus* spp. (рисунок 4) в растворе 4% нейтрального формальдегида.



Рисунок 4 – Отлов молоди усачей *Luciobarbus* spp. из рисовых чеков Кызылординской области

В качестве ваучерных образцов зафиксированы четыре особи *L. brachycephalus* в 4% растворе формальдегида и находится в коллекциях лаборатории генетики гидробионтов «Научно-производственный центр рыбного хозяйства» РК. Фрагменты плавников и один ваучерный образец депонированы в коллекцию биобанка Национального музея естественных наук (MNCN-CSIC) (Мадрид, Испания).

2.1.1 Отбор половозрелых особей для формирования ремонтно-маточного стада

После отлова неполовозрелых особей выпускали живыми обратно в реку. Потенциально половозрелых рыб транспортировали в живорыбных емкостях Аральского филиала ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства» для формирования ремонтного стада методом доместикации и искусственного воспроизводства в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник».

Особей *L. brachycephalus* помещали в пластиковую бочку с водой объемом 50 л, плотно закрывавшуюся сверху крышкой, при этом бочки доверху заполняли водой с подачей кислорода. В одну бочку помещали одновременно до трёх особей общей массой до 5 кг.

Транспортировка продолжалась от полутора до двух часов. В рыбоводном хозяйстве особей усачей подсаживали в бассейны системы оборотного водоснабжения, расположенной в инкубационном цехе (рисунок 5).



Рисунок 5 - Посадка отобранных усачей для адаптации в бассейновых условиях [140]

2.1.2 Краткая характеристика рыбоводного хозяйства

Эксперименты по искусственному воспроизводству аральского усача в Арало-Сырдарьинском бассейне проводятся на базе РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник».

Рыбопитомник оснащен соответствующим технологическим оборудованием и сооружениями для содержания производителей осетровых рыб, получения и инкубации икры и выращивания личинок. Разведением осетровых и зарыблением их молодь Аральского моря здесь занимались до 1967 года. В последующий период хозяйство перешло на выращивание молоди (сеголетков) других видов рыб - карпа *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, белого амура *Stenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844 и толстолобика *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844 для зарыбления водоемов озерных систем и стало работать как рыбопитомник. В хозяйстве построен и действует инкубационный цех для получения личинок карпа и растительноядных видов рыб.

Мощность производственных (выростных) прудов Камышлыбашского рыбопитомника - 186 га. Рыбопитомник имеет маточное стадо карпа, белого амура, белого и пестрого толстолобиков. Мощность рыбопитомника составляет 14,8 млн. шт. сеголетков карпа и растительноядных рыб. Водоснабжение – механическое, из озера Камыстыбас и из р. Сырдарья.

2.1.3 Отбор проб для молекулярно-генетического анализа

Объем выборки для молекулярно-генетического анализа составил 81 экземпляр, включая 75 экземпляров аральского усача и 6 экземпляров туркестанского усача, собранных с различных точек. В качестве ДНК-пробы стерилизованными ножницами отрезали небольшой фрагмент (2х2 мм) грудного плавника. После забора проб неполовозрелые особи (44 экземпляра) были возвращены в водоем. Ткани помещали в пробирки с 96% этанолом и хранили при температуре 4°C.

Фрагмент плавниковой ткани в качестве ДНК-пробы выбран не случайно. Плавники у рыб обладают хорошими регенеративными способностями, что позволяет полностью восстанавливать их функциональность. Таким образом, отбор ДНК-проб не должен был оказать негативного влияния на жизнеспособность особей, у которых были взяты пробы тканей. На рисунке 6 изображен процесс отбора фрагмента ткани грудного плавника в полевых условиях прижизненным методом.



Рисунок 6 – Отбор проб фрагмента грудного плавника для молекулярно-генетического анализа

Первичную идентификацию рыб по принадлежности к роду *Luciobarbus* осуществляли визуально на месте улова, а затем в лабораторных условиях фрагменты фиксированного биологического материала подвергали дальнейшей обработке.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Картирование точек сбора материала

Карты водоемов – рек, притоков и озер, а также места отбора проб созданы с помощью программы QGIS 3.22.13 [232]. Гидрографические shapefile

(shp) файлы внутренних водоёмов и пространственных данных были взяты из программы DIVA-GIS [233], которая поддерживает векторные (точечные, линейные), графические и сеточные типы данных.

Поиск точек отбора проб на карте был выполнен в QGIS 3.22.13, для этого были указаны географические координаты в Excel. Затем, на основе этих данных был создан векторный слой.

2.2.2 Проведение биологического и морфологического анализа

Морфометрический анализ рыб проводили согласно классическим схемам в ихтиологии для карповых видов рыб [234]. Научные названия видов рыб унифицированы по каталогам Эшмейера (Eschmeyer's catalog) [31], Богуцкой Н.Г., и Насеки А.М [235].

Особь свыше общей (тотальной) длины 300 мм не подвергались морфометрическому анализу, так как не представлялось возможным умерщвлять и фиксировать их в формалине, ввиду их больших объемов тела и их статуса как редких и исчезающих видов заселенных в Красную книгу РК. Для морфометрии и анализа меристических признаков взяты особи с рисовых чеков ирригационных систем Кармакшинского района Кызылординской области (n=30) (фотографии приведены в приложении А., рис.А.6). Возраст определяли только у крупных особей, послуживших для формирования ремонтно-маточного стада. Все особи были измерены с использованием электронного штангенциркуля (Matrix) с точностью до 0,02 мм.

Морфометрический анализ включал основные *биологические*: L- общая (тотальная) длина; l - длина до конца чешуйного покрова; *пластические признаки*: антедорсальное расстояние (aD), постдорсальное расстояние (pD), отношение aD/pD, расстояние между основанием грудных и брюшных плавников (P-V), расстояние между основанием брюшных и анального плавников (V-A), длина хвостового стебля (lca), длина основания спинного плавника (lD), наибольшая высота спинного плавника (hD), длина основания анального плавника (lA), наибольшая высота анального плавника (hA), длина грудных плавников (lP), длина брюшных плавников (lV), наибольшая высота тела (H), наименьшая высота тела (h), длина головы (lc), длина рыла (ao), диаметр глаза (горизонтальный) (o), заглазничный отдел головы (po), высота головы у затылка (hc). Анализировали следующие *меристические признаки*: количество чешуй над (sup) и под (into) боковой линией, число ветвистых лучей в спинном (D) и анальном (A) плавниках, число тычинок на первой жаберной дуге (sp.br.), длина переднего (barb1) и заднего (barb2) усиков. Все измерения сделаны в мм.

2.3 Молекулярно-генетические методы

2.3.1 Выделение геномной ДНК

Геномную ДНК рыб выделяли из ткани плавников с использованием коммерческого набора DNeasy Blood & Tissue Kit] на спин-колонках согласно протоколу (Qiagen, Нидерланды) [236].

1. Фрагмент ткани весом 50-100 мг помещали в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл.

2. Вносили 20 мкл протеиназы К с тщательным перемешиванием на вортексе и инкубированием при 56°C до полного лизиса ткани. Для лучшего лизирования во время инкубации производили взбалтывающие движения, а затем помещали на качающуюся платформу для последующей инкубации в течение нескольких часов.

3. Образцы осаждали на вортексе в течение 15 с. Добавляли 200 мкл буфера AL. Затем добавляли 200 мкл этанола (96–100%). Образцы, буфер AL и этанол тщательно смешивали пипетированием до получения гомогенного раствора. При добавлении буфера AL и этанола образовывался белый осадок.

4. Смесь из пробирки внесена в спин-колонку, помещенную в пробирку для сбора объемом на 2 мл. Центрифугирование проводили при 8000 об/мин в течение 1 мин.

5. Спин-колонку помещали в новую пробирку для сбора объемом на 2 мл, с добавлением 500 мкл буфера AW1 и центрифугированием в течение 1 мин при 8000 об/мин.

6. Спин-колонку перемещали в новую пробирку для сбора объемом 2 мл, и добавляли 500 мкл буфера AW2 и центрифугировали в течение 3 мин при 14 000 об/мин, для осушения мембраны от этанола.

7. Спин-колонку перемещали в стерильную микроцентрифужную пробирку объемом 2 мл и вносили 200 мкл буфера AE в центр мембраны. Инкубировали при комнатной температуре в течение 1 мин, а затем центрифугировали в течение 1 мин при 8000 об/мин для элюции. Во избежание контакта спин-колонок с элюатом в микроцентрифужной пробирке было не более 200 мкл.

Все процедуры выполнялись строго в соответствии с инструкцией, разработанной в лаборатории молекулярной систематики Национального музея естественных наук MNCN (г. Мадрид, Испания).

2.3.2 Оценка чистоты выделенной ДНК

Чистоту и концентрацию выделенной ДНК оценивали по отношению оптической плотности при длинах волн 260 и 280 нм на спектрофотометре Nanodrop One (ThermoScientific, США).

2.4 Применение митохондриальных маркеров

2.4.1 Применение митохондриального маркера *cytb* и условия ПЦР

Полный ген *cytb* (1140 п.о.) амплифицировали с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) от каждой особи. Использовались

праймеры со следующими последовательностями: GluDGL (5' TGACT TGAAR AACCAATCGTTG 3') [237] и H16460 (5' CGATC TTCGG ATTAА CAAGA CCG 3') [238].

Двухцепочечную ДНК амплифицировали в реакционных смесях объемом 25 мкл (1 мкл матричной ДНК, 2,5 мкл 10× PCR буфера Tris (pH 8,3), 2 мкл MgCl₂, 1,5 мкл 10 мМ каждого праймера, по 2,5 мкл dNTP 200 нМ, 14,25 мкл ddH₂O и 0,25 мкл полимеразы Amplitaq (Perkin-Elmer, США). Протокол амплификации: 94°C в течение 2 мин, 5 циклов при 94 °C в течение 45 с, 53 °C в течение 45 с и 72 °C в течение 1 мин 30 с и 29 циклов при 94 °C в течение 45 с, 58 °C в течение 45 с и 72 °C в течение 1 мин 30 с.

2.4.2 Электрофорез и секвенирование митохондриального маркера *cytb*

Для визуализации ПЦР продукта подготавливали 1 % агарозу 100 с добавлением красителя SybrSafe. В качестве маркера длин ДНК применяли 1 kb DNA Ladder (ThermoScientific, США), подходящего для определения длины двухцепочечных молекул ДНК в интервале 250 – 10000 п. н. Образцы, включая отрицательный контроль, внесли в лунки геля. Результаты электрофореза проверяли в системе гель-документирования.

Продукты ПЦР очищали с помощью ExoSAP-IT (USB, Кливленд, США) и секвенированы в MacroGen Europe Inc. [239] с использованием генетического анализатора ABI 3730XL DNA Sequencer (Applied Biosystems, США).

Все описанные молекулярно-генетические методы от выделения ДНК до секвенирования проводили в лаборатории молекулярной систематики Национального музея естественных наук MNCN (г. Мадрид, Испания).

2.4.3 Применение митохондриального маркера *COI* и условия ПЦР

Амплификацию фрагментов гена субъединицы 1 цитохромоксидазы *COI* проводили методом ПЦР с использованием праймеров FishF2_t1 TGT AAA ACG ACG GCC AGT CGA CTA ATC ATA AAG ATA TCG GCA C и FishR2_t1 CAG GAA ACA GCT ATG ACA CTT CAG GGT GAC CGA AGA ATC AGA A [240].

Условия циклов ПЦР были следующими: начальная денатурация в течение 5 минут при 94°C, затем 37 циклов по 1 минуте при 94°C, отжиг в течение 45 секунд при 55°C и удлинение в течение 1 минуты при 72°C, за которым следовали, окончательное удлинение в течение 10 минут при 72°C.

Этапы электрофореза и секвенирования данного маркера были аналогичны этапам, использованным для маркера *cytb*.

2.5 Применение ядерных маркеров

2.5.1 Применение ядерных маркеров для оценки генетической структуры

Разработанные микросателлитные маркеры в Национальном музее естественных наук Испании (Приложение Б, рис.Б.1.) были впервые протестированы в конце 2022 года на усахах Арало-Сырдарьинского бассейна. Ранее по неопубликованным данным и данным протокола лаборатории

молекулярной систематики, эти микросателлитные локусы не сработали на усачах рода *Luciobarbus* с Пиренейского полуострова.

Для амплификации микросателлитных локусов было использовано 17 пар праймеров, которые были сгруппированы в 4 набора в зависимости от их свойств. Мультиплексы разводили в количестве 10 мкл каждого праймера, мультиплекс 1 (440 ddH₂O): M1287, M1417, M1182; мультиплекс 2 (400 ddH₂O): M2237, M2108, M2044, M2164, M2306; мультиплекс 3 (420 ddH₂O): M3230, M3264, M3318, M3444; мультиплекс 4 (400 ddH₂O): M4211, M4455, M4215, M4138, M4474.

2.5.2 Полимеразная цепная реакция (ПЦР) ядерных маркеров

ПЦР проводили в реакционном объеме 12,5 мкл, содержащем 1 мкл ДНК (10 нг/мкл), 4 мкл деионизованной воды для ПЦР, 1,25 мкл смеси праймеров и 6,25 мкл набора для ПЦР Microsatellite Type-it (Qiagen, Нидерланды) с высокоспецифичной ДНК-полимеразой HotStarTaq Plus буфер. Комбинация компонентов, содержащихся в ПЦР мастер-миксе, приводит к высокоспецифичной амплификации всех локусов параллельно. Оптимальный протокол ПЦР состоял из начальной стадии денатурации при 95°C в течение 5 мин, за которой следовали 30 циклов при 95°C в течение 30 с, 57°C в течение 90 с, 72°C в течение 30 с; 8 циклов: 95°C по 30 с, 53°C по 90 с, 72°C по 30 с; и заключительный этап элонгации фрагментов при 68°C в течение 30 мин.

Все ПЦР включали отрицательный контроль для проверки возможного загрязнения. Хвосты олигонуклеотидов присоединяли к 5'-концам праймеров для флуоресцентного мечения. Используемые хвосты олигонуклеотидов представляли собой универсальные последовательности M13 (GGA AAC AGC TAT GAC CAT), CAG (CAG TCG GGC GTC ATC) и T3 (AAT TAA CCC TCA CTA AAG GG). Первоначально все три олигонуклеотида были помечены красителями PET, NED и VIC соответственно.

2.5.3 Электрофорез и секвенирование ядерных маркеров

Для проведения электрофореза подготавливали 2% агарозный гель с добавлением 10 мкл цианинового красителя, используемого в качестве красителя нуклеиновых кислот SybrSafe (ThermoScientific, США), 2 мкл красителя Cyan Yellow (ThermoScientific, США), по 3 мкл образца вместе с красителем было нанесено на лунки, включая отрицательный контроль. В качестве генетической линейки (маркера длин) использовали 100 bp DNA Ladder (ThermoScientific, США). Параметры тока при электрофорезе: 100 В, сила тока 30 мА, продолжительность 30 минут. Результаты электрофореза проверяли в системе гель-документирования GeneSnap Version 7.02.

Амплифицированные продукты ПЦР обрабатывали на генетическом анализаторе ABI 3730XL DNA Sequencer, Applied Biosystems, США (250–500 стандартов размера LIZ).

2.5.4 Применение ядерных маркеров для генетической паспортизации

В работе использованы следующие наиболее подходящие 10 микросателлитных локусов для генетической паспортизации производителей усачей, заимствованные из первоисточника [241]: *BC8*, *BC17*, *BC26*, *BC37*, *BC42*, *BC47*. В базе данных Whole-Genome-Shotgun contigs при помощи NCBI BLAST взяты последовательности микросателлитных локусов: *Barb37*; *Barb54*, *Barb59*, *Barb79*, ранее опубликованных для обыкновенного усаца *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758) [242]. Синтез олигонуклеотидов (Приложение Б, рис.Б.2) и флуоресцентных красителей производили в ООО «Синтол», РФ в 2021-2022 гг.

2.5.5 Подбор ПЦР программы для генетической паспортизации

Реакция амплификации микросателлитной ДНК проводилась в конечном объеме 15 мкл из смеси праймеров: 10 пмоль/ мкл – 5 мкл; 10 нг образца ДНК. Процедура амплификации включала следующие этапы: предварительная денатурация ДНК 95 °С – 3 мин; 35 циклов (плавление 95 °С – 15 сек, отжиг праймеров – 58 °С – 30 сек, синтез ДНК – 72 °С – 30 сек), досинтез ДНК при 72 °С – 5 мин. После окончания реакции от каждого образца отбиралось 1 мкл ПЦР смеси и переносилось в 15 мкл формамида HiDi с добавленным молекулярным стандартом (Ladder) для последующего определения размера амплифицированных фрагментов ДНК, после чего проводилась денатурация при 95 °С в течение 5 мин. Фрагментный анализ для генетической паспортизации был проведен на генетическом анализаторе Нанофор 05 (Синтол, РФ) с использованием флуоресцентного красителя The Quantum Dye v3.1.

2.6 Обработка статистических данных морфобиологического анализа

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета анализа Excel на ПК согласно методическим рекомендациям [243]. Для всех изученных признаков рассчитывались среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (σ) и коэффициент вариации (CV), а также упитанность по Фультону. По результатам морфометрии учитывали статистически значимые показатели при $p < 0,05$. Тест равных значений (one way ANOVA), анализ главных компонент и координат (principal component analysis, PCA, principal coordinates analysis, PCoA) выполнен с помощью статпакета PAST 4.03 [244].

2.7 Обработка и анализ молекулярных данных ядерных маркеров

Поиск аллелей выполняли с помощью программы GENEMAPPER 3.7 Applied Biosystems [245].

Генетическое разнообразие микросателлитов оценивали в программе GenoDive v.3.0. [246], позволяющей провести анализ полиплоидных организмов. Для этого были рассчитаны следующие показатели: число аллелей на локус (N_A), эффективное число аллелей на локус (A_E), наблюдаемая гетерозиготность (H_o), гетерозиготность внутри популяций (H_s), общая

гетерозиготность (H_t), скорректированная общая гетерозиготность (H_t) и коэффициент инбридинга (G_{is}), который лучше учитывает полиморфизм на нескольких локусах. Генетическую дифференциацию между популяциями оценивали на основе статистики G_{st} которая также учитывает особенности полиморфизма и структуры микросателлитных маркеров [247]. Значение значимости этого параметра оценивалось с помощью 999 пермутаций. Кроме того, использовали MICRO-CHECKER v2.23 [248] для изучения наличия нулевых аллелей и оценки их влияния на оценку генетической дифференциации.

Для изучения структуры популяции использовали модель, основанную на байесовской кластеризации. Количество популяций (K) с наибольшей апостериорной вероятностью, определяемое через значение LnProb [D] , рассчитывали с помощью программы STRUCTURE v2.3.4 [249], предполагая смешанную модель и равномерную априорную вероятность количества популяций K и ploидность $n=4$ (тетраплоидия). Симуляции MCMC (Markov chain Monte Carlo) состояли из 1×10^6 итераций отжига, за которыми следовали 1×10^5 отобранных итераций. Кроме того, рассчитывали модальное значение λ , ΔK [250], чтобы сделать вывод о наилучшем значении K в Clumpak (Cluster Markov Packager Across K). Проводили оценку индекса фиксации (F_{st}) по данным генетического полиморфизма, которая является мерой дифференциации популяции, обусловленной генетической структурой. Его значения варьируются от 0 до 1, где 0,15 — существенная дифференциация, а 1 — полная дифференциация [251].

Информативность полиморфизма (Polymorphism information content, PIC) [252] — оценка способности генетических маркеров выявлять полиморфизм среди особей, рассчитывали по следующей формуле (1):

$$\text{PIC} = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2 \quad (1)$$

Где, где k — число аллелей, P_i и P_j — частота соответственно i -го и j -го аллеля в популяции. Максимальное значение PIC для доминантных маркеров составляет 0.5.

Чтобы определить степень генетической структурированности среди уровней группировки, проводили анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) [253] для оценки процентной изменчивости частоты аллелей микросателлитов между каждой популяцией и внутри каждой популяции с группировкой их по местоположению выборки. Анализ частоты аллелей (Allele frequencies), формулу Харди-Вайнберга, AMOVA и индекс гибридности [254] проводили в программе GenoDive v.3.0 [255].

2.8 Обработка и анализ молекулярных данных митохондриальных маркеров

Для анализа митохондриального маркера гомологичные участки нуклеотидных последовательностей выравнивали в программе Geneious V.2022.2.2 [256].

Для изучения филогенетических отношений между изучаемыми видами к собственным последовательностям добавляли нуклеотидные последовательности гена *cytb* (1140 п.о.) и *COI* (650 п.о.) других близкородственных видов из международной базы данных GenBank [257]. Выравнивание выполняли с использованием программы MAFFT в Geneious с проверкой вручную для максимизации гомологичных позиций.

Филогенетический анализ был выполнен с применением байесовского анализа (BI), реализованного в MrBayes v.3.2 [258]. Анализ BI был выполнен с использованием двух независимых прогонов четырех связанных цепей Маркова Монте-Карло (MCMC) по 10^6 поколений в каждой для оценки апостериорного распределения вероятностей. Все последовательности были конвертированы в формат NEXUS и PHYLIP. Выборка топологий проводилась каждые 100 поколений, а консенсусное дерево по правилу большинства оценивалось после отбрасывания первых 10% поколений. Надежность узлов ветвления дерева оценивали с использованием байесовских апостериорных вероятностей. Значения апостериорной вероятности (pp) использовались для оценки надежности филогенетической гипотезы.

Идентичные последовательности были преобразованы в гаплотипы с помощью веб-программы Alter [259]. Информационный критерий Акаике (AIC) [260], реализованный в jModeltest [261] был использован для определения эволюционной модели, которая лучше всего соответствует данным.

Филогенетическое дерево было представлено с помощью программы Figtree v1.4.4 [262] методом максимального правдоподобия Maximum Likelihood (ML) [263] и методом связывания соседа Neighbour Joining (NJ) [264], реализованного на онлайн-сервере IQ-tree [265] и MEGA 11 [266]. Точность филогении максимального правдоподобия оценивалась с помощью метода UltraFast Bootstrap (1000 повторов) [267; 268]. Для оценки филогеографической структуры среди гаплотипов, присутствующих в нескольких обособленных бассейнах, сети гаплотипов были реконструированы с использованием алгоритма Median-joining [269], реализованного в программе PopArt [270].

Для оценки митохондриального генетического разнообразия использовался тот же набор данных, что и для анализа филогенетических отношений. Последовательности двух видов, являющихся объектом данного исследования, были проанализированы с помощью программы DNAsp v.5 [271] для определения количества гаплотипов (N_h), разнообразия гаплотипов (H_d), количество полиморфных сайтов (N_s), среднее количество различий между нуклеотидными последовательностями (N_k), нуклеотидного разнообразия (π), стандартное отклонение (SD).

Был высчитан GC-состав (гуанин-цитозиновый состав), который при проведении ПЦР используется для предсказания температуры плавления праймера и температуры отжига. Высокий GC-состав праймера позволяет использовать его при высоких температурах отжига.

Был высчитан GC-состав (гуанин-цитозиновый состав), который при проведении ПЦР GC-состав праймера используется для предсказания температуры плавления этого праймера и температуры отжига. Высокий GC-состав праймера позволяет использовать его при высоких температурах отжига. Процентное содержание GC в одной цепи ДНК вычисляли по формуле (2) [272].

$$GC\% = \frac{G+C}{L} \times 100 \quad (2)$$

где **G+C** - суммарное количество гуанинов и цитозинов, а **L** - длина цепи ДНК в нуклеотидах: **L = A+T+G+C**.

Были проведены тесты на нейтральность Таджимы и Фу (Tajima's D, Fu's Fs) для проверки гипотезы нейтральной мутации с помощью полиморфизма ДНК [273; 274].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Биологическая и морфологическая характеристика усачей Арало-Сырдарьинского бассейна

По результатам проведённого отлова разновозрастных особей аральского усача, обитающих в Арало-Сырдарьинском бассейне, были определены основные места скопления и нереста половозрелых особей в пределах Туркестанской и Кызылординской областей. Так, в пределах Туркестанской области основным местом нереста является нижний бьеф Байыркумского гидросооружения. Данный участок реки относится к промысловому участку №3. Основными местами скопления старшевозрастных особей в границах Кызылординской области является нижний участок плотины Басыкара, а также район плотины Айтек.

Нами выполнен сравнительный анализ биологических и морфологических показателей аральского и туркестанского усачей – см. таблицу 2, в которой полужирным шрифтом выделены достоверно значимые показатели.

Таблица 2 - Морфо-биологические признаки аральского и туркестанского усачей

№	Признаки, единицы измерения	Аральский усач (n = 19) возраст 0+			Туркестанский усач (n = 11) возраст 0+		
		min-max	M± σ	CV, %	min-max	M± σ	CV, %
1	2	3	4	5	6	7	8
1	<i>L</i> , мм	96-163	129.5±33.5	25.9	61-150	105.5±44.5	42.2
2	<i>l</i> , мм	80-139	109.5±29.5	26.9	49-125	87.0±38.0	43.7
3	<i>Q</i> , г	6,3-34	20.15±13.85	68.7	1.7-32.0	16.85±15.15	89.8
4	<i>Упитанность по Фультону</i>	1,01-1,33	1.17±0.16	13.7	1,14-1,54	1.34±0.2	14.9
<i>В % от длины тела</i>							
5	<i>aD</i>	38,77-43,32	41.04±2.27	5.54	47,02-53,93	50.47±3.45	6.85
6	<i>pD</i>	44,23-50,62	47.42±3.19	6.73	35,70-44,67	40.18±4.48	11.17
7	<i>aD/pD</i>	0,76-0,78	0.77±0.01	1.29	1,10-1,30	1.20±0.10	8.33
8	<i>P-V</i>	23,00-28,74	25.87±2.87	11.08	22,30-29,03	25.66 ± 3.36	13.10
9	<i>V-A</i>	25,80-31,35	28.57±2.77	9.71	21,73-29,41	25.57±3.84	15.02
10	<i>Ica</i>	18,13-19,87	18.50±0.87	4.7	15,24-20,22	17.73±2.49	14.05
11	<i>ID</i>	8,16-10,14	9.15±0.99	10.82	10,67-13,09	11.88±1.21	10.21
12	<i>hD</i>	16,32-22,12	19.22±2.90	15.10	19,37-25,27	22.32 ±2.95	13.22

Продолжение таблицы 2

13	<i>lA</i>	3,78-8,02	5.90±2.12	35.93	5,88- 11,76	8.82±2.94	33.28
14	<i>hA</i>	10,15-16,01	13.08±2.93	22.37	15,69-21,50	18.59±2.90	15.61
15	<i>lP</i>	14,21-17,10	15.65±1.44	9.22	15,65-21,53	18.59±2.94	15.78
16	<i>IV</i>	11,54-15,17	13.35±1.81	13.58	14,37-20,41	17.39±3.02	17.36
17	<i>H</i>	17,39-21,28	19.33±1.94	10.06	19,47-25,10	22.28±2.81	12.65
18	<i>h</i>	7,39-9,28	8.33 ±0.94	11.33	6,47-9,76	8.11±1.64	20.27
19	<i>lc</i>	17,19-24,81	21.00±3.81	18.14	22,79-27,51	25.15±2.36	9.38
20	<i>ao</i>	3,72-6,57	5.14±1.42	27.70	5,22-9,47	7.34±2.12	28.93
21	<i>o</i>	2,45-4,50	3.47±1.02	29.47	2,73-7,84	5.28±2.55	48.29
22	<i>po</i>	8,48-11,36	10.42±1.44	13.79	9,46-13,75	11.60±2.14	18.45
23	<i>hc</i>	10,10-13,78	11.94±1.84	15.40	14,24-21,53	17.88±3.64	20.36
<i>Счетные признаки</i>							
24	<i>l.l</i>	66-90	78±12	15.38	55-67	61±6	9.84
25	<i>sup</i>	10-14	12±2	16.67	11-14	12.5±1.5	12
26	<i>into</i>	8-12	10±2	20	8-10	9±1	11.11
27	<i>D</i>	6	6±0	-	8	8±0	-
28	<i>A</i>	5	5±0	-	6	6±0	-
29	<i>sp.br</i>	17-24	20.5±3.5	17.07	14-18	16±2	12.5
30	<i>barb 1</i>	4,02-7,08	5.55±1.53	27.57	4,43-8,52	6.47±2.04	31.60
31	<i>barb 2</i>	4,36-7,15	5.75±1.39	24.25	4,88-7,52	6.20±1.32	21.29

Вариабельность морфологических признаков усачей обоих видов велика и многие значения признаков перекрываются. Статистически достоверные различия между средними значениями меристических признаков были выявлены в следующих характеристиках: количество чешуй в боковой линии у аральского усача варьирует от 66 до 90, у туркестанского - от 55 до 67; число лучей в спинном плавнике у аральского усача составляет 6, у туркестанского - 8; в анальном плавнике у аральского усача - 5, у туркестанского - 6; число тычинок на первой жаберной дуге у аральского усача колеблется от 17 до 24, у туркестанского - от 14 до 18.

Полученные значения коэффициента вариации показывают, что признаки в сравнении имеют низкую вариабельность среди двух изучаемых видов. Большинство CV меристических и пластических признаков составили менее 15%, то есть, характеризуя низкую вариабельность, данные считаются относительно однородными. CV от 15% до 30% умеренный разброс имеют данные пластических признаков. CV более 30% означающий высокую вариабельность относительно их среднего значения это вес рыбы (Q), который может варьироваться от компонентов питания и условий обитания.

Подробный сравнительный анализ морфологических признаков аральского усача был проведен в прошлом столетии М.И. Маркуном [116] и Л.П. Павловской [117]. Морфологический анализ туркестанского усача бассейна р. Кашкадарьи проводился Р.Г. Усмановой [118], когда численность

этого вида была еще достаточно велика. По данным этих авторов все показатели пластических признаков усачей закономерно изменяются с длиной (возрастом), то есть подвержены аллометрии. Павловской Л.П. [117] было установлено, что у аральского усача наблюдается положительная корреляция с постдорсальным и вентро-анальным расстояниями, а отрицательная - длины тела с длиной головы, диаметром глаза и высотой головы.

Другие признаки имеют различную направленность в разных размерных группах. Так, например: есть признаки, показатели которых уменьшаются при достижении половозрелости, а затем становятся относительно стабильными или увеличиваются (длина рыла, ширина лба, заглазничный отдел головы, длина основания спинного плавника, антедорсальное расстояние, длина основания анального плавника, наибольшая и наименьшая высота тела) признаки, показатели которых увеличиваются при достижении половозрелости, а затем остаются без изменения (длина хвостового стебля) или уменьшаются (длина усиков). У туркестанского усача из реки Кашкадарья отношение антедорсального расстояния к постдорсальному так же изменяется с возрастом [117].

Стоит отметить, нами морфометрический анализ был проведён на выборке, включающей только особей возраста 0+, поскольку в настоящее время полный анализ крупных особей практически невозможен из-за их природоохранного статуса.

3.2 Статистический анализ морфометрических признаков усачей

Дисперсионный анализ (one way ANOVA) подтвердил отсутствие различий (где достоверные различия $p < 0,05$); критерий Welch F в случае неравных выборок составил $p = 0.87$. Зачастую значения признаков перекрываются, хотя отмечена изменчивость меристических признаков, при этом средние значения признаков между видами различаются. Результаты главных координат (РСоА) демонстрируют, что усачи двух видов близки друг к другу по совокупности пластических признаков (рисунок 7).

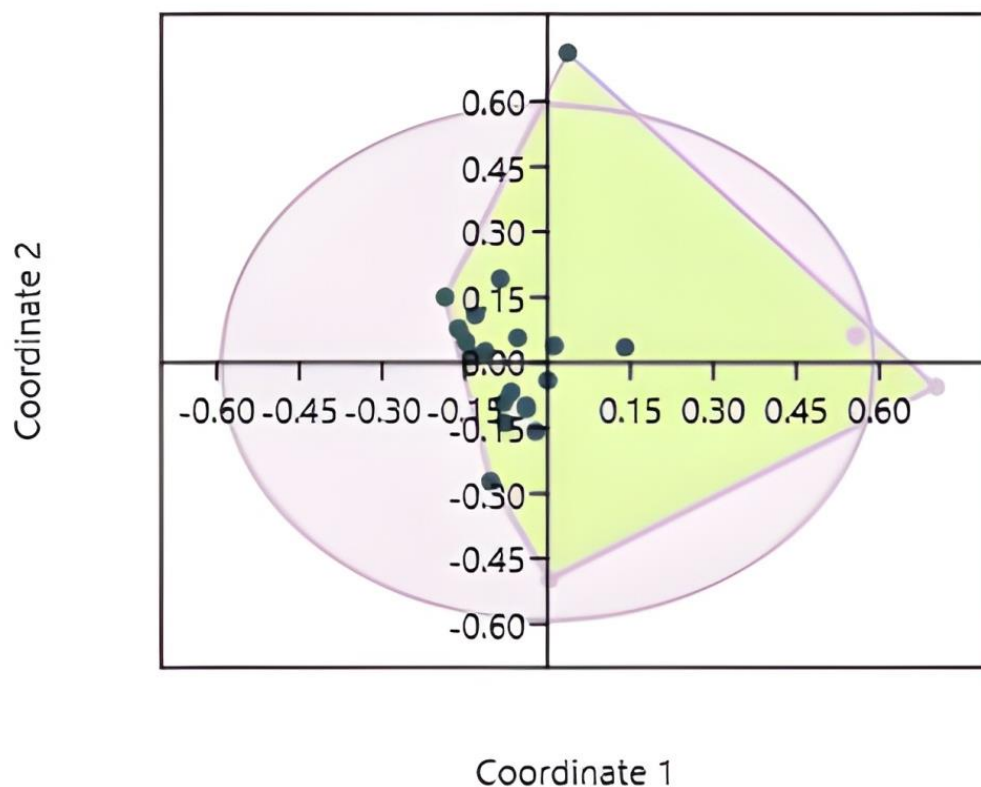


Рисунок 7 - Анализ главных координат по совокупности пластических признаков усачей, где овал - аральский усач; многоугольник - туркестанский усач

По первой и второй координатах наблюдается почти полное перекрытие выборок аральского и туркестанского усачей; нагрузки значений признаков даны в таблице 3.

Таблица 3- Нагрузки значений пластических признаков усачей на главные координаты

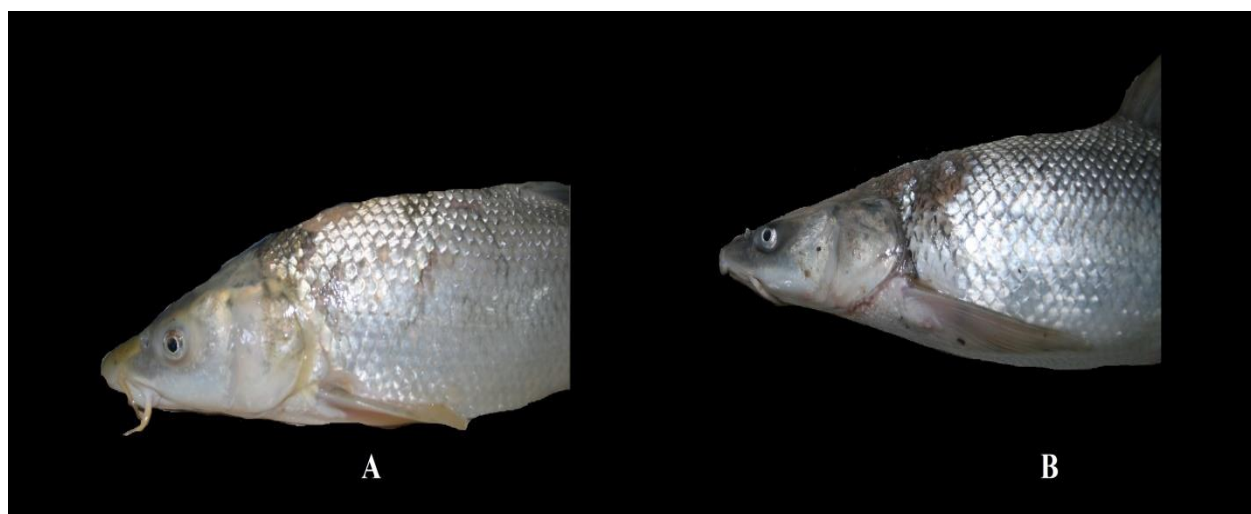
Оси	Собственное значение (Eigenvalue)	%
1	2	3
1-я	34677	98.672
2-я	466.57	1.3276
Признаки	Координата 1	Координата 2
<i>aD</i>	0.036073	0.71081
<i>pD</i>	0.13948	0.035036
<i>aD/pD</i>	-0.18635	0.15073
<i>P-V</i>	-0.048671	-0.040671
<i>V-A</i>	0.011229	0.039058
<i>lca</i>	-0.054645	0.056929
<i>lD</i>	-0.086465	0.19255
<i>hD</i>	-0.03871	-0.10551
<i>lA</i>	-0.13965	0.016011
<i>hA</i>	-0.077358	-0.13812

<i>IP</i>	-0.066619	-0.067134
<i>IV</i>	-0.080047	-0.09114
<i>H</i>	-0.038761	-0.09885
<i>h</i>	-0.13171	0.10933
<i>lc</i>	-0.022041	-0.15751
<i>ao</i>	-0.14796	0.048587
<i>o</i>	-0.16207	0.077855
<i>po</i>	-0.11346	0.025813
<i>hc</i>	-0.10385	-0.2724

Как показано в таблице 3, значения, выделенные полужирным шрифтом, показывают незначительные различия в нагрузках на главные координаты. На первую главную координату наибольшую положительную нагрузку оказывает индекс постдорсального расстояния, отрицательную – индекс длины спинного плавника. На вторую главную координату наибольшую отрицательную нагрузку дают индекс длины спинного плавника и индекс наибольшей высоты тела, а наибольшую положительную – индекс антедорсального расстояния.

Между выборочными медианами нет существенной разницы. Большинство пластических признаков можно отнести к зависящим от условий обитания (мутность воды, скорость течения воды в реке, особенности питания и пр.), то есть величина этого признака может быть обусловлена не столько видовой специфичностью, сколько особенностями условий среды обитания.

В третьем томе сводки «Рыбы Казахстана» [109], авторы отмечают у туркестанского усача желтовато-золотистую окраску тела, что спина у аральского усача обычно темнее брюха, с резко выраженной границей, а также наличие темных пятен у молодых особей. Наши наблюдения подтверждают сведения авторов об особенностях окраски туркестанского усача (рисунок 8).



А - туркестанский; В – аральский усач

Рисунок 8 – Отличительная характеристика окраски головы и передней части тела разных видов усачей

По данным Берга Л.С. [275] и Никольского Г.В. [276], в исследуемых выборках были обнаружены предположительно гибридные особи, обладающие переходными признаками между двумя видами. Таким образом, при анализе морфометрических признаков, следует учитывать высокую возрастную и локальную изменчивость морфологических признаков. В этом случае применение молекулярно-генетического анализа [277;278] будет более надежным методом идентификации существующих видов и гибридных форм.

3.3 Результаты генетического анализа усачей

3.3.1 Результаты оценки чистоты выделенной ДНК

Результаты средних значений концентрации составило 154.6 нг/мкл при соотношении ДНК/белки (A260/A280) – 1.9, что говорит о пригодности ДНК для дальнейшего анализа.

3.4 Результаты применения микросателлитных локусов для оценки генетического разнообразия

По результатам фрагментного анализа было получено 324 FSA файла. Были применены 17 пар праймеров, амплифицированных для микросателлитного анализа, они сгруппированы в 4 набора по свойствам праймеров, прямой и обратной последовательностям, ожидаемому размеру ампликона, повторяющемуся мотиву, хвосту праймера и типу используемого флуоресцентного маркера (таблица 4).

Таблица 4 - Молекулярно-генетическая характеристика нуклеотидных последовательностей микросателлитных локусов *L. brachycephalus* и *L. conocephalus*

Наименование локуса	Прямая и обратная последовательности (5'-3')	Размер ампликона, п.о.	Повторяющийся мотив	Хвост праймера	Флуоресцентный маркер
M1287	F:TAATTAGCAACAGGCCCGCA R: TCGGTTCCCGTGTTTGAATG	170	(AG) ₁₀	T3	PET
M1417	F:CCAAGTCTCGCTATCCTCGG R:AAGAGGAGTGATGACAGCGC	114	(CCG) ₅	CAG	NED
M1182	F:GCTCTCGTTCCAGTCCAGAC R: AGCATCTGGCCATGATGGAG	193	(AATC) ₇	CAG	VIC
M2237	F:GAAGGTCACGTGGTTGTCCA R: AGGGAATTGGATGCAGCTCC	91	(AG) ₁₂	CAG	PET
M2108	F:GCTGCGGATTGGTCAAGAAC R: GCTCTTCTCCTCTCATCCGC	91	(AG) ₁₄	M13	NED
M2044	F:TATGCAGCTTCCACCCACTG R:GTTACAGCTGTTTGCTGGAG	103	(AC) ₁₀	M13	NED
M2164	F:GGCGTTGTTGAGCCAATCAG R: TGACTTTGGCAGGACGTGTT	91	(AGC) ₅	M13	VIC
M2306	F:CAGTCCCAGACTCTTCCAGC R:CCGGTGTGCGATCCAATCTA	302	(ATC) ₅	CAG	NED

Продолжение таблицы 4

M3230	F:ATTGAGGATCCCGAGGCTCT R:CGATAAGCCCGTGAGACGTT	149	(AGG) ₅	T3	PET
M3264	F:TGGTCATGCATGCGGTACAT R:AAGGTCACCTGAAGTGCTGCA	159	(ACAG) ₆	T3	NED
M3318	F:AGTGAAAGCATGTCCAGGCA R:GGAACCTGGCCGTGAAATGG	217	(AG) ₁₈	CAG	VIC
M3444	F:ATGACTCAGGTGAAGCAGGC R:CCGCTCCTGCTTGACTTCAT	223	(AGC) ₇	CAG	VIC
M4211	F:CTAGACGAGCAGCACTGGAG R:CATTAGACAGCCGAGCCCTT	109	(AC) ₁₁	CAG	PET
M4455	F:TGTATGACGCTGGTTGGAGC R:ATGATACGATCCCAGCGCTG	110	(AC) ₁₁	M13	NED
M4215	F:CGAGCCGATCTCTGTCTGTG R:CCCAAACCCAAGAAAGTGCG	91	(AATC) ₁₀	M13	PET
M4138	F:CTGGCTGTCAACCTGTGGAA R:CTCCAGAGTCCGTACCTGGA	153	(AG) ₁₀	CAG	VIC
M4474	F:AACACTGACCATGTGACGCA R:CCAACCTTCTGGTCCGGCATA	238	(AC) ₁₁	T3	PET

Для продолжения дальнейших этапов молекулярно-генетического анализа в качестве подтверждения были получены изображения электрофоретического геля амплифицированных локусов (рисунок 9).

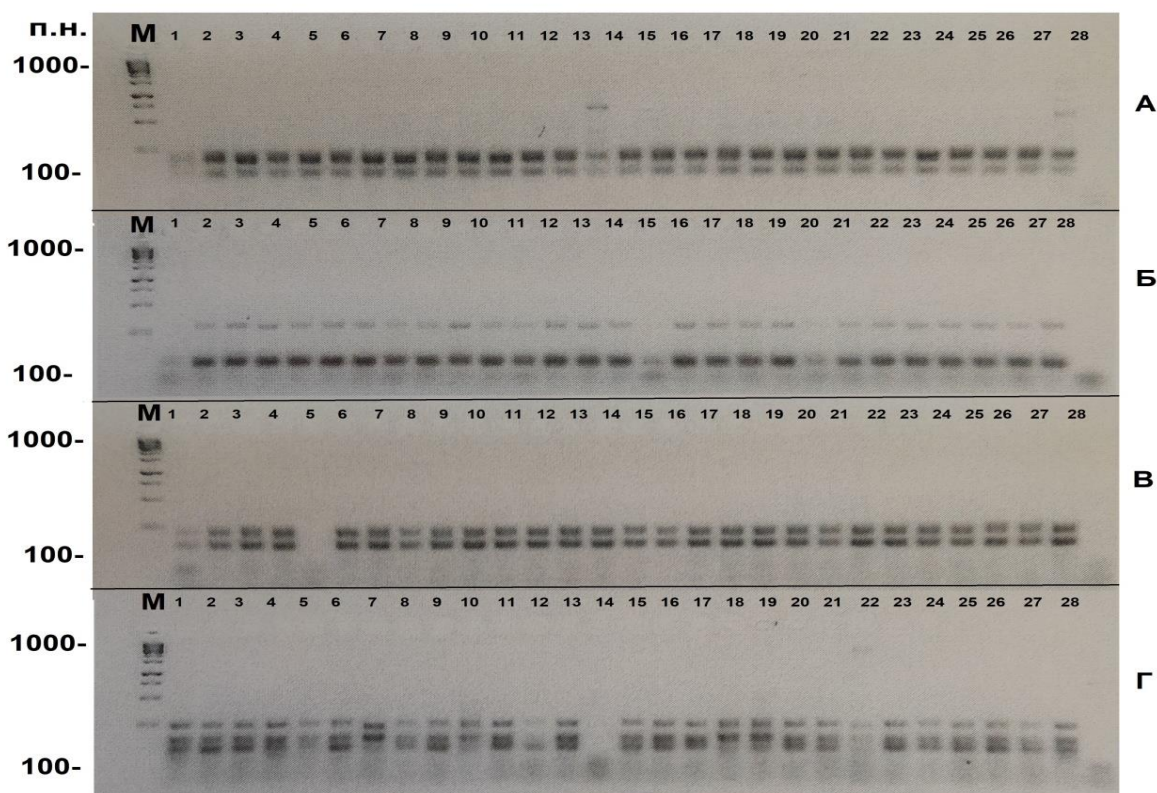


Рисунок 9 – Электрофоретическое разделение ампликонов в 2% агарозном геле ПЦР-продукта с видоспецифичными праймерами в мультиплексной реакции:

М - маркер (стандартный) длин фрагментов с шагом в 100 п.о. (от 100 до 1000 п.о.); А – Г - мультиплексы 1-4;

Представленные образцы в четырех мультиплексах имели предельную чистоту и высокую концентрацию ПЦР продукта размером от 90 до 300 п.о. Результат проверки и оптимизации протокола амплификации микросателлитных локусов позволяет выбрать панель маркеров для дальнейших популяционно-генетических исследований. Таким образом, амплифицированные локусы подтвердили видоспецифичность к изучаемым видам.

3.4.1 Оценка частоты нуль-аллелей и обнаружение мономорфных локусов

При проведении широкомасштабных популяционных исследований на разных видах животных, исследователи сталкиваются с проблемой нуль-аллелей. В популяционных исследованиях нуль-аллелем принято называть явление отсутствия ПЦР продукта, которое вызвано различными мутациями (делеция, инсерция, инверсия и единичная замена) в микросателлитных последовательностях ДНК.

Согласно результатам в MICRO-CHECKER анализы не показали признаков теневых полос или ошибок генотипирования, а частота нуль-аллелей была низкой. По данным полученных результатов, из семнадцати локусов пятнадцать успешно прошли этап амплификации, лишь два локуса (*M3318* и *M4455*) не амплифицировались.

3.4.2 Оценка генетического разнообразия аллелей по микросателлитным локусам

Микросателлиты обладают высоким полиморфизмом и хорошо дифференцируют популяции [276; 277]. На данный момент проведены крупные исследования по микросателлитной изменчивости многих видов рыб и микросателлиты закрепились как надежные маркеры для исследования межпопуляционных различий [278-280].

Согласно частотам аллелей 15 проанализированных локусов среди 81 особей, общее количество аллелей составило 90, учитывая процент отсутствующих данных 10,93%. Информативность полиморфизма (PIC) составила 0,774. Один из локусов, *M2108*, показал значительное отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($P=0,0001$).

Количество аллелей на локус варьировалось от 2 до 12, что отражено на рисунке 10.

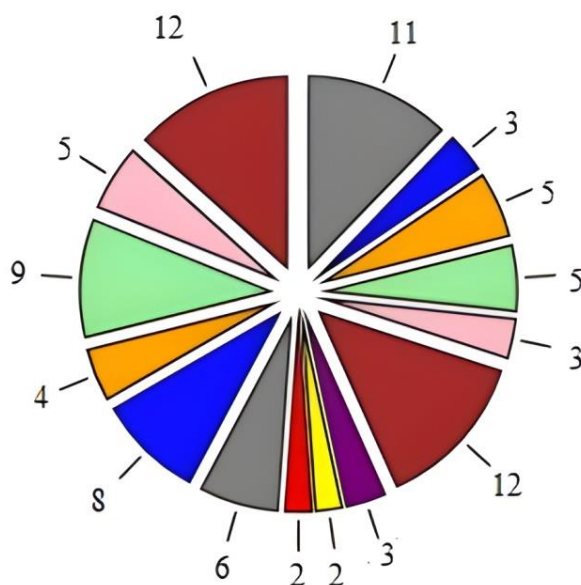
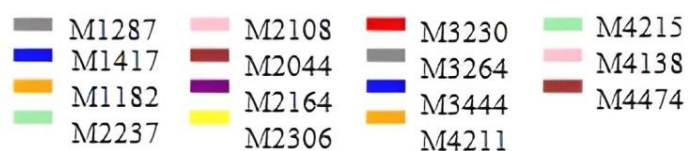


Рисунок 10- Результаты оценки генетического разнообразия по количеству аллелей на локус

Из пятнадцати амплифицированных локусов *M2044*, *M4215* и *M1287* показали более высокую степень полиморфизма со средним значением 6. Показатели генетического разнообразия по локусам представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Показатели генетического разнообразия по локусам

Локус	N_a	N_e	H_o	H_s	H_t	H_t	G_{is}
<i>M1287</i>	11.000	2.946	0.827	0.699	0.730	0.738	-0.184
<i>M1417</i>	3.000	2.640	0.879	0.650	0.646	0.645	-0.353
<i>M1182</i>	5.000	2.678	0.821	0.660	0.695	0.704	-0.243
<i>M2237</i>	5.000	1.409	0.186	0.320	0.321	0.321	0.420
<i>M2108</i>	3.000	1.057	0.037	0.057	0.055	0.055	0.341
<i>M2044</i>	12.000	5.093	0.911	0.842	0.860	0.864	-0.082
<i>M2164</i>	3.000	1.062	0.041	0.064	0.061	0.061	0.357
<i>M2306</i>	2.000	1.584	0.242	0.390	0.476	0.497	0.380
<i>M3230</i>	2.000	1.996	0.654	0.514	0.503	0.500	-0.273
<i>M3264</i>	6.000	2.403	0.758	0.602	0.591	0.588	-0.259
<i>M3444</i>	8.000	2.885	0.824	0.675	0.676	0.676	-0.221
<i>M4211</i>	4.000	1.514	0.255	0.357	0.374	0.378	0.288
<i>M4215</i>	9.000	3.030	0.237	0.721	0.811	0.833	0.672
<i>M4138</i>	5.000	2.145	0.715	0.550	0.542	0.540	-0.300
<i>M4474</i>	12.000	2.430	0.490	0.618	0.738	0.768	0.207
<i>M</i>	6.000	2.325	0.525	0.515	0.539	0.545	-0.020

N_a : количество аллелей; N_e : эффективное количество аллелей; H_o : наблюдаемая гетерозиготность; H_s : гетерозиготность внутри популяции; H_t : общая гетерозиготность; H^*t : скорректированная общая гетерозиготность; G_{is} : коэффициент инбридинга; M -среднее значение.

Наблюдаемая и общая гетерозиготность колебались от 0,037 до 0,911 (в среднем 0,525) и от 0,055 до 0,860 соответственно. Наибольшее эффективное число аллелей составило 5,093 для локуса *M2044* и 3,030 для локуса *M4215*; наблюдаемая гетерозиготность колебалась в пределах 0,911-0,715 для локусов *M2044*, *M1287*, *M1417*, *M1182*, *M3264*, *M3444* и *M4138*; гетерозиготность внутри популяции отмечена по локусам: *M2044*-0,842, *M4215*-0,721 и *M1287*-0,699, высокие значения общей гетерозиготности выявлены по локусам с наибольшим числом аллелей от 8 до 12, *M2044*-0,860, *M4215*- 0,811, *M4474*-0,738, *M1287*-0,730 и *M3444*-0,676.

Что касается генетического разнообразия видов и популяций, то эффективное количество аллелей колебалось от 1,8 до 2,7. Среднее число аллелей по каждому локусу было выше у *L. brachycephalus* из станции сбора гидроузла в г. Кызылорда (4,5), с. Басыкара (5,0), рисовых чеков (4,8). Напротив, среднее число аллелей было ниже для популяций близ села Байыркум (3,2). Для *L. conocephalus* среднее число аллелей у особей из рисовых чеков (1,7), реки Бадам (1,8) и гидроузла г. Кызылорда (2,0). Особи *L. conocephalus* с более низким генетическим разнообразием на этих станциях сбора также характеризовались и более низкой гетерозиготностью. В целом, туркестанский усач *L. conocephalus* отличался меньшим генетическим разнообразием (таблица 6).

Таблица 6 — Показатели генетического разнообразия *L. brachycephalus* и *L. conocephalus* из станций сбора проб Арало-Сырдарьинского бассейна.

Станции сбора	Вид	N_a	N_e	H_o	H_e	G_{is}
с. Байыркум	<i>L. brachycephalus</i>	3.267	2.283	0.518	0.497	-0.042
Гидроузел в г. Кызылорда	<i>L. brachycephalus</i>	4.533	2.653	0.578	0.546	-0.058
	<i>L. conocephalus</i>	2.071	1.890	0.476	0.434	-0.096
с. Басыкара	<i>L. brachycephalus</i>	5.067	2.707	0.540	0.539	-0.001
Рисовые чеки	<i>L. brachycephalus</i>	4.667	2.659	0.557	0.552	-0.008
	<i>L. conocephalus</i>	1.786	1.710	0.381	0.393	0.030
р. Бадам	<i>L. conocephalus</i>	1.867	1.812	0.433	0.428	-0.014

N_a : количество аллелей; N_e : эффективное количество аллелей; H_o : наблюдаемая гетерозиготность; H_e : ожидаемая гетерозиготность; G_{is} : коэффициент родства.

По всем показателям генетического разнообразия, включая среднее количество аллелей на локус, эффективное число аллелей и гетерозиготность, *L. brachycephalus* с плотины Басыкара демонстрировала более высокие значения по сравнению со всеми точками отбора проб. В исследованных популяциях *L. brachycephalus* популяция, наиболее близкая к устью Аральского моря, имела наименьшее разнообразие. Значения коэффициента родства

оказались статистически значимыми для всех исследованных популяций, за исключением популяции *L. brachycephalus* из рисовых чеков, расположенной в верховьях водораздела р. Сырдарья.

3.4.3 Оценка генетической изменчивости усачей

Анализ AMOVA показал, что самый высокий процент генетической изменчивости среди образцов *L. brachycephalus* из четырех отобранных выборок составляет 98,4 % по компоненту «внутри особей», по сравнению с низким процентом генетической изменчивости, объясняемой «среди популяций» 1,6 % соответственно. Кроме того, попарное генетическое расстояние и генетическое сходство *L. brachycephalus* и *L. conocephalus* оценивали по формуле Нея (статистика G_{st} в таблице 7), получая значения генетического расстояния в диапазоне от 0,01 до 0,14 для популяций двух анализируемых видов из пяти станциях сбора проб в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна.

Таблица 7 — Значения G_{st} для пяти исследуемых станций сбора проб в пределах Арало-Сырдарьинского бассейна

Вид	№	Станции сбора (№)				
		с.Байыркун (1)	Гидроузел в г. Кызылорда (2)	с.Басыкара (3)	Рисовые чеки (4)	р. Бадам (5)
<i>L. brachycephalus</i>	1	0,00	0,05	0,05	0,02	0,14
<i>L. brachycephalus</i>	2	0,05	0,00	0,01	0,02	0,07
<i>L. conocephalus</i>						
<i>L. brachycephalus</i>	3	0,05	0,01	0,00	0,02	0,07
<i>L. brachycephalus</i>	4	0,02	0,02	0,02	0,00	0,10
<i>L. conocephalus</i>						
<i>L. conocephalus</i>	5	0,14	0,07	0,07	0,10	0,00

В целях устранения трудностей интерпретации значений генетической дифференциации использовалась стандартизированная мера G_{st} , которая имеет диапазон от 0 до 1 и может применяться для сравнения популяций с разным уровнем генетической изменчивости. Значения G_{st} ниже 0,05 свидетельствуют о низкой дифференциации [284]. Полученные значения G_{st} варьировались от 0,01 до 0,14, что указывает на различия в уровнях генетической дифференциации между популяциями. Например, популяции с. Басыкара и гидроузла в г. Кызылорда, где G_{st} составил 0,01–0,05, демонстрируют низкую дифференциацию. Напротив, значения выше 0,05, между с. Байыркун и р. Бадам ($G_{st}=0,14$), свидетельствуют о высокой генетической дифференциации и значительных генетических различиях между популяциями этих двух видов. Таким образом, уровень генетической дифференциации среди популяций

может варьироваться в зависимости от общего уровня генетической изменчивости, что отражает различия в адаптационных процессах и экологических условиях на разных участках Арало-Сырдарьинского бассейна.

3.4.4 Генетическая структура рода *Luciobarbus* по ядерным маркерам

При выявлении структуры популяции анализируемых усачей из разных точек отбора проб Арало-Сырдарьинского бассейна, гистограммы показали разделение прогонов.

Значения $K=5$ оказались информативными для объяснения генетической структуры представителей рода *Luciobarbus*. Генетическая дистанция представлена парными оценками $F_{st}/(1-F_{st})$ среди популяций, которые регрессируются по отношению к географическому расстоянию. По моде для оптимального количества кластеров составило $K=5$, как показано в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты сводки симуляций в программе STRUCTURE v2.3.4

Станции сбора	Вид	K	Ln P(D)	F_{st_1}	F_{st_2}	F_{st_3}	F_{st_4}	F_{st_5}
с.Байыркум	<i>L.brachycephalus</i>	1	-4657.0	0.004	-	-	-	-
Гидроузел в г.Кызылорда	<i>L.brachycephalus</i>	2	-4484.4	0.369	0.036	-	-	-
с. Басыкара	<i>L.brachycephalus</i>	3	-4376.9	0.380	0.059	0.051	-	-
Рисовые чеки	<i>L.brachycephalus</i>	4	-4301.2	0.382	0.142	0.057	0.049	-
р. Бадам	<i>L. conocephalus</i>	5	-4254.5	0.074	0.162	0.077	0.035	0.058

K - кластеры; $Ln P(D)$ - наивысшие значения вероятности, выраженное логарифмически; F_{st} – индекс фиксации

Полученные значения дифференциации популяций, обусловленной генетической структурой, варьируются от 0.004 до 0.382. Индекс фиксации F_{st} колеблется от 0 (показывающего панмиксию, т.е. свободное скрещивание популяций) до 1 (полная изоляция популяций, где генетическая изменчивость не пересекается). Значения F_{st} выше 0,15 свидетельствуют о существенной генетической дифференциации.

Для популяции *L. brachycephalus* на станции с.Байыркум наблюдается почти полная панмиксия, что подтверждается значением $F_{st} = 0.004$. Это указывает на отсутствие значительных генетических барьеров между популяциями, что может свидетельствовать о свободном обмене генами между различными группами этого вида в данном регионе.

На территории гидроузла в г. Кызылорда наблюдается более выраженная генетическая дифференциация среди популяций вида *L. brachycephalus*. Значение $F_{st_1}=0.369$ указывает на умеренную дифференциацию, что может быть связано с наличием барьеров, таких как гидрологические изменения, влияющие на генетическую структуру популяций. Однако для второго

кластера, где $Fst_2=0.036$, значение остаётся низким, что предполагает более тесные генетические связи между популяциями этого кластера.

На станции сбора в с. Басыкара, с увеличением числа кластеров до $K=3$, генетическая дифференциация между популяциями становится более выраженной. Для первого кластера, где $Fst_1=0.380$, наблюдается значительная изоляция между популяциями. Это может свидетельствовать о наличии экологических барьеров, ограничивающих миграцию и обмен генами. В то время как для второго и третьего кластеров ($Fst_2=0.059$ и $Fst_3=0.051$) дифференциация остаётся менее выраженной, что может указывать на возможность обмена генами между этими популяциями.

В районе станции рисовых чеков для *L. brachycephalus* также наблюдается увеличение дифференциации между популяциями. На уровне $K=4$ значение $Fst_1=0.382$ указывает на значительную изоляцию и дифференциацию между популяциями. Это может быть связано с локальными экологическими барьерами на этом участке. Для других кластеров, где значения Fst несколько варьируются ($Fst_2=0.142$, $Fst_3=0.057$ и $Fst_4=0.049$), генетическая дифференциация остаётся на уровне умеренной изоляции, что подтверждает наличие некоторых барьеров и различий в условиях среды.

Для вида *L. conocephalus* на станции сбора р. Бадам (Туркестанская область) на уровне $K=5$ наблюдается умеренная генетическая дифференциация. Для второго кластера, где $Fst_2=0.162$, генетическое различие между популяциями выражено наиболее сильно. Это может свидетельствовать о значительной изоляции в данном регионе. В то время как для других кластеров, где значения Fst варьируются от 0.035 до 0.077, дифференциация остаётся умеренной, что предполагает возможность обмена генами между сравниваемыми популяциями.

Для анализа взаимосвязи двух видов применение STRUCTURE v2.3.4 к данным STR оказалось информативным. Структурный анализ не выявил четкой генетической структуры между четырьмя популяциями аральского усача *L. brachycephalus* (1-4), которые были заметно отделены от выборки 5, представленной туркестанским усачом *L. conocephalus* (5). На рисунке 11 представлена диаграмма, по результатам Байесовской кластеризации (STRUCTURE v2.3.4) на наборе данных STR усачей, где цвета представляют среднюю долю принадлежности (sort by Q) к каждой из предполагаемых групп.

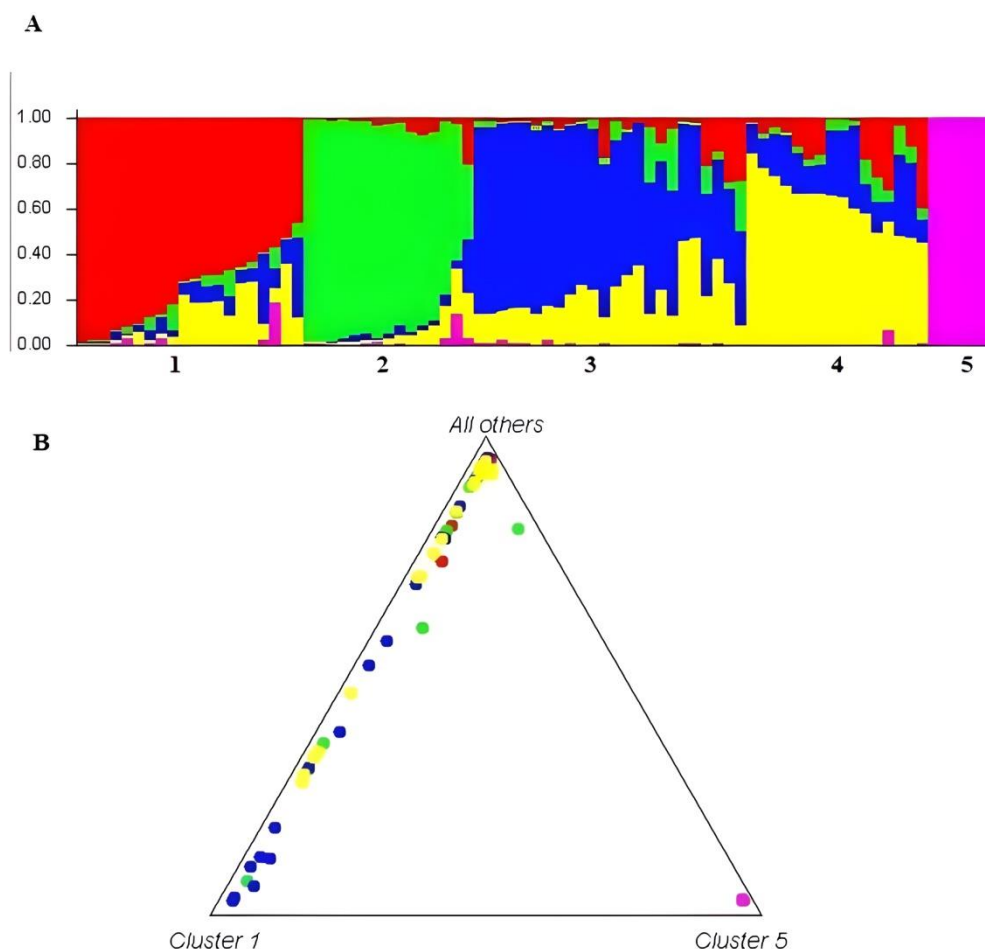


Рисунок 11 - Генетическая структура аральского и туркестанского усачей
 А - столбчатый график, показывающий разделение на пять кластеров; В -
 треугольный график, иллюстрирующий распределение двух видов по этим пяти
 кластерам.

В представленном столбчатом графике видно как оба вида разделяются на 5 кластеров: четыре из которых образованы смешением каждого из четырех генетических блоков (красного, зелёного, синего и жёлтого), относящихся к аральскому усачу *L. brachycephalus* (станции 1-4), а пятый кластер (розовый цвет) представляет собой вид *L. conocephalus* (станция сбора 5).

Столбчатые диаграммы, где каждая выборка усачей представлена одним вертикальным блоком, включающим более дробные вретикальные столбцы-особи, в которых цветные сегменты представляют относительный процент каждого генетического кластера. Стоит отметить, что у некоторых особей, принадлежащих к участкам 1-4 выборки *L. brachycephalus* и *L. conocephalus*, отмечается незначительное присутствие (К-5) генотипа *L. conocephalus* (Рисунок 12). Это может свидетельствовать о возможной гибридизации между этими видами в прошлом.

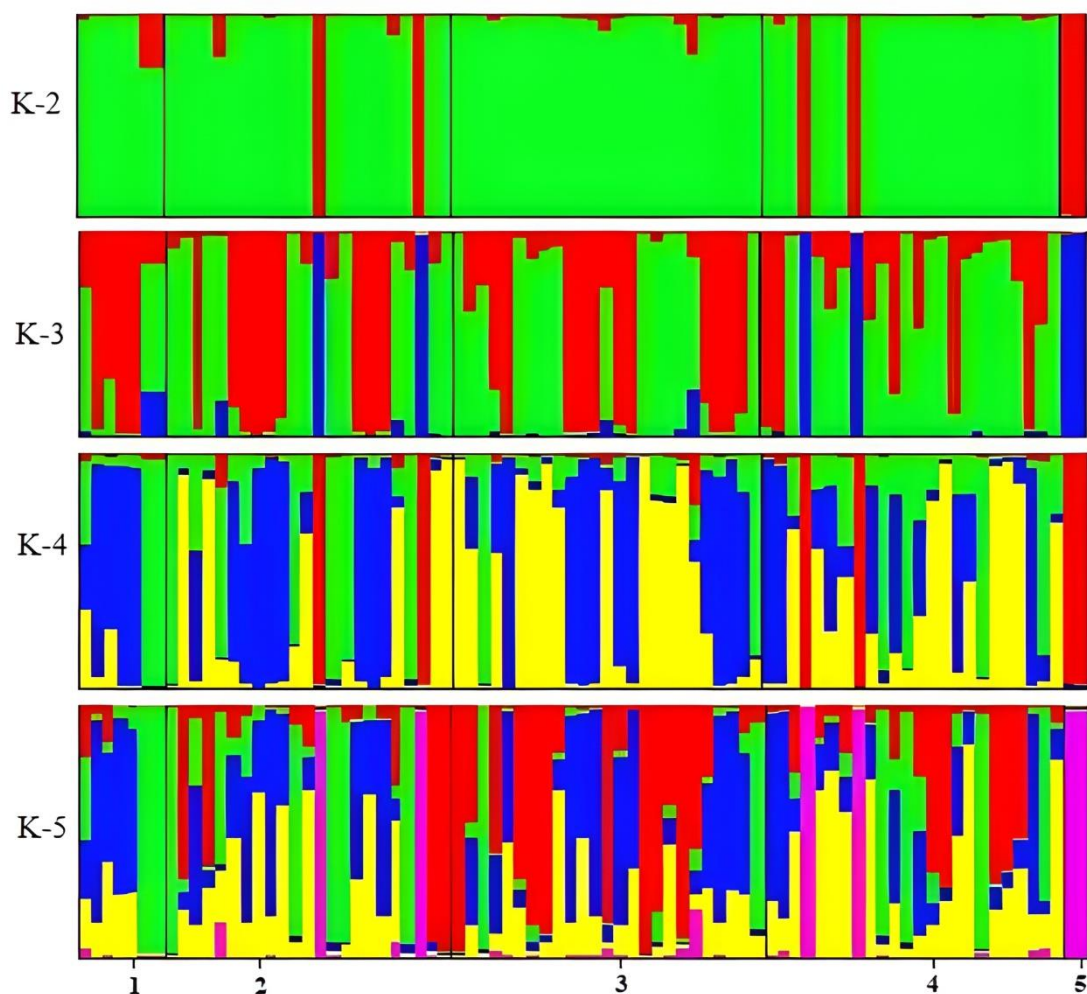


Рисунок 12 – Генетическая структура аральского и туркестанского усачей. Байесовская кластеризация на наборе данных STR выполненная с помощью STRUCTURE v2.3.4 после коррекции Эванно (CLUMPAK) для $K = 1-5$; где 1: с. Байыркум (*L. brachycephalus*); 2: гидроузел в г. Кызылорда (*L. brachycephalus*; *L. conocephalus*); 3: с. Басыкара (*L. brachycephalus*); 4: рисовые чеки (*L. brachycephalus*; *L. conocephalus*); 5: п. Бадам (*L. conocephalus*).

Согласно анализу первичных данных, четыре экземпляра (вертикальные линиирозового цвета) из станции сбора 2 и 4 (близ г. Кызылорда и рисовые чеки) относятся к туркестанскому усачу, а не являются результатом интрогрессии, как предполагалось ранее. Судя по всему, в полевых условиях эти четыре экземпляра, подвергнутые предварительному морфологическому анализу, были ошибочно идентифицированы как аральский усач, но генетический структурный анализ показал, что они принадлежат к другому виду - туркестанскому усачу. Также стоит отметить, что в этих местах впервые отмечены туркестанские усачи, хотя ранее там отмечали только аральского усача.

Проведенный анализ подтвердил низкий уровень интрогрессии генотипов *L. conocephalus* в генотипе *L. brachycephalus* в байесовском кластере, что указывает на ограниченный генетический обмен между этими видами [285]. Анализ байесовской структуры с использованием микросателлитов выявил различия между особями двух видов, однако, у *L. conocephalus* не было обнаружено никаких доказательств внутривидовой генетической структуры и генотипов *L. brachycephalus*. Наличие генетической дистанции между видами может объясняться давностью их расхождения, а отсутствие генетического материала аральского усача в геноме туркестанского - небольшими выборками туркетанского усача в нашем анализе.

3.4.5 Анализ частных аллелей для рода *Luciobarbus* при идентификации по ядерным маркерам

Проведенные нами исследования двух центральноазиатских видов рода *Luciobarbus* с использованием уникальных ядерных маркеров позволили эффективно разграничить оба вида. Согласно полученным результатам, эти микросателлитные локусы также могут быть использованы для внутривидовой генетической идентификации, поскольку особи *L. conocephalus* демонстрируют четкую дифференциацию при разделении на кластеры. С этой целью мы также отметили частные (приватные) аллели для *L. conocephalus*, такие как: *M1447*, *M0244* и *M4215*. Популяция туркестанского усача *L. conocephalus* имеет очень ограниченный ареал распространения в Арало-Сырдарьинского бассейна на территории Казахстана. Существенное сокращение численности популяции обоих видов усачей вследствие катастрофы Аральского моря, изменения гидрологического режима рек и разбора воды на ирригацию предполагает принятие мер по сохранению обоих видов усачей рода *Luciobarbus*.

3.4.6 Оценка естественной гибридизации среди особей

Установление фактов естественной гибридизации требует проведения генетического и статистического анализа особей из природы [286]. До проведения подобных исследований, как правило, мы не можем говорить о факте гибридизации, а лишь предполагать ее по морфометрическим характеристикам [109; 276]. К примеру, в трибе *Barbini*, род гексаплоидных рыб *Capoeta* находится внутри тетраплоидного *Luciobarbus* на митохондриальном древе, событие гексаплоидизации *Capoeta* может быть связано с древней гибридизацией между видами *Luciobarbus* в качестве материнской [173] и *Cyprinion* – в качестве отцовской линии [287]. Естественная гибридизация может иметь как негативные последствия (снижение жизнеспособности и приспособленности), так приводить и к положительным эффектам – например, повышению приспособленности популяций.

Была проведена оценка гибридного индекса среди всех генотипов особей на основе 15 микросателлитных локусов (Таблица 9):

Предполагаемые гибриды: группа (pop) 4 - Рисовые чеки;

Референсная популяция: группа (pop) 1 - с. Байыркум;
Альтернативная популяция: группа (pop) 5 - р. Бадам;

Таблица 9 - Оценка гибридного индекса на основе молекулярных маркеров (по методу Buerkle, 2005)

№ особи	Точка отбора проб	h	ln(likelihood) вероятность, %
At30350	с. Байыркум	0.1	47
At30352	с. Байыркум	0.0	38
At30353	с. Байыркум	0.0	58
At30421	Рисовые чеки	0.1	57
At30428	Рисовые чеки	0.0	49

Значения h , близкие к единице, указывают на близость к референтной; близкие к нулю - к альтернативной популяции, что подтверждает наличие генотипа обоих видов у представленных особей. Согласно полученным данным значения функции правдоподобия $\ln(\text{likelihood})$ варьировали от 38 до 58%, где от 38 до 49% имеет значение «менее вероятно», а где 57-58% «более вероятно». Таким образом, логарифм функции правдоподобия помогает количественно оценить вероятность принадлежности особи к той или иной популяции на основе её генетического материала.

Изученные виды морфологически сходны и различить их достаточно сложно. При совпадении ареалов основанием для их разделения является экология среды обитания и образ жизни (мигрирующие и жилые формы). То, что они предположительно образуют помеси, отмечено и в книге «Рыбы Казахстана» [109], что, подтверждено нами в проведённом генетическом анализе наличием в пределах ареала некоторых фенотипических особей *L. brachycephalus*, несущих часть ядерного генотипа *L. conocephalus*.

Представленные микросателлитные локусы в данной работе были амплифицированы как у *L. brachycephalus*, так и у *L. conocephalus*, что свидетельствует об их консервативности [285]. В работе Longwu G. и соавторов [254] приведены двадцать микросателлитных маркеров с числом аллелей на локус от 2 до 6, использованных для 15 особей *L. capito*, который, как указано авторами, обитает в Аральском море, Узбекистан. Сравнив последовательности, использованные в настоящей работе, с последовательностями из статьи Longwu G. и соавторов [254], можно отметить, что совпадений по последовательности праймеров не выявлено.

Ядерные маркеры, проанализированные в нашем исследовании, представляют собой микросателлиты, выделенные для *L. brachycephalus* и *L. conocephalus*, и увеличивают доступные молекулярные ресурсы для этих тетраплоидных видов и могут внести вклад в популяционную генетику, а также важны для принятия соответствующих решений по дальнейшему сохранению.

3.5 Результаты анализа митохондриального гена *cytb*

3.5.1 Внутрипопуляционное генетическое разнообразие аральского усача по результатам митохондриального гена *cytb*

Секвенирование полного митохондриального гена *cytb* (1140 п.н.) проводили для всех особей из 5 изученных точек сбора материала. Всего получено 96 последовательностей (Приложение В. рис.В.1-В.14). Анализ внутрипопуляционного генетического разнообразия проводили для 4 изученных выборок аральского усача, поскольку было недостаточно данных по популяции туркестанского усача, принадлежащей р. Бадам. На рисунке 13 представлен обзор консенсусной идентичности выровненных последовательностей собственных образцов аральского усача в сравнении с туркестанским усачом и последовательностями из базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (Приложение В. рис.В.15-В.21).

	Consensus	TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.02. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.08. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.03. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.09. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.04. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.10. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.05. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.11. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.06. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.12. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.01. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.07. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.02. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.08. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.03. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.09. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.04. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.10. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.05. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.06. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
H.12. <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.01. <i>B.conocephalus</i>		TACCAGTAGAGACCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
G.07. <i>B.conocephalus</i>		TACCAGTAGAGACCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
AY004729.1 <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
AY004730.1 <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
AF095603.1 <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
KY457952.1 <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
KP712167.1 <i>B.brachycephalus</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
AF145940.1 <i>B.capito</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
AF045975.1 <i>B.capito</i>		TACCAGTAGAACATCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080
KP712171.1 <i>B.capito</i> / <i>B.conocephalus</i>		TACCAGTAGAGACCCCTTCATCATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACCTTTGCAC	1080

Рисунок 13 – Консенсус выровненных последовательностей собственных образцов в сравнении данных с базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2

Для всех образцов аральского усача, принадлежащих к бассейну Арал-Сырдарья, было высчитано внутривидовое нуклеотидное и гаплотипное разнообразие. При подсчете индексов генетического разнообразия, всего выявили 19 гаплотипов. Нуклеотидное разнообразие составило $\pi = 0,002$, индекс разнообразия гаплотипов равен 0,88, количество полиморфных сайтов — 19, среднее количество различий между нуклеотидными последовательностями составляет 2,22, стандартное отклонение — 0,03. Эти

показатели свидетельствуют о высоком уровне генетического разнообразия в выборке, с умеренной степенью вариации между последовательностями.

Из общего количества сайтов 1140, была высчитана доля гуанина и цитозина (GC-состав), которая составила 0,448. С применением информационного критерия Акаике (AIC) определили эволюционную модель TN+F+I, в соответствии с которой шла замена нуклеотидов.

Для лучшего понимания филогеографии аральского усача *L. brachycephalus* сконструировали сеть гаплотипов на основе собственных данных. Полученные гаплотипы аральского усача представлены на рисунке 14.

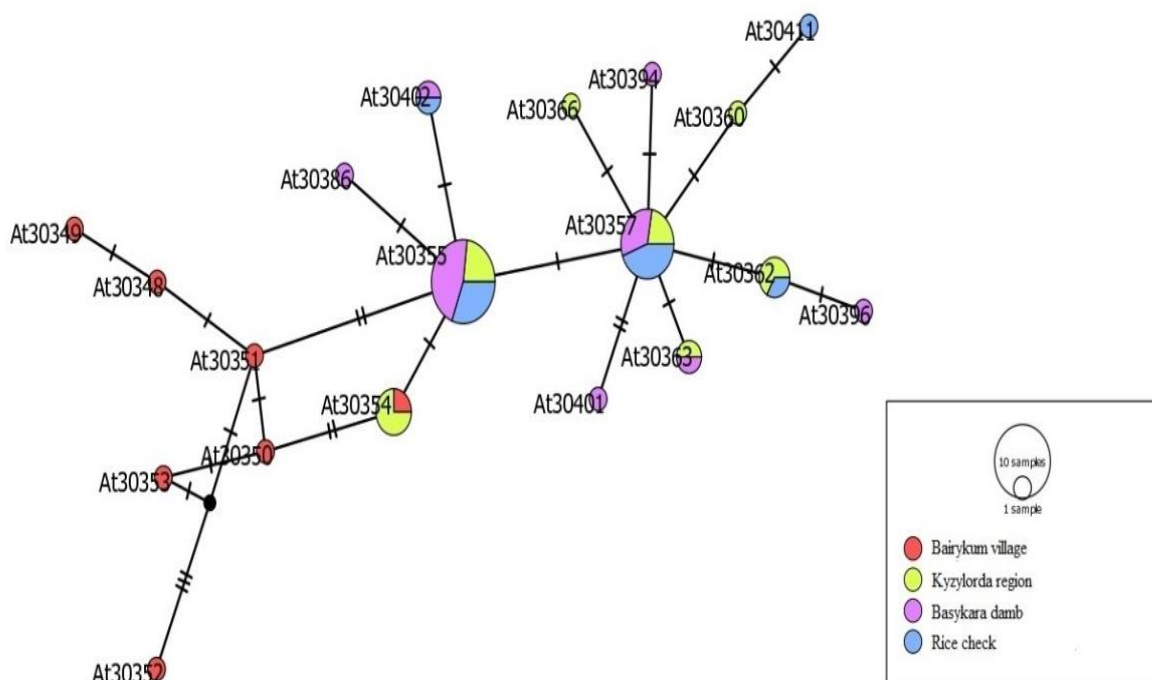


Рисунок 14 - Сеть гаплотипов вида *L. brachycephalus* по данным *cytb* мтДНК по алгоритму Median-joining. В легенду включены образцы из точек отбора в пределах Арал-Сырдарьинского бассейна

Число штрихов на отрезках, соединяющих гаплотипы, соответствуют числу нуклеотидных замен, которые варьируют от 1 до 3, черная точка обозначает гипотетические гаплотипы. Обнаружено 2 центральных гаплотипа, представляющие особей из трех точек (г. Кызылорда, Басыкара, рисовые чеки), которые составляют смешанную группу без сортировки гаплотипов. Отдельный гаплотип составляют особи из участка близ г. Кызылорда и Байыркум, что вероятно свидетельствует о том, что особи мигрируют и обмениваются

генетическим материалом, таким образом, происходит поток генов между популяциями.

Генетически изолированную группу особей по гаплотипам представляют особи из точки Байыркума (Туркестанская область), гаплотипы которых не обнаруживаются у точки Басыкара и рисовых чеков, расположенных в пределах Кызылординской области (за исключением одной особи, о которой упоминали выше). Это, вероятно, указывает на существование различных локальных популяций, обитающих в разных участках речного русла, которые, несмотря на свою генетическую изоляцию, могут обмениваться генетическим материалом. Хотя река и является частью одной водной системы, в её пределах могут существовать физические барьеры (например, большие участки с разной глубиной или шириной, пороги), которые затрудняют перемещение особей и ограничивают обмен генетическим материалом. Таким образом, даже в пределах одного участка реки могут возникать зоны с меньшей мобильностью популяций. В прошлом природные географические барьеры, такие как изменения уровня воды, могли изолировать отдельные участки реки, создавая локальные популяции. В долгосрочной перспективе это могло привести к генетическому различию между популяциями.

Таким образом, можно утверждать что *L. brachycephalus* имеет достаточно высокое генетическое внутривидовое разнообразие по данным мтДНК.

Проанализировав тесты на нейтральность, получили следующие значения для теста Tajima's D: -1,56, статистическая значимость: незначительно, $P > 0,10$, результаты статистики Fu's Fs: -12,55. Таким образом, результаты этих тестов (отрицательные значения для Tajima's D и Fu's Fs) говорят о том, что популяция недавно прошла через расширение или переживает положительный отбор, что приводит к увеличению числа полиморфизмов и возможному избыточному количеству новых мутаций в генетическом материале.

3.5.2 Филогенетический анализ рода *Luciobarbus* с помощью митохондриального гена *cytb*

В водоемах Арало-Сырдарьинского бассейна встречаются два вида усачей рода *Luciobarbus*; аральский усач *Luciobarbus brachycephalus* и туркестанский усач (ранее *Barbus capito conocephalus* Kessler, 1872) подвид усача булат-маи *Luciobarbus capito* (Güldenstädt 1773), принадлежащие к понто-каспийской пресноводной фауне [288; 289] и имеющие во многом совпадающие ареалы распространения [35;114]. Усач *L. brachycephalus* представлен двумя подвидами. Первый распространен в бассейне Каспийского моря, второй представлен в бассейне Аральского моря. Туркестанский усач *L. capito conocephalus* распространен в водах бассейна Аральского моря, но, в отличие от аральского усача, является типично пресноводным организмом, не совершающим протяженных миграций. Встречается преимущественно на равнинных участках рек Амударья, Сырдарья, Зеравшан, Кафирниган, Кашкадарья, Чу, а также в водохранилищах этих рек, в пойменных озерах,

магистральных и сбросных каналах ирригационных систем [81;125;126;275;290-293]. Казахстанская часть ареала включает бассейн Сырдарьи от Шардаринского водохранилища до нижнего течения, включая бассейны рек, стекающих с юго-западных склонов хребта Каратау (реки Арысь, Бугун, Бадам, Келес) [109]. В каталоге рыб Эшмейера [31] был действительный подви́д *L. capito conocephalus* со ссылкой на Берга Л.С. [81]. Таксономический статус *L. capito conocephalus* вызывает споры. Берг Л.С. [292] отнес туркестанского усача к *Luciobarbus capito* как подви́д, Coad B.W. [294], Banarescu, P. M., и Bogutskaya, N. G. [295] считали синонимом *L. capito*. В сводке «Рыбы Казахстана», 1988 г. [109], авторы отмечают, что подви́д *Barbus capito conocephalus* (*L. capito conocephalus*) возможно правильное рассматривать как подви́д *Barbus brachycephalus*, то есть, *L.brachycephalus*. Для полного представления, схема показана на рисунке 15.

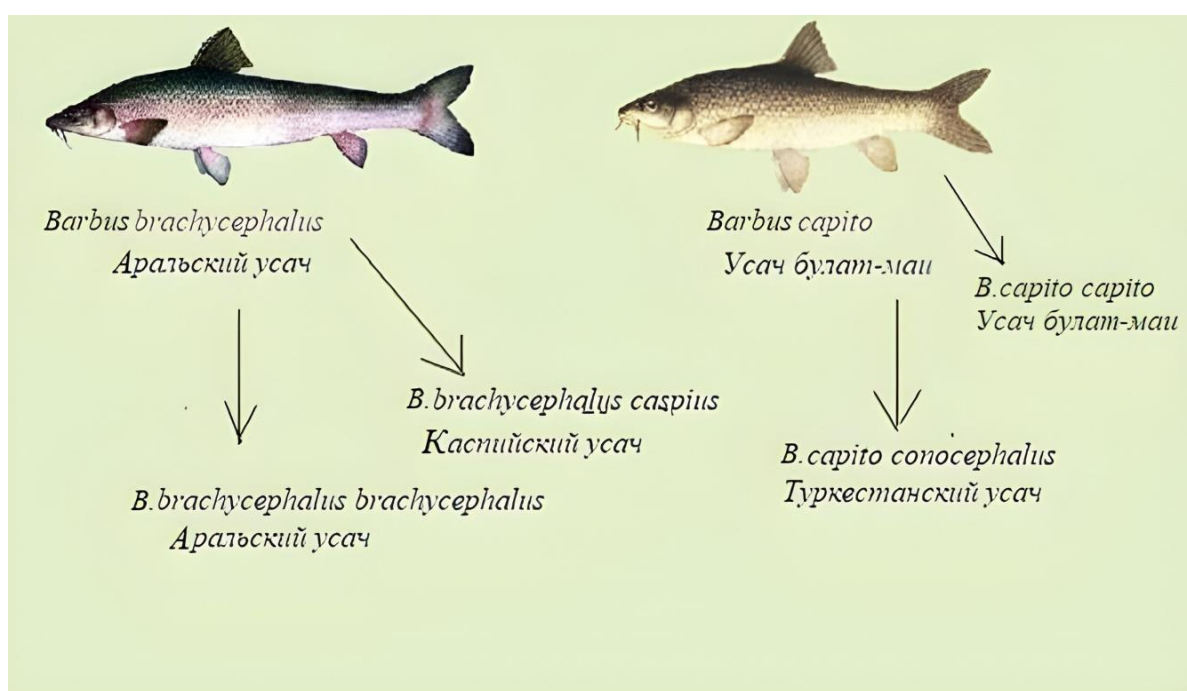


Рисунок 15 - Схематическое представление внутривидовой структуры усачей согласно сводке «Рыбы Казахстана», 1988 г. [109], (составлен автором диссертации)

Авторы третьего тома вышеназванной сводки - Митрофанов В.П. и соавторы - заключают, что последнее можно доказать для бассейна Аральского моря, но совпадающий ареал этих видов в бассейне Каспия, заставляет их пересматривать их систематику в более широком плане, для чего у них нет достаточного материала, как отмечают авторы.

По последним данным Jouladeh-Roudbar, A. и соавторов [296;297], молекулярные и морфологические исследования подтверждают, что *L. conocephalus* является отдельным видом, он был обнаружен в бассейне р. Харируд (Иран). Основная часть бассейна находится в Афганистане, где река берёт начало, также бассейн охватывает части Ирана и Туркменистана. Другие

авторы – такие как Eagderi, S. и соавторы [298], Cicek, E. и соавторы [299], также указывают, что *L. conocephalus* представляет собой отдельный вид. В работе Jouladeh-Roudbar, A. и соавторов [297], указано, что синтипы вида *Barbus conocephalus*, описанного Кесслером в 1872 году, происходят из типового местонахождения — реки Зеравшан в Узбекистане, и хранятся в Зоологическом музее Московского государственного университета. Автор настоящей диссертационной работы следует более недавнему подходу Jouladeh-Roudbar, A. и соавторов [297] и рассматривает туркестанского усача как *L. conocephalus*, опираясь также на собственные результаты молекулярного генетического анализа при исследовании гена *cytb* мтДНК. В таблице 10 представлен список видов, места отбора проб, инвентарные номера в GenBank и последовательности *cytb* мтДНК собственных (полученные результаты приведены в приложении Г. табл Г.1-Г.6) изученных особей и сравнительных материалов.

Таблица 10 - Название вида, места отбора проб и инвентарные номера в GenBank.

Вид	Водоем, страна / литературный источник	Номер пробы или инвентарные номера GenBank.
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Арала: р. Сырдарья, Казахстан	21BBSAB005_E01*
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Арала: р. Сырдарья, Казахстан	21BBSAB005_F05*
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Арала: р. Сырдарья, Казахстан	21BBSAB005_E02*
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Каспия: р. Терек, Россия	AF095603
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Каспия: р. Терек, Россия	AY004729
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Каспия: р. Терек, Россия	KY457952
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Каспия: р. Терек, Россия	AY004730
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Арала: р. Амударья, Туркменистан	KP712167
<i>L. brachycephalus</i>	Бас. Арала: р. Сырдарья, Казахстан	21BBSAB005_F01*
<i>L. capito</i>	Бас. Каспия: р. Терек, Россия	AF045975
<i>L. capito</i>	Бас. Каспия: р. Аракс (Кура), Армения	AF145940
<i>L. conocephalus</i>	Бас. р. Харируд, Иран	MZ063684
<i>L. conocephalus</i>	Бас. Арала-Сырдарьи: р. Бадам, Казахстан	21BBSAB005_F06*
<i>L. conocephalus</i>	Бас. Арала-Сырдарьи: р. Бадам, Казахстан	21BBSAB005_G01*
<i>L. capito (conocephalus)</i>	Бас. Арала: р. Амударья, Туркменистан	KP712171
<i>Cyprinus carpio</i>		AY347287

Последовательности, полученные в этом исследовании отмечены знаком *

Филогенетическое дерево аральского усача *L. brachycephalus*, усача булат-май *L. capito* и туркестанского усача *L. conocephalus* построено методом NJ (Neighbor-Joining) на основании последовательностей *cytb* мтДНК (1118 п.о.), в качестве внешней группы (outgroup) выбран карп *Cyprinus carpio*.

Под ветвями дерева показаны значения поддержек бутстрепа (в процентах), вычисленные на основе 1000 повторов. Дерево нарисовано в масштабе, где длины ветвей соответствуют эволюционным расстояниям, рассчитанным методом максимального составного правдоподобия (Maximum Likelihood). Расстояния выражены в единицах количества замен оснований на сайт (рисунок 16).

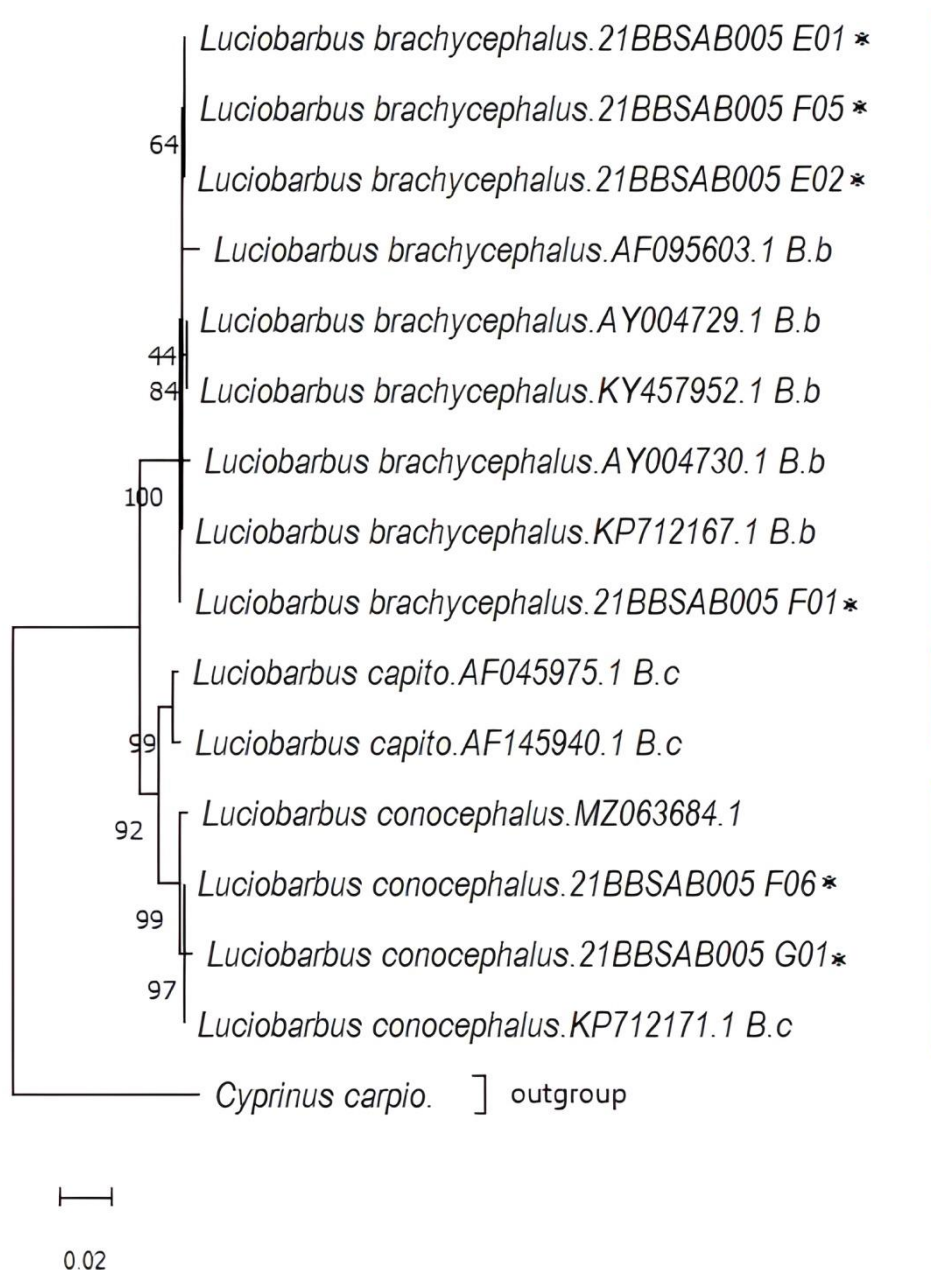


Рисунок 16 – Филогенетическое дерево некоторых видов усачей рода *Luciobarbus* построенное методом NJ (Neighbor-Joining) на основании

последовательностей *cytb* мтДНК. Образцы, изученные автором, отмечены знаком *. Вертикальные линии показывают виды: аральский (зеленый), каспийский (синий), усач булат-маи (красный), туркестанский (желтый). Масштабная линейка соответствует 0,02 нуклеотидных замен на сайт

На представленном филогенетическом дереве показаны несколько клад, обозначенных цветными линиями. Все группы обладают статистически высокой поддержкой узлов, подтверждающей их надёжность.

Зелёная линия и синяя линии объединяет таксоны, относящиеся к *L. brachycephalus*. Это монофилетическая группа с высокой поддержкой узлов (бутстреп 100). Особи каспийского и аральского усача перемешаны внутри этой группы, что свидетельствует о близком родстве этих подвидов, фактически, характерном для популяций одного вида.

Красная линия объединяет таксоны *L. capito*, распространённого в бассейне Каспия. Эта группа характеризуется высокой поддержкой узла (бутстреп 99), что надёжно подтверждает надёжность этой группы как отдельной клад.

Жёлтая линия представляет таксоны *L. conocephalus*. Узел с бутстрепом 99 подтверждает её статус как отдельного видового кластера, а разделение *L. capito* и *L. conocephalus* также поддержано на хорошем уровне (бутстреп 92).

Таким образом, аральский (зелёная линия) и каспийский (синяя линия) усачи формируют одну кладу *L. brachycephalus*, что свидетельствует об их высокой степени генетического сходства, с *r*-дистанциями, колеблющимися от 0.09% до 0.9%. В то же время генетическая дистанция между *L. capito* и *L. conocephalus* значительно выше, варьируется от 3.45% до 3.87%, чем между аральским и каспийским усачами, что подтверждает их статус как отдельных видов.

Последовательность, зарегистрированная в GenBank под номером KP712171 как *L. capito* из р. Амударья (бассейн Арала, Туркменистан), на филогенетическом дереве сгруппировалась с *L. conocephalus* и не продемонстрировала сходства с усачом булат-маи (*L. capito*, AF045975) из р. Терек (бассейн Каспия, Россия) или с образцом *L. capito* (AF145940) из р. Аракс (бассейн Каспия, Армения). Вероятно, последовательность KP712171, обозначенная в работе Yang L. и соавторов [160] как *L. capito*, на самом деле принадлежит *L. conocephalus*. Это подтверждается тем, что данный образец на филогенетическом дереве сформировал кладу с туркестанским усачом *L. conocephalus* (MZ063684) из р. Харируд (Иран), а также с экземплярами туркестанских усачей (21BBSAB005_F06 и 21BBSAB005_G01) из р. Бадам (бассейн Арал-Сырдарьи, Казахстан), изученными автором диссертации.

3.6 Результаты применения митохондриального гена *COI*

Установление видовой принадлежности усачей было проведено также методом сравнения полученной последовательности с референсными эталонными последовательностями различных видов рыб, депонированными в международной базе данных BoldSystems [300].

После сборки последовательности и консенсусного редактирования длина чтения последовательности составляла в среднем 585 пар оснований. База данных выявила максимальные совпадения идентичности 99% последовательностей гена *COI*, принадлежащих роду *Luciobarbus*.

Принадлежность исследуемых образцов аральского усача как *Luciobarbus brachycephalus* с точностью совпадения нуклеотидной последовательности составило 99,86 %, данный результат был необходим для подтверждения принадлежности сформированного ремонтно-маточного стада аральского усача содержащихся в рыбопитомнике Казахстана [301]. Таким образом, метод ДНК-штрихкодирования, основанный на основе применения маркера *COI*, показал успешность видовой идентификации аральского усача.

3.7 Результаты применения микросателлитных локусов для генетической паспортизации усачей

Учитывая скудность генетических данных для находящихся под угрозой исчезновения усачей, критериями отбора локусов, помимо появления продукта ПЦР, были и размер продуктов амплификации, пригодный для анализа в полиакриламидном геле. Размеры ПЦР-продуктов исследованных локусов колебались от 100 до 248 п.о. Для генетической паспортизации использовали микросателлитные локусы с модифицированным 5'-концом флуоресцентными метками R6G (зеленый), ROX (красный), FAM (синий), HEX (пурпурный), TAMRA (желтый), в таблице 11 также приведены генетические данные: название локуса, последовательности праймеров и другие характеристики.

Таблица 11 - Генетическая характеристика микросателлитных локусов для аральского усача

Наименование локуса	Прямая и обратная последовательности (5'-3')	Т° С отжига	Размер ампликона	Флуоресцентный маркер	Повторяющийся мотив
<i>Barb37</i>	F:AAATACGCTCTCCTCATTAC R:GTACAAAAGCAAAATAAATTA	50	155-164	R6G	GATA
<i>Barb54</i>	F:GTTGTTTTGATTACACTGAG R:TACCATCTGCTGCTGCTTC	58	-	FAM	ATTT
<i>Barb59</i>	F:CTGTATCCATCACATAGGCT R:CATGATTTAATAGAACACACAC	56	-	TAMRA	GATA
<i>Barb79</i>	F:GAGTGAATCATTACATCCCT R:GCTTTTCTTGATTAGTATTT	46	164-176	ROX	CA
<i>BC8</i>	F:ATGGCAGGAGAAACGATCAC R:GGTTCTACCCGCTCTTACCC	56	185–194	HEX	(AC) ⁷
<i>BC17</i>	F:GCAGGGTGGAGTTGGAGTAG R:GAGAGTGTGCTGGCATGTGT	58	164–176	R6G	(AC) ¹¹
<i>BC26</i>	F: CATCATCACACAGCAGCA R: TTCAGTCCGTCGTCTCGTCT	58	221–248	FAM	(CGA) ⁵

BC37	F:CGGCCTGTGAGTGTGTGTAT R:GACGATCACATACGCCTTCA	56	238–246	TAMRA	(TG) ¹⁶
BC42	F:AAAGAGCAGCGGACGAATAA R:CGTCCAGAGGAACGGTTTAG	54	108–115	ROX	(TC) ²⁴
BC47	F:TTTGGGTTTTGAGGGCTATG R:CCTTTGCTTCACCAGATACG	54	190–225	HEX	(TA) ³ , (TCAT) ⁷

Отрицательный результат был выявлен для локусов: BC17, BC26, BC42, BC47, Barb54, Barb59, соответственно они были исключены из дальнейшего анализа [302]. Критериям отбора наиболее соответствовали локусы Barb37, Barb79, BC8, BC37 [303]. Аллельное разнообразие аральского усача по 10 STR-локусам представлено в таблице 12.

Таблица 12 - Аллельное разнообразие аральского усача по 10 STR-локусам

Микросателлитный locus	Число аллелей на выборку
Barb37	5
Barb54	исключен
Barb59	исключен
Barb79	3
BC8	4
BC17	исключен
BC26	исключен
BC37	3
BC42	исключен
BC47	исключен

3.7.1 Аллельное разнообразие аральского усача по отобранным локусам

Аллельное разнообразие аральского усача по отобранным локусам и число аллелей на выборку представлено на рисунке 17.

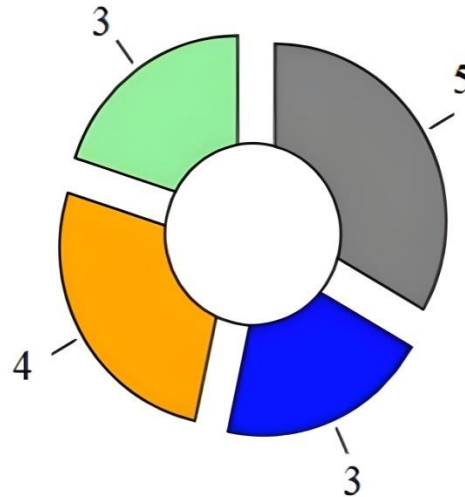


Рисунок 17- Аллельное разнообразие аральского усача по отобранным локусам *Barb37*, *Barb79*, *BC8*, *BC37*: 4 цветных блока, соответствующих каждому локусу, с диаграммой внизу, показывающей количество аллелей на локус с соответствующими цветами (3, 3, 4, 5).

У всех проанализированных особей ремонтно-маточного стада, потенциальных производителей аральского усача, содержащихся в рыбопитомнике, впервые по четырем исследованным локусам выявлено 14 аллелей. Число аллелей на локус составляло 3 (*Barb79*; *BC37*); 4 (*BC8*) и 5 (*Barb37*), в среднем – 3,75. Наименее полиморфным в выборке оказался локус *Barb79* и *BC37* с размерным диапазоном 164–176 и 238-246 п. н. Результаты исследования геномной ДНК у усача выявили преобладание в локусе *Barb37* аллеля 155 п. н. (70 %) как показано на рисунке 18.

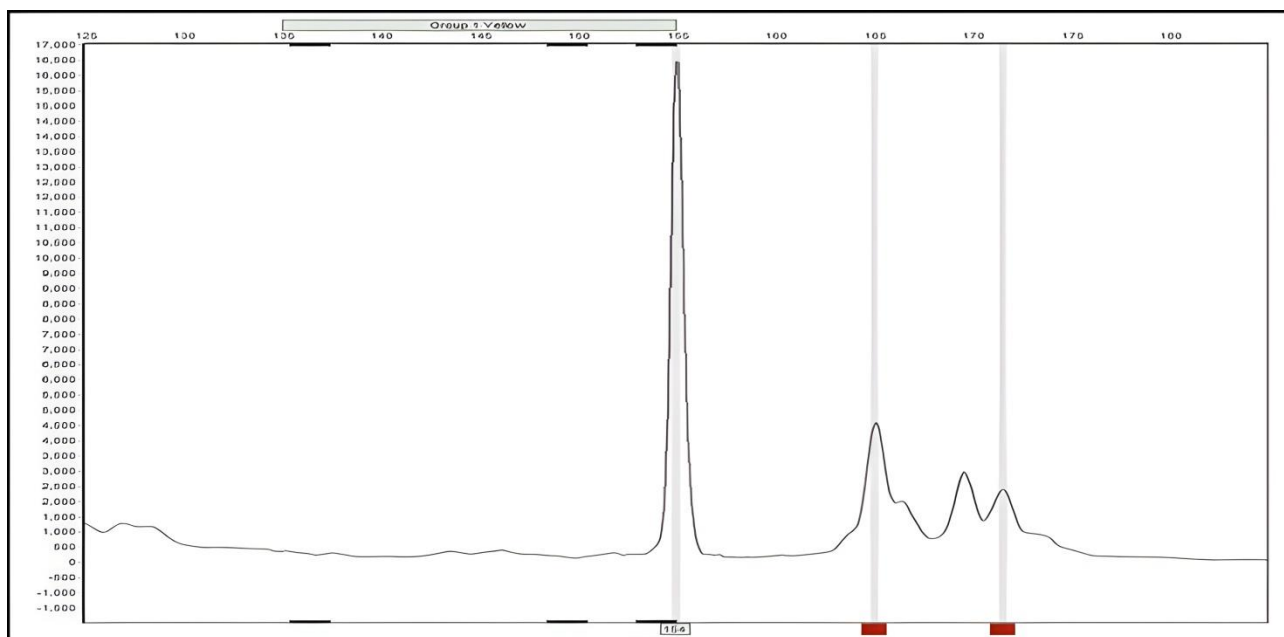


Рисунок 18 - Генотип аральского усача, где представлен участок локуса *Barb 37*

Наибольший полиморфизм проявили локусы *Barb37* и *BC8* с размерными диапазонами аллелей 155–164 и 185–194 п. н. соответственно. Примененные микросателлиты для генетической паспортизации удобны в использовании, а также синтез данных микросателлитов производится относительно быстро и доступно.

3.7.2 Генетическая паспортизация ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus*

В связи с тем, что воспроизводство ценных видов рыб является единственным способом их сохранения, разработка генетических маркеров становится особенно актуальной. Генетический паспорт содержит информацию о виде и индивидуальные генетические данные - митохондриальный гаплотип и аллельный состав по всей панели микросателлитных локусов, используемых для генетической паспортизации.

Проведена апробация микросателлитных (STR) локусов и некоторые из них рекомендованы для генетической паспортизации производителей, отобранных для формирования РМС аральского усача в методической рекомендации (Приложение Д., рис. Д.2.).

Для генетической паспортизации (Таблица 13) были учтены пятнадцать особей, потенциальных производителей аральского усача, выловленных из естественной среды (р. Сырдарья).

Таблица 13 - Молекулярно-генетический масс-паспорт выборки аральского усача *L. brachycephalus*

Молекулярно-генетический масс-паспорт выборки аральского усача (<i>Luciobarbus brachycephalus</i>) из РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник». Анализ выполнен с использованием объединенной выборки биопсийных материалов особей аральского усача по мтДНК и 4 микросателлитным локусам: (<i>Barb37</i>, <i>Barb79</i>, <i>BC8</i>, <i>BC37</i>)			
Название локуса	Диапазон размеров аллелей для данного вида	Кол-во аллелей в данной выборке	Размер аллеля (пара нуклеотидов) встречаемость в выборке %)
<i>Barb37</i>	182-186 п.о.	5	182 (0,253); 186(0,335)
<i>Barb79</i>	164-168 п.о.	3	164 (0,235); 168 (0,135)
<i>BC8</i>	184–188 п.о.	4	184 (0,233); 188 (0,297)
<i>BC37</i>	236–240 п.о.	3	236 (0,210); 240 (0,175)
Митохондриальны й гаплотип гена <i>COI</i>	(5'TGCCTTAAGCCTTCTCATTCGAGCCGAATTAAGTCAACCCGGA TCCCTTCTAGGTGATGATCAAATTTATAATGTTATTGTTACTGCTC ACGCCTTCGTGATAATCTTCTTTATAGTAATGCCTATTCTAATTGG AGGATTTGGGAACCTGACTTGTGCCATTAATAATTGGAGCCCCAGA CATAGCATTTCCACGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTACTGCC CCCATCATTCCTGCTACTACTAGCCTCTTCTGGTGTGTAAGCTGGA GCCGGGACAGGATGAACAGTGTATCCGCCCTCTCAGGAAACCT GGCCACGCAGGGGCATCAGTAGACCTAACAATCTTCTCGCTACA CCTAGCAGGTGTTTCATCAATCCTGGGGGCAATCAATTTTATCAC TACAACATTAACATAAAACCCCCAGCCATTTCCCAGTATCAAAC ACCCCTATTTCGTCTGATCCGTGCTCGTAACCGCCGTATTACTTCTC СТАТCACTACCCGTCTAGCCGCCGGAATTACAATACTCCTAACA GACCGAAACCTTAACACCACATTCTTTGACCCCGCTGGGGGAGGA GACCSAATCCTCTACCAACACCTATTCTGATTCTTTGGTCACCCAG AAGTATATATCCTTATCCTTCCAGGGTTTGGAATTATTTCTCACGT CGTAGCCTACTA-3')		

Образцы (ткани) особей хранятся в лаборатории генетики гидробионтов («Научно-производственный центр рыбного хозяйства»). Генетический паспорт ремонтно-маточного стада аральского усача находится в «РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник», также получен акт внедрения научных результатов исследований (Приложение Д. рис.Д.1).

Разноплановые комплексные молекулярно-генетические исследования необходимы для сохранения генофонда и развития аквакультуры и доказывают необходимость их использования на рыбоводных заводах Арало-Сырдарьинского бассейна.

Сохранение генофондов видов, при этом, играет важнейшую роль для их долговременного существования, а долговременный устойчивый промысел невозможен без определения единиц запаса, границ популяций и должен базироваться на популяционно-генетических данных.

3.7.3 Необходимость генетического мониторинга при формировании ремонтно-маточного стада аральского усача в промышленных условиях

Создание ремонтно-маточных стад редких и эндемичных видов рыб - одна из основных мер по сохранению биоразнообразия. Наличие ремонтно-маточных стад видов рыб, относящихся к категориям редких, находящихся под угрозой исчезновения и эндемичных, будет в дальнейшем способствовать разработке и совершенствованию биотехнических приемов их разведения и выращивания жизнестойкого рыбопосадочного материала для зарыбления водоемов.

Запасы ценной промысловой рыбы - аральского усача - в р. Сырдарья и Аральского (Малого) моря в настоящее время катастрофически снижены в результате антропогенного воздействия на ихтиофауну Приаралья. Отлов молоди усача в коллекторах оросительных сетей Кызылординской области и выпуск ее в естественные водоемы не обеспечивает восстановления численности природных популяций, коэффициент промыслового возврата от выпуска такой молоди ничтожно мал. В связи с этим есть необходимость в зарыблении водоемов более крупной молодью, способной быстро выйти из-под пресса хищных рыб и способствовать образованию локальных популяций, способных обеспечить восстановление численности рыб. Исследования по биотехнике разведения усача с последующей акклиматизацией и реакклиматизацией этого вида рыб позволят не только качественно улучшить состав ихтиофауны водоемов Приаралья, но и сохранить генетический потенциал природных популяций. В дальнейшем, сформированные маточные стада усача будут использованы для получения потомства и проведения работ по их искусственному воспроизводству [140].

Метод, основанный на отборе лучших потомков усача из посадочного материала по установленным критериям с последующим выращиванием производителей до половозрелого состояния, является трудоемким и продолжительным. Он включает отбор ремонтных особей на протяжении всего периода выращивания, с оценкой экстерьерных и рыбоводных показателей. Особую сложность представляет адаптация рыб к условиям содержания в рыбоводных хозяйствах. Несомненным достоинством этого метода является то, что вся рыба хорошо приспособлена к условиям содержания, искусственному кормлению. К недостаткам следует отнести большую вероятность близкородственного скрещивания вследствие ограниченного исходного производителей и длительный период содержания до первого получения половых продуктов 6-8 лет. Несмотря на сложность этого метода, при котором затрачиваются большие усилия на уход, охрану, содержание и кормление РМС,

положительным моментом является возможность сохранения природного генетического разнообразия.

Дополнение основного метода отбора производителей по экстерьерным и биологическим показателям методом генотипирования существенно снизит вероятность инбридинга (близкородственного скрещивания) и уменьшит риск потери жизнеспособности потомства при зарыблении естественных водоёмов.

При закладке племенного материала усача необходимо принимать меры, обеспечивающие сохранность исходного генетического разнообразия. Для этого личинок для племенных целей необходимо отбирать от не менее чем 10-20 самок. Для оплодотворения икры каждой самки используют сперму не менее 3 самцов, отбирают икру с высоким процентом оплодотворения (не ниже 80%) и минимальным числом эмбрионов с отклонениями (2-3 %). При соблюдении таких правил увеличение уровня инбридинга за поколение будет минимальным.

Тем самым, для обеспечения оптимального уровня генетического разнообразия в условиях искусственного воспроизводства необходимо:

- сохранять определенный уровень численности производителей в маточных стадах в количестве: минимум 50, оптимум 200;
- при воспроизводстве каждого поколения обеспечить равный вклад представителей разного пола в нерестовую структуру стада (соотношение самцов и самок не более 1:1), что позволит уравнивать генетический вклад каждой особи в следующее поколение;
- обеспечить проведение эколого-генетического мониторинга племенного материала и, при необходимости, производить пополнение РМС рыбами из природных популяций.

Неотъемлемой задачей при проведении научно-исследовательских работ по восстановлению редких и исчезающих рыб является изучение их генетической структуры, что вовсе не было изучено прежде. Для этого проводится оценка их генетической полиморфности, ведь в дальнейшем у производителей из РМС, как правило, в отличие от рыб из природной популяции, может наблюдаться дефицит гетерозигот, что может в дальнейшем неблагоприятно отразиться на качестве выпускаемой молоди.

3.8 Вопрос сохранения естественных популяций усачей Арало-Сырдарьинского бассейна

Генетический полиморфизм важен для долгосрочного выживания вида. Очевидно, что отсутствие генетической изменчивости или слишком высокая гомозиготность могут привести к снижению адаптивности, повышенной восприимчивости к болезням, генетическому вырождению, снижению жизнеспособности потомства, а также ограничению способности к эволюционным изменениям. В данной работе микросателлитная гетерозиготность использовалась как индикатор генетического разнообразия особей.

Генетическая структура популяций усачей формируется из дифференцированных локальных популяций, обитающих на отдельных

участках водоема. Географические особенности реки, такие как наличие рукавов и притоков, создают естественные преграды для миграции, что могло способствовать частичной изоляции популяций и их генетической дифференциации на разных участках водоема. Эти географические барьеры могли привести к изоляции групп популяций ещё до строительства гидротехнических сооружений. В свою очередь, гидроузлы, построенные в разные годы могли усилить эти природные барьеры, ограничив миграцию и обмен генетическим материалом между популяциями. Согласно нашим наблюдениям, возле гидроузлов часто скапливаются особи, что дополнительно снижает возможность миграции между группами особей, расположенных на разных участках реки, разделенных гидроузлами.

Гены, виды и экосистемы – три основных уровня разнообразия, определенных Международным Союзом Охраны Природы МСОП. Изучение каждого из этих уровней по отдельности поможет нам понять связанные процессы, формирующие мировое биоразнообразие, а в дальнейшем создать и цельный синтез знаний, полученных на разных уровнях исследования. Четвертый уровень разнообразия – генетически дивергировавшие локальные популяции, слагающие метапопуляционные системы видов – вероятно, самый значимый уровень для приложения усилий по сохранению биоразнообразия, интегрирующий в себе основополагающие элементы вышеперечисленных трех уровней [304].

На сегодняшний день главными проблемами биоразнообразия Арало-Сырдарьинского бассейна являются угроза необратимой потери популяций редких и исчезающих видов, что впоследствии может привести к сокращению генофонда. В связи с резким снижением численности природных популяций необходимо внедрение технологий выращивания усачей в искусственных условиях и выпуска молоди в естественную среду обитания. Однако такие меры могут привести к потере внутри- и межпопуляционного разнообразия, а также накоплению генетического груза, что создаст дополнительные угрозы для устойчивости этих групп в долгосрочной перспективе. Поэтому важно проводить регулярную оценку генетического разнообразия и изучать генетическую структуру популяций, чтобы обеспечить их сохранение и их сохранение и устойчивое существование.

Работы по реинтродукции и искусственному воспроизводству усачей должны учитывать особенности описанной генетической структуры популяций усачей во избежание деградации популяционных генофондов вида. Производители должны отбираться из того водоема, в котором планируется выпуск молоди. При невозможности отбора производителей из этого водоёма, они должны быть взяты из популяций того же зоогеографического региона, принадлежащих к одной генетической группе популяций.

Полученные и опубликованные результаты настоящего диссертационного исследования [277;278;285;302;303] по генетической структуре и филогенетической организации усачей Арало-Сырдарьинского бассейна могут

послужить основой для дальнейших генетических и таксономических исследований, а также для изучения эволюционной истории усачей.

Комплексное применение ядерных и митохондриальных маркеров позволило детально исследовать популяции *L. brachycephalus* и *L. conocephalus*, что способствует решению вопросов их сохранения и позволяет принимать более обоснованные решения в природоохранной сфере, а также предоставило первые молекулярно-генетические данные об усачах, обитающих в Арало-Сырдарьинском бассейне в пределах РК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный комплексный анализ усачей рода *Luciobarbus* Арало-Сырдарьинского бассейна позволил сделать следующие выводы:

1. По результатам картирования мест обитания усачей в Арало-Сырдарьинском бассейне, выяснено, что основными местами скопления старшевозрастных особей аральского усача в границах Кызылординской области является нижний участок плотины Басыкара. Полученные значения коэффициента вариации морфо-биологических характеристик показывают, что признаки в сравнении имеют низкую вариабельность среди двух изучаемых видов. При этом признаки существенно перекрываются, что затрудняет видовую идентификацию молоди. Задачи видовой идентификации требуют применение молекулярно-генетических подходов.

2. Апробировано 17 новых специфичных микросателлитных локусов для рода *Luciobarbus*, из которых 15 оказались информативными для оценки генетического разнообразия усачей и по количеству аллелей на 15 локусов составили от 2 до 12, со средним значением – 6. Общее количество аллелей составило 90. Высокие значения общей гетерозиготности выявлены по шести локусам с наибольшим числом аллелей от 8 до 12. По всем показателям генетического разнообразия, включая среднее количество аллелей на локус, эффективное число аллелей и гетерозиготность, выборка *L. brachycephalus* с плотины Басыкара демонстрировала более высокие значения по сравнению с другими выборками, а выборка наиболее близкая к устью Аральского моря, имела наименьшее генетическое разнообразие.

3. Генетическая структура представителей рода *Luciobarbus* по ядерным маркерам представлена 5-ю кластерами ($K = 5$), где оба вида разделяются на две группы: одна объединяет популяции аральского усача (выборки 1-4), а другая - популяции туркестанского усача (выборка 5). Особи, отловленные близ гидроузла в г. Кызылорда и на рисовых чеках были определены на основе первичного морфологического анализа как аральский усач, но генетический структурный анализ показал, что они принадлежат к другому виду - туркестанскому усачу, который ранее не отмечался в этой части бассейна. Отмечен низкий уровень интрогрессии генотипов туркестанского усача в генотип аральского усача, а у туркестанского усача вовсе не выявлено примеси от аральского усача. В целом, полученные результаты указывают на ограниченный генетический обмен между двумя видами. Отмечены частные аллели для туркестанского усача, такие как: M1447, M0244 и M4215, которые демонстрируют четкую дифференциацию при разделении их на кластеры.

4. По результатам секвенирования полного митохондриального гена *cytb* (1140 п.о.) сконструирована сеть гаплотипов и при подсчете индексов гаплотипного разнообразия, обнаружено 19 гаплотипов. Из них – два центральных гаплотипа, представленных особями из трех выборок (гидроузел в г. Кызылорда, с. Басыкара, рисовые чеки), которые составляют смешанную группу. Отдельный гаплотип представлен особями из участка близ гидроузла в г. Кызылорда и с. Байыркум, что, вероятно, свидетельствует о том, что особи

мигрируют и обмениваются генетическим материалом. Четкую дистанцию и изолированную группу особей по гаплотипам представляют особи из выборки Байыркума, гаплотипы которых не обнаруживаются в выборке Басыкара и выборке из рисовых чеков. Таким образом, можно утверждать, что *L. brachycephalus* имеет высокое генетическое внутривидовое разнообразие и внутривидовую подразделенность на локальные популяции.

5. На основании последовательностей *cytb* мтДНК было построено филогенетическое древо аральского усача *L. brachycephalus*, туркестанского усача *L. conocephalus* и усача булат-маи *L. capito* в сравнении с исследованными нуклеотидными последовательностями и образцов из GenBank. На древе образовались две большие клады, одна из которых дифференцирована как *L. brachycephalus*, а другая - клада с *L. capito* и *L. conocephalus*. Таксономический статус туркестанского усача *L. conocephalus* в Казахстане вызывал споры. Образцы туркестанского усача из р. Бадам Арало-Сырдарьинского бассейна вместе с туркестанским усачом из р. Харируд (Иран) противостоят выборке усача *L. capito* из бассейна Каспийского моря. При этом уровень генетической дистанции между *L. conocephalus* и *L. capito* больше, чем таковой между подвидами аральского (*L. brachycephalus brachycephalus*) каспийского (*L. brachycephalus caspius*) усача. Это подтверждает видовой статус туркестанского усача, который является не подвидом (*Barbus capito conocephalus* или *Luciobarbus capito conocephalus*), а самостоятельным видом - *L. conocephalus*.

6. На основе ядерных и митохондриальных ДНК маркеров проведена предварительная апробация генетического паспорта ремонтно-маточного стада аральского усача *L. brachycephalus*, содержащихся в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник». По четырем (*Barb37*; *Barb79*; *BC8*; *BC37*) микросателлитным локусам выявлено 14 аллелей, число аллелей на локус среднем значении составило 3,75). С помощью гена *COI* мтДНК была идентифицирована принадлежность ремонтно-маточного стада, содержащегося в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник» с точностью видовой идентификации для аральского усача до 99,86 %.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Baldi, T., 1986. *Mid-Tertiary Stratigraphy and Paleogeographic Evolution of Hungary* *Acade'miai Kiado'*, Budapest, 201 pp.
- 2 Попов С.В., Ахметьев В.А., Запорожец Н.И., Воронина А.А., Столяров А.С. История Восточного Паратетиса в позднем эоцене - раннем миоцене // Стратиграфия. Геологическая корреляция. 1993. Т. 1. № 6. С. 10-39.
- 3 Allen, M.B., Armstrong, H.A., 2008. Arabia–Eurasia collision and the forcing of mid-Cenozoic global cooling. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 265, 52–58.
- 4 Rögl, F., 1999. Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (short overview). *Geol. Carpathica* 50, 339–349.
- 5 Schulz, H.M., Bechtel, A., Sachsenhofer, R.F., 2005. The birth of the Paratethys during the Early Oligocene: from Tethys to an ancient Black Sea analogue? *Global Planet. Change* 49 (3–4), 163–176.
- 6 Popov, S.V., Stolyarov, A.S., 1996. Paleogeography and anoxic environments of the Oligocene–Early Miocene Eastern Paratethys. *Isr. J. Earth Sci.* 45 (3), 161–167.
- 7 Popov, S.V., Shcherba, I.G., Ilyina, L.B., Nevesshaya, L.A., Paramonova, N.P., Khondkarian, S.O., et al., 2006. Late Miocene to Pliocene palaeogeography of the Paratethys and its relation to the Mediterranean. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 236, 91–106.
- 8 Xenarios, S.; Schmidt-Vogt, D.; Qadir, M.; Janusz-Pawletta, B.; Abdullaev, I. *The Aral Sea Basin: Water for Sustainable Development in Central Asia*; Routledge: Oxfordshire, UK, 2019.
- 9 Нургизаринов А.М., Назаров Е.А., Шарипова А.Ж., Арыстан Е.Ж. Роль Аралдарьи в поддержании уровня в разные периоды Аральского моря // Гидрометеорология и экология. №2. 2014. 185-193 с.
- 10 Izadighalati S. The New Proof of Marine Connection of Red Sea with Mediterranean, Marmara, Black, Caspian and Aral Seas by Reviving The Lakes of Dead, Galilee, Tuz, Iznik, Van and Urmia//6th International Congress of Developing Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism of Iran. 1 p.
- 11 Satybaldiyev B., Ismailov B., Nurpeisov N., Kenges K., D. Snow D., et al. Downstream hydrochemistry and irrigation water quality of the Syr Darya, Aral Sea Basin, South Kazakhstan. *Water Supply* (2023) 23 (5): 2119–2134. <https://doi.org/10.2166/ws.2023.114>.
- 12 Reimov, P., Fayzieva, D. (2014). The Present State of the South Aral Sea Area. In: Micklin, P., Aladin, N., Plotnikov, I. (eds) *The Aral Sea*. Springer Earth System Sciences, vol 10178. Springer, Berlin, Heidelberg.
- 13 Добровольский А. Д., Залогин Б. С. *Моря СССР*. М., Изд-во МГУ, 1982 г. 192 с.
- 14 Румянцев В.А., Драбкова В.Г., Измайлова А.В. *Великие озера мира* – СПб: Лема, 2012. – 370 с.

- 15 Anchita, Zhupankhan, A., Khaibullina, Z., Kabiyeu, Y., Persson, K. M., & Tussupova, K. (2021). Health impact of drying Aral Sea: One health and socio-economical approach. *Water*, 13(22) 1-21 p.
- 16 Бартольд В.(1964) - Сведения об Аральском море и низовьях Амударьи с древнейших времен до XVII века / Бартольд В.В. Сочинения. Т. III. М.: Наука, 1964. – 711с.
- 17 Берг Л.С. (1908) Аральское море. Опыт физико-географической монографии/ Издание «Известия Туркестанского отделения Императорского Русского Географического Общества». Санкт-Петербург: Тип. М.М. Стасюлевича, 1908. – 580с.
- 18 UNEP (1993) The Aral Sea. Diagnostic Study for the Development of an Action Plan for the Conservation of the Aral Sea. Nairobi, 1993. - 113p.
- 19 Кукса Б.И. (1994) Южные моря (Аральское, Каспийское, Азовское и Черное) в условиях антропогенного стресса. Санкт-Петербург: Гидрометеиздат, 1994. – 317с.
- 20 Панкова Е.И. и др. (1996) Природное и антропогенное засоление бассейна Аральского моря / Панкова Е.И., Айдаров И.П., Ямнова И.А., Новикова А.Ф., Благоволин Н.С. М.: РАСХН. 1996.- 187 с.1996.- 187 с.
- 21 WB (1998) Aral Sea Basin Program (Kazakhstan, Kyrgyz Republic, Tajikistan, Turkmenistan and Uzbekistan) Water and Environmental Management Project. Project Document. Volume I – Main Report, May 1998. - 55p.
- 22 Завьялов П.О. и др.(2011) Аральское море в начале XXI века (физика, биология, химия). М.: Издательство «Наука».2011. - 252 с.
- 23 Завьялов П.О. и др. (2012). Большое Аральское море в начале 21 века: Физика, биология, химия. М.: Издательство «Наука». 2012.- 229 с.
- 24 Кипшакбаев Н.К. и др. (2010) Восстановление экологической системы в дельте Сырдарьи и северной части Аральского моря. Алматы: «ЭВЕРО», 2010. – 220 с.
- 25 Новикова Н.М. (2019) Эколого-географический аспект Аральского моря. Часть 1. Развитие Аральской проблемы, ее изучение, оценка и разработка мероприятий. Экосистемы: экология и динамика , 2019, том 3, №1, с.5 - 66.
- 26 Новикова Н.М.(2020) Эколого-географический аспект Аральского моря. Часть 2. Исследование динамики климата и изменений обсохшего моря, Электронный научный журнал «Экосистемы: экология и динамика». 2020, том4, №2, с.96 - 170.
- 27 Панкова Е.И. (2016) Засоление орошаемых земель Среднеазиатского региона: старые и новые проблемы. М.: Аридные экосистемы, 2016, том 22, № 4 (69), с. 21-29.
- 28 Глазовский Н.Ф. (1990) Аральский кризис: Причины возникновения и пути выхода / Н. Ф. Глазовский; Отв. ред. Н.Т. Кузнецов; АН СССР, Ин-т географии, НИКЦ «Арал» ГКНТ и АН СССР. 1990. -134с.
- 29 Самарханов К., Исанова Г. Обзор географических и экологических исследований бассейна реки Сырдария и Аральского моря // Вестник КазНУ. Серия географическая. №3 (46) 2017. 49-57 с.

- 30 Достай Ж.Д., Алимкулов С.К., Сапарова А.А. Оценка водных ресурсов на современном этапе развития Арало-Сырдарьинского природно- хозяйственного комплекса // Гидрометеорология и экология. № 1. 2016. 93- 102 с.
- 31 Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & R. van der Laan (eds) 2023. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. (Дата обращения: 15.11.2024 г.)
- 32 Pešić, A., Ikica, Z., Joksimović, A., Djurović, M., Laušević, R. (2018): Rare and Endangered Fish Species in the Adriatic Sea and Proposal for Marine Flagship Species. Kotor: University of Montenegro, Institute of Marine Biology. 49 pp.
- 33 Fisher J., Simon N., Vincent J. The red book: wildlife in danger. London: Collins Publishear, 1969. 368 p.
- 34 <https://www.iucnredlist.org> (Дата обращения: 20.06.2024 г.)
- 35 Красная книга Республики Казахстан / ред. Мелдебеков А.М. — 4-е. — Алматы, 2010. — Т. 1. Животные. Часть 1. Позвоночные.
- 36 Дукравец Г. М. Рыбообразные и рыбы в Красных Книгах МСОП и Республики Казахстан //Tethys aqua zoological research, volume I — Almaty: “Tethys”, 2002.—21-28 p.
- 37 Mamilov N.Sh., Karimov B.K., Jörg Freyhof. The status of native non-commercial fish of Central Asia // Selevinia. T.29.2021. 137-138 p.
- 38 Тишков, А.А. Теория и практика сохранения биоразнообразия. К методологии охраны живой природы в России /А.А.Тишков //Экол. вестн. России, 2006. - №10. - С.9-12.
- 39 Алимов, А.Ф. Роль биологического разнообразия в экосистемах// Вестн. РАН. - 2006. - 76. - № 11. - С. 989-994.
- 40 Гецен М.В. Биоразнообразие экосистем Полярного Урала / - Сыктывкар, 2007. - 52 с.
- 41 Павлов Д.С., Захаров В.М. Изменение климата и биоразнообразие России / - М.: Акрополь, 2007. - 96 с.
- 42 Веснина, Л.В. Перспективы развития сиговодства в Алтайском крае // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. — Тюмень: Госрыбцентр, 2010. - С.205-207.
- 43 Костюничев, В.В. Нельма, как перспективный объект аквакультуры // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. - Тюмень, 2010. - Госрыбцентр. - С.215-218.
- 44 Михайлова, М.В. Искусственное воспроизводство рыбных запасов и его эффективность // Рыбное хоз-во, 2011. - № 3. - С. 76-78.
- 45 Петлина, А.П. Редкие и малочисленные виды рыб бассейна Нижней Оби // Популяционная экология животных: Мат. Межд. конф. - Томск, 2006. - С. 505-507.
- 46 Tatár S, Bajomi B, Specziár A, Tóth B and others (2017) Habitat establishment, captive breeding and conservation translocation to save threatened populations of the Vulnerable European mudminnow *Umbra krameri*. Oryx. 51: 718–729.

- 47 Leng X., Du H., Xiong W., Cheng P., Luo J., Wu J. Successful Ultrasonography-Assisted Artificial Reproduction of Critically Endangered Sichuan taimen (*Hucho bleekeri*). *Fishes* 2023, 8, 152. <https://doi.org/10.3390/fishes8030152>
- 48 Amirbekova F., Isbekov K.B., Assylbekova S.Z., Sharipova O.A., Adyrbekova K., Bulavina N. Biological Characteristics of a Rare and Vulnerable Species (*Schizothorax argentatus* (Kessler, 1874)) of Tokyraunyn River and Approbation of Its Artificial Reproduction. *Agriculture* 2022, 12, 1121. <https://doi.org/10.3390/agriculture12081121>.
- 49 Mercy, T.V.A., Malika, V. and Sajan, S. (2013). Reproductive biology of *Puntius denisonii* (day 1865) an endemic ornamental cyprinids of the Western Ghats of India. *Indian J. Fish.* 60, 73-78.
- 50 Sundarabharathy, T.V., Edirisinghe, U. and Dematawewa, M.B. (2004). Captive breeding and rearing of fry and Juveniles of Cherry Barb (*Puntius titteya* Deraniyagala), a highly threatened endemic fish species in Sri Lanka. *Trop. Agric. Res.* 16, 137-149.
- 51 Sarkar, U.K., Deepak, P.K., Negi, R.S. et al. Captive breeding of endangered fish *Chitala chitala* (Hamilton-Buchanan) for species conservation and sustainable utilization. *Biodivers Conserv* 15, 3579–3589 (2006). <https://doi.org/10.1007/s10531-004-2935-6>.
- 52 Chaturvedi C. S., Yasmeen B., Pandey A. K. Artificial breeding of endangered golden mahseer, *Tor putitora* (hamilton-buchanan). *Biochem. Cell. Arch.* Vol. 13, No. 1, pp. 151-153, 2013 ISSN 0972-5075.
- 53 Nicola Rivers A.D., Jonathan Daly B.C., Peter T.S. New directions in assisted breeding techniques for fish conservation. *Reproduction, Fertility and Development*, 2020, 32, 807–821. <https://doi.org/10.1071/RD19457>.
- 54 Павлов Д.С., Решетников Ю.С., Шатуновский М.И., Шилин Н.И. Редкие и исчезающие виды рыб СССР и принципы их включения в “Красную книгу” // *Вопр. ихтиологии*. 1985. Т. 25, вып. 1. С. 16–25.
- 55 Павлов Д.С., Савваитова К.А., Соколов Л.И., Алексеев С.С. Редкие и исчезающие животные. Рыбы. М.: Высш. шк., 1994. 334 с.
- 56 Frissell C.A., Liss W.J., Gresswell R.E., Nawa R.K., Ebersole L. A resource in crisis: changing the measure of salmon management// *Pacific salmon and their ecosystems: status and future options* (Stouder D.J., Bisson P.A., Naimann R.J., eds.) - New York: Chapman and Hall, 1997. - P. 411-446.
- 57 Reeves G.H., Hall J.D., Roelofs T.D., Hickman T.L., Baker C.O. Rehabilitating and modifying stream habitats // *Amer. Fisheries Society Spec. Pub.* - 1991. - Vol.19. - P. 519-558.
- 58 Матковский, А.К. Основные закономерности динамики численности муксуна *Coregonus muksun* реки Обь // *Вопр. рыбол.*, 2006а. - Т. 7. - №3. - С. 505-521.
- 59 Мамилов Н.Ш., Балабиева Г.К., Митрофанов И.В. Проблемы сохранения аборигенной ихтиофауны Иле-Балкашского бассейна // *Казахстанский зоологический ежегодник Selevinia*, 2011. – С. 66-71.

- 60 Хасенгазиева Г.К., Мамилов Н.Ш. Разнообразие гидробионтов дельты р. Иле в условиях меняющейся антропогенной нагрузки // КазНУ им. аль-Фараби, Вестник - Серия экологическая, 2020.- С. 79-86.
- 61 Махмудов А.Х. Дельта р. Или и проблема ее сохранения. 10 объединенный пленум Советского и республиканского комитетов по программе ЮНЕСКО «Человек и биосфера». – Алма-Ата: Наука, 1988. – С 48.
- 62 Русяева Г.К., Романова С.М. Антропогенное воздействие на некоторые экосистемы оз. Балхаш // 10 объединенный пленум Советского и республиканского комитетов по программе ЮНЕСКО «Человек и биосфера». – Алма-Ата: Наука, 1988. – С. 61.
- 63 Eschmeyer, W. N., Fricke, R., van der Laan, R. (Eds.), (2017). Catalog of Fishes.<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> Electronic version (accessed 19 May 2023).
- 64 Bănărescu, P., & Coad, B. W. (1991). Cyprinids of Eurasia. In Cyprinid Fishes (pp. 127-155). Springer, Dordrecht.
- 65 Chen, X. L., Yue, P. Q., & Lin, R. D. (1984). Major groups within the family Cyprinidae and their phylogenetic relationships. Acta Zootaxonomica Sinica, 9(4), 424-440.
- 66 Howes, G. J. (1991). Systematics and biogeography: an overview. In Cyprinid fishes (pp. 1-33). Springer Netherlands.
- 67 Cavender, T. M., & Coburn, M. M. (1992). Phylogenetic relationships of North American cyprinidae. Systematics, historical ecology, and North American freshwater fishes, 293-327.
- 68 Nelson, J. S., Grande, T. C., & Wilson, M. V. (2016). Fishes of the World. : Fifth edition. John Wiley & Sons.
- 69 Yu, Y., Harris, A. J., Blair, C., & He, X., (2015). RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. Mol. Phylogenet. Evol., 87, 46-49.
- 70 Nelson, J.S., 2006. Fishes of the World, fourth ed. Wiley, New York.
- 71 Wang, X.Z., Li, J.B., He, S.P., 2007. Molecular evidence for the monophyly of East Asian groups of Cyprinidae (Teleostei: Cypriniformes) derived from the nuclear recombination activating gene 2 sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 42, 157–170.
- 72 Saitoh, K., Chen, W.-J., Mayden, R.L., 2010. Extensive hybridization and tetraploidy in spined loach fish. Mol. Phylogenet. Evol. 56, 1001–1010.
- 73 Yang, L., Mayden, R. L., Sado, T., He, S., Saitoh, K., & Miya, M., 2010. Molecular phylogeny of the fishes traditionally referred to Cyprinini sensu stricto (Teleostei: Cypriniformes). Zool Scripta, 39(6), 527-550.
- 74 Yang, J., Yang, J.X., Chen, X.Y., 2012a. A re-examination of the molecular phylogeny and biogeography of the genus *Schizothorax* (Teleostei: Cyprinidae) through enhanced sampling, with emphasis on the species in the Yunnan-Guizhou Plateau, China. J. Zool. Syst. Evol. Res. 50, 184–191.
- 75 Chen, W. J., Lavoué, S., & Mayden, R. L., 2013. Evolutionary origin and early biogeography of otophysan fishes (Ostariophysi: Teleostei). Evolution, 67(8), 2218-2239.

- 76 Yang, L., Sado, T., Hirt, M. V., Pasco-Viel, E., Arunachalam, M., Li, J., & Miya, M., 2015. Phylogeny and polyploidy: resolving the classification of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* 6, 85, 97-116.
- 77 Tan, M., & Armbruster, J.W. 2018. Phylogenetic classification of extant genera of fishes of the order Cypriniformes (Teleostei: Ostariophysi). *Zootaxa*, 4476 1, 6-39.
- 78 Turan D., Kaya C., Aksu İ., Bektaş Y. 2022. *Paracapoeta*, a new genus of the Cyprinidae from Mesopotamia, Cilicia and Levant (Teleostei, Cypriniformes). *Zoosystematics and Evolution* 98(2): 201-212. <https://doi.org/10.3897/zse.98.81463>.
- 79 Doadrio, I., 1994. Freshwater fish fauna of North Africa and its biogeography. *Annals of the Royal Central African Museum (Zoology)*, 275: 21-34.
- 80 Kottelat, M. & Freyhof, J., 2007. Handbook of European freshwater fishes. Cornol. Berlin. 646 pp.
- 81 Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. Изд.3-е. Л., 1932. Ч. 1. 543 с. Изд. 4-е. М.; Л.: АН СССР, 1949. Ч.2. 458 с.
- 82 Doadrio, I., (1990). "Phylogenetic relationships and classification of western palaearctic species of the genus *Barbus* (Osteichthyes, Cyprinidae). *Aquat. Living Resour* 3, 265-282.
- 83 Zardoya R., Doadrio I. Molecular Evidence on the Evolutionary and Biogeographical Patterns of European Cyprinids // *Journal of Molecular Evolution*. – 1999. – Vol. 49. – P. 227-237.
- 84 Callejas, C. & M. D. Ochando, 2002. Phylogenetic relationships among Spanish barbus species (Pisces, Cyprinidae) shown by RAPD markers. *Heredity* 89 (1): 36–43.
- 85 Tsigenopoulos, C.S., Durand, J.D., Unlu, E. & Berrebi, P. (2003) Rapid radiation of the Mediterranean *Luciobarbus* species (Cyprinidae) after the Messinian salinity crisis of the Mediterranean Sea, inferred from mitochondrial phylogenetic analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 80, 207–222.
- 86 Лёвин Б.А. Морфоэкологическая диверсификация усачей рода *Barbus* sensu stricto и храмуль рода *Capoeta*: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – М., 2005. – 24 с.
- 87 Лёвин Б.А. 2004. Фенетические отношения усачей Кавказского региона и их положение в системе рода *Barbus* sensu stricto (Cyprinidae) // *Вопросы ихтиологии*. Т 44, №4. С 496-501.
- 88 Machordom A., Doadrio I. Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus* // *Proceedings of the Royal Society of London*. – 2001a. – Vol. 268. – P. 1297-1306.
- 89 Bănărescu P. Vicariant patterns and dispersal in European freshwater fishes / P. Bănărescu // *Spixiana*. – 1989. – Vol. 12, No. 1. – P. 91-103.
- 90 Bănărescu P., Bogutskaya N. G. –The Freshwater Fishes of Europe. – Wiebelsheim: AULA-Verlag, 2003. – Vol. 5/II. – P. 1-10.
- 91 Machordom A., Doadrio I. Evidence of a Cenozoic Betic-Kabilian connection based on freshwater fish phylogeography (*Luciobarbus*, Cyprinidae) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2001b. – Vol. 18, No. 2. – P. 252-263.

- 92 Machordom, A., Doadrio, I., & Berrebi, P. (1995). Phylogeny and evolution of the genus *Barbus* in the Iberian Peninsula as revealed by allozyme electrophoresis. *Journal of Fish Biology*, 47(2), 211-236.
- 93 Tsigenopoulos, C. S., Kasapidis, P., Berrebi, P. (2010). Phylogenetic relationships of hexaploid large-sized barbs (genus *Labeobarbus*, Cyprinidae) based on mtDNA data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 851-856.
- 94 Gante, H. F. (2011). Diversification of circum-Mediterranean barbels. In Grillo, O. & Venora, G. (Eds), *Changing diversity in changing environment*. InTech, pp. 283–298.
- 95 Levin B.A., Gandlin A.A., Simonov E.S., Levina M.A., Barmintseva A.E., Japoshvili B., Mugue N.S., Mumladze L., Mustafayev N.J., Pashkov A.N., Roubenyan H.R., Shapovalov M.I., Doadrio I. Phylogeny, phylogeography and hybridization of Caucasian barbels of the genus *Barbus* (Actinopterygii, Cyprinidae) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2019. V. 135. P. 31–44.
- 96 Bănărescu, P. (1973). Origin and affinities of the freshwater fish fauna of Europe. *Ichthyologia*, 5(1), 8.
- 97 Doadrio, I., & Carmona, J. A. (2003). Testing freshwater Lago Mare dispersal theory on the phylogeny relationships of Iberian cyprinid genera *Chondrostoma* and *Squalius* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Graellsia*, 59(2-3), 457-473. <http://dx.doi.org/10.3989/graellsia.2003.v59.i2-3.260>.
- 98 Bănărescu, P. (1992). Zoogeography of fresh waters. Vol. 2, Distribution and dispersal of freshwater animals in North America and Eurasia. AULA-Vlg.
- 99 Rögl, F. (1997). Palaeogeographic considerations for Mediterranean and Paratethys seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie A für Mineralogie und Petrographie, Geologie und Paläontologie, Anthropologie und Prähistorie*, 279-310.
- 100 Rögl, F. (1999). Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (short overview). *Geologica carpathica*, 50(4), 339-349.
- 101 Lundberg, J. G. (1993). African-South American freshwater fish clades and continental drift: problems with a paradigm. The biotic relationships between Africa and South America.
- 102 Myers, G. S. (1938). Fresh water fishes and West Indian zoogeography. US Government Printing Office.
- 103 Geiger, M. F., Herder, F., Monaghan, M. T., Almada, V., Barbieri, R., Bariche, M., & Denys, G. P., (2014). Spatial heterogeneity in the Mediterranean Biodiversity Hotspot affects barcoding accuracy of its freshwater fishes. *Mol Ecol Resour*, 14(6), 1210-122.
- 104 Casal-López, Perea, S., Yahyaoui, A. & Doadrio, I., (2015). Taxonomic review of the genus *Luciobarbus* Heckel, 1843 (Actinopterygii, Cyprinidae) from northwestern Morocco with the description of three new species. *Graellsia* 71(2):27.
- 105 Doadrio, I., Casal-López, M., Perea, S., & Yahyaoui, A. (2016). Taxonomy of rheophilic *Luciobarbus* Heckel, 1842 (Actinopterygii, Cyprinidae) from Morocco with the description of two new species. *Graellsia*, 72(1), e039.

- 106 Doadrio, I., Casal-López, M., & Perea, S. (2016). Taxonomic remarks on *Barbus moulouyensis* Pellegrin, 1924 (Actinopterygii, Cyprinidae) with the description of a new species of *Luciobarbus* Heckel, 1843 from Morocco. *Graellsia*, 72(2), 10-3989.
- 107 Brahimi, A., Freyhof, J., Henrard, A., Libois, R. (2017) *Luciobarbus mascarensis* and *Luciobarbus chelifensis* (Cyprinidae): two new species in Algeria. *Zootaxa*, 4277 (1), 32–50.
- 108 Brahimi, A., Libois, R., Henrard, A., Freyhof, J. (2018) *Luciobarbus lanigarensis* and *L. numidiensis*, two new species of barbels from the Mediterranean Sea basin in North Africa (Teostei: Cyprinidae). *Zootaxa* 4433 (3), 542-560.
- 109 Митрофанов В.П., Дукравец Г.М., Мельников В.А., Баимбетов А.А. и др. Рыбы Казахстана: Т.3: Карповые (продолжение); Алма-Ата: Наука, 1988.- 304 С.
- 110 <https://www.marinespecies.org> (Дата обращения: 30.06.2024 г.)
- 111 <https://www.fishbase.se> (Дата обращения: 30.06.2024 г.)
- 112 Jiang, H., Geng, L., Yang, J., Tong, G., Li, C., & Xu, W. (2019). The complete mitochondrial genome of the Aral barbel *Luciobarbus brachycephalus* (Cypriniformes: Cyprinidae: *Barbinae*). *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 4(2), 3685–3686.
- 113 Esmaeili, H.R.; Mehraban, H.; Abbasi, K.; Keivany, Y.; Coad, B.W. Review and updated checklist of freshwater fishes of Iran: Taxonomy, distribution and conservation status. *Iran J. Ichthyol.* 2017, 4, 1–114
- 114 Орлова И.В., Терещенко А.М., Мурова Е.В., Климов Ф.В. Особенности биологии и морфологии аральского и туркестанского усачей в бассейне р. Сырдарья // *Tethys Aqua Zoological Research* III.2007. 93-102 с.
- 115 Галактионова, Е.Л. Состояние, воспроизводство и сохранение сырдарьинской популяции аральского усача *Barbus brachycephalus* Kessler в условиях зарегулированного стока // *Охрана и рациональное использование живой природы водоемов Казахстана: материалы Междунар. конф. - Алма-Ата, 1969. — С. 86–89.*
- 116 Маркун М.И. 1933. Аральский усач, его систематика и биология. Труды Аральского отд. ВНИМОПХ, Аральск, 2: 5–47 с.
- 117 Павловская Л.П. 1966. Морфологическая характеристика и некоторые вопросы биологии Аральского усача в речной период жизни. Рыбы и гидробиологический режим Южноаральского бассейна, Ташкент: 51–120 с.
- 118 Усманова Р.Г. 1971. Половой диморфизм, возрастная и локальная изменчивость туркестанского усача *Barbus capito conocephalus* Kessler бассейна р. Кашкадарья. *Вопр. ихтиол.*, 11(67): 203– 216 с.
- 119 Ermakhanov, Z.K.; Zhubanov, K.U. The Status of Rare and Threatened Species of Fishes of the Small Aral Sea. *Portal of Knowledge about Water Resources and Ecology of Central Asia*. 2011. Available online: <http://www.cawater-info.net> (accessed on 9 March 2023).
- 120 Маркун М.И. Аральский усач, его систематика и биология// Труды Аральского отдела ВНИМОПХ. Аральск, 1933. Т.2. С 3-45.

- 121 Максун В.А. Аральский усач в Балхаше// Рыбное хозяйство, 1951. № 6. С.40
- 122 Нездолий В.К. Скаты икры аральского усака в р. Или // Биологические основы рыбного хозяйства Средней Азии и Казахстана, Ашхабад: Ылым, 1974. №2. С. 63-63.
- 123 Башунов В.С., Цой В.Н. Условия воспроизводства и численность нерестового стада аральского усака в низовьях р. Или // Редкие животные Казахстана. Алма-Ата: Наука, 1986. С. 196-198.
- 124 Дукравец Г.М. Мамилев Н.Ш. Состояние популяций редких и исчезающих видов рыб в бассейнах рек Или и Чу //КазГУ - Алматы, 1994 - 25 с.
- 125 Турдаков Ф.А. Рыбы Киргизии. Фрунзе, 1952. 72 с.2 издание. Фрунзе; Академия наук КиргССР, 1963. 284 с.
- 126 Пивнев И.А. Рыбы бассейнов рек Чу и Талас. Фрунзе: Илим, 1985. 190 с.
- 127 Фортунатова М.А., Курбатова Е.С., Рйская А.А. К вопросу о динамике стад промысловых рыб Аральского моря // Материалы по ихтиофауне и режиму вод бассейна Аральского моря. Москва: МОИП. 1950. С.112-170.
- 128 Романычева О.Д. Скаты и питание молоди аральского усака в реке Сырдарье // Рыбное хозяйство, 1948, № 9. С. 37-40.
- 129 Никольский Г.В., Фортунатова М.А. Ирригационное строительство и рыбное хозяйство Аральского моря // Материалы по ихтиофауне и режиму бассейна Аральского моря. Москва: МОИП, 1950. С. 6-20.
- 130 Макеева А.П. Развитие аральского усака *Barbus brachycephalus* Kessler // Вопросы ихтиологии, 1958. Выпуск 11, С. 86-101.
- 131 Потехина Е.В. Влияние ирригационных систем на скаты молоди усака в р.Сырдарье // Материалы второй научной конференции аспирантов. Ростов-на-Дону: РГУ, 1960. С. 163- 167.
- 132 Даирбаев М. Развитие ирригации и некоторые вопросы воспроизводства промысловых рыб бассейна р. Сырдарьи // Рыбные запасы Аральского моря. Ташкент: Наука, 1964. С. 148-150.
- 133 Коновалов П.М. О скате молоди усака и некоторых других видов рыб в Сырдарье на второй год после ее зарегулирования в нижнем течении // Рыбные ресурсы водоемов Казахстана и их использование. Алма-ата: Наука, 1966. Выпуск 5. С. 172-182.
- 134 Галактионова Е.Л. Воспроизводство и эксплуатация запасов аральского усака в условиях зарегулированного стока реки // Биологические основы рыбного хозяйства на водоемах Средней Азии и Казахстана. Алма-Ата: Наука, 1966. С. 73-76.
- 135 Галактионова Е.Л. Овогенез у аральского усака // Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Душанбе: Дониш, 1976. С. 259-261.
- 136 Павловская Л.П. Жолдасова И.М. О нарушении гаметогенеза у аральского усака на Амударье в условиях гидростроительства // Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Душанбе: Дониш, 1976. С. 334-335.

137 Маркова Е.Л. Материалы к биологии аральского ходового усача *Barbus brachycephalus* K. // Сборник работ по ихтиологии и гидробиологии. Алма-Ата: Академия наук КазССР, 1961. Выпуск 3. С. 154-170.

138 Мамиллов Н.Ш., Галушак С.С., Кожабаяева Э.Б. Усачи ирригационных систем нижнего течения р. Сырдарьи и перспективы их сохранения в бассейне Аральского моря // Известия НАН РК, серия биологическая и медицинская № 2 (260), 2007. С. 29-33.

139 Балымбетов К.С., Жубанов К.У., Галушак С.С. Встречаемость Аральского (*B. brachycephalus* Kessler) и туркестанского (*B. capito* Guldenstadt) усачей в ирригационных системах нижнего течения реки Сырдарьи // Selevinia, 2003. С. 215-216.

140 Adyrbekova K., Isbekov K.B., Barakbayev T.T., Iskhakhov G.Z. Current State of Rare and Endangered Barbels of the Genus *Luciobarbus* Heckel, 1843 in the Aral-Syrdarya Basin (Kazakhstan) and Prospects for Their Conservation (A Review). *Biology* 2023, 12, 489. <https://doi.org/10.3390/biology12040489>.

141 Галактионова Е.Л. Материалы по биологии аральского усача // Сборник работ по ихтиологии и гидробиологии. Алма-Ата: Академия наук КазССР, 1961. Выпуск 3. С. 202-213.

142 Сергеева Н.Г. Питание туркестанского усача в Шардаринском водохранилище // Тезисы докл. конференции по вопросам рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Фрунзе: Илим, 1968. С. 127-128.

143 Ерещенко В.И. Разработка биологических основ рыбохозяйственного освоения Шардаринского, Каратомарского, Сергеевского, Вячаславского водохранилищ // Отчет о научно-исследовательской работе № ГР70055685. КазНИИРХ. Балхаш: Усть-Каменогорск, 1970. 292 с.

144 Кузнецова В.М. разработка биологических основ рыбохозяйственного освоения Бугуньского и др. водохранилищ // Отчет о научно-исследовательской работе № ГР70055685. -Усть-Каменогорск, 1972. 176 с.

145 Митрофанов В.Л. Карповые рыбы Казахстана: Диссертация доктора биологических наук. Алма-ата, 197. 404 с.

146 Максунув В.А. О сроках нереста туркестанского усача *Barbus capito conocephalus* Kessler (Cyprinidae) // Вопросы ихтиологии. 1982. Том 22. Выпуск 5. С. 888-889.

147 Расулов А.Х. Гаметогенез и половые циклы туркестанского усача (*Barbus capito conocephalus* Kessler) Кайраккумского водохранилища: Автореферат. Кандидата биологических наук. М.: АН СССР. 1974. 26 с.

148 Ахмедбаева Ф. Некоторые морфобиологические особенности туркестанского усача (*Barbus capito conocephalus* Kessler) в низовьях реки Нарын // Узбекский биологический журнал, 1981. № 4. С. 54-57.

149 Максунув В.А. Материалы к морфометрической и биологической характеристике туркестанского усача *Barbus capito conocephalus* Kessler верховьев реки Сырдарьи // Вопросы ихтиологии, 1962. Том 2. Выпуск 4 (25). С. 592-596.

- 150 Миськова А.А. Экология молоди сазана и туркестанского усача Южносурханского водохранилища: Автореферат. Диссертация кандидата биологических наук, Ташкент: ТашГУ, 1968. 26 с.
- 151 Аманов А.А. Туркестанский усач (*Barbus capito conocephalus* Kessler) Учкизилского водохранилища // Доклад Академии наук УзССР, 1964. № 55 С. 53-55.
- 152 Мухамедиев М.А. К биологии туркестанского усача Керкидонского водохранилища // Биологические основы рыбного хозяйства республик Средней Азии и Казахстана. Ташкент; Фергана: Академия наук УзССР, 1972. С.226-228.
- 153 Максунув В.А. Промысловые рыбы Таджикистана. Душанбе. 1968, 100 с.
- 154 Кузнецова В.М. Разработка биологических основ рыбохозяйственного освоения Богеньского и др. водохранилищ // Отчет о научно-исследовательской работе. КазНИИРХ.- Усть- Каменогорск, 1972. 176 с.
- 155 Биологическое обоснование на изъятие аральского усача из Арало-Сырдарьинского бассейна, из Или-Балхашского водного бассейна с целью сохранения биоразнообразия и восстановления запасов редких и исчезающих видов рыб, путем организаций искусственного воспроизводства, с последующей реинтродукцией в Арало - Сырдарьинский и Балхаш-Илийский бассейны. ТОО «КазНИИРХ» – Алматы, 2011. – 62 с.
- 156 Мюнтцинг А. Генетика. Общая и прикладная. / Пер. со 2-ого английского издания под ред. В.Н. Столетова Изд: М. Мир 1967г.-612 с.
- 157 Токтосунов А.Т., Мазик Е.Ю., Экологическая цитогенетика рыб Тянь-Шаня, АН КирССР, ин-т биологии.-Ф.:Илим, 1991.-188с.
- 158 Катарасов В.Я., Гомельский Б.И. Селекция с основами генетики.- Изд.М.: Агропромиздат, 1991.- 208с.
- 159 Arai, R., 2011. Fish Karyotypes: A Check List. Springer, Japan.
- 160 Yang, L., Sado, T., Hirt, M. V., Pasco-Viel, E., Arunachalam, M., Li, J., Wang, X., Freyhof, J., Saitoh, K., Simons, A. M., Miya, M., He, S. and Mayden, R. L. 2015. Phylogeny and polyploidy: Resolving the classification of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes). Mol. Phylogenet. Evol. 85: 97–116.
- 161 Gaffaroğlu, M., Karasu-Ayata, M. & Unal-Karakus, S. Karyomorphology of Two Cyprinid Barbels (Teleostei: Cyprinidae) from Gediz River, Turkey. Cytol. Genet. 56, 541–547 (2022).
- 162 Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. - М.: Наука, 1985.-299 с.
- 163 Uyeno, T., & Smith, G. R. (1972). Tetraploid origin of the karyotype of catostomid fishes.
- 164 Schultz, R. J. (1980). Role of polyploidy in the evolution of fishes. In Polyploidy (pp. 313-340). Springer US.
- 165 Comber, S. C., & Smith, C. (2004). Polyploidy in fishes: patterns and processes. Biological Journal of the Linnean Society, 82(4), P. 431-442.
- 166 Van de Peer, Y., Ashman, T.-L., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2020). Polyploidy: an evolutionary and ecological force in stressful times. The Plant Cell, 33(1), 11–26. doi:10.1093/plcell/koaa015

- 167 Li, X., & Guo, B. (2020). Substantially adaptive potential in polyploid cyprinid fishes: evidence from biogeographic, phylogenetic and genomic studies. *Proceedings. Biological sciences*, 287(1920), 20193008.
- 168 Levin, B., Komarova, A., Simonov, E., Tiunov, A., Levina, M., Golubtsov, A., Kondrashov, F., & Meyer, A. (2023). Speciation and repeated origins of hypertrophied lips in parallel adaptive radiations of cyprinid fish from East Africa. *Ecology and evolution*, 13(9), e10523. <https://doi.org/10.1002/ece3.10523>
- 169 Lagier KF, Bardach JE, Miller RR, Passino DRM. (1977). *Ichthyology*, 2nd edn. New York: John Wiley and Sons.
- 170 Alves, M. J., Coelho, M. M., & Collares-Pereira, M. J. (2001). Evolution in action through hybridization and polyploidy in an Iberian freshwater fish: a genetic review. *Genetica*, 111(1-3), P. 375-385.
- 171 Tsigenopoulos, C. S., Kotlik, P., & Berrebi, P. (2002). Biogeography and pattern of gene flow among *Barbus* species (Teleostei: Cyprinidae) inhabiting the Italian Peninsula and neighbouring Adriatic drainages as revealed by allozyme and mitochondrial sequence data. *Biol. Journal of the Linnean Society*, 75(1), P. 83-99.
- 172 Guégan, J. F., Rab, P., Machordom, A., & Doadrio, I. (1995). New evidence of hexaploidy in 'large' African *Barbus* with some considerations on the origin of hexaploidy. *Journal of Fish Biology*, 47(2), P. 192-198.
- 173 Levin B. A., Freyhof, J., Lajbner Z., Perea S., Abdoli A., Gaffaroğlu M., Doadrio, I. (2012). Phylogenetic relationships of the algae scraping cyprinid genus *Capoeta* (Teleostei: Cyprinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), P. 542-549.
- 174 Chenuil, A., Galtier, N., & Berrebi, P. (1999). A test of the hypothesis of an autopolyploid vs. allopolyploid origin for a tetraploid lineage: application to the genus *Barbus* (Cyprinidae). *Heredity*, 82(4), P.373-380.
- 175 Levin, B. A., Simonov, E., Dgebuadze, Y. Y., Levina, M., & Golubtsov, A. S. (2020). In the rivers: Multiple adaptive radiations of cyprinid fishes (*Labeobarbus*) in Ethiopian Highlands. *Scientific reports*, 10(1), 7192. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64350-4>
- 176 Darwall, W. R. T. and Freyhof, J. (2016) Lost fishes, who is counting? The extent of the threat to freshwater fish biodiversity. In: *Conservation of Freshwater Fishes*. Closs, G. P., Krkosek, M., and Olden, J. D. (eds). Cambridge University Press: Cambridge.
- 177 O'Connell D.P., Kelly D.J., Analuddin K., Karya A., Marples N.M., Martin T.E. Adapt taxonomy to conservation goals// *Science*, 2020: 369 (6508), 1172. DOI: 10.1126/science.abd7717.
- 178 Arif I.A., Khan H.A. (2009) Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiver Conserv* 32(1):9–17.
- 179 Theissinger K., Fernandes C., Formenti G. et al. Review: How genomics can help biodiversity conservation// *Trends in Genetics*, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2023.01.005>.

- 180 Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Biol Sci* 270(1512):313–21. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- 181 Liu L, Panhwar SK, Gao T, Han Z, Li C, Sun D, Song N (2017) New genetic evidence from three keel-backed *Liza* species based on DNA barcoding confirms morphology-based identification. *Pak J Zool* 49(5):1901–1907. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.5.1901.1907>.
- 182 Ibrahim O., Yılmaz C. (2003). Fish Population Genetics and Molecular Markers: II- Molecular Markers and Their Applications in Fisheries and Aquaculture (Review): *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 3: P. 51-79.
- 183 Avise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York.
- 184 O'Connell, M. and Wright, J.M. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 331-363.
- 185 Parker, P.G., Allison, A., Snow, A.A., Schug, M.D., Gregory, C., Booton, G.C. and Fuerst, P.A. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*, 79: 361–382.
- 186 Hallerman, E.M. 2003. *Population genetics: principles and applications for fisheries scientists*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 458 pp.
- 187 Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers of population biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 15: 199- 203.
- 188 Abdul-Muneer P. M. Application of Microsatellite Markers in Conservation Genetics and Fisheries Management. Hindawi Publishing Corporation. *Genetics Research International*. Volume 2014, Article ID 691759, 11 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/691759>.
- 189 M.M. Ferguson and R. G. Danzmann, “Role of genetic markers in fisheries and aquaculture: useful tools or stamp collecting?” *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 55, no. 7, pp. 1553–1563, 1998.
- 190 Chenuil, A., Desmarais, E., Pouyaud, L., & Berrebi, P. (1997). Does polyploidy lead to fewer and shorter microsatellites in *Barbus* (Teleostei: Cyprinidae)? *Molecular Ecology*, 6(2), P. 169-178.
- 191 Callejas, C., & Ochando, M. D. (2000). Recent radiation of Iberian barbel fish (Teleostei, Cyprinidae) inferred from cytochrome b genes. *Journal of Heredity*, 91(4), P. 283-288.
- 192 Callejas, C., & Ochando, M. D. (2002). Phylogenetic relationships among Spanish *Barbus* species (Pisces, Cyprinidae) shown by RAPD markers. *Heredity*, 89(1), P. 36-43.
- 193 Lajbner, Z., Šlechtová, V., Šlechta, V., Švátora, M., Berrebi, P., & Kotlik, P. (2009). Rare and asymmetrical hybridization of the endemic *Barbus carpathicus* with its widespread congener *Barbus barbus*. *Journal of Fish Biology*, 74(2), P. 418-436.
- 194 Schreiber, A. (2009). Comparative allozyme genetics and range history of the European river barbel (Teleostei, Cyprinidae: *Barbus barbus*) in the Rhine/upper Danube contact area. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 47(2), P. 149-159.

- 195 Waldbieser, G.C. and Wolters, W.R. (1999) Application of polymorphic microsatellite loci in a channel catfish *Ictalurus punctatus* breeding program. Journal of the World Aquaculture Society 30, 256–262.
- 196 Liu, Z.J., Tan, G., Kucuktas, H., Li, P., Karsi, A., Yant, D.R. and Dunham, R.A. (1999e) High levels of conservation at microsatellite loci among ictalurid catfishes. Journal of Heredity 90, 307–312.
- 197 Tan, G., Karsi, A., Li, P., Kim, S., Zheng, X., Kucuktas, H., Argue, B.J., Dunham, R.A. and Liu, Z.J. (1999) Polymorphic microsatellite markers in *Ictalurus punctatus* and related catfish species. Molecular Ecology 59, 190–194.
- 198 Liu, Z.J. and Dunham, R. (1998a) Genetic Linkage and QTL Mapping of Ictalurid Catfish. Circular Bulletin 321, Alabama Agricultural Experiment Station, 19 pp.
- 199 Hughes, C.R. and Queller, D.C. (1993) Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little allozyme polymorphism. Molecular Ecology 2, 131–137.
- 200 Queller, D.C., Strassmann, J.E. and Hughes, C.R. (1993) Microsatellites and kinship. Trends in Ecology and Evolution 8, 285–288.
- 201 O’Connell M., Danzmann R.G., Cornuet J-M., Wright J.M., Ferguson M.M. Differentiation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) populations in Lake Ontario and the evaluation of the stepwise mutation and infinite allele mutation models using microsatellite variability. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1997; 54(6):1391–1399
- 202 Estoup A, Presa P, Krieg F, Vaiman D, Guyomard R. (CT)_n and (GT)_n microsatellites: a new class of genetic markers for *Salmo trutta* L. (brown trout) Heredity. 1993; 71(5):488–496.
- 203 Capili, J.C. and Skibinski, D.O.F. (1996) Mitochondrial DNA restriction endonuclease and isozyme analyses of three strains of *Oreochromis niloticus*. In: Pullin, R.S.V., Lazard, J., Legendre, M., Amon-Kottias, J.B. and Pauly, D. (eds) Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. No. 41, ICLARM, pp. 266–272.
- 204 Agnese, J.F., Adepo-Gourne, B., Abban, E.K. and Fermon, Y. (1997) Genetic differentiation among natural populations of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei, Cichlidae). Heredity 79, 88–96.
- 205 Wirgin, I.I., Proenca, R. and Grossfield, J. (1989) Mitochondrial DNA diversity among populations of striped bass in the southeastern United States. Canadian Journal of Zoology 67, 891–907.
- 206 Billington, N. 2003. Mitochondrial DNA. E. M. Hallerman (Ed.), Population genetics: principles and applications for fisheries scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 59-100 P.
- 207 Farias I.P., Orti G., Sampaio I., Schneider H., Meyer A. The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationships Among Cichlid Fishes // Journal of Molecular Evolution 53 (2001), pp. 89-103.

- 208 Esposti DM, De Vries S, Crimi M, Ghelli A, Patarnello T, Meyer A (1993) Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochim Biophys Acta* 1143:243–271.
- 209 Meyer A, Wilson C (1990) Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish. *J Mol Evol* 31:359–364.
- 210 Kumazawa Y, Nishida M (2000) Molecular phylogeny of Osteoglossoids: a new model for Gondwanian origin and plate tectonic transportation of the Asian arowana. *Mol Biol Evol* 17(2):1869–1878.
- 211 Lydeard C, Roe KJ (1997) The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome b gene for inferring relationships among Actinopterygian fishes. In: Kocher TD, Stepien CA (eds) *Molecular systematics of fish*. Academic Press, New York, pp. 285–303.
- 212 Rocha-Olivares A, Rosenblatt RH, Vetter RD (1999) Molecular evolution, systematics, and zoogeography of the rockfish subgenus *Sebastomus* (Sebastes, *Scorpaenidae*) based on mitochondrial cytochrome b and control region sequences. *Mol Phy Evol* 11(3):441–458.
- 213 Lovejoy NR, de Araujo MLG (2000) Molecular systematics, biogeography, and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. *Mol Ecol* 9(3):259–268.
- 214 Kirchman JJ, Whittingham LA, Sheldon FH (2000) Relationships among cave swallow populations (*Petrochelidon fulva*) determined by comparisons of microsatellite and cytochrome b data. *Mol Phy Evol* 14(1):107–121.
- 215 Martin AP, Bermingham E (1998) Systematics and evolution of lower Central American cichlids inferred from analysis of cytochrome b gene sequence. *Mol Phyl Evol* 9:192–203.
- 216 Sturmbauer C, Verheyen E, Meyer A (1994). Mitochondrial phylogeny of the Lamprologini, the major substrate spawning lineage of cichlid fishes from Lake Tanganyika in Eastern Africa. *Mol Biol Evol* 11:691–703.
- 217 Roe KL, Conkel D, Lydeard C (1997) Molecular systematic of Middle American cichlid fishes and evolution of trophic-types in ‘Cichlasoma (Amphilophus)’ and C. (Thorichthys). *Mol Phyl Evol* 7:366–376.
- 218 Ciftci Y., Eroglu O., Firidin S. Mitochondrial Cytochrome b Sequence Variation in Three Sturgeon Species (*A. stellatus* Pallas, 1771, *A. gueldenstaedtii* Brandt, 1833, *H. huso* Linnaeus, 1758) from the Black Sea Coasts of Turkey // *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 13: 291-303 (2013). ISSN 1303-2712. DOI: 10.4194/1303-2712-v13_2_11.
- 219 Hebert, P. D. N., Ratnasingham S., & de Waard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B*, 270, S96-S99.
- 220 Тимошкина Н. Н., Водолажский Д. И., Усатов А. В. Молекулярно - генетические маркеры в исследовании внутри и межвидового полиморфизма осетровых рыб (*Acipenseriformes*) // *Генетика популяций и эволюция. Экологическая генетика*, том VIII, № 1, 2010. 12-24 с. ISSN 1811–0932

- 221 Funk, D. J., & Omland, K. E. (2003). Species level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 34, 397–423.
- 222 Chan, K. M. A., & Levin, S. A. (2005). Leaky prezygotic isolation and porous genomes: rapid introgression of maternally inherited DNA. *Evolution*, 59, 720–729.
- 223 Funk, D. J., Nosil, P., & Etges, W. J. (2006). Ecological divergence exhibits consistently positive associations with reproductive isolation across disparate taxa. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, 103(9), 3209-3213.
- 224 Toews, D. P., & Brelsford, A. (2012). The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Molecular Ecology*, 21(16), 3907-3930.
- 225 Рябова Г. Д. Генетическая изменчивость природных популяций и domestцированных стад осетровых России (атлас аллозимов) / Г. Д. Рябова, В. О. Климонов, Е. И. Шишанова. М.: Россельхозакадемия, 2008. 94 с.
- 226 Козлова Н., Базелюк Н., Файзулина Д., Стоногина Е. "Применение молекулярно-генетических исследований в аквакультуре осетровых рыб". *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*, 2013 (3): 113-117.
- 227 Hulata G. (2001). Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genetica*, 111(1-3), 155–173. <https://doi.org/10.1023/a:1013776931796>
- 228 Weir, L.K., & Grant, J.W. (2005). Effects of aquaculture on wild fish populations: a synthesis of data. *Environmental Reviews*, 13(4), 145–168. doi:10.1139/a05-012
- 229 McGinnity, P., Stone, C., Taggart, J.B., Cooke, D., Cotter, D., Hynes, R., McCamley, C., Cross, T.F., & Ferguson, A. (1997). Genetic impact of escaped farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) on native populations: use of DNA profiling to assess freshwater performance of wild, farmed, and hybrid progeny in a natural river environment. *Ices Journal of Marine Science*, 54, 998-1008.
- 230 Nedoluzhko, A. V., Sharko, F. S., Tsygankova, S. V., Boulygina, E. S., Barmintseva, A. E., Krasivskaya, A. A., Ibragimova, A. S., Gruzdeva, N. M., Rastorguev, S. M., & Mugue, N. S. (2020). Molecular phylogeny of one extinct and two critically endangered Central Asian sturgeon species (genus *Pseudoscaphirhynchus*) based on their mitochondrial genomes. *Scientific reports*, 10(1), 722. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57581-y>
- 231 Zhang, H., Balk, H., Wang, C., Wu, J., Du, H., Shen, L., Wei, Q. (2016). Search for Chinese paddlefish (*Psephurus gladius*) in the upper Yangtze River during 2009-2013 including reevaluation of data from 2006 to 2008. *Aquatic Living Resources*, 29(1), 101. doi:10.1051/alr/2016008
- 232 QGIS Development Team, 2021. QGIS 3.22.13. Geographic InformationSystem. Open-Source Geospatial Foundation Project:<http://qgis.osgeo.org>. (Дата обращения: 11.01.2024 г.).

- 233 Hijmans, Robert J., Mariana Cruz, Edwin Rojas and Luigi Guarino, 2001. DIVAGIS, version 1.4. A geographic information system for the management and analysis of genetic resources data. Manual. International Potato Center, Lima, Peru.
- 234 Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. - М.: Пищевая промышленность, 1966. - 376 с.
- 235 Богуцкая Н.Г., Насека А.М. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с таксономическими комментариями. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 389 с.
- 236 <https://www.qiagen.com> (Дата обращения: 20.06.2023 г.)
- 237 Palumbi, S.R., 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. (Eds.), Molecular Systematics Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
- 238 Doadrio I, Perdices A. Phylogenetic relationships among the Ibero- African cobitids (*Cobitis*, Cobitidae) based on cytochrome b sequence data. Mol. Phylogenet. Evol. 2005; 37, 484-493.
- 239 <http://www.macrogen.com> (Дата обращения: 22.06.2023 г.)
- 240 Ivanova, N. V., Zemlak, T. S., Hanner, R. H. & Hebert, P. D. N. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Mol. Ecol. Notes 7, 544–548 (2007).
- 241 Longwu, G., Cuiyun, L., Guangxiang, T. et al. Development and characterization of twenty microsatellite markers for the endangered fish *Luciobarbus capito*. Conservation Genet Resour 4, 865–867 (2012). <https://doi.org/10.1007/s12686-012-9660-3>.
- 242 Chenuil, A., Crespin, L., Pouyaud, L. & Berrebi, P., 2000, Movements of adult fish in a hybrid zone revealed by microsatellite genetic analysis and capture-recapture data., Freshwater Biology, 43, 121-131.
- 243 Лакин Г.Ф. Биометрия – Москва: Высшая школа, 1990. - 352 с.
- 244 Hammer Ø., Harper D. A., Ryan P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis //Palaeontologia Electronica. – 2001. – Т. 4. – №. 1. – С. 9.
- 245 Currie-Fraser E., Shah P. Data analysis using GeneMapper v4.1: Comparing the Newest Generation of GeneMapper Software to Legacy Genescan and Genotyper Software. J Biomol Tech. 2010 Sep; 21(3 Suppl): S31.
- 246 Meirmans, P. G. (2020). Genodive version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids. Molecular Ecology Resources, 20(4), 1126-1131.
- 247 Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- 248 Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4(3), 535-538.
- 249 Evanno, G.; Regnaut, S.; Goudet, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. Mol. Ecol. 2005, 14, 2611–2620.

- 250 Kopelman N. M., Mayzel J., Jakobsson M., et al. "CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K". *Molecular Ecology Resources* 15(5): 1179-1191, doi: 10.1111/1755-0998.12387.
- 251 Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945- 959.
- 252 Bostein D, White R.L, Skolnick M., Davis R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32:317–331.
- 253 Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 1992 Jun; 131(2):479-91. doi: 10.1093/genetics/131.2.479.
- 254 Buerkle, C. Alex. 2005. Maximum-likelihood estimation of a hybrid index based on molecular markers. *Molecular Ecology Notes* 5: 684-687.
- 255 Meirmans, P. G. (2020). Genodive version 3.0: Easy-to-use software for the analysis of genetic data of diploids and polyploids. *Molecular Ecology Resources*, 20(4), 1126-1131.
- 256 Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts199.
- 257 National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. (Дата обращения: 14.01.2023).
- 258 Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P et al (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across large model space. *Syst Biol* 61(3):539–542. [https:// doi. org/ 10. 1093/ sysbio/ sys029](https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029).
- 259 Glez-Peña D, Gómez-Blanco D, Reboiro-Jato M et al (2010) ALTER: program-oriented format conversion of DNA and protein alignments. *Nucleic Acids Res* 38(2):14–18.
- 260 Akaike, H., (1973). Information theory and an extension of the Maximum Likelihood principle. In: B. N. Petrov & F. Csaki (eds.). *Proceedings of the second International Symposium on Information Theory*. Akademi Kiado. Budapest: 267-281.
- 261 Posada, D., 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25: 1253-1256. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msn083>.
- 262 Rambaut A (2018) FigTree v1.4.4. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- 263 Tamura K., Nei M., and Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035.
- 264 Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.

- 265 Trifinopoulos, J., Nguyen, L. T., von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2016). W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic acids research*, 44(W1), W232-W235. DOI: 10.1093/ nar/gkw256.
- 266 Tamura K., Stecher G., and Kumar S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- 267 Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.
- 268 Minh, B. Q., Nguyen, M. A. T., & von Haeseler, A. (2013). Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular biology and evolution*, 30(5), 1188-1195. DOI: 10.1093/ molbev/mst024/.
- 269 Bandelt, H. J. Forster, P., & Rohl, A. (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 37–48. DOI: 10.1093/ oxfordjournals.molbev.a026036.
- 270 Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). Data from: PopART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecology Evolution* 6(9), 1110–1116. DOI: 10.1111/2041-210X.12410.
- 271 Librado, P., & Rozas, J. (2009). DnaSP v5: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- 272 Maxim I. Pyatkov and Anton N. Pankratov. SBARS: fast creation of dotplots for DNA sequences on different scales using GA-, GC-content // *Bioinformatics*: 30. — 2014. — № 12. — С. 1765—1766. — doi:10.1093/bioinformatics/btu095.
- 273 Tajima, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 1989, 123, 585–955.
- 274 Fu, Y.X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 1997, 147, 915–925.
- 275 Берг Л.С. Фауна России, Рыбы, III, вып. 2, 1914. С-Пб.: Типография Императорской Академии наукъ, 1911. — 608 с.
- 276 Никольский Г.В. Рыбы среднего и нижнего течения р.Чу // Ежегодник зоол.музея АН СССР. 1931. Т.32. Вып.2. С. 227-268.
- 277 Адырбекова К.Б. Молекулярно-генетическое изучение некоторых редких и исчезающих видов рыб Казахстана // Международная научно-практическая конференция, 70-летие Алтайского филиала ТОО "Научно-производственный центр рыбного хозяйства", Казахстан, Усть-Каменогорск, 2022. С. 12-19.
- 278 Адырбекова К.Б., Исбеков К.Б. Методы выделения геномной ДНК некоторых редких видов рыб // Вестник науки КАТУ им.С.Сейфуллина. - 2022. - №3 (114). –Ч.1. - С. 63-71.
- 279 Schlötterer, C, Microsatellites, *Molecular Genetic Analysis of Populations*, Hoelzel, A.R., Ed., Oxford: Oxford Univ. Press, 1998, pp. 237–260.
- 280 Животовский Л.А. Микросателлитная изменчивость в популяциях человека и методы её изучения // Информацион. Вести. ВОГиС. 2006. Т. 10. № 1. С. 74-96.

- 281 Brown B., Epifanio J. Nuclear DNA. Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists // Ed. E.M. Hallerman. amer. Fish. Society. Bethesda, Maryland, USA. 2003. P. 101-126.
- 282 Афанасьев К.И., Рубцова Г.А., Шитова М.В. Межрегиональная дифференциация кеты Сахалина и Южных Курил по микросателлитным локусам // Генетика. 2008. Т. 44. № 7. С. 956-963.
- 283 Wennevik, V., Skaala, O., Titov, S.F. et al. Microsatellite Variation in Populations of Atlantic Salmon from North Europe. Environmental Biology of Fishes 69, 143–152 (2004). <https://doi.org/10.1023/B:EBFI.0000022890.15512.29>.
- 284 Hedrick, P.W. (2005). A Standardized Genetic Differentiation Measure. Evolution, 59(8), 1633-1638.
- 285 Adyrbekova, K.; Perea, S.; Doadrio, I. Development and Characterization of Fifteen Polymorphic Microsatellite Loci for Rare and Endangered Species within *Luciobarbus* Heckel, 1843 Genus in the Aral Basin and Their Conservation Application. Fishes 2024, 9, 169. <https://doi.org/10.3390/fishes9050169>.
- 286 Картавец Ю.Ф. Молекулярная эволюция и популяционная генетика: Учебное пособие. – Владивосток: Издательство Дальневосточного государственного университета, 2-е изд. 2008. 25 п.л. ил. 182, библи. – 562.
- 287 Yang L., Sado T., Vincent H.M., Pasco-Viel E., Arunachalam M., Li J., Wang X., Freyhof J., Saitoh K., Simons A.M., Miya M., He S., Mayden R.L. Phylogeny and polyploidy: resolving the classification of cyprinine fishes (Teleostei: Cypriniformes). Mol Phylogenet Evol. 2015 Apr; 85:97-116. doi: 10.1016/j.ympev.2015.01.014.
- 288 Dumont H.J. Endemism in the Ponto-Caspian Fauna, with Special Emphasis on the *Onychopoda* (Crustacea). Advances in Ecological Research, vol. 31, pp.: 181-196, 2000.
- 289 Никольский, Г.В. Структура вида и закономерности изменчивости рыб / Послесл. Ю. Е. Лапина. - Москва: Пищ. пром-сть, 1980.
- 290 Rass, T.S. Animal Life. T. Lancelets, Cyclostomes, Cartilaginous Fishes, Bony Fishes; Education: Moscow, Russia, 1983; 576 p.
- 291 Линдберг Г.У., Герд А.С. Словарь названий пресноводных рыб СССР. Издательство «Наука», Ленинград. 1972 г.
- 292 Берг Л.С. Рыбы Туркестана. СПб.: Типография Исихора Гольдберга, 1905. — 264 с.
- 293 Кесслер К.Ф. Изв. Общ. любит, ест., X, вып. 1, 1872, стр. 52.
- 294 Coad B.W. Fresh water fishes of Iran. Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemicae 29:1–64. 1995.
- 295 Banarescu, P. M.; Bogutskaya, N. G. (eds.). The freshwater fishes of Europe. Cyprinidae 2. Part II: Barbus. AULA. v. 5/II.: I-x, P 454. 2003.
- 296 Jouladeh-Roudbar, A., S. Eagderi S., Esmaeili H. R. First record of the striped bystranka, *Alburnoides taeniatus* (Kessler, 1874) from the Hari River basin, Iran (Teleostei: Cyprinidae). Journal of Entomology and Zoology Studies v. 4 (no. 5): 788-791. 2016. E-ISSN: 2320-7078.

297 Jouladeh-Roudbar, A., Ghanavi, H. R., & Doadrio, I. (2020). Ichthyofauna from Iranian freshwater: Annotated checklist, diagnosis, taxonomy, distribution and conservation assessment. *Zoological Studies* 59:21 (2020) doi:10.6620/ZS.2020.59-21.

298 Eagderi, S., Mouludi-Saleh A., Hosseini S. V., Mousavi-Sabet H. Documentation of the Turkestan barbel, *Luciobarbus conocephalus* (Kessler, 1872) in the Iranian part of Hari River basin (Teleostei: Cyprinidae: Barbinae). *Iranian Journal of Ichthyology* v. 8 (no. 1). P. 67-75. 2021.

299 Cicek E., Fricke R., Eagderi S., Sungur S., Coad B. W., Hamdard M. H. Fishes of Afghanistan; a revised and updated annotated checklist. *Zootaxa* 5305 (no. 1): 1-69. 2023.

300 Ratnasingham S, Hebert PD. bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol Ecol Notes*. 2007;7(3):355-364. doi:10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.

301 Адырбекова К.Б., Шалгимбаева Г.М. Генетическая идентификация аральского усача в бассейне реки Сырдарья // Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии: материалы Международной научно-практической конференции", уровень Международный, Россия, Астраханский государственный университет. 2021. С. 104-107. DOI 10.21672/978-5-9926-1348-3-104-107.

302 Адырбекова К.Б. Поиск полиморфных микросателлитных локусов для Аральского усача *Luciobarbus brachycephalus* Kessler //Материалы международной конференции молодых ученых Farabi alemi. 243 с. 2023.

303 Адырбекова К.Б. Тетраплоидность усачей рода *Luciobarbus* Heckel, 1843 Арало-Сырдарьинского бассейна при анализе ядерного генома // Сборник материалов Международной научно-практической конференции к 90 –летию Балхашского филиала «Рыбохозяйственные научные исследования: Опыт, проблемы и перспективы развития», г. Балхаш, С.33-36. 2023.

304 Allendorf F. W. & Luikart G. (2009). Conservation and the genetics of populations. John Wiley & Sons.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Фотографии исследованных станций сбора материалов и изученных экземпляров усачей



Рисунок А.1 – Гидросооружение Басыкара и местообитание усачей



Рисунок А.2 – Экспедиционный выезд и место постановки сплавных сетей на р. Сырдарья перед гидросооружением Басыкара (Кызылординская область)



Рисунок А.3 – Местообитание аральского усача в р. Сырдарья (с. Басыкара)



Рисунок А.4 – Усачи *Lucioibarbus* spp. в прибрежных садках у берега р. Сырдарья, передерживаемые при отборе генетического материала



Рисунок А.5 – Крупноразмерный аральский усач из р. Сырдарья



Рисунок А.6 – Усачи для морфо-биологического анализа из ирригационных каналов (рисовые чеки) Кармакшинского района Кызылординской области

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Синтезированные олигонуклеотиды и первичные данные ядерных маркеров

AB applied biosystems
by life technologies™

Applied Biosystems UK.
3 Fountain Drive
Inchinnan
Renfrewshire
PA4 9RF

Page : 1

Despatch Note
Despatch Note No. 302930
Oligos this shipment 14 of 14

Customer Lourdes Alcaraz
Institute MUSEO NACIONAL CIENCIAS NATURA
Customer No. 6601
Delivery Address 10256053
C/ JOSE GUTIERREZ ABASCAL 2
MADRID
SPAIN
28006

Purchase Order No. 68468854
Despatch Date : 08/11/2022
Order Received: 00/00/00
Delivery Method CUR
AB Order No. 392754 0007968754

Urgency 48H

100nm.
100µl

Oligo Ref.	Item No	Part No.	Delivered End Product	Dye	MS QC Passed *	HPLC	Lyoph	Length	Mol Wt	Conc Amount
237F	10 1.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	PET	Yes	☒	☒	20	7072	10 nmol
2731143	Sequence	GAA GGT CAC GTG GTT GTC CA								
182	20 2.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	VIC	Yes	☒	☒	20	6732	10 nmol
2731144	Sequence	GCT CTC GTT CCA GTC CAG AC								
164	30 3.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	VIC	Yes	☒	☒	20	6877	10 nmol
2731145	Sequence	GGC GTT GTT GAG CCA ATC AG								
417	40 4.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	NED	Yes	☒	☒	20	6740	10 nmol
2731146	Sequence	CCA AGT CTC GCT ATC CTC GG								
287	50 5.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	PET	Yes	☒	☒	20	6994	10 nmol
2731147	Sequence	TAA TTA GCA ACA GGC CCG CA								
230	60 6.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	PET	Yes	☒	☒	20	7032	10 nmol
2731148	Sequence	ATT GAG GAT CCC GAG GCT CT								
306	70 7.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	NED	Yes	☒	☒	20	6709	10 nmol
2731149	Sequence	CAG TCC CAG ACT CTT CCA GC								
108	80 8.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	NED	Yes	☒	☒	20	6893	10 nmol
2731150	Sequence	GCT GCG GAT TGG TCA AGA AC								
138	90 9.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	VIC	Yes	☒	☒	20	6836	10 nmol
2731151	Sequence	CTG GCT GTC AAC CTG TGG AA								
444	100 10.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	VIC	Yes	☒	☒	20	6895	10 nmol
2731152	Sequence	ATG ACT CAG GTG AAG CAG GC								
264	110 11.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	NED	Yes	☒	☒	20	6859	10 nmol
2731153	Sequence	TGG TCA TGC ATG CGG TAC AT								
211	120 12.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	PET	Yes	☒	☒	20	7075	10 nmol
2731154	Sequence	CTA GAC GAG CAG CAC TGG AG								
455	130 13.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	NED	Yes	☒	☒	20	6915	10 nmol
2731155	Sequence	TGT ATG ACG CTG GTT GGA GC								
474	140 14.1	450007	AB PRISM Primer, 10nmol	PET	Yes	☒	☒	20	6994	10 nmol
2731156	Sequence	AAC ACT GAC CAT GTG ACG CA								

Рисунок Б.1 – Последовательности олигонуклеотидов для ядерных маркеров



Рисунок Б.2 - Синтезированные олигонуклеотиды с индивидуальными флуоресцентными метками



Рисунок Б.3 - Первичные данные (raw data) образцов At30350-At30352 в формате FSA, общий обзор аллелей



Рисунок Б.4 - Первичные данные (raw data) образцов At30365-At30370 в формате FSA, общий обзор аллелей



Рисунок Б.5 - Первичные данные (raw data) образцов At30376-At30379 в формате FSA, общий обзор аллелей

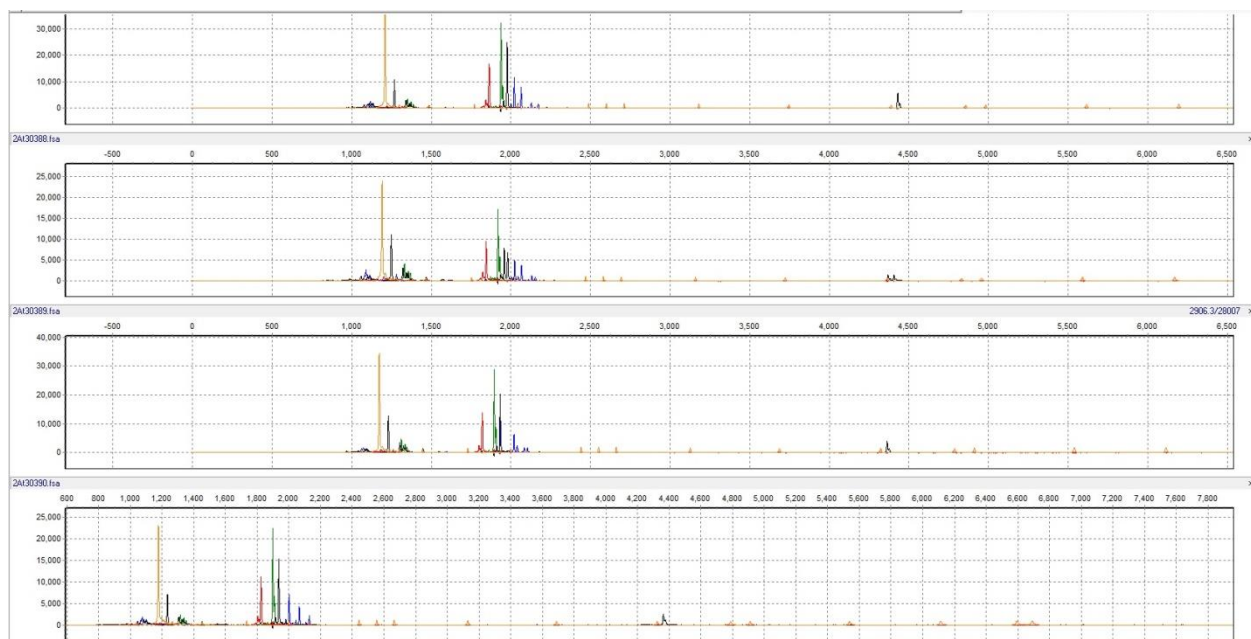


Рисунок Б.6 - Первичные данные (raw data) образцов At30387-At30390 в формате FSA, общий обзор аллелей

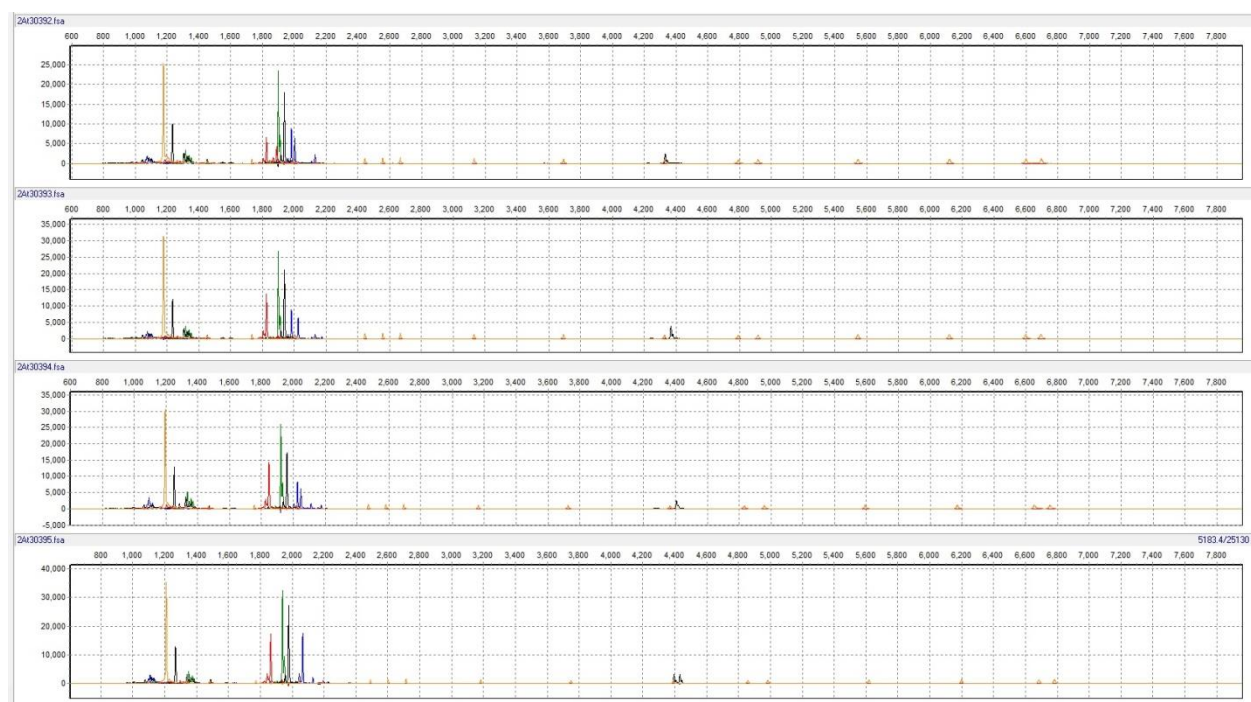


Рисунок Б.7 - Первичные данные (raw data) образцов At30392-At30395 в формате FSA, общий обзор аллелей



Рисунок Б.8 - Первичные данные (raw data) образцов At30405-At30408 в формате FSA, общий обзор аллелей



Рисунок Б.9 - Первичные данные (raw data) образцов At30409-At30412 в формате FSA, общий обзор аллелей

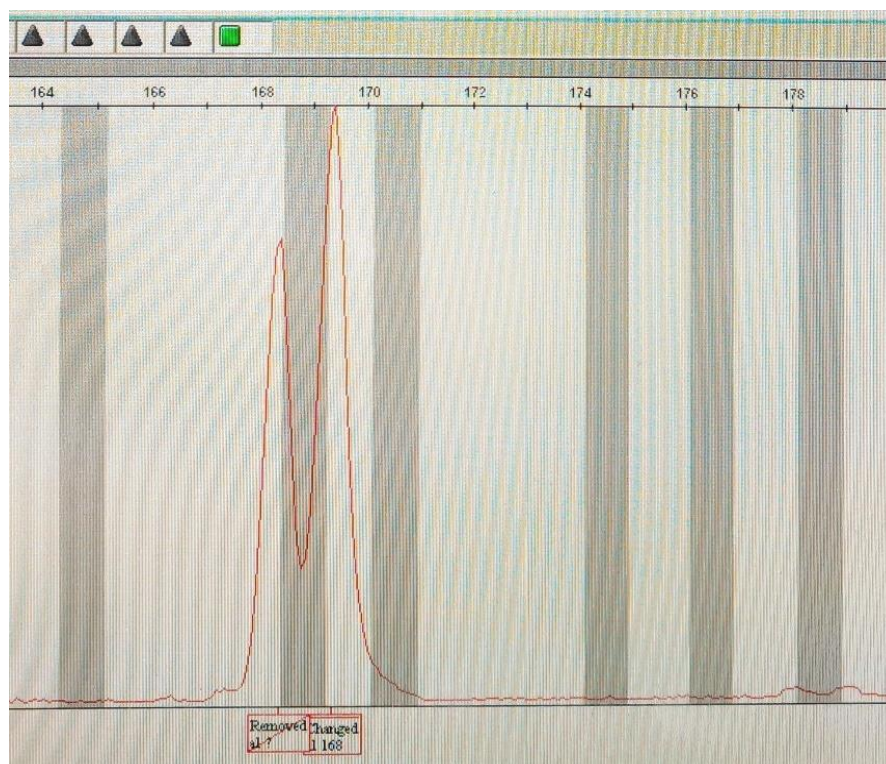


Рисунок Б.10 – Первичные данные (raw data) в формате FSA, поиск аллелей в программном обеспечении GENEMAPPER 3.7 Applied Biosystems

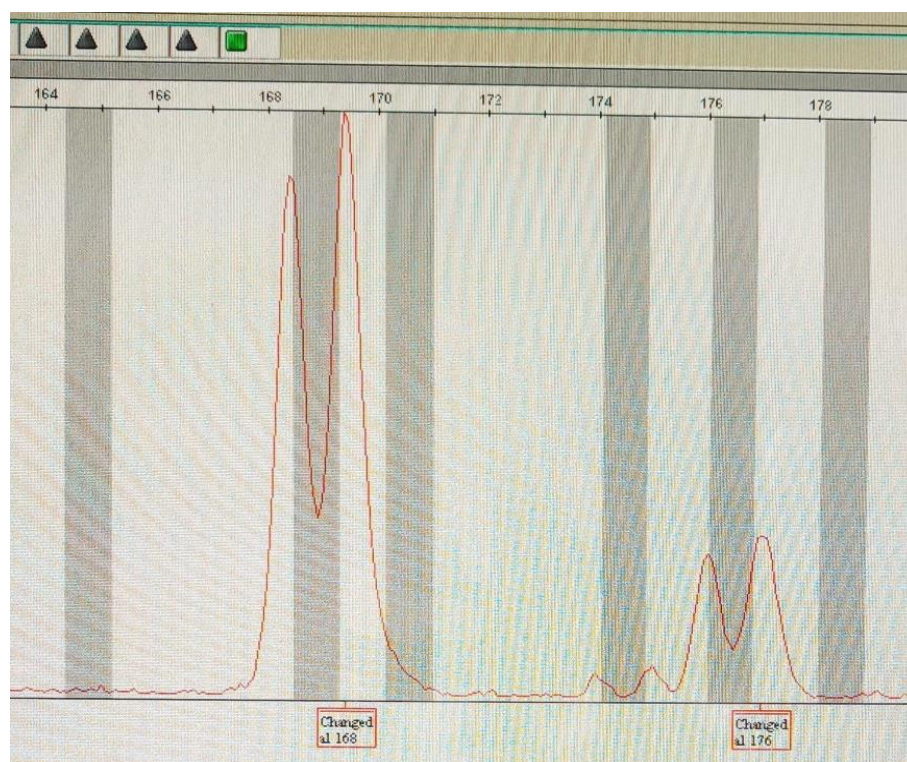
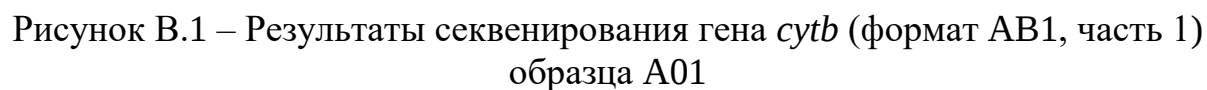


Рисунок Б.11 – Первичные данные (raw data) в формате FSA, поиск нескольких аллелей в программном обеспечении GENEMAPPER 3.7 Applied Biosystems

Хромотограммы нуклеотидных последовательностей митохондриального маркера



File: 21BBSAB005_A01_premix.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1127 A:2895 C:5465 T:3692

Sample: 21BBSAB005_A01_premix Lane: 15 Base spacing: 15.650213 1360 bases in 16394 scans Page 2 of 2

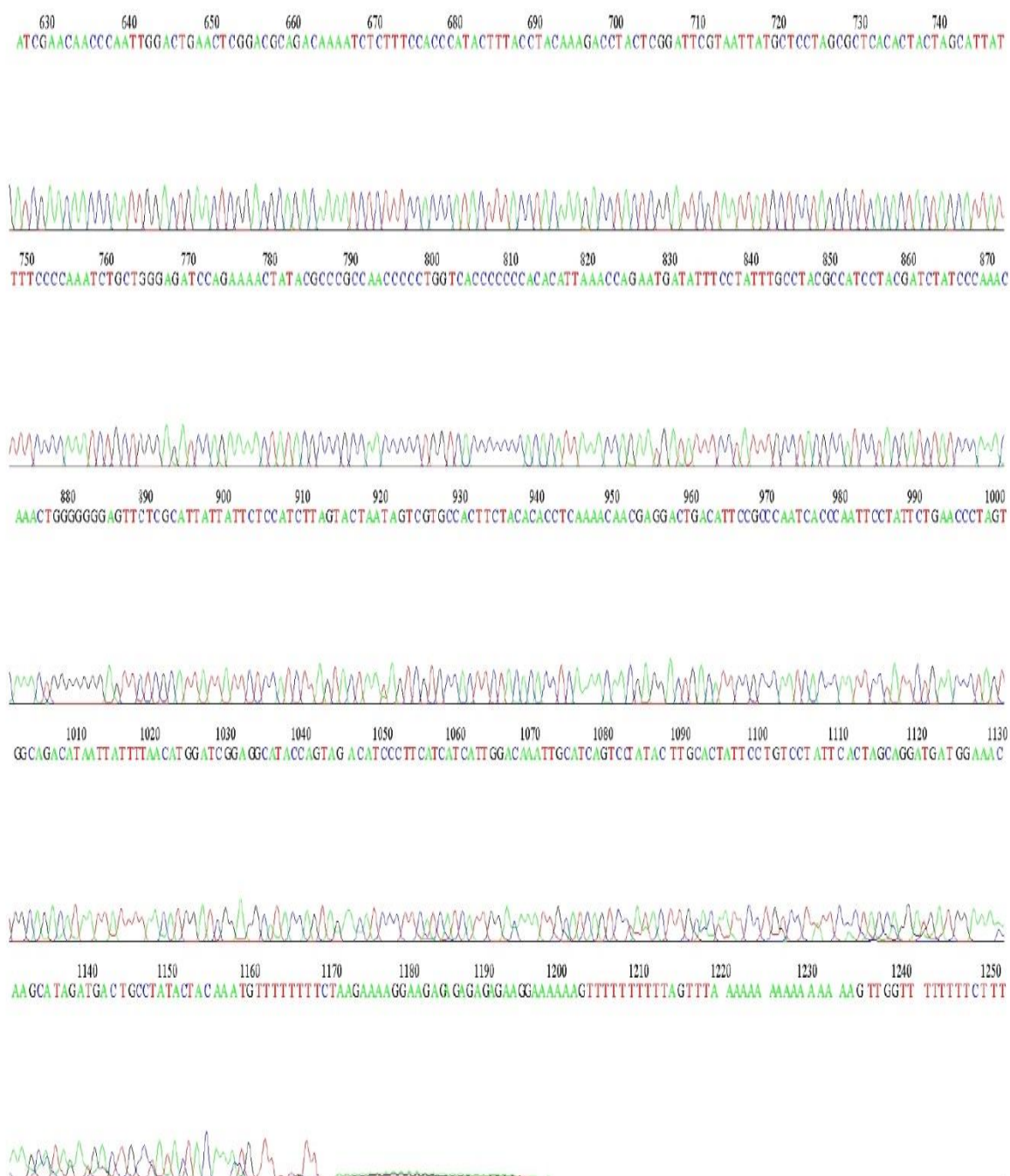


Рисунок В.2 – Результаты секвенирования гена *сутb* (формат AB1, часть 2) образца A01

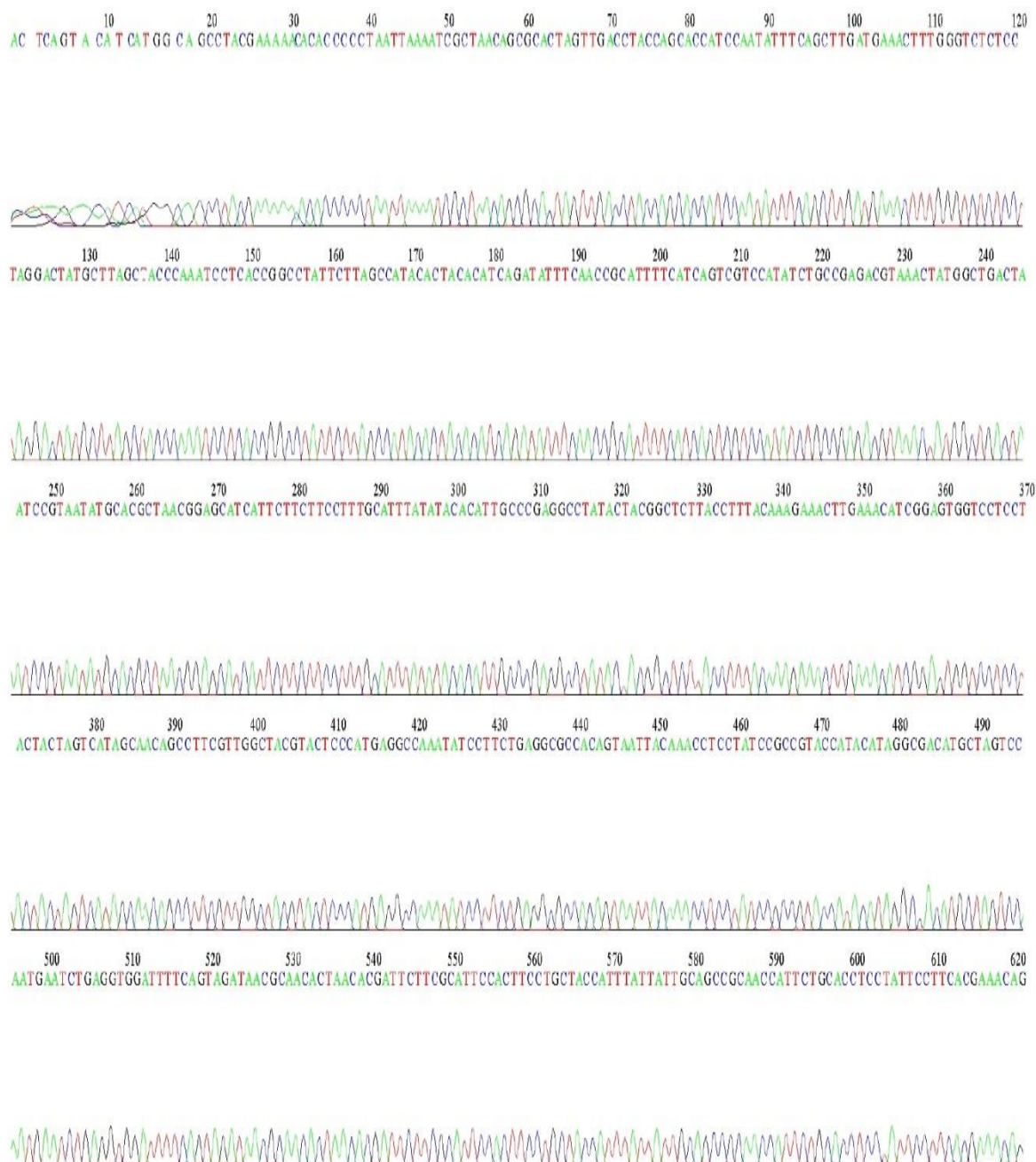


Рисунок В.3 – Результаты секвенирования гена *cutb* (формат AB1, часть 1) образца В01

Sample: 21BBSAB005 B01 premix Lane: 13 Base spacing: 15.716415 1382 bases in 16474 scans Page 2 of 2



Рисунок В.4 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 2) образца В01

File: 21BBSAB005_C03_premix.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1168 A:3184 C:6642 T:4272

Sample: 21BBSAB005_C03_premix Lane: 27 Base spacing: 15.461514 1455 bases in 17836 scans Page 1 of 2



Рисунок В.5 – Результаты секвенирования гена *cytB* (формат AB1, часть 1) образца C03

Sample: 21BBSAB005 C03 premix Lane: 27 Base spacing: 15.461514 1455 bases in 17836 scans Page 2 of 2

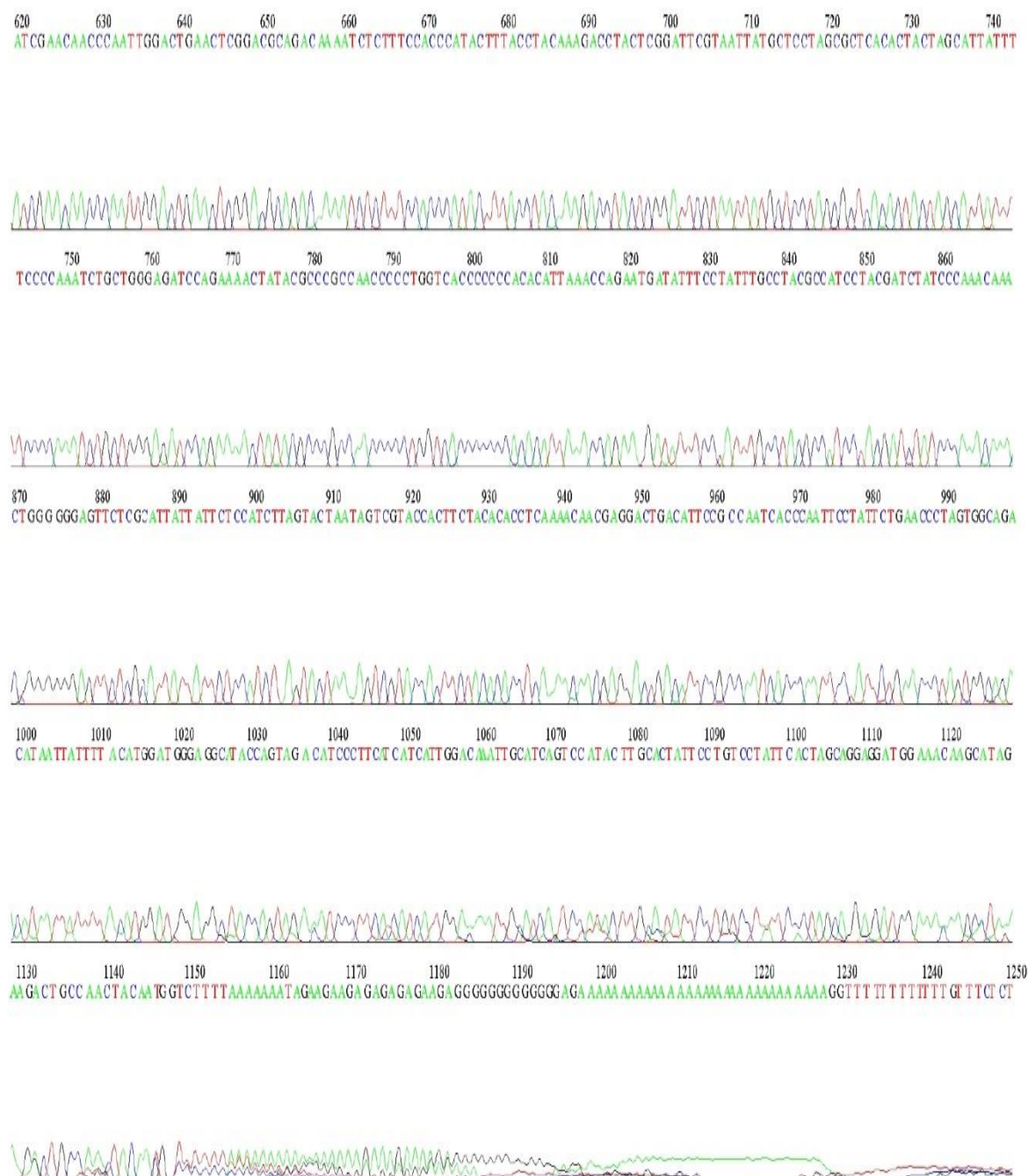


Рисунок В.6 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 2) образца С03



Рисунок В.7 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 1) образца D05

File: 21BBSAB005_D05_premix.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1197 A:2904 C:5850 T:3704

Sample: 21BBSAB005_D05_premix Lane: 41 Base spacing: 15.458625 1518 bases in 18441 scans Page 2 of 2

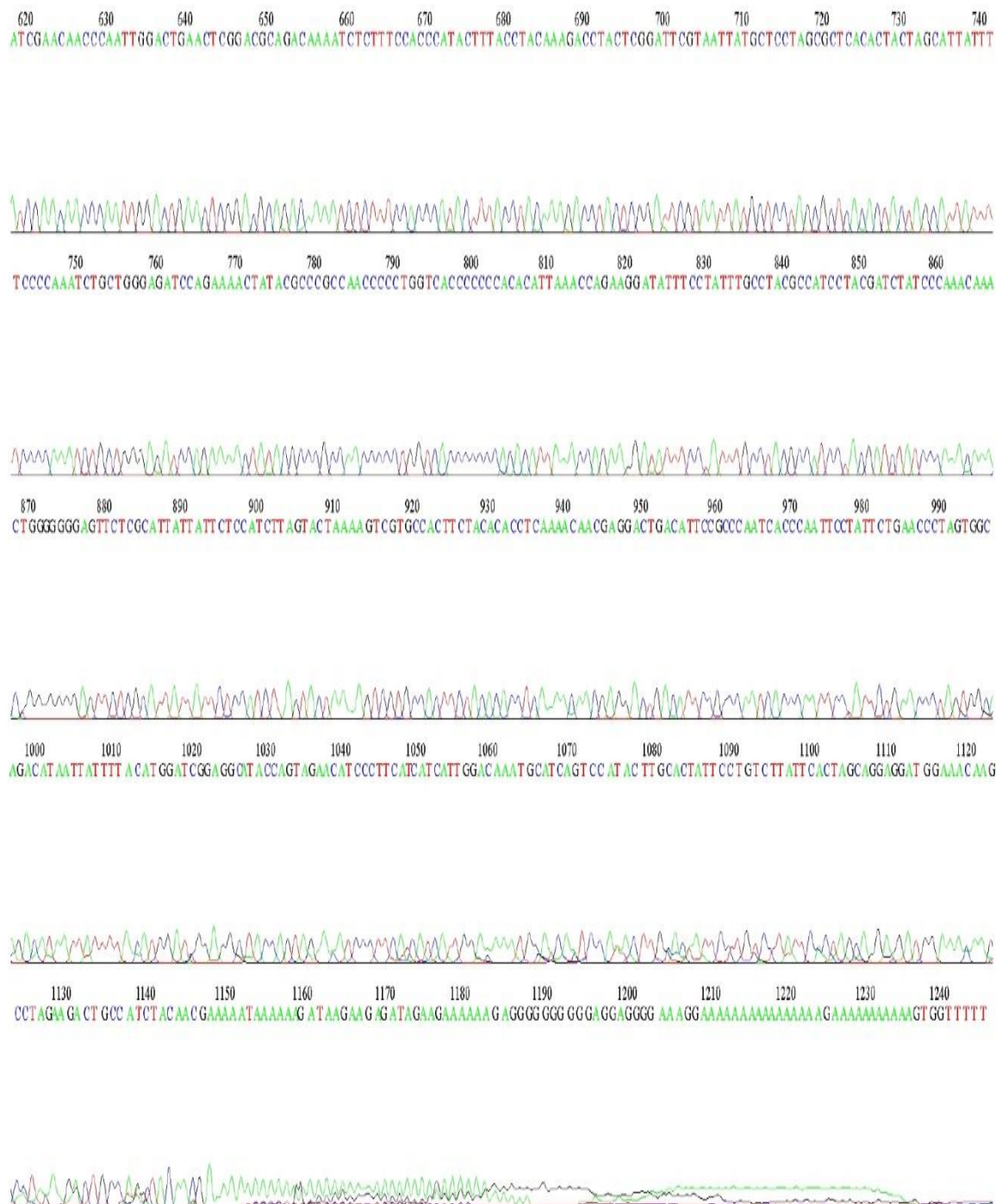


Рисунок В.8 – Результаты секвенирования гена *sutb* (формат AB1, часть 2) образца D05

File: 21BBSAB005_F06_premit.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1773 A:4514 C:9577 T:6636

Sample: 21BBSAB005_F06_premit Lane: 38 Base spacing: 15.563628 1478 bases in 17930 scans Page 1 of 2



Рисунок В.9 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 1) образца F06

Sample: 21BBSAB005 F06 premix Lane: 38 Base spacing: 15.563628 1478 bases in 17930 scans Page 2 of 2

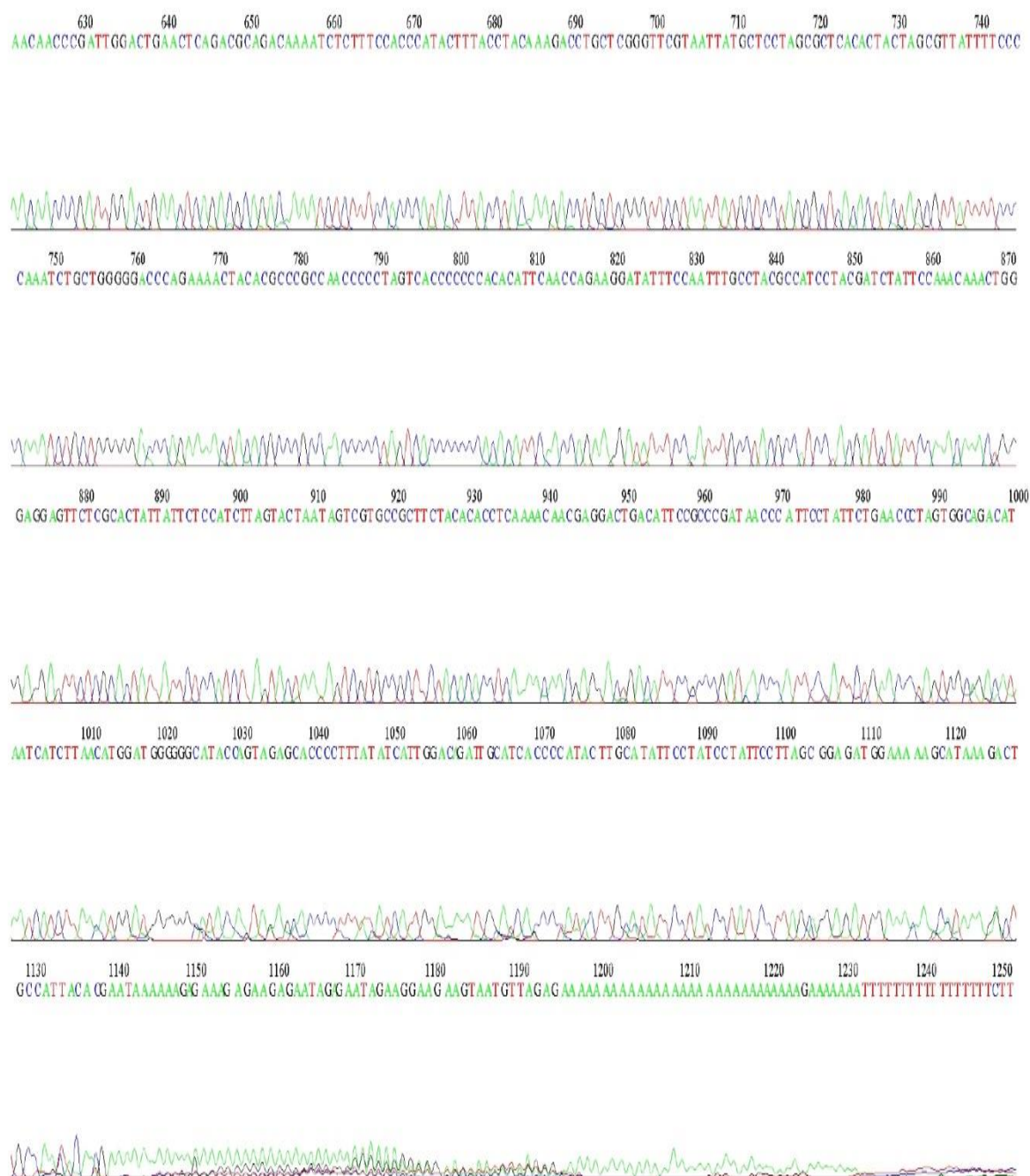


Рисунок В.10 – Результаты секвенирования гена *cutb* (формат AB1, часть 2) образца F06



Рисунок В.11 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 1) образца G01

File: 21BBSAB005_G01_premix.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1902 A:5165 C:10801 T:7445
 Sample: 21BBSAB005_G01_premix Lane: 3 Base spacing: 15.765043 1374 bases in 16514 scans Page 2 of 2

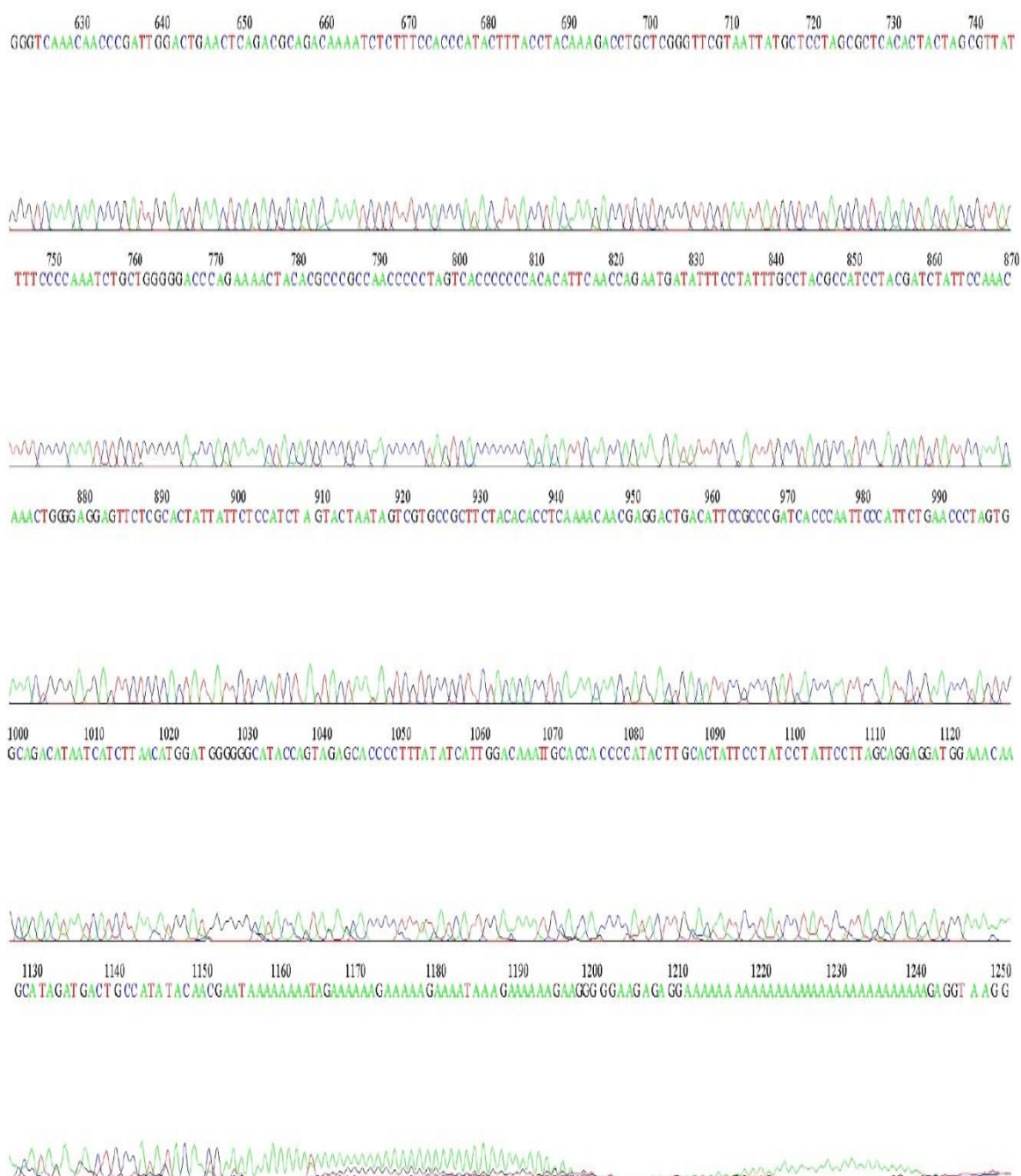


Рисунок В.12 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 2) образца G01

File: 21BBSAB005_H11_premix.ab1 Run Ended: 2022/11/19 18:54:16 Signal G:1616 A:3105 C:3351 T:4947

Sample: 21BBSAB005_H11_premix Lane: 81 Base spacing: 15.791873 1344 bases in 16051 scans Page 1 of 2

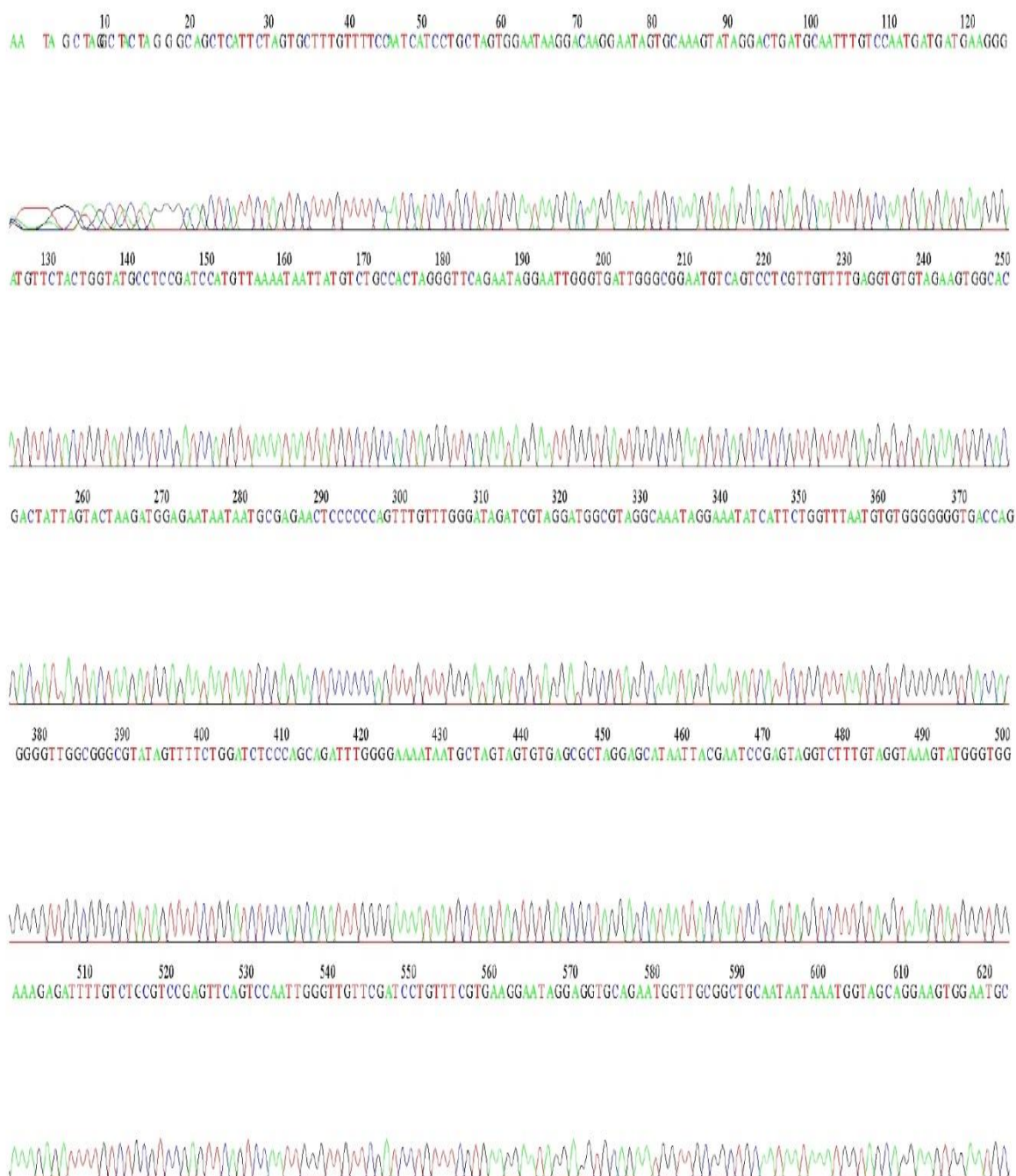


Рисунок В.13 – Результаты секвенирования гена *cytb* (формат AB1, часть 1) образца Н11

Sample: 21BBSAB005 H11 premix Lane: 81 Base spacing: 15.791873 1344 bases in 16051 scans Page 2 of 2



Рисунок В.14 – Результаты секвенирования гена *cutb* (формат AB1, часть 2) образца H11



Рисунок В.15 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 190-300 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

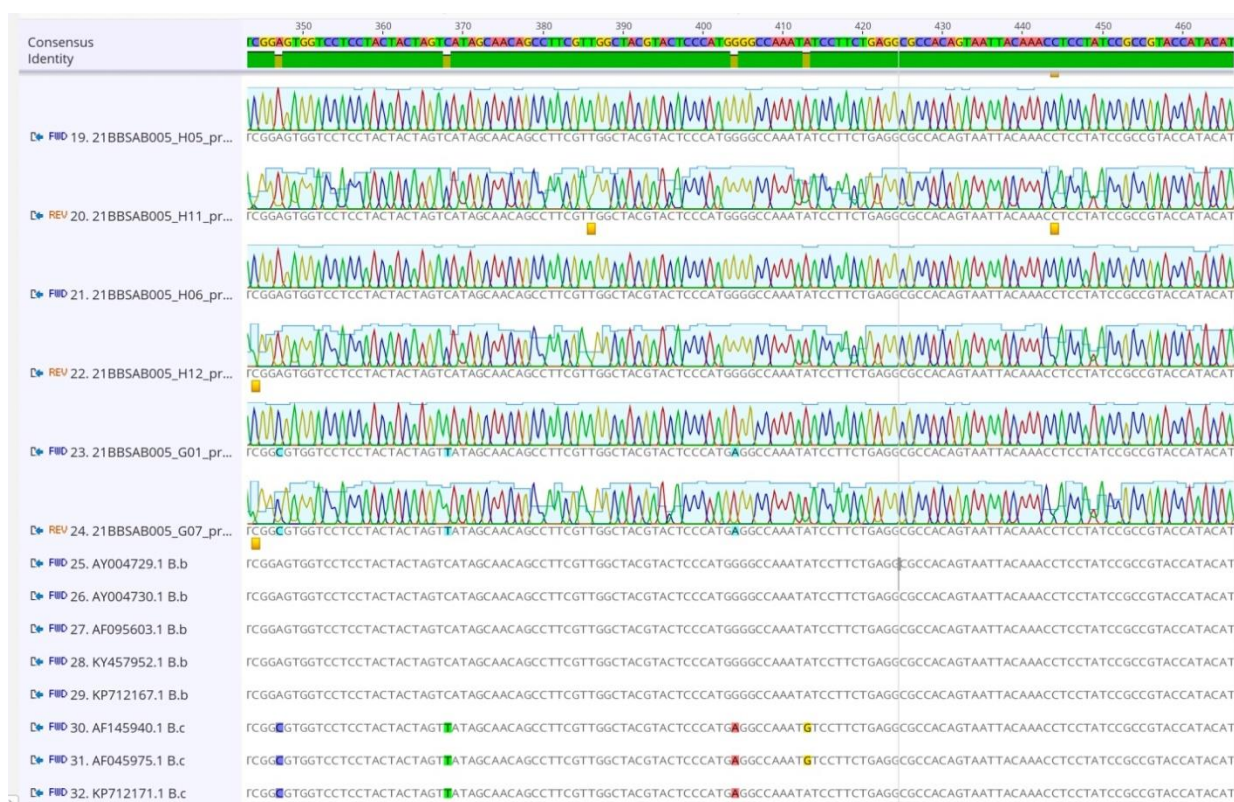


Рисунок В.16 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 350-460 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

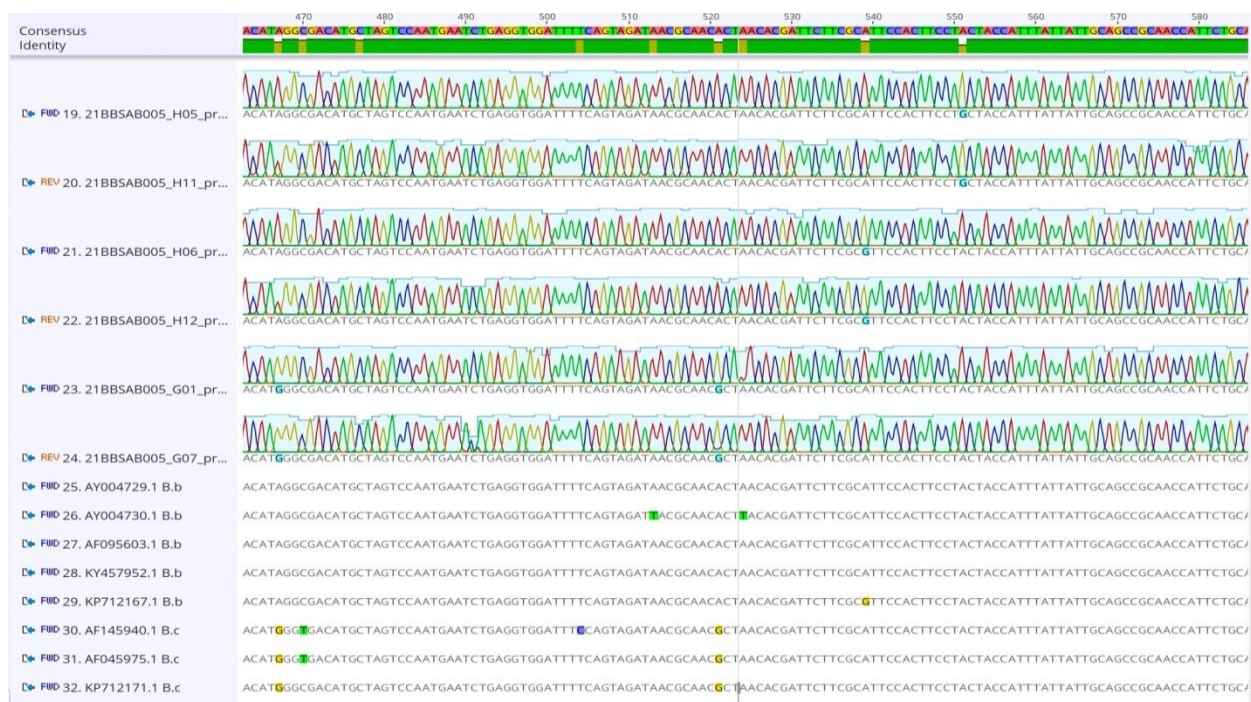


Рисунок В.17 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 470-580 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

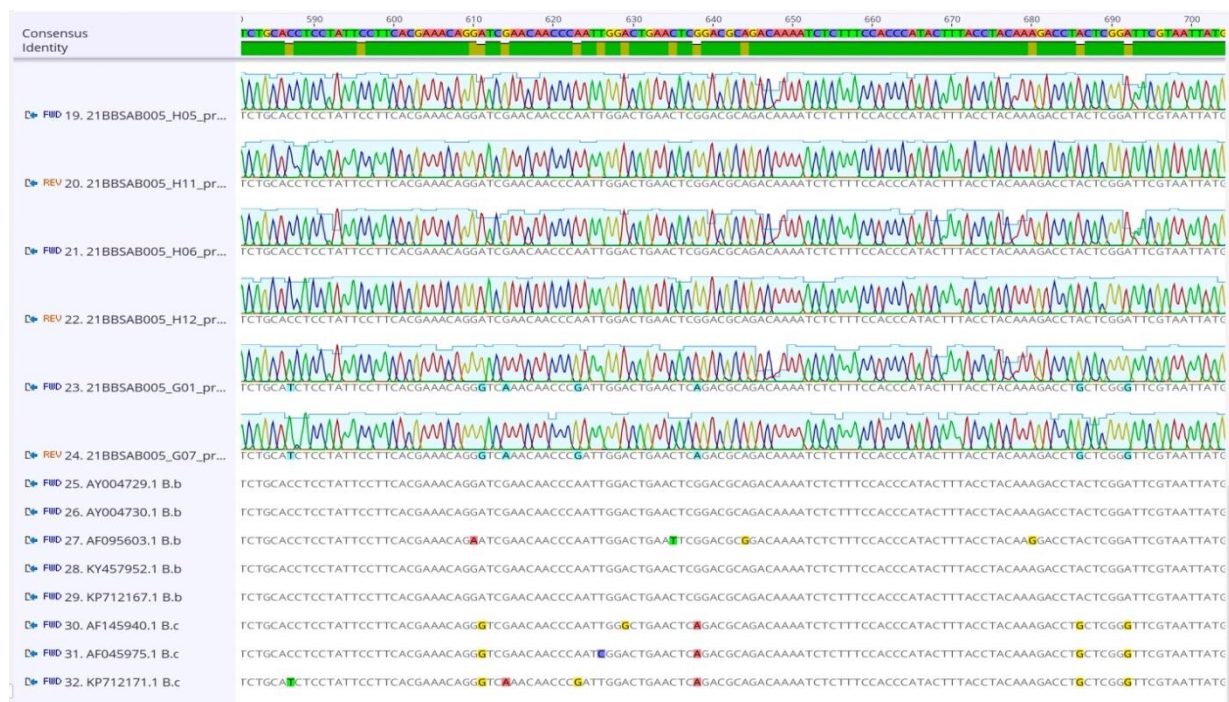


Рисунок В.18 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 590-700 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

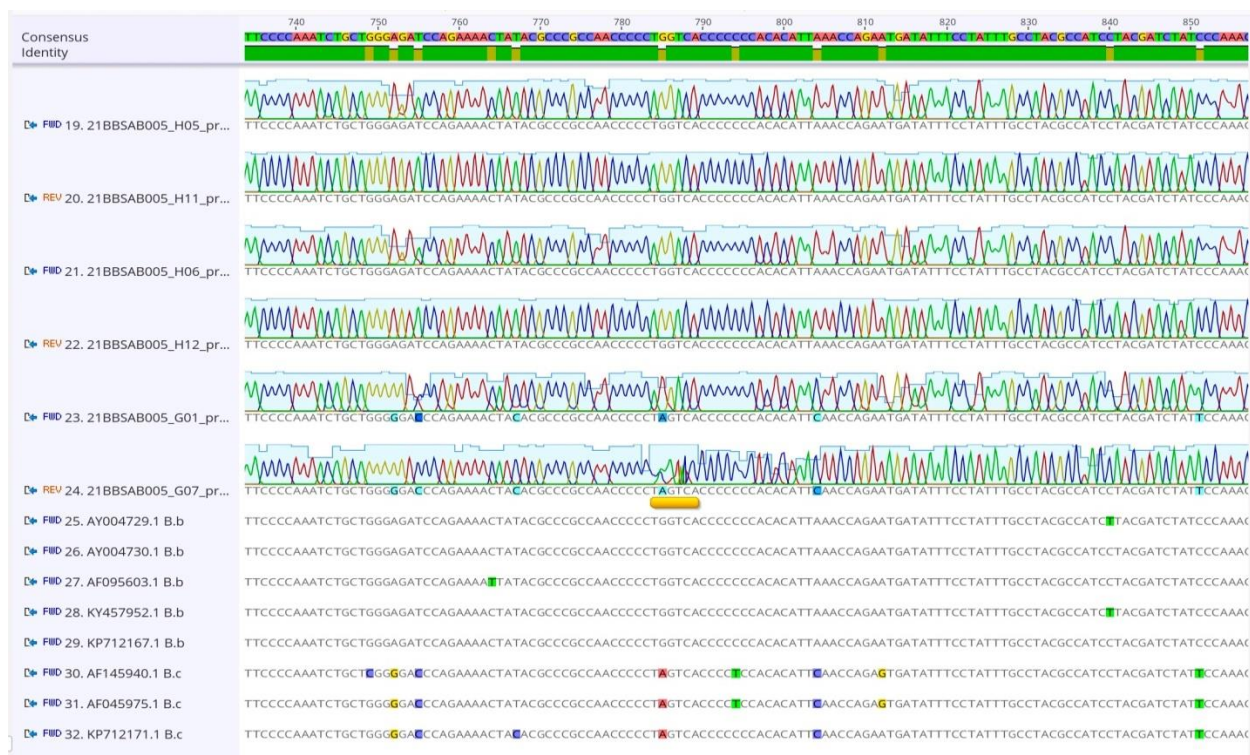


Рисунок В.19 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 740-850 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

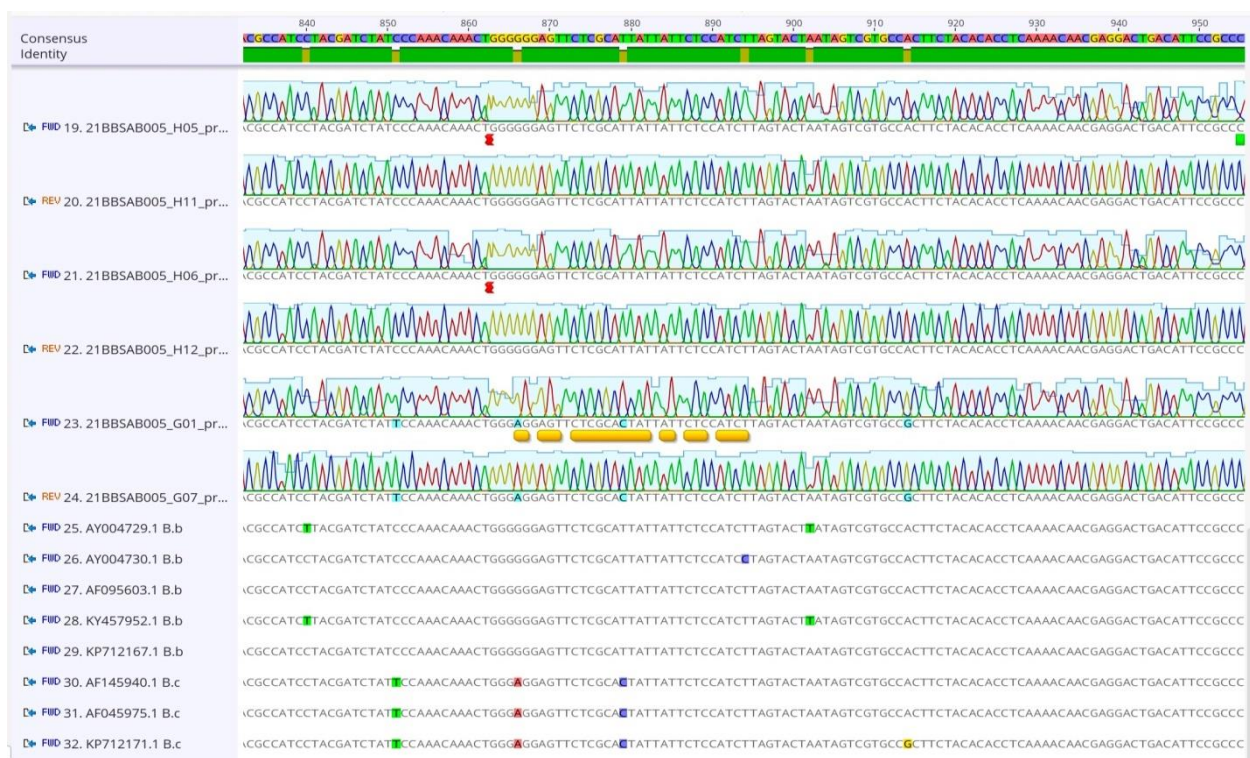


Рисунок В.20 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 840-950 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

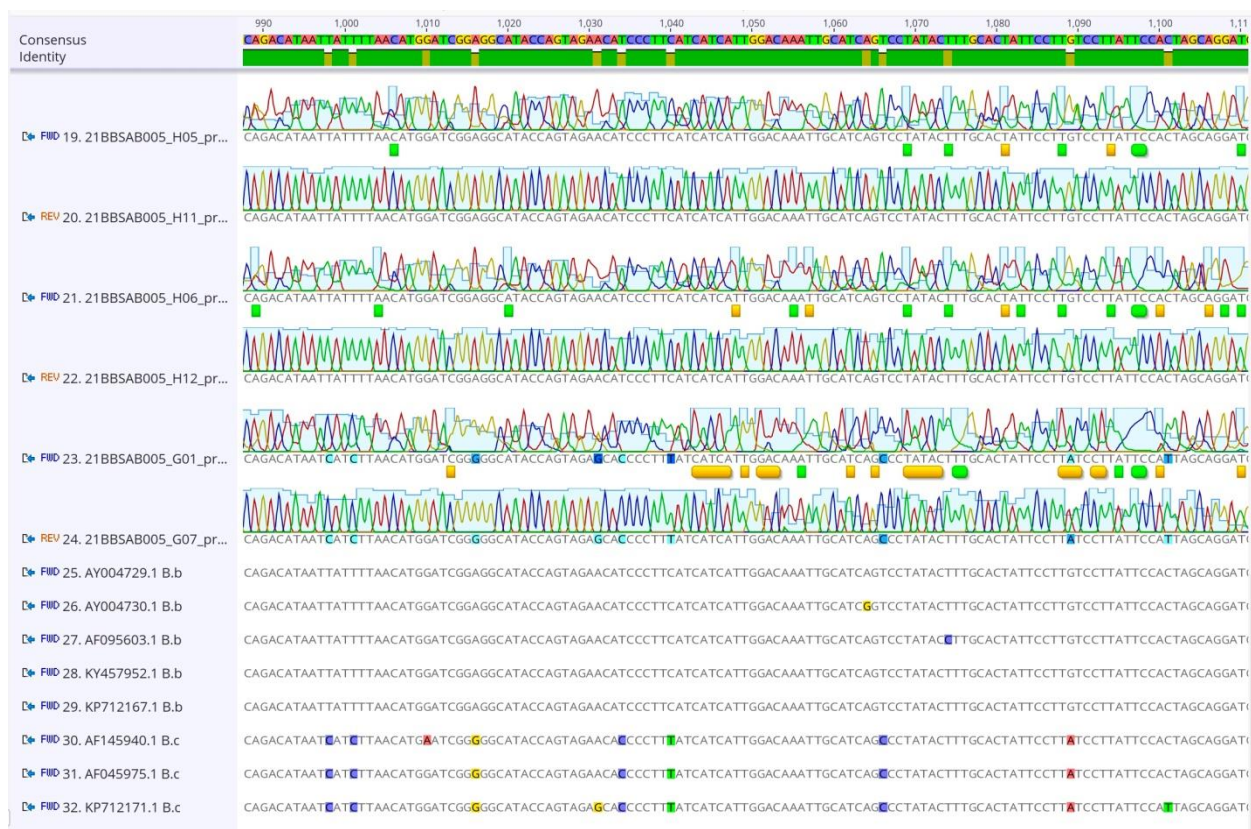


Рисунок В.21 - Сравнение консенсусной идентичности (участок 990-1110 нуклеотидов) выровненных последовательностей собственных образцов с данными базы *NCBI* в программе Geneious V.2022.2.2 (формат файлов AB1)

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Полученные нуклеотидные последовательности усачей рода *Luciobarbus* Heckel, 1843 Арало-Сырдарьинского бассейна

Таблица Г.1 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus brachycephalus* (21BBSAB005_E01) из Арало-Сырдарьинского бассейна

Номер, вид	Нуклеотидная последовательность (5' - 3')
>21BBSAB005_E01 <i>Luciobarbus brachycephalus</i>	TGGCAAGCCTACGAAAAACACACCCCCTAATTAA AATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGCA CCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGTC TCTCCTAGGACTATGCTTAGCTACCCAAATCCTCA CCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGAT ATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTATGGCTGACTAATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGA GTGGTCCTCCTACTACTAGTCATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGGGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATAGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC ACTAACACGATTCTTCGCATTCCACTTCCTGCTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCACCTC CTATTCCTTCACGAAACAGGATCGAACAACCCAAT TGGACTGAACTCGGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTACTCGGATTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCATT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGAGATCCAGAAACT ATACGCCCCGCCAACCCCCTGGTCACCCCCCACAC ATTAAACCAGAATGATATTTTCCTATTTGCCTACGC CATCCTACGATCTATCCCAAACAACTGGGGGGA GTTCTCGCATTTATTATTCTCCATCTTAGTACTAATA GTCGTGCCACTTCTACACACCTCAAAACAACGAG GACTGACATTCCGCCCAATCACCCAATTCCCTATTC TGAACCCTAGTGGCAGACATAGTTATTTTAACATG GATCGGAGGCATACCAGTAGAACATCCCTTCATC ATCATTTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACTTTGC ACTATTCCTTGTCTTATTCCACTAGCAGGATGAT TGGA

Таблица Г.2 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus brachycephalus* (21BBSAB005_E02) из Арало-Сырдарьинского бассейна

>21BBSAB005_E02 <i>Luciobarbus</i> <i>brachycephalus</i>	TGGCAAGCCTACGAAAAACACACCCCCTAATTAA AATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGCA CCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGTC TCTCCTAGGACTATGCTTAGCTACCCAAATCCTCA CCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGAT ATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTATGGCTGACTAATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGA GTGGTCCTCCTACTACTAGTCATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGGGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATAGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC ACTAACACGATTCTTCGCATTCCACTTCCTGCTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCACCTC CTATTCCTTCACGAAACAGGATCGAACAACCCAAT TGGACTGAACTCGGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTACTCGGATTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCATT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGAGATCCAGAAAAC ATACGCCCCGCCAACCCCCTGGTCACCCCCCCCACAC ATTAAACCAGAATGATATTTTCCTATTTGCCTACGC CATCCTACGATCTATCCCAAACAAACTGGGGGGA GTTCTCGCATTATTATTCTCCATCTTAGTACTAATA GTCGTGCCACTTCTACACACCTCAAAACAACGAG GACTGACATTCCGCCCAATCACCCAATTCCTATTC TGAACCCTAGTGGCAGACATAATTATTTTAACATG GATCGGAGGCATACCAGTAGAACATCCCTTCATC ATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACTTTGC ACTATTCCTTGTCTTATTCCACTAGCAGGATGAT TGGA
--	--

Таблица Г.3 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus brachycephalus* (21BBSAB005_F01) из Арало-Сырдарьинского бассейна

>21BBSAB005_F01 <i>Luciobarbus</i> <i>brachycephalus</i>	TGGCAAGCCTACGAAAAACACACCCCCTAATTAA AATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGCA CCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGTC TCTCCTAGGACTATGCTTAGCTACCCAAATCCTCA CCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGAT ATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTATGGCTGACTAATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGA GTGGTCCTCCTACTACTAGTCATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGGGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATAGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC ACTAACACGATTCTTCGCGTTCCACTTCCTACTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCACCTC CTATTCCTTCACGAAACAGGATCGAACAACCCAAT TGGACTGAACTCGGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTACTCGGATTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCATT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGAGATCCAGAAAAC ATACGCCCCGCCAACCCCCTGGTCACCCCCCCCACAC ATTAAACCAGAATGATATTTTCCTATTTGCCTACGC CATCCTACGATCTATCCCAAACAAACTGGGAGGA GTTCTCGCATTATTATTCTCCATCTTAGTACTAATA GTCGTGCCACTTCTACACACCTCAAAACAACGAG GACTGACATTCCGCCCAATCACCCAATTCCTATTC TGAACCCTAGTGGCAGACATAATTATTTTAACATG GATCGGAGGCATACCAGTAGAACATCCCTTCATC ATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACTTTGC ACTATTCCTTGTCTTATTCCACTAGCAGGATGAT TGGA
--	---

Таблица Г.4 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus brachycephalus* (21BBSAB005_F05) из Арало-Сырдарьинского бассейна

>21BBSAB005_F05 <i>Luciobarbus</i> <i>brachycephalus</i>	TGGCAAGCCTACGAAAAACACACCCCCTAATTAA AATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGCA CCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGTC TCTCCTAGGACTATGCTTAGCTACCCAAATCCTCA CCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGAT ATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTATGGCTGACTAATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGA GTGGTCCTCCTACTACTAGTCATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGGGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATAGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC ACTAACACGATTCTTCGCATTCCACTTCCTGCTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCACCTC CTATTTCTTCACGAAACAGGATCGAACAACCCAAT TGGACTGAACTCGGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTACTCGGATTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCATT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGAGATCCAGAAAAC ATACGCCCCGCCAACCCCCTGGTCACCCCCCCACAC ATTAAACCAGAATGATATTTTCCTATTTGCCTACGC CATCCTACGATCTATCCCAAACAAACTGGGGGGA GTTCTCGCATTATTATTCTCCATCTTAGTACTAATA GTCGTGCCACTTCTACACACCTCAAAACAACGAG GACTGACATTCCGCCCAATCACCCAATTCCTATTC TGAACCCTAGTGGCAGACATAATTATTTTAACATG GATCGGAGGCATACCAGTAGAACATCCCTTCATC ATCATTGGACAAATTGCATCAGTCCTATACTTTGC ACTATTCCTTGTCTTATTCCACTAGCAGGATGAT TGGA
--	--

Таблица Г.5 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus conocephalus* (21BBSAB005_F06) из Арало-Сырдарьинского бассейна

>21BBSAB005_F06 <u>Luciobarbus</u> <u>conocephalus</u>	TGGCAAGCCTACGAAAAACACACCCCCTAATTAA AATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGCA CCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGTC CCTCCTAGGATTATGCTTAGCTACCCAAATCCTCA CCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGAT ATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTACGGCTGACTGATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGC GTGGTCCTCCTACTACTAGTTATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGAGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATGGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC GCTAACACGATTCTTCGCATTCCACTTCCTACTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCATCTC CTATTCCTTCACGAAACAGGGTCAAACAACCCGAT TGGACTGAACTCAGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTGCTCGGGTTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCGTT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGGGACCCAGAAAAC ACACGCCCCGCCAACCCCTAGTCACCCCCCCACAC ATTCAACCAGAATGATATTTCTTATTTGCCTACGC CATCCTACGATCTATTCCAAACAAACTGGGAGGA GTTCTCGCACTATTATTCTCCATCTTAGTACTAATA GTCGTGCCGCTTCTACACACCTCAAAACAACGAG GACTGACATTCCGCCCCGATCACCCAATTCCTATTC TGAACCCTAGTGGCAGACATAATCATCTTAACATG GATCGGGGGCATAACCAGTAGAGCACCCCTTTATC ATCATTTGGACAAATTGCATCAGCCCTATACTTTGC ACTATTCCTTATCCTTATTCCATTAGCAGGATGATT GGA
--	---

Таблица Г.6 Нуклеотидная последовательность *Luciobarbus conocephalus* (21BBSAB005_G01) из Арало-Сырдарьинского бассейна

>21BBSAB005_G01 <i>Luciobarbus conocephalus</i>	ATGGCAAAGCCACCAAAAACACACCCCCTAATTA AAATCGCTAACAGCGCACTAGTTGACCTACCAGC ACCATCCAATATTTTCAGCTTGATGAAACTTTGGGT CCCTCCTAGGATTATGCTTAGCTACCCAAATCCTC ACCGGCCTATTCTTAGCCATACACTACACATCAGA TATTTCAACCGCATTTTTCATCAGTCGTCCATATCTG CCGAGACGTAAACTACGGCTGACTGATCCGTAAT ATGCACGCTAACGGAGCATCATTTCTTCTTCCTTTG CATTTATATACACATTGCCCGAGGCCTATACTACG GCTCTTACCTTTACAAAGAACTTGAAACATCGGC GTGGTCCTCCTACTACTAGTTATAGCAACAGCCTT CGTTGGCTACGTACTCCCATGAGGCCAAATATCCT TCTGAGGCGCCACAGTAATTACAAACCTCCTATCC GCCGTACCATACATGGGCGACATGCTAGTCCAAT GAATCTGAGGTGGATTTTTCAGTAGATAACGCAAC GCTAACACGATTCTTCGCATTCCACTTCCTACTAC CATTTATTATTGCAGCCGCAACCATTCTGCATCTC CTATTCCTTCACGAAACAGGGTCAAACAACCCGAT TGGACTGAACTCAGACGCAGACAAAATCTCTTTCC ACCCATACTTTACCTACAAAGACCTGCTCGGGTTC GTAATTATGCTCCTAGCGCTCACACTACTAGCGTT ATTTTCCCCAAATCTGCTGGGGGACCCAGAAAAC ACACGCCCCGCCAACCCCCTAGTCACCCCCCCCACA CATTCAACCAGAATGATATTTCTTATTTGCCTACG CCATCCTACGATCTATTCCAAACAAACTGGGAGG AGTTCTCGCACTATTATTCTCCATCTTAGTACTAAT AGTCGTGCCGCTTCTACACACCTCAAAACAACGA GGA CTGACATTCCGCCCCGATCACCCAATTCCTATT CTGAACCCTAGTGGCAGACATAATCATCTTAACAT GGATCGGGGGCATAACCAGTAGAGCACCCCTTTAT CATCATTTGGACAAATTGCATCAGCCCTATACTTTG CACTATTCCTTATCCTTATTCCATTAGCAGGATGA TTGGA
--	---

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Акт внедрения результатов исследований и методическая рекомендация

Акт внедрения

ТОО «НПЦРХ» в рамках программы «Научно-технологическое обеспечение комплексного развития аквакультуры Казахстана путем разработки и внедрения инновационных технологий и новых объектов рыбоводства» (ИРН BR10264236)

Кызылординская обл., с. Косжар «25» августа 2023 г.

ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства», в лице Ибекова К.Б., генерального директора, Адырбековой К.Б. и.о.зав.лабораторией генетики гидробионтов и РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник» в лице директора Мырзагазиева С. составили настоящий акт о том, что в рамках бюджетной программы 267 «Повышение доступности знаний и научных исследований» подпрограмма 101 «Программно-целевое финансирование научных исследований и мероприятий» по специфике 154 «Оплата услуг по исследованиям», в рамках программы «Научно-технологическое обеспечение комплексного развития аквакультуры Казахстана путем разработки и внедрения инновационных технологий и новых объектов рыбоводства», проведено внедрение научно-исследовательских, научно-технических работ и(или) результатов научной и (или) научно-технической деятельности:

1. Наименование внедрения (разработка, способ, рекомендации и тп.):
Разработан генетический масс-паспорт для ремонтно-маточного стада (РМС) аральского усача (*Luciobarbus brachycephalus*)
2. Место и время внедрения: Кызылординская область, Аральский район, с.Косжар, 2023 г., 2023 январь-август
3. Результатом внедрения явилось (краткая аннотация):
Проведен поиск и апробация микросателлитных локусов для генетической паспортизации производителей отобранных для формирования РМС. Локусы были подобраны соответственно таксономическому положению вида.
4. Экономический эффект от внедрения: в перспективе увеличение численности, промысловый возврат вида и повышение рыбопродуктивности водоемов
5. Социальный эффект от внедрения: расширение спектра деятельности рыбопитомника и появление новых рабочих мест.
6. Экологический эффект от внедрения: сохранения биоразнообразия и генетический мониторинг вида.

Подписи сторон:

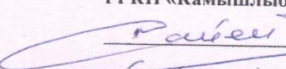
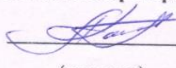
РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник»  (подпись)  «25» августа 2023 г.	ТОО «Научно-производственный центр рыбного хозяйства»  (подпись) Ибеков К.Б.  М.П. «25» августа 2023 г. и.о.зав.лабораторией генетики гидробионтов  (подпись) Адырбекова К.Б. «25» августа 2023 г.
--	--

Рисунок Д.1 - Акт внедрения результатов исследований в РГКП «Камышлыбашский рыбопитомник»

Қазақстан Республикасының
Экология және табиғи
ресурстар министрлігі
Балық шаруашылығы комитеті

Комитет рыбного хозяйства
Министерства экологии и
природных ресурсов
Республики Казахстан

«БАЛЫҚ ШАРУАШЫЛЫҒЫ ҒЫЛЫМИ-ӨНДІРІСТІК
ОРТАЛЫҒЫ» ЖШС (БШҒӨО ЖШС)
ТОО «НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЦЕНТР
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА» (ТОО НПЦРХ)



АРАЛ ҚАЗЫНЫҢ (*LUCIOBARBUS BRACHYCEPHALUS*)
ТАҒУ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ҮШІН
МИКРОСАТЕЛЛИТТІК ЛОКУСТАРДЫ ТАҢДАУ БОЙЫНША
ҰСЫНЫСТАР



РЕКОМЕНДАЦИИ
ПО ПОДБОРУ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ
ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ РМС АРАЛЬСКОГО УСАЧА
(*LUCIOBARBUS BRACHYCEPHALUS*)

ӨОЖ 639.303
КБЖ 47.2
А 75

Ұсыныстар «БШ ҒӨО» ЖШС Ғылыми кеңесімен қаралып
мақұлданды, 2023 жылғы 16 наурыздағы
№ 1 хаттамадан № 3 үзінді

Авторлар:

Исбеков К.Б., «БШ ҒӨО» ЖШС бас директоры б.ғ.д., асс.
профессор (доцент),
Асылбекова С.Ж., «БШ ҒӨО» ЖШС бас директорының орынбасары
б.ғ.д., асс. профессор (доцент),
Адырбекова К.Б., генетика және гидробионттар зертханасының
меңгерушісі м.а.

А 75 Арал қазынының (*Luciobarbus brachycephalus*) ТАҒУ
генетикалық паспортизация үшін микросателлиттік локустарды
таңдау бойынша ұсыныстар. – Алматы: Everest, 2023. – 21 б.

ISBN 978-601-04-6407-0

Арал қазына микросателлиттік (STR) локустарды
апробациялау әдісі сипатталған. Ұсыныстар балық шаруашылығы,
аквакультура саласындағы мамандарға арналған.

Ұсыныстар "Инновациялық технологиялар мен жаңа балық өсіру
нысандарын өзірлеу және енгізу арқылы Қазақстанда
аквакультураны кешенді дамытуды ғылыми-технологиялық қолдау"
ғылыми техникалық бағдарламасы шеңберінде жарық көрді.

Зерттеуді Қазақстан Республикасының Экология және
табиғи ресурстар министрлігі қаржыландырады (БР № 10264236
гранты).

ӨОЖ 639.303
БКЖ 47.2

ISBN 978-601-04-6407-0

© «БШҒӨО» ЖШС 2023

Мекен жайы: 050016, Алматы қ., Сүйінбай д-лы., 89 «А»,
E-mail: info@fishrpc.kz, тел. 8(7273)83-17-15

Рисунок Д.2 - Методическая рекомендация по подбору микросателлитных локусов для генетической паспортизации РМС аральского усача