
<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.10.097>

УДК 575:597.551.2(477.5)

С.В. Межжерин, А.А. Циба,

Т.В. Салий, Д.С. Луценко

Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины, Киев

E-mail: s.mezhzhherin@gmail.com

Зона генетической нестабильности у полиплоидных гибридных щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*) на Среднем Днепре

Представлено членом-корреспондентом НАН Украины С.С. Малютой

*В результате скринингового исследования популяций клоновых щиповок гибридной группы *Cobitis elongatoides* — *taenia* — *tanaitica* водных систем Украины выявлены случаи массовых нарушений структуры аллозимных спектров. Аномалии встречаются локально и обнаружены только в популяциях двух правых притоков верхней части Среднего Днепра (р. Ирпень и верхняя часть системы р. Тетерев). Этот узкий регион следует считать зоной генетической нестабильности. Очевидно, аномалии имеют мутационную природу, поскольку стабильно проявляются в ряду поколений. Они могут быть классифицированы на пять типов. Причиной их появления следует считать химическое загрязнение водных систем. Подобная ситуация массовых генетических нарушений уникальна и ранее нигде не отмечалась. Это означает, что загрязнение поверхностных вод Украины местами достигло критического уровня, поскольку приводит к явным генотоксичным эффектам.*

Ключевые слова: клоновые щиповки, *Cobitis*, генотоксичность, аллозимы, речные системы Украины.

Важным направлением современных генетических исследований является скрининг мутационных событий в популяциях. Цель подобного рода изысканий заключается не только в выявлении носителей мутаций, но и в определении зон повышенной концентрации генетических аномалий. Обычно зоны генетической нестабильности формируются популяциями, обитающими на химически или радиационно загрязненных территориях. В связи с возрастающим накоплением поллютантов в окружающей среде исследования мутационных процессов в природных популяциях приобретают все большую актуальность и реализуются на определенных объектах — видах-биоиндикаторах. К модельным объектам относят виды, размножающиеся партеногенезом, поскольку в ситуации клонового наследования легко отследить генетические отклонения. Этот подход в свое время был разработан на гиногенетических карасях [1], обитающих в радиационно загрязненных водоемах. При этом в качестве генных маркеров были использованы электрофоретические спектры аллозимов.

© С.В. Межжерин, А.А. Циба, Т.В. Салий, Д.С. Луценко, 2019

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2019. № 10: 97–103

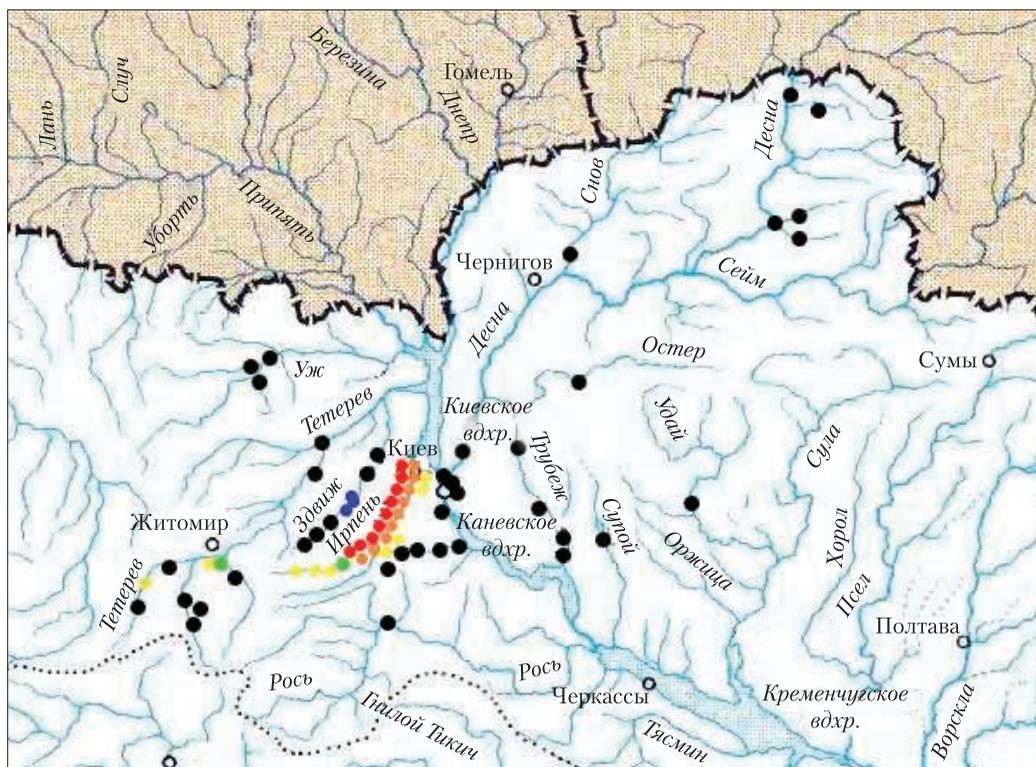


Рис. 1. Зона распределения полиплоидных щиповок группы *C. elongatoides* – *taenia* – *tanaitica* с аномальными спектрами в бассейне Среднего Днепра. Выборки с аномалиями I типа отмечены красными точками, II типа – оранжевыми, III типа – желтыми, IV типа – зелеными и V типа – синими. Выборки, в которых аномалии не обнаружены, показаны черным цветом

Генетическая нестабильность, проявляющаяся в различного рода нарушениях электрофоретических спектров, была обнаружена в системе р. Ирпень (правом притоке верхней части Среднего Днепра) у клоновых однополых полиплоидных щиповок гибридной группы *C. elongatoides* – *tanaitica* – *taenia*, размножающихся путем гиногенеза [2–4]. Генетические аномалии имели место у особей биотипа *C. 2 elongatoides* – *tanaitica* и проявились в изменении электрофоретической подвижности продукта локуса *Aat-1*, характерного для *C. tanaitica*. Появление аномалий носило залповый характер и произошло в течение одного–двух поколений с 2001 по 2004 гг. [2]. В результате щиповки биотипа *C. 2 elongatoides* – *tanaitica* с нарушениями спектров в нижнем и среднем течении Ирпеня полностью заменили особей с нормальными спектрами и стали самыми многочисленными в этой части реки. Неизбежно возникает вопрос: ситуация в р. Ирпень уникальна или это явление распространено на соседние и близкие речные системы Среднего Днепра?

Для ответа на поставленный вопрос проведен анализ генетической структуры щиповок по трем ферментным системам: аспаратаминотрансферазе (*Aat*), лактатдегидрогеназе (*Ldh*) и малатдегидрогеназе (*Mdh*). Для скрининга использованы локусы *Aat-1*, *Ldh-B* и *Mdh-1*. Их аллели позволяют диагностировать особей родительских видов и, соответственно, определить геномную структуру гибридных биотипов. Кроме того, именно по спектрам *Aat* наблюдаются различного рода аномалии.

Фактической основой исследования послужили 58 выборок щиповок, собранных в бассейнах рек верхней части Среднего Днепра за период 2001–2018 гг. В Десне и ее притоках проанализировано 765 экз., Тетерева и его притоках — 572 экз., в системе Ирпеня — 876 экз., бассейне Случи — 149 экз., Уже — 22 экз., Стугне — 166 экз., Трубеже — 79 экз., Супое — 13 экз., верхнем течении Роси — 13 экз., Удае (приток Сулы) — 118 экз. и 135 экз. взяты из пойменных озер окрестностей Киева.

Наряду с полиплоидными гибридами с нормальными спектрами идентифицированы серии особей с необычными электрофоретическими спектрами. Все эти случаи касаются продукта локуса *Aat-1* и обнаружены только в двух соседних речных системах Ирпеня и Тетерева (рис. 1, таблица).

По геномной структуре гиногенетических гибридов и особенностям нарушений электрофоретических спектров можно выделить пять типов аномалий (рис. 2).

Первый тип (I). Отмечен в спектрах биотипа *C. 2 elongatoides — tanaitica* и представляет собой уменьшение электрофоретической подвижности продукта аллеля *Aat-1*¹⁰⁰ в гетерозиготном сочетании *Aat-1*^{100/110-110}. Формально обозначен как *C. 2 elongatoides — tanaitica*⁹⁵, а электроморфа, его представляющая, — как *Aat-1*^{95/110-110}. Этот тип аномалий является массовым на нижнем и среднем течении Ирпеня. Его появление — следствие трансформации аллеля *Aat-1*¹⁰⁰ в вариант *Aat-1*⁹⁵.

Второй тип (II). Характерен для тетраплоидного биотипа *C. 2 elongatoides — taenia — tanaitica*. Это беккросс между ♀ *C. 2 elongatoides — tanaitica*, для которого характерно генотипическое сочетание *Aat-1*^{95/110-110}, и ♂ *C. taenia* с гомозиготным спектром *Aat-1*¹⁰⁰⁻¹⁰⁰. В результате образуется сложный спектр *Aat-1*^{95-100/110-110}, состоящий из шести фракций (рис. 2). Обнаружен в выборках, собранных на нижнем и среднем течении Ирпеня в тех же популяциях, что и предыдущие аномалии.

Третий тип (III). Триплоидные особи биотипов *C. elongatoides — taenia — tanaitica* или *C. elongatoides — 2 taenia* с такой же картиной спектров аспаратамино-трансферазы, что и у предыдущего биотипа (см. рис. 2). Поскольку это триплоидный биотип, то его генотип по этому локусу можно трактовать как *Aat-1*^{95-100/110}. Причиной появления этого спектра является трансформация одного из двух аллельных генов *Aat-1*¹⁰⁰, содержащихся в триплоидном наборе, в ген *Aat-1*⁹⁵. Обнаружен в выборках по всему течению Ирпеня, а также в верхнем бассейне Тетерева.

Распределение особей с разными типами аномалий по популяциям

Река	Населенный пункт	Типы аномалий					N
		I	II	III	IV	V	
Ирпень	Демидов	22	3				34
	Червоное	6	5				30
	Мощун	11	2	1			22
	Гостомель	12	1				20
	Ирпень	21	4	1			28
	Стоянка	13	4	2			21
	Белгородка	54	5	1			40
	Лука	6	2				9
	Княжичи	6					8
	Леоновка		1				29
	Лубское				2		14
	Дедовщина			12			18
	Суцанка			2			12
Тетерев	Корнин			10			56
	Карповцы			1			14
	Гуйва			4	5		72
Здвиж	Гавронщина					40	126
	Лозовик					1	46
	Липовка					1	1

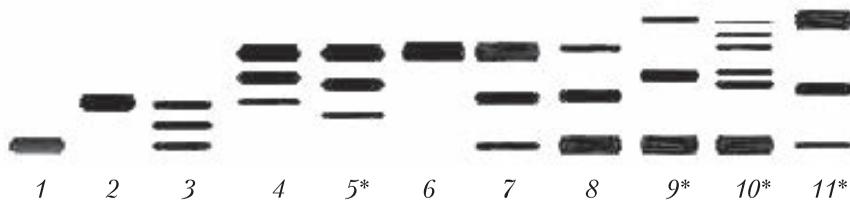


Рис. 2. Схемы электрофоретических спектров продуктов, кодируемых локусом *Aat-1*: 1–3 — вид *C. elongatoides*, генотипы $Aat-1^{110/110}$, $Aat-1^{105/105}$, $Aat-1^{105/110}$ соответственно; 4, 7 — биотип *C. elongatoides* — 2 *taenitica*, генотипы $Aat-1^{100-100/105}$ и $Aat-1^{100-100/110}$ соответственно; 5 — биотипы *C. elongatoides* — 2 *taenia* и *C. elongatoides* — *taenia* — *taenitica*, генотип $Aat-1^{100-100/106}$; 6 — вид *C. taenia*, генотип $Aat-1^{100/100}$; 7 — биотипы *C. elongatoides* — 2 *taenia* и *C. elongatoides* — *taenia* — *taenitica*, генотип $Aat-1^{100-100/110}$; 8 — биотип *C. 2 elongatoides* — *taenitica*, генотип $Aat-1^{100/110-110}$; 9 — биотип *C. 2 elongatoides* — *taenitica*, генотип $Aat-1^{95/110-110}$; 10 — биотипы *C. 2 elongatoides* — *taenia* — *taenitica* и *C. elongatoides* — 2 *taenia*, генотип $Aat-1^{95/110-110}$; 11 — биотипы *C. elongatoides* — 2 *taenia* и *C. elongatoides* — *taenia* — *taenitica*, генотип $Aat-1^{95-95/110}$. * — аномальные спектры

Четвертый тип (IV). Триплоидные биотипы *C. elongatoides* — 2 *taenia* или *C. elongatoides* — *taenia* — *taenitica*, в спектре аспартатаминотрансферазы которых представлены продукты двух генов $Aat-1^{95}$, что формально отвечает генотипу $Aat-1^{95-95/110}$. Причиной возникновения этого биотипа является трансформация двух аллельных генов $Aat-1^{100}$, содержащихся в триплоидном наборе, в аллельный вариант $Aat-1^{95}$. Обнаружены в двух выборках из Ирпеня и Тетерева.

Пятый тип (V) — триплоидные и тетраплоидные биотипы *C. elongatoides* — 2 (3) *taenia*, либо *C. elongatoides* — 1 (2) *taenia* — *taenitica*. Принципиальное отличие от предыдущих случаев — уменьшение электрофоретической подвижности продуктов аллеля $Aat-1^{110}$, собственного *C. elongatoides* (см. рис. 2, 3). В результате появляется продукт, формально отвечающий аллелю $Aat-1^{106}$. Соответствующая электроморфа обозначается как $Aat-1^{100-100/106}$. Особи-носители этой аномалии обнаружены в трех выборках, собранных в непосредственной близости одна от другой, — ниже плотины Макаровского водохранилища в системе Здвижа.

Все описанные аномалии касались продуктов локуса *Aat-1*, и размещение популяций, в которых они были выявлены, имело выраженный очаговый характер (см. рис. 1). Они обнаружены в пределах весьма ограниченной зоны правых притоков Среднего Днестра: верхнем течении Тетерева, среднем течении Здвижа и среднем и нижнем течении Ирпеня. В соседних правобережных реках на участках с быстрым течением — Стугне, Уже, Случи, среднем течении Тетерева, а также левобережных речных системах аномалии не обнаружены даже единично, хотя в этих выборках, являющихся своеобразным контролем, проанализировано 1540 особей. Каждый из биотипов строго локализован в пределах этой зоны. Особи с аномалиями первого и второго типа обнаружены только в нижнем и среднем течении Ирпеня, третьего и четвертого типа — в верхней части Ирпеня и Тетерева, а пятого типа — в Здвиже, причем на очень ограниченном участке реки.

Основаниями, дающими право связывать появление необычных спектров с мутационным процессом и загрязнением рек, являются два обстоятельства. Во-первых, возникновение аномалий спектров первого типа в Ирпене носит необратимый характер. Их появление было отслежено в 2001–2004 гг., когда особи биотипа *C. 2 elongatoides* — *taenitica*

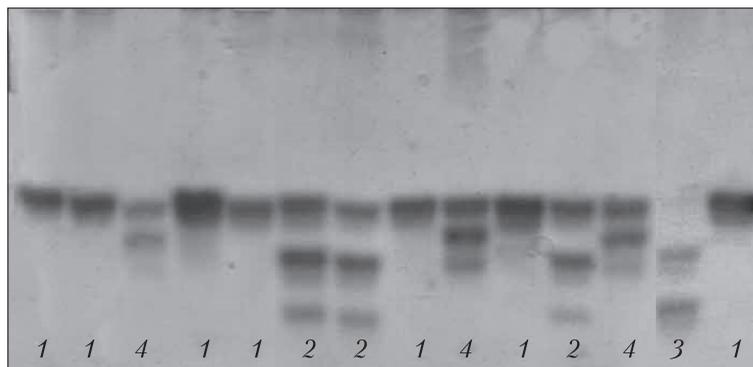


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов, кодируемых локусом *Aat-1*: 1 – *C. taenia* ($Aat-1^{100-100}$); 2 – *C. elongatoides* – *taenia* – *tanaitica* ($Aat-1^{100-100/110}$) с нормальным типом спектра; 3 – *C. 2 elongatoides* – *tanaitica* ($Aat-1^{100/110-110}$) с нормальным типом спектра; 4 – *C. elongatoides* – *taenia* – *tanaitica* ($Aat-1^{100-100/106}$) с аномалиями спектра V типа

с нормальными электрофоретическими спектрами, формально отвечающими генотипу $Aat-1^{100/110-110}$, были полностью замещены носителями аномальных спектров $Aat-1^{95/110-110}$. Только начиная с 2008 г. в Ирпене стали отмечаться гибридные особи с аномалиями второго типа со спектром типа $Aat-1^{95-100/110-110}$. Их появление связано с гибридизацией аномальных триплоидных самок с электроморфой $Aat-1^{95/110-110}$ с диплоидными самцами *C. taenia*. Во-вторых, аномалии спектров появляются в местах с наибольшим загрязнением. Известно, что самыми загрязненными в Центральной Украине являются реки Правобережья [5]. Причем Ирпень — одна из самых зарегулированных средних рек региона, поэтому неслучайно, что здесь наблюдается резкое обеднение биоты и у клоновых щиповок произошли массовые изменения электрофоретических спектров. В Здвиже аномалии выявлены локально, на небольшом участке реки ниже дамбы Макаровского водохранилища, являющегося своего рода канализационным отстойником г. Макарова. Особи с нарушениями спектров встречались не далее, чем на 5 км ниже по течению от дамбы. Причем если сразу под дамбой частота особей с аномалиями составила 32 %, то в выборке ниже на 5 км их частота составила только 2 % (см. таблицу).

В ситуации со щиповками подтверждается ранее высказанная идея [1] о возможном использовании клоновых форм и видов в качестве удобных индикаторов мутагенных процессов при скрининговых исследованиях природных популяций. Действительно, аномалии спектров имеют место у клоновых форм и носят характер массовых или достаточно частых событий.

Наиболее вероятным механизмом появления особей с необычными электрофоретическими спектрами следует считать нарушения структуры или характера действия генов, вызванные рекомбинационными событиями в ходе аномального мейоза у полиплоидов. Причиной такой массовости аномалий вполне возможно стала стимуляция патологического хода мейоза пестицидами или иными искусственными биологически активными веществами.

Ситуации многочисленных и географически локализованных нарушений спектров в природных популяциях животных до сих пор не были известны. Это касается не только клоновых форм, но и видов размножающихся амфимиктически. Что касается щиповок, то

единичные полиплоиды с аномалиями аллозимных спектров у полиплоидных особей отмечались в бассейнах Южного Буга и Дуная [6]. Это были аномалии первого типа, массово представленные в Ирпене.

Подводя итог исследованию, необходимо сделать следующие обобщения. Нарушения функционирования генных систем у полиплоидных щиповок, проявляющиеся в аномалиях аллозимных спектров, достаточно разнообразны, но при этом четко локализованы географически и стабильны в поколениях. Наиболее вероятной причиной их массового появления является загрязнение водных систем поллютантами, используемыми в сельскохозяйственном производстве и быту. Очевидно, что загрязнение поверхностных вод в некоторых речных системах Украины приобрело критический характер, поскольку имеет выраженный генотоксичный эффект.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинин Н.П., Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А., Милишников А.Н., Новикова Т.А. Анализ мономорфных маркеров генов в популяциях как метод оценки мутагенности среды. *Докл. АН СССР*. 1975. **225**, № 3. С. 693–696.
2. 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.
3. Межжерин С.В., Циба А.А., Межжерина Д.С., Пухтаевич П.П. Ситуация нарастающего пресса генетических аномалий в диплоидно-полиплоидной популяции щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*). *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2014. № 6. С. 140–145. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2014.06.140>
4. Межжерин С.В., Салий Т.В., Межжерин И.С., Лосев А.А., Циба А.А. Массовые изменения аллозимных спектров у клоновых щиповок рода *Cobitis*, вызванные антропогенным загрязнением среды обитания. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2018. № 5. С. 75–82. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.05.075>
5. Природно-ресурсний аспект розвитку України: Коржнев М.М., Андрієвський І.Д., Шеляг-Сосонко Ю.Р. (ред.). Київ: ВД “КМ Academia”, 2001. 108 с.
6. Slechtova V., Luskova V., Slechta V., Lusk S., Halacka K., Bohlen J. Genetic differentiation of two diploid–polyploid complexes of spined loach, genus *Cobitis* (Cobitidae), in the Czech Republic, involving *C. taenia*, *C. elongatoides*, and *C. spp.*: allozyme interpopulation and interspecific differences. *Folia Zool.* 2000. **49**, Suppl. 1. P. 67–78.

Поступило в редакцию 15.07.2019

REFERENCES

1. Dubinin, N.P., Altukhov, Y.P., Salmenkova E.A., Milishnikov A.N. & Novikova T.A. (1975). Analysis of monomorphic gene markers in populations as method of estimation of environmental mutagenicity. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 225, No. 3, pp. 693-696 (in Russian).
2. Mezhzherin, S.V. & Pavlenko, L.I. (2007). A case of hybridization in loaches (Osteichthies: Cibatidae: *Cobitis*) determining genetic instability and expansion. *Tsitol. Genet.*, 41, No. 4, pp. 218-225.
3. Mezhzherin S.V., Tsyba, A.A., Mezhzherina, D.S. & Pukhtaevitch, P.P. (2014). Situation of the increasing pressure of genetic abnormalities in a diploid-polyploid of population spined loaches (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*). *Dopov. Nac. akad. nauk. Ukr.*, No. 6, pp. 140-145 (in Russian). <https://doi.org/10.15407/dopovidi2014.06.140>
4. Mezhzherin, S.V., Saliy, T.V., Mezhzherin, I.S., Losev, A.A. & Tsyba, A.A. (2018). Mass occurrence of the allozyme spectra changes in clonal spined loaches of the genus *Cobitis* caused by the anthropogenic pollution of the habitat. *Dopov. Nac. akad. nauk. Ukr.*, No. 6, pp. 140-145 (in Russian). <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.05.075>
5. Korzhnev, M.M., Andrievsky, I.D. & Shelyag-Sosonko, Y.R. (Eds.). (2001). Natural resource aspect of Ukraine's development. Kyiv: “КМ Academia” (in Ukrainian).

6. Slechtova, V., Luskova, V., Slechta, V., Lusk, S., Halacka, K. & Bohlen, J. (2000). Genetic differentiation of two diploid–polyploid complexes of spined loach, genus *Cobitis* (Cobitidae), in the Czech Republic, involving *C. taenia*, *C. elongatoides*, and *C. spp.*: allozyme interpopulation and interspecific differences. *Folia Zool.*, 49, Suppl. 1, pp. 67-78.

Received 15.07.2019

*S.V. Mezhzherin, A.O. Tsyba,
T.V. Saliy, D.S. Lutcenko*

Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, Київ
E-mail: s.mezhzherin@gmail.com

ЗОНА ГЕНЕТИЧНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ У ПОЛІПЛОЇДНИХ ГІБРИДНИХ ЩИПОВОК (*CYPRINIFORMES*, *COBITIDAE*, *COBITIS*) НА СЕРЕДНЬОМУ ДНІПРІ

У результаті скринінгового дослідження популяцій щиповок гібридної групи *Cobitis elongatoides* – *taenia* – *tanaitica* водних систем України виявлені випадки масових аномалій структури алозимних спектрів. Аномалії зустрічаються локально і виявлені тільки в популяціях двох правих притоків верхньої частини Середнього Дніпра (р. Ірпінь і верхня частина системи р. Тетерів). Цей вузький регіон слід вважати зоною генетичної нестабільності. Очевидно, аномалії мають мутаційну природу, оскільки стабільно виявляються в ряду поколінь. Вони можуть бути класифіковані на п'ять типів. Причиною їх появи слід вважати хімічне забруднення водних систем. Така ситуація масових генетичних порушень унікальна і раніше ніде не відзначалася. Це означає, що забруднення поверхневих вод України місцями досягло критичного рівня, оскільки призводить до явних генотоксичних ефектів.

Ключові слова: клонові щипівки, *Cobitis*, генотоксичність, алозими, річкові системи України.

*S.V. Mezhzherin, A.A. Tsyba,
T.V. Saliy, D.S. Lutcenko*

Schmalhausen Institute of Zoology of the NAS of Ukraine, Kyiv
E-mail: smezhzherin@gmail.com

ZONE OF GENETIC INSTABILITY IN POLYPLOID HYBRID SPINED LOACHES (*CYPRINIFORMES*, *COBITIDAE*, *COBITIS*) IN THE MIDDLE DNIEPER

As a result of a screening study of the spined loach populations of the hybrid group *Cobitis elongatoides* – *taenia* – *tanaitica* of Ukrainian water systems, the cases of mass anomalies of allozyme spectra of polyploids specimens characterized by clone reproducing were revealed. Anomalies occur locally and were found only in populations of the two right tributaries of the upper part of the Middle Dnieper (the Irpen River and the upper part of the Teteriv River system). This narrow region should be considered as a zone of genetic instability. Obviously, the anomalies have a mutational nature, since they are stably manifested in a number of generations. They can be classified into five types. The cause for their appearance should be considered chemical pollution. This situation of mass genetic abnormalities is unique and has not been observed anywhere before. Thus, surface water pollution in Ukraine in some regions has reached a critical level and leads to obvious genotoxic effects.

Keywords: clone spined loaches, *Cobitis*, genotoxicity, allozymes, river systems of Ukraine.