

С. В. Межжерин, А. А. Циба, Д. С. Межжерина, П. П. Пухтаевич

Ситуация нарастающего пресса генетических аномалий в диплоидно-полиплоидной популяции щиповок (*Cypriniformes, Cobitidae, Cobitis*)

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины И. А. Акимовым)

Генетический мониторинг диплоидно-полиплоидной популяции щиповок (*Cobitis taenia s. lato*) р. Ирпень (приток Днепра) показал необычайно резкие изменения ее биотипического состава за период 2001–2013 гг. Вследствие чего в этой популяции стали абсолютно доминировать особи *C. 2 elongatoides – tanaitica* с аномальными аллозимными спектрами. При этом у особей популяции стало наблюдаться резкое увеличение числа двуядерных эритроцитов. Все эти негативные генетические процессы произошли на фоне уменьшающейся численности вида в р. Ирпень, что косвенно свидетельствует о некотором снижении приспособленности особей этой популяции.

Актуальным направлением генетических исследований является анализ разнообразных нарушений работы генетического аппарата, возникающих у особей в природных популяциях. Причиной ненормального функционирования генома в естественной среде обитания может быть средовой стресс, инвазии мобильных генетических элементов и гибридизация в различных ее формах. Генетическая нестабильность проявляется как на уровне отдельных генов, так и генома в целом. В первом случае это модификации действия гена, приводящие к нарушению синтеза полипептидных цепей, во втором — геномные мутации.

В этой связи интерес вызывает случай массовых аномалий аллозимных спектров, обнаруженный у гиногенетических гибридных форм щиповок, небольших выюновых рыб, в популяции р. Ирпень (Киевская обл.) [1]. Суть феномена заключается в том, что с определенного поколения у всех самок-аллотриплоидов, имеющих два генома дунайской (*Cobitis elongatoides*) и один геном обыкновенной (*C. taenia*) щиповки, произошло уменьшение электрофоретической подвижности продукта аллеля *Aat-1*¹⁰⁰ (рис. 1). Это обстоятельство указывает на нарушение функционирования генных систем у гибридов, вызванное очевидным внедрением чужеродных генетических элементов [2–4] при псевдогамном воспроизводстве, когда самцы *C. taenia* являются донором сперматозоидов для гиногенетических триплоидных самок. Также отмечено появление беккроссов, включающих два генома обыкновенной

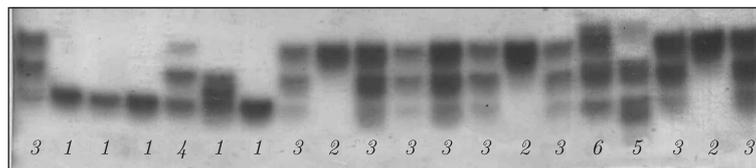


Рис. 1. Аллозимные спектры локуса *Aat-1* у щиповок различных биотипов: 1 — *C. elongatoides* (ЕЕ); 2 — *C. taenia* (ТТ); 3 — *C. elongatoides* — 2 *taenia* (ЕТТ); 4 — *C. 2 elongatoides* — *taenia* (ЕЕТ); 5 — *C. 2 elongatoides* — *taenia* (ЕТТ⁹⁵); 6 — *C. 2 elongatoides* — *tanaitica* — *taenia* (ЕЕТТ⁹⁵)

© С. В. Межжерин, А. А. Циба, Д. С. Межжерина, П. П. Пухтаевич, 2014

и два генома дунайской щиповок (биотип *C. 2 elongatoides* — 2 *taenia*). Это указывает на то, что наряду с псевдогамией при скрещиваниях триплоидных самок биотипа *Cobitis 2 elongatoides* — *taenia* с диплоидными самцами *Cobitis taenia* происходит инкорпорация целого хромосомного набора. При этом, несмотря на свою генетическую “патологичность”, щиповки указанных биотипов не оказались чем-то исключительным, а сразу же стали в популяции р. Ирпень численно доминировать. С момента возникновения аномальной ситуации прошло уже более 10 лет, поэтому целесообразно отследить дальнейшую динамику генетической структуры этой необычной популяции. Кроме того, возникает вопрос: связана ли ненормальная экспрессия генов с функционированием генетического аппарата в целом. В этой связи актуальным было бы использование микроядерного теста, в данном случае анализа морфологических изменений ядер эритроцитов периферической крови [5–7].

Идентификация биотипов проведена по аллозимным маркерам, степень пloidности — цитометрическим анализом, а нарушения структуры генома — по аномалиям ядер эритроцитов на мазках периферической крови.

В пределах бассейна р. Ирпень за 12-летний период исследований выявлен ряд биотипов, большей частью гибридных, геномная структура которых подробно описана ранее [8]. Это диплоидные особи щиповки обыкновенной *C. taenia* (биотип ТТ), триплоидные биотипы (*C. elongatoides* — *taenia* — *tanaitica* и *C. elongatoides* — 2 *taenia*), а также единичные в бассейне гомологичные тетраплоидные биотипы (*C. elongatoides* — 3 *taenia* и *C. elongatoides* — 2 *taenia* — *tanaitica*), которые в данном случае рассматриваются вместе как биотип (*C. elongatoides* — 2 *taenia* s. lato) в широком смысле (ЕТТ). Особи этого биотипа самые многочисленные в водотоках Среднего Днепра и часто составляют большинство особей популяции. Триплоидный биотип *C. 2 elongatoides* — *tanaitica* (ЕЕТ) обычен в бассейне Дуная, однако крайне редок в Среднеднепровском бассейне, исключение составляет р. Ирпень. Этот же триплоидный биотип, но с измененной электрофоретической подвижностью продукта аллеля *Aat-1*¹⁰⁰ (см. рис. 1), свойственного особям *C. taenia* и *C. tanaitica*, обозначен как ЕЕТ⁹⁵. Тетраплоидные биотипы *C. 2 elongatoides* — *taenia* — *tanaitica* встречаются трех типов: с немодифицированным (ЕЕТТ) и модифицированным (ЕЕТТ⁹⁵ и ЕЕТ⁹⁵Т⁹⁵) спектрами *Aat-1*. Их появление — результат беккроссирования самцов *C. taenia* с соответствующими аллотриплоидами.

Распределение особей разных биотипов в выборках за период с 2001 по 2013 г. выглядит следующим образом (табл. 1). При этом наблюдается четкая тенденция увеличения особей с аномальными спектрами *Aat-1*, т. е. особей биотипа ЕЕТ⁹⁵ (рис. 2). В 2001 г. они не отмечены вообще, в 2002 г. — это единичные случаи, с 2004 г. — абсолютно все особи биотипа *C. 2 elongatoides* — *tanaitica* уже имели продукт гена *Aat-1*¹⁰⁰ с уменьшенной электрофоретической подвижностью. Причем в 2004–2005 гг. они составили в выборках абсолютное большинство 70,4 ± 3,93%. Дальше их представленность еще больше увеличилась (в 2006 г. — 90 ± 6,7%, в 2008 г. — 90,9 ± 8,7%, в 2013 г. — 92,6 ± 5,0%). Начиная с 2006 г., по всему бассейну реки стали попадаться тетраплоиды-беккроссы ЕЕТТ⁹⁵ с аномальными спектрами, частота которых колебалась от 4 до 22,3%.

Что же произошло: экспансия генетически аномальных особей, приведшая к подъему численности щиповок в бассейне Ирпеня, или просто увеличение их представленности в популяции при стабильной или падающей общей численности? На основании данных частоты попадания щиповок в орудия лова, можно утверждать, что общая численность щиповок в р. Ирпень за последние 10 лет однозначно не возрастает, а, скорее, падает. Поэтому речь,

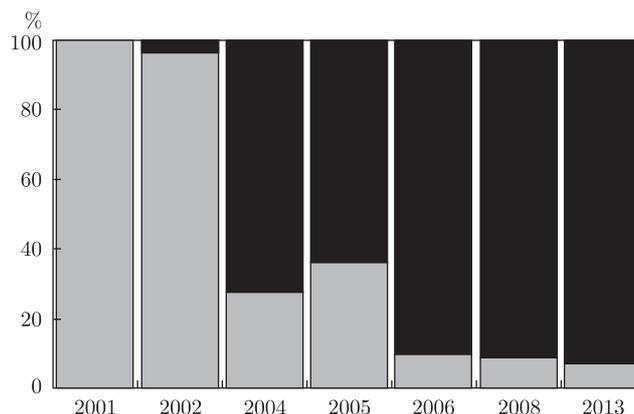


Рис. 2. Изменение соотношения между особями биотипов с нормальными спектрами *Aat-1* — ТТ ЕТТ, ЕЕТ, ЕЕТТ (светло-серое заполнение) и с аномальными спектрами ЕЕТ⁹⁵, ЕЕТТ⁹⁵, ЕЕТ⁹⁵Т⁹⁵ (темно-серое заполнение) в выборках, взятых в районе г. Ирпень по годам

вероятнее всего, может идти только о большей представленности особей-носителей аномальных спектров, на фоне общего снижения численности.

Причиной такой парадоксальной тенденции могут быть как экологические факторы — изменения условий в реке, так и генетические — нарастающее число аномальных особей. В какой-то степени ответ на этот вопрос может быть получен с помощью микроядерного теста. Анализ морфологии ядер эритроцитов показал, что действительно у полиплоидных щиповок достаточно часто попадаются клетки либо с четко выраженной перетяжкой ядра, либо вообще имеющие два ядра (рис. 3). Их максимальная частота достигает 10% на тысячу просмотренных клеток. Анализ изменений средней частоты встречаемости двухъядерных эритроцитов у щиповок р. Ирпень за последние 10 лет свидетельствует о ее четком возрастании (рис. 4). Причем увеличение происходит не за счет нарастания числа двухъядерных эритроцитов отдельных особей, а вследствие увеличения числа особей, у которых эти аномалии наблюдаются. Таким образом, полученные результаты указывают на растущие нарушения генетического аппарата у полиплоидных щиповок в бассейне р. Ирпень на фоне угасания популяции.

Таблица 1. Распределение биотипов щиповок в р. Ирпень за период исследований

Населенный пункт	Год	ТТ	ЕТТ	ЕЕТ	ЕЕТ ⁹⁵	ЕЕТТ	ЕЕТ ⁹⁵ Т ⁹⁵	ЕЕТТ ⁹⁵
г. Ирпень	2001	4	4	4	—	—	—	—
г. Ирпень	2002	6	19	3	1	—	—	—
г. Ирпень	2004	9	20	—	79	1	2	—
г. Ирпень	2005	2	9	—	19	—	—	—
с. Княжичи	2005	6	10	—	6	—	—	—
пгт Гостомель	2005	1	3	—	10	—	—	—
с. Демидов	2006	5	13	—	2	—	—	2
г. Ирпень	2006	1	1	—	16	—	—	2
г. Ирпень	2007	—	—	—	—	—	—	—
г. Ирпень	2008	—	1	—	8	—	—	2
г. Ирпень	2009	—	—	—	—	—	—	—
с. Стоянка	2011	1	1	—	8	—	—	3
пгт Гостомель	2011	1	1	—	1	—	—	—
г. Ирпень	2013	2	—	—	24	—	—	1

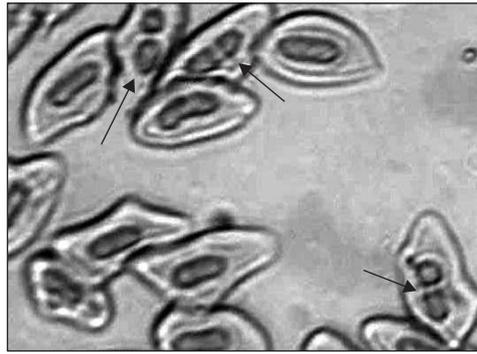


Рис. 3. Нормальные и аномальные двухъядерные эритроциты на мазках периферической крови у триплоидных щиповок биотипа *C. 2 elongatoides — tanaitica*

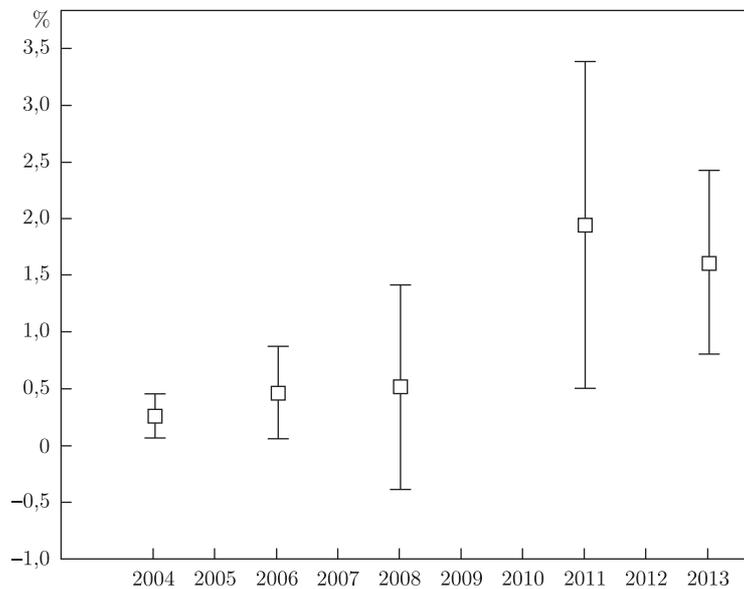


Рис. 4. Стандартное отклонение и средний процент (%) двухъядерных эритроцитов на особь в популяции щиповок р. Ирпень по годам

Как уже указывалось, в Среднем Днепре особи биотипа *C. 2 elongatoides — tanaitica* среди полиплоидных щиповок — большая редкость, тогда как в Дунае они самые обычные. Очевидно они в отличие от биотипов *C. elongatoides — 2 taenia* и *C. 2 elongatoides — tanaitica — taenia* ограничены в своем продвижении на восток. Причина в том, что в Среднем Днепре диплоидные формы щиповок представлены только *C. taenia*, а потому гиногенетические скрещивания ♀ *C. 2 elongatoides — tanaitica* могут быть только с самцами другого вида — *C. taenia*. Из-за того, что при гиногенезе происходит инкорпорация какой-то части генетического материала самца [3–5], в случае внедрения чужеродного генетического материала неизбежны негативные генетические последствия, что и происходит при указанных выше скрещиваниях. Если это так, то почему в бассейне Среднего Днепра, пусть даже и очень редко, попадаются особи *C. 2 elongatoides — tanaitica* с нормальными спектрами. Более того, специальные исследования популяций щиповок Житомирского Полесья показали, что в каналах и небольших речушках Барановского и Новоград-Волынского районов, отно-

сящихя к бассейну р. Случь, практически полностью представлены особи биотипа ЕЕТ, причем с нормальными спектрами Аат. При этом в самой р. Случь в районе Новоград-Волынского, как и в большинстве рек средне- и верхнеднепровского бассейнов, доминируют особи биотипа ЕТТ. Соотношение биотипов в этой реке выглядит следующим образом: 8 ТТ, 30 ЕТТ и 3 ЕЕТ. Можно предположить, что для того, чтобы инкорпорация чужеродного материала привела к негативным последствиям, необходимо, чтобы сработал пусковой механизм, таковым может быть средовой стресс, например загрязнение воды. Последнее обстоятельство для р. Ирпень более чем актуально.

1. Межжерин С. В., Павленко Л. И. Случай гибридизации у щиповок (Osteichthyes: Cobitidae: *Cobitis*), обусловивший генетическую нестабильность и экспансию // Цитология и генетика. – 2007. – 41. – № 4. – С. 26–35.
2. Yi M. S., Li Y. Q., Liu J. D. et al. Molecular cytogenetic detection of paternal chromosome fragments in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch // Chromosome Res. – 2003. – 11, No 7. – P. 665–671.
3. Fan Z., Liu G. The ploidy and reproductive mechanism of crucian carp, *Carassius auratus gibelio* // J. Fish Biol. – 1990. – 36, Is. 3. – P. 415–419.
4. Tóth B., Várakoni E., Hidas A. et al. Genetic analysis of offspring from intra – and interspecific crosses of *Carassius auratus gibelio* by chromosome and RAPD analysis // J. Fish Biol. – 2005. – 66, No 3. – P. 784–797.
5. De Flora S., Vigario L., D'Agostini F. et al. Multiple biomarkers in fish exposed *in situ* to polluted river water // Mutat. Res. – 1993. – Is. 319. – P. 167–177.
6. Kligerman D. Fishes as biological detectors of the effects of genotoxic agents // Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology / Ed. J. Heddle. – New York: Academic Press, 1982. – P. 435–456.
7. Ueda T., Hayashi M., Ohtsuka Y. et al. A preliminary study of the micronucleus test by acridine orange fluorescent staining compared with chromosomal aberration test using fish erythropoietic and embryonic cells // Water Science Technology. – 1992. – 25. – P. 235–240.
8. Межжерин С. В., Павленко Л. И. Генетическое разнообразие, происхождение и закономерности распространения полиплоидных щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*) в пределах Украины // Цитология и генетика. – 2010. – 44, № 5. – P. 65–77.

Институт зоології ім. І. І. Шмальгаузена
НАН України, Київ

Поступило в редакцію 20.12.2013

С. В. Межжерін, А. А. Циба, Д. С. Межжеріна, П. П. Пухтаєвич

Ситуація зростаючого пресу генетичних аномалій в диплоїдно-поліплоїдних популяціях щипівок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*)

Генетичний моніторинг диплоїдно-поліплоїдної популяції щипівок (*Cobitis taenia* s. lato) р. Ирпень (притока Дніпра) показав надзвичайно різкі зміни її біотипового складу за період 2001–2013 рр. Внаслідок чого в цій популяції стали абсолютно домінувати особини *C. 2 elongatoides* – *tanaitica* з аномальними алозимними спектрами. При цьому в особин популяції також спостерігається різке збільшення числа двоядерних еритроцитів. Усі ці негативні генетичні процеси відбулися на тлі падіння чисельності виду в р. Ирпень, що побічно свідчить про деяке зниження пристосованості особин цієї популяції.

S. V. Mezhzherin, A. A. Tsyba, D. S. Mezhzherina, P. P. Pukhtaevitch

Situation of the increasing pressure of genetic abnormalities in a diploid-polyploid of population spined loaches (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*)

*Genetic monitoring of a diploid-polyploid population of spined loach (*Cobitis taenia* s. lato) in the Irpen river (tributary of the Dnieper) has pointed unusually abrupt changes of its biotype structure for the period 2001–2013. The result is that, in this population, individuals of *C. 2 elongatoides-tanaitica* biotype with abnormal allozyme spectrum became to completely dominate. At the same time, individuals of this population also demonstrate a sharp increase in the number of binuclear erythrocytes. All these negative genetic processes occurred against the background of a declining population of the species in this river, which indirectly indicates a slight decrease in the fitness of individuals of this population.*