

ПОЛИКЛОНОВАЯ СТРУКТУРА ПОСЕЛЕНИЙ ОДНОПОЛОГО ЕВРОПЕЙСКОГО КАРАСЯ (*CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)) В СЕВЕРНОЙ УКРАИНЕ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АЛЛОЗИМНЫХ МАРКЕРОВ И ЧИСЛА ХРОМОСОМ

С.В. МЕЖЖЕРИН, П.П. ПУХТАЕВИЧ, С.В. КОКОДИЙ

Институт зоологии НАН Украины им. И.И. Шмальгаузена
ул. Б. Хмельницкого, 15, Киев-30, ГСП, 01601 Украина
E-mail: smezhzherin@gmail.com

*Анализ аллозимных наборов пяти полиморфных локусов геногенетического карася *C. gibelio* в водоемах Северной Украины позволил идентифицировать 29 генетических форм клоновой и рекомбинантной природы, которые могут быть разделены на две категории. Первая представлена клоновым биотипом *C. gibelio*-1 с модальным значением 156 хромосом и рядом уникальных аллелей, четко отличающих его от особей диплоидного карася китайского *C. auratus*. Вторую категорию представляет группа из 28 биотипов, обозначенных как *C. gibelio*-2 клоновой и рекомбинантной природы. Особи этой группы не имеют аллозимов, диагностирующих их от *C. auratus*. В ее составе выявлены 158 и 160 модальные хромосомные группы, каждая из которых имеет специфические генотипические сочетания по локусу *Aat*-1. Очевидно серии биотипов, отличающиеся по модальному числу хромосом, возникли независимо в результате гибридизации разных пар родительских видов еще в Восточной Азии. Тогда как появление рекомбинантных особей с уникальными сочетаниями генотипов пяти белковых локусов в пределах *C. gibelio*-2 и зачастую своим числом хромосом является событием вторичным и связано с реализацией механизма наследования, сочетающего в себе клонирование и менделирование. Есть основания считать, что этот механизм реализуется при псевдогамных скрещиваниях самок *C. gibelio*-2 генетически близких с самцами *C. auratus*, тогда как при скрещиваниях самок *C. gibelio*-2 с более отдаленными самцами *C. carassius* происходит клонирование.*

Ключевые слова: клонирование, популяции, караси, *Carassius*, аллозимы, хромосомные числа.

Введение. Запутанной в таксономическом отношении и вместе с тем одной из самых интересных в плане эволюционно-генетических исследований групп позвоночных Евразии являются карповые рыбы рода *Carassius*. Причина научной интриги заключается в неоднозначности числа видов и обширной гибридизации между представителями надвидовой группы *Carassius* (*superspecies auratus*), происходящей в

водных системах Восточной Азии [1]. Результатом последовательных межвидовых скрещиваний является образование аллополиплоидных биотипов [2–4], таксономический статус которых не определяется Кодексом зоологической номенклатуры. Большей частью это триплоиды, хотя изредка встречаются тетраплоиды. Это фертильные геногенетические самки, яйцеклеткам которых для инициации развития требуются сперматозоиды [5]. Донорами мужских гамет выступают самцы родительских видов или других представителей рода *Carassius*. В результате триплоидные караси воспроизводятся клонированием, причем в совместных с диплоидными особями поселениях. Как правило, триплоиды настолько многочисленны, что их поселения трактуются как однополые (all-female) популяции.

Интригующая ситуация с карасями сложилась в Европейской части света. Здесь обитает один аборигенный вид *Carassius carassius*, а в конце 1960-х гг. появились два инвазионных карася восточноазиатского происхождения. Это диплоидный карась китайский *C. auratus* и ряд образованных с его участием гибридных триплоидных форм, для обозначения которых обычно используется бинарное название карась серебряный *C. gibelio* [6]. В настоящее время *C. auratus* и *C. gibelio* распространились по всей Европе и стали многочисленными, а порой и массовыми видами, при этом они достаточно легко гибридизируют с *C. carassius* [7].

Считается, что триплоидный *C. gibelio* возник путем гибридизации *C. auratus* с другими восточноазиатскими видами этого рода, что, в частности, показано на примере *C. auratus* и *C. langsdorfii* [4]. При этом есть основания считать, что гибридизация происходила неоднократно между разными видами и в разных частях ареала. Кроме того некоторые исследователи, исходя из высокой генетической схожести трипло-

© С.В. МЕЖЖЕРИН, П.П. ПУХТАЕВИЧ,
С.В. КОКОДИЙ, 2020

идных и диплоидных карасей [8, 9], допускают автополиплоидное происхождение триплоидного *C. gibelio* от диплоидного *C. auratus*. В любом случае ясно, что популяции *C. gibelio* представлены разными клонами, что и имеет место в европейских популяциях. Так, триплоидные караси разных популяций отличаются по числу хромосом [10–14], составу аллозимов [15] и первичным последовательностям ДНК [4, 16–17]. При этом отсутствуют работы, в которых одновременно анализировалась кариотипическая и генетическая изменчивость разных популяций и/или клонов. Дефицит такого рода данных не позволяет сформировать полного представления о природе изменчивости триплоидных карасей на популяционном уровне, поскольку неизбежно возникает вопрос, что стоит за различиями в числе хромосом: поликлоновость или анеуплоидия. Значимость последнего фактора более чем вероятна, если учесть, что в потомстве от гиногенетического скрещивания число хромосом у триплоидных потомков варьирует в широких пределах [18, 19].

Материал и методы. Фактической основой для исследования послужили 25 выборки карасей, взятых специально из небольших водоемов естественного и искусственного происхождения Правобережного Полесья Украины. Киевская область Бородянский район: 1 – с. Мигалки (50.68°, 29.54°) $n = 21$; Житомирская область Житомирский район: 2 – с. Буки (50.19°, 28.35°) $n = 17$, 3 – с. Высокая Печь (50.20°, 28.26°) $n = 31$, 4 – с. Дрыглов (50.12°, 28.21°) $n = 19$, 5 – с. Заможное (50.26°, 28.29°) $n = 28$, 6 – с. Покостовка (50.24°, 28.21°) $n = 10$; 7 – с. Старошейка (50.21°, 28.27°) $n = 10$; Пулинский район: 8 – с. Стрибеж (50.37°, 28.13°) $n = 10$; Красноармейский район: 9 – с. Трудовое (50.30°, 28.23°) $n = 27$; Радомышльский район: 10 – с. Веприн (50.65°, 29.46°) $n = 18$; Романовский район: 11 – с. Вила (50.24, 28.18) $n = 19$, 12 – с. Годыха (50.19°, 28.22°) $n = 14$, 13 – с. Голубин (50.23°, 27.92°) $n = 30$, 14 – с. Гремячее (50.15°, 28.23°) $n = 13$, 15 – с. Оляха (50.21°, 27.73°) $n = 24$, 16 – с. Соболевка (50.14°, 29.42°) $n = 22$, 17 – с. Старошейка (50.21°, 28.27°), 18 – с. Шереметев (50.35°, 28.06°) $n = 24$; Чудновский район: 19 – р. Будычина (50.06°, 27.91°) $n = 14$, 20 – с. Дубище (50.09, 28.18) $n = 21$, 21 – с. Красногорка (50.01°, 28.02°) $n = 11$, 22 – с. Ясно-

горка (49.96°, 27.99°) $n = 12$; Ровненская область: 23 – с. Колоденка (50.58°, 26.35°) $n = 10$, 24 – с. Рубче (50.74°, 26.16°) $n = 18$, 25 – с. Хотин (50.71°, 26.24°) $n = 24$. В общей сложности кариотипированию и аллозимному мультилокусному анализу было подвергнуто 499 особей. Объемы выборок колебались от 10 до 30 особей, чаще от 15 до 25. Для различения особей диплоидного карася китайского и триплоидных особей, относимых к *C. gibelio* были использованы цитометрия, аллозимный и кариологический анализ.

Кариотипический анализ заключался в подсчете числа хромосом и проводился на половозрелых особях в поздневесенний и раннелетний период. Для получения хромосомных препаратов за основу были взяты известные методики воздушного высушивания препаратов [20–22], которые были модифицированы применительно к объекту и условиям исследования [23]. Технология основана на получении метафазных пластинок делящихся эпителиальных клеток почек с использованием раствора хлорида кобальта как стимулятора деления соматических клеток, а колхицина как антимиотического вещества.

Метафазные пластинки анализировали и фотографировали с помощью микроскопа Delta Optical Genetic Pro. У каждой рыбы отбирали в зависимости от числа митозов на препарате от 1 до 5 четких метафазных пластинок, на которых и подсчитывали число хромосом. Число хромосом на уровне особей устанавливали по их модальному числу на препарате. В-хромосомы не учитывались.

Изменчивость биохимических генных маркеров была проанализирована методом электрофореза в полиакриламидном геле в трис-ЭДТА-боратной рН 8,5 системе буферов с последующим окрашиванием гелевых пластинок на ряд ферментных систем: аспартатамиотрансферазу (Aat), лактатдегидрогеназу (Ldh), малатдегидрогеназу (Mdh), супероксиддисмутазу (Sod), неспецифические эстеразы (Es), а также структурные белки мышц (Pt) и сывороточный белок – трансферрин (Tf). Всего в работе задействовано 6 полиморфных локусов (*Aat-1*, *Aat-2*, *Es-1*, *Ldh-B*, *Pt-2*, *Tf*), которые ранее успешно использовались при анализе генетической структуры клоновых карасей [15].

Экстракцию ферментов и структурных белков проводили из небольшого куска мышц путем инкубации тканевой навески в двукратном объеме 10 % сахарозы в течение 12 ч при температуре 4 °С. Трансферрины исследованы в плазме крови, растворенной с раствором 10 % сахарозы в соотношении 1 к 20.

Результаты исследований. Видовое и клоновое разнообразие. Путем аллозимного анализа и цитометрии были идентифицированы два диплоидных вида *C. auratus* и *C. carassius*, диплоидные гибриды *C. auratus* × *C. carassius* и серия триплоидных биотипов *C. gibelio*, отличающихся генотипическими сочетаниями полиморфных локусов (табл. 1).

Как правило, перечисленные виды образовывали смешанные поселения с преобладанием того или иного вида. Всего можно выделить семь типов поселений: популяции *C. auratus* (№ 9, 18, 20, 23), совместные поселения *C. auratus* и *C. gibelio* с явным преобладанием первого (№ 1, 6, 16, 21, 22), популяции *C. carassius* (№ 11), совместные поселения *C. auratus* и *C. carassius* с гибридами этих видов (№ 2, 12, 15), поселения, в которых представлены все три вида (№ 3, 5), совместные поселения *C. carassius* и *C. auratus*, в которых явно преобладают гиногенетические особи (выборки № 4, 8, 12, 13, 19) и однополые популяции, представленные только особями *C. gibelio* выборки (№ 14, 17, 24).

Таблица 1. Электроморфы пяти биохимических локусов у разных биотипов

Биотипы	Aat-1	Aat-2	Es-1	Pt-2	Tf	N
<i>C. gibelio</i> -1	100-100/110	100-100/110	90-100-110	100/105	aa/c	66
<i>C. gibelio</i> -2.1	100-100	100-100	90-110	100/105	ab	40
<i>C. gibelio</i> -2.2	100-100	100-100	90-90-110	100/105	ab	48
<i>C. gibelio</i> -2.3	100-100	100-100	90	100/105	ab	1
<i>C. gibelio</i> -2.4	100-100	100-100	90-90/110	100/105	b'c	1
<i>C. gibelio</i> -2.5	100-100	100-100	90-90/110	100/105	bd	1
<i>C. gibelio</i> -2.6	100-100	100-100	100/100	100/105	bd	1
<i>C. gibelio</i> -2.7	100-100	100-100	90-90/110	105	bd	1
<i>C. gibelio</i> -2.8	100-100	100-100	90-90/110	100/105	cd	1
<i>C. gibelio</i> -2.9	100-100	100-100	90-90/110	100	cd	1
<i>C. gibelio</i> -2.10	100-100	100-100	90	100/105	cd	2
<i>C. gibelio</i> -2.11	100-100	100-100	90	100/105	bc	1
<i>C. gibelio</i> -2.12	100-100	100-100	90	100/105	d	3
<i>C. gibelio</i> -2.13	100-100	100-100	90-90/110	100/105	d	1
<i>C. gibelio</i> -2.14	100-100	100-100	90	100/105	b'c	1
<i>C. gibelio</i> -2.15	100-100	100-100	90	100/105	aac	5
<i>C. gibelio</i> -2.16	100-110	100-100	90-90/110	100/105	aac	1
<i>C. gibelio</i> -2.17	100-110	100-100	100	100/105	bd	1
<i>C. gibelio</i> -2.18	100-100/110	100-100	90	100/105	a	1
<i>C. gibelio</i> -2.19	100-110	100-100	90	100/105	d	1
<i>C. gibelio</i> -2.20	100-110	100-100	90-90/110	100/105	aac	1
<i>C. gibelio</i> -2.21	100-110	100-100	90	100/105	aac	2
<i>C. gibelio</i> -2.22	100-110	100-100	90	100/105	bd	3
<i>C. gibelio</i> -2.23	100-110	100-100	90-90/110	100/105	ab	1
<i>C. gibelio</i> -2.24	100-110	100-100	90-90/110	100/105	ab	1
<i>C. gibelio</i> -2.25	100-110	100-100	100-110	100/105	a'ac	13
<i>C. gibelio</i> -2.26	100-110	100-100	90-90/110	100/105	a'ac	8
<i>C. gibelio</i> -2.27	100-110	100-100	100-110	100/105	bd	1
<i>C. gibelio</i> -2.28	110	100-100	90-90/110	100/105	bc	1

Биотип *C. gibelio*-1 характеризовался фиксациями гетерозиготных сочетаний: *Aat-1*^{100-110/110}, *Aat-2*^{100-100/110}, *Es-1*⁹⁰⁻¹⁰⁰⁻¹¹⁰, *Pt-2*^{100/105}, *Tf*^{9a/c} и его вполне можно считать клоновой изогенной формой. В общей сложности идентифицированы 64 особи, которые были распределены сериями различного объема в девяти водоемах (табл. 2). От особей других биотипов *C. gibelio* они отличаются уникальными генотипическими сочетаниями аллелей локусов *Aat-2* и *Tf*, причем аллель *Aat-2*¹¹⁰ характерен только для представителей этого биотипа и никогда не отмечался в популяциях *C. auratus*. Генотип *Aat-2*^{100-100/110}, а также ряд генотипических сочетаний по другим локусам, описанным ра-

нее [15], дают основание считать, что биотип *C. gibelio*-1 имеет аллополиплоидную природу и произошел в результате гибридизации *C. auratus* и неизвестного вида, не встречающегося в Европе. Причем, судя по характеру доз гена, можно заключить, что его кариотип включает два хромосомных набора от *C. auratus* и один от неустановленного вида.

Для группы биотипов, обозначенных как *C. gibelio*-2, характерен иной набор гомо- и гетерозиготных сочетаний по проанализированным локусам (табл. 1). Особенностью генотипического состава биотипа *C. gibelio*-2 является отсутствие уникальных аллелей, не встречающихся в популяциях *C. auratus*, на что уже ука-

Таблица 2. Распределение особей разных биотипов *C. gibelio* по популяциям

Биотип	Номер популяции *															
	1	3	4	5	6	8	10	13	14	15	17	18	20	22	23	25
<i>C. gibelio</i> -1	5		5	6		9	3					3	4	2	5	24
<i>C. gibelio</i> -2.1		7		19	2				11		1					
<i>C. gibelio</i> -2.2			5							24		13	6			
<i>C. gibelio</i> -2.3			1													
<i>C. gibelio</i> -2.4												1				
<i>C. gibelio</i> -2.5												1				
<i>C. gibelio</i> -2.6													1			
<i>C. gibelio</i> -2.7														1		
<i>C. gibelio</i> -2.8												1				
<i>C. gibelio</i> -2.9													1			
<i>C. gibelio</i> -2.10													2			
<i>C. gibelio</i> -2.11													1			
<i>C. gibelio</i> -2.12								3								
<i>C. gibelio</i> -2.13								1								
<i>C. gibelio</i> -2.14								1								
<i>C. gibelio</i> -2.15			5													
<i>C. gibelio</i> -2.16			1													
<i>C. gibelio</i> -2.17				1												
<i>C. gibelio</i> -2.18											1					
<i>C. gibelio</i> -2.19								1								
<i>C. gibelio</i> -2.20			1													
<i>C. gibelio</i> -2.21													2			
<i>C. gibelio</i> -2.22												3				
<i>C. gibelio</i> -2.23												1				
<i>C. gibelio</i> -2.24			1													
<i>C. gibelio</i> -2.25								13								
<i>C. gibelio</i> -2.26								8								
<i>C. gibelio</i> -2.27														1		
<i>C. gibelio</i> -2.28														1		

* Расшифровка нумераций популяций в разделе «Материал и методы» .

зывалось ранее [15]. Это дает основание считать, что этот биотип произошел либо в результате гибридизации отдаленных форм в пределах *C. auratus*, либо это действительно уникальный в мире животных случай относительно устойчивой автополиплоидии. Еще одной чертой, характерной для биотипа *C. gibelio-2*, является его генетическая гетерогенность. При этом большая часть генотипических отличий связана с изменчивостью гипервариабельного локуса *Tf*, число аллелей в котором существенно больше 10 [15], а также изменчивостью трехаллельного локуса *Es-1*. В меньшей степени это полиморфизм локуса *Aat-1* и совсем редко *Pt-2*. В данном исследовании, охватывающем географически соседние выборки, выявлено 28 генотипических вариантов *C. gibelio-2*. Они были представлены: значительными сериями от 40 до 48 особей; небольшими группами объемом 2-13 экз.; генетически уникальными особями, обнаруженными в девяти водоемах (табл. 1). Особи небольших серий были специфичны для конкретного водоема (табл. 2). Многочисленные биотипы (*C. gibelio-2.1* и *C. gibelio-2.2*), отличающиеся только по дозам продукта локуса *Es-1*, были обнаружены в поселениях пяти и четырех водоемов соответственно (рис. 1).

Кариотипическая изменчивость. Число хромосом у диплоидных видов на индивидуальном уровне колебалось у *C. auratus* от 97 до 101, а у *C. carassius* от 98 до 100. При этом модальным для двух видов был кариотип $2n = 100$. Такое же число хромосом было обнаружено у пяти исследованных гибридов *C. auratus* × *C. gibelio* (табл. 3), что указывает на их диплоидность. Эти результаты отвечают результатам кариотипирования европейских диплоидных карасей [13, 14, 23].

Число хромосом у триплоидов на уровне отдельных особей варьировало от 146 до 161 (табл. 3). При этом самыми распространенными были следующие три хромосомных числа: $3n = 156$ — модальное число характерно для *C. gibelio-1* (рис. 2, а); $3n = 158$ (рис. 2, б) и $3n = 160$ (рис. 2, в) — модальные значения, свойственные различным биотипам *C. gibelio-2*. Единично встречались уклоняющиеся по числу хромосом биотипы: *C. gibelio-2.11* со 146 хромосомами и *C. gibelio-2.28* со 151 хромосомой. В целом диапазон значений и степень измен-

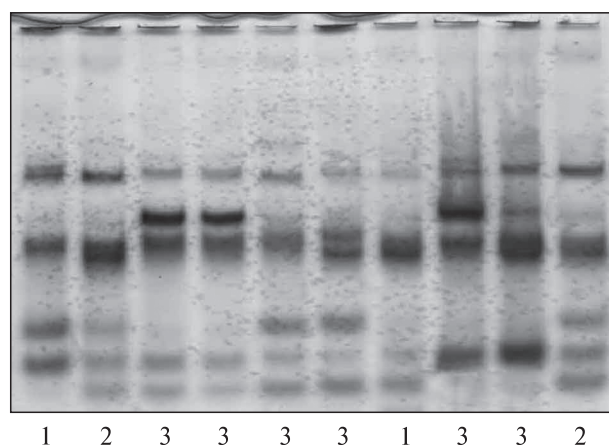


Рис. 1. Электрофретические спектры неспецифических эстераз мышц карасей: 1 — *C. auratus*, 2 — *C. gi-belio-1*, 3 — *C. gibelio-2* (разные биотипы)

чивости числа хромосом в пределах Северной Украины близок к масштабу изменчивости триплоидных карасей Европы, для которых обычно указывают диапазон от 150–160 хромосом [20]. При этом согласно литературным данным [10–14, 18, 19] самыми распространенными в Европе являются числа 150, 156 и 160 хромосом.

Биотипы со 158 и 160 хромосомами четко отличаются по электрофоретическому типу локуса *Aat-1*. Так, для особей биотипов (*C. gi-belio-2.1* — 2.17) с электроморфой *Aat-1*^{100/100}, формально отвечающей гомозиготному генотипу, модальным было значение 158 хромосом. Тогда как у биотипов с условным генотипом *Aat-1*^{100/110} (*C. gibelio-2.19* — 2.27), модальным значением было 160 хромосом (табл. 4).

У диплоидного *C. auratus* особи с модальным числом хромосом $2n = 100$ составили 80 %, у *C. carassius* — соответственно 78,6 %, у гибридов *C. auratus* все пять исследованных особей имели модальное число хромосом равное $2n = 100$. Немного меньшее попадание в моду наблюдается у триплоидных карасей. Так у особей биотипа *C. gibelio-1* доля модальных кариотипов составила 66%, у особей группы биотипов *C. gibelio-2.1-2.17* — 72 %, и в группе биотипов *C. gibelio-2.19-2.27* — 76 % (табл. 4). Уровни изменчивости числа хромосом у диплоидных и полиплоидных биотипов в принципе не отличалась, за исключением группы биотипов *C. gibelio-2.1-2.17*, в пределах которой показатели variability были достоверно выше.

Особь биотипов *C. gibelio*-2, имеющие 160 хромосом, были обнаружены в нескольких водоемах, причем во всех случаях они сосуществовали со 158-хромосомными карасями.

Обсуждение результатов. Таким образом генетические формы триплоидного карася, выделяемые по набору аллозимов, характеризуются каждая своим модальными значениями числа хромосом. Речь идет о клоновой форме *C. gibelio*-1 со 156 хромосомами и двух группах биотипов в пределах *C. gibelio*-2, особь которых имеют модальное значение в 158 и

Таблица 3. Показатели изменчивости числа хромосом у гиногенетических триплоидных карасей *C. gibelio* разных биотипов

Биотип	Mo	Min	Max	N ₁	N ₂
<i>C. gibelio</i> -1	156	153	158	43	65
<i>C. gibelio</i> -2.1	158	155	158	28	40
<i>C. gibelio</i> -2.2	158	154	159	27	43
<i>C. gibelio</i> -2.3	156			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.4	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.5	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.6	158			2	2
<i>C. gibelio</i> -2.7	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.8	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.9	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.10	158			2	2
<i>C. gibelio</i> -2.11	146			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.12	158			3	3
<i>C. gibelio</i> -2.13	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.14	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.15	158	157	158	3	5
<i>C. gibelio</i> -2.16	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.17	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.18	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.19	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.20	158			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.21	158			2	2
<i>C. gibelio</i> -2.22	160	157	160	2	3
<i>C. gibelio</i> -2.23	160			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.24	160			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.25	160	158	160	9	13
<i>C. gibelio</i> -2.26	160	157	161	6	9
<i>C. gibelio</i> -2.27	160			1	1
<i>C. gibelio</i> -2.28	151			1	1

Примечание: Mo — модальное значение, Min, Max — минимальное и максимальное число хромосом соответственно, N₁ — число особей с модальным числом хромосом, N₂ — общее число проанализированных особей.

160 хромосом и соответственно специфические генотипические сочетания по локусу *Aat*-1. Сопряженность изменчивости на генном и хромосомном уровнях дает основания считать, что хромосомные группы возникли вследствие независимых эволюционных событий, которыми можно считать гибридизации видов рода *Carassius*. Что касается редких биотипов с уникальными сочетаниями генотипов в пределах хромосомных форм *C. gibelio*-2, то их возникновение необходимо рассматривать как результат вторичных мутационных или рекомбинационных событий.

Существование как клоновых биотипов, так и единично встречающихся рекомбинантов у триплоидного карася *C. gibelio* уже указывалось для популяций карасей Центральной и Восточной Украины [15, 24]. При этом постулировалось, что клоновые биотипы воспроизводятся стандартной формой гиногенеза, тогда как появление триплоидных особей с уникальными генотипическими сочетаниями интерпретировалось как нарушение хода гиногенеза в результате инкорпорации генетического материала сперматозоида. В последнем случае очевидно речь идет о малоизученной форме наследования, сочетающего в себе клоновость и менделирование [25] и подробно описано у триплоидных амфибий. Наследственный механизм состоит в том, что при спермий-зависимом партеногенезе отдельные гены, фрагменты хромосом и даже целые хромосомы яйцеклетки могут быть замещены или модифицированы структурами генетического аппарата сперматозоида. Потомство таких скрещиваний будет иметь рекомбинантный генотип и его вполне можно считать гибридным. Похожие результаты получены и при гиногенетическом размножении карасей в лабораторных условиях, но касаются они изменчивости числа хромосом, что указывает на отсутствие строгого клонирования при такого рода способе воспроизводства [18-19]. Причем число хромосом у потомства от одного гиногенетического скрещивания колеблется от 151 до 159 [19]. Такой размах изменчивости сопоставим с масштабом межклоновой изменчивости по числу хромосом в популяциях карасей, полученным в данной работе.

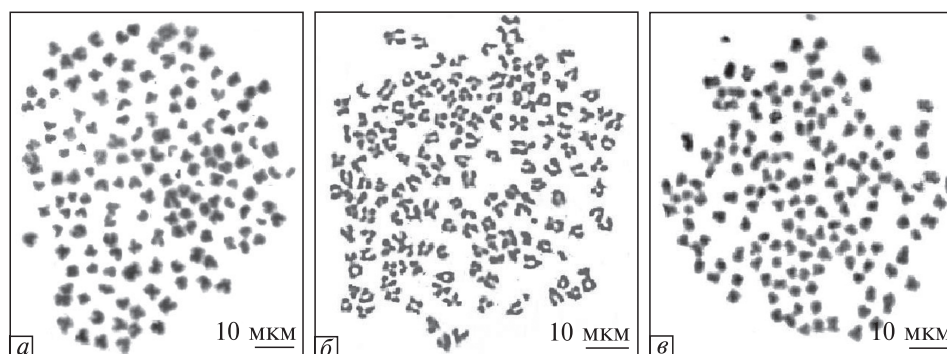


Рис. 2. Метафазные пластинки триплоидных карасей: а – *C. gibelio*-1, б – *C. gibelio*-2.1, в – *C. gibelio*-2.2

Есть основания считать, что генетические и хромосомные группы в пределах *C. gibelio* имеют свои репродуктивные особенности. Так особи *C. gibelio*-1 размножаются строго клонированием, тогда как представители группы биотипов *C. gibelio*-2 могут как клонироваться, так и давать рекомбинантных особей. Причина этих различий, вероятнее всего, связана с разной геномной организацией биотипов. Как уже подчеркивалось [24], если *C. gibelio*-1 является результатом гибридизации достаточно отдаленных видов рода *Carassius*, то группа биотипов *C. gibelio*-2, происходит от генетически близких форм, которых из-за незначительных различий можно даже рассматривать в качестве представителей одного видового комплекса *C. auratus* s. lato. Это означает, что *C. gibelio*-2 с определенными оговорками можно считать автотриплоидом. На возможность автополиплоидного происхождения триплоидных карасей указывалось ранее. Так сравнительный анализ микросателлитов и последовательностей мтДНК популяций Хорватии [8] и видоспецифичных

центромерных локусов Китая [9] не установил различий между диплоидными и триплоидными карасями из одной и той же популяции, что указывает на их возможную генетическую идентичность, а значит, по мнению авторов этих работ, спонтанное происхождение триплоидов из диплоидов вполне возможно. Вместе с тем, в других регионах, в частности в России [26] и Турции [27], различия между диплоидными и триплоидными карасями на уровне ДНК доказаны и они имеют диагностическое значение. Такие противоречия в результатах могут быть связаны как с использованием разных наборов маркеров ДНК, так и разным набором биотипов *C. gibelio* в водных системах разных стран.

До сих пор все известные триплоидные клоновые позвоночные это были четко установленные аллополиплоиды. Указания на возможность автополиплоидии в природе имеются в литературе [28, 29], но даже, если это и на самом деле так, то это единичные или крайне немногочисленные особи, в отличие от аллотриплоидов не образующие популяций. Поэто-

Таблица 4. Статистические показатели изменчивости числа хромосом у разных видов и биотипов карасей

Вид/биотип	N	Mo	%Mo	Min	Max	Var	CV
<i>C. auratus</i>	167	100	80,0	97	101	0,86	0,86
<i>C. carassius</i>	56	100	78,6	98	100	0,69	0,70
<i>C. auratus</i> × <i>C. carassius</i>	5	100	100	100	100	0	0
<i>C. gibelio</i> -1	64	156	66,2	153	158	0,98	0,64
<i>C. gibelio</i> -2.1–2.18	111	158	71,7	146	159	2,37	0,98
<i>C. gibelio</i> -2.19–2.27	32	160	75,8	157	161	1,08	0,65

Примечание: N — общее число кариотипированных особей. Mo — модальное значение числа хромосом. %Mo — процент особей с модальным числом хромосом, Min и Max — минимальное и максимальное число хромосом соответственно, Var — дисперсия числа хромосом, CV — коэффициент вариации.

му случай массового клонового автополиплоидного карася можно было бы считать научной сенсацией. Однако оценка всех обстоятельств, в первую очередь, анализ числа хромосом у триплоидов, не дает оснований для такого вывода. Триплоидные караси чаще всего имеют кариотип, превышающий 150 хромосом. Это значит, что наборы триплоидов напрямую не выводятся из диплоидов, имеющих $2n = 100$. Более того зачастую их хромосомные наборы, вообще, не трехкратны. К тому же клоновым формам *C. gibelio-2* свойственны стабильные гетерозиготные состояния по ряду локусов [15, 24], что однозначно указывает на их гибридное происхождение. Это дает основание считать все формы *C. gibelio* аллотриплоидами, которые произошли от разных родительских видов с неодинаковой степенью генетической дифференциации. Что касается многочисленных рекомбинантов, обычных для *C. gibelio-2*, то причиной их появления, вероятнее всего, является частичное проникновение генетического материала сперматозоидов самцов *C. auratus* в генетический аппарат яйцеклеток самок *C. gibelio-2*, что очевидно связано с высокой степенью генетического сходства этих форм карасей. Тогда как в ситуации псевдогамного процесса самок *C. gibelio-2* с участием самцов *C. carassius*, видом генетически гораздо более отдаленным, то инкорпорация генетического материала в этом случае ограничена. В результате происходит клонирование.

POLYCLONE STRUCTURE OF SETTLEMENTS OF UNISEXUAL EUROPEAN CRUCIAN CARP (*CARASSIUS GIBELIO* (BLOCH, 1782)) IN NORTHERN UKRAINE: ALLOZYME MARKERS' AND CHROMOSOME NUMBER'S ANALYSIS

S.V. Mezherin, P.P. Pukhtaevych, S.V. Kokodiy

Institute of Zoology, National Academy of Science, of Ukraine, Kiev

E-mail: smezhzherin@gmail.com

The allozyme analysis of five polymorphic loci sets of gynogenetic crucian carps *C. gibelio* from Northern Ukraine allowed to identify, within this species, 29 genetic forms of clone and recombinant nature; which can be divided into two categories. The first one is represented by the clone biotype *C. gibelio-1* with modal number of 156 chromosomes and a number of unique alleles, which differentiate it distinctly from zooids of *C.*

auratus. The second category is represented by the group consisting of 28 biotypes, designated as *C. gibelio-2* of clone and recombinant nature. This group's fishes have no allozymes, which distinguish them from *C. auratus*. Within this group the 158 and 160 modal chromosome groups were discovered; each one has special genotypic combination of gene locus *Aat-1*. Apparently the series of biotypes, which are differentiated by the modal chromosome number, appeared independently as a result of hybridization of different parental species' couples way back in Eastern Asia. Whereas the appearance of recombinant individuals with unique combinations of genotypes by five protein loci and by chromosome number within the clone *C. gibelio-2* is a secondary event and it is related to inheritance mechanism implementation, which combines cloning and mendelian inheritance. There are some reasons to consider that this mechanism is implemented by pseudogamous crossing of genetically close females of *C. gibelio-2* with males of *C. auratus*, while during the crossing of *C. gibelio-2* females with *C. carassius* males the cloning takes place.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kobayashi, H., Nakano, K., and Nakamura M., On the hybrids, 4n ginbuna (*Carassius auratus langsdorfii*) × kinbuna *C. auratus* subsp.), and their chromosomes, *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 1977, vol. 43, no. 301, pp. 31–37.
2. Lin, S. M., Sezaki, K., Hashimoto, K., and Nakamura, M., Distribution of polyploids of «ginbuna» *Carassius auratus langsdorfii* in Japan, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1980, vol. 46, no. 4, pp. 413–418.
3. Shimuzu, Y., Oshiro, O., and Sakaizumi, M., Electrophoretic studies of diploid, triploid, and tetraploid forms of the Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*, *Jap. J. Ichthyol.*, 1993, vol. 40, no. 1, pp. 65–75.
4. Murakami, M., Matsuda, C., and Fujitani, H., The maternal origins of the triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorfii*): phylogenetic relationships within the *C. auratus* taxa by partial mitochondrial D-loop sequencing, *Genes Genet. Syst.*, 2001, vol. 76, no. 1, pp. 25–32. doi: 10.1266/ggs.76.25.
5. Chermas, N.B., Gynogenesis in fishes, *Genetic Basis of fish selection* (ed. V.S. Kirpichnikov), Springer-Verlag, Berlin, pp. 255–73.
6. Kottelat, M., Freyhof J., *Handbook of European freshwater fishes*, Chester. 2007, 646 pp.
7. Mezherin, S.V., Kokodiy, S.V., Kulish, A.V., Verlatiy, D.B., and Fedorenko, L.V., Hybridization of crucian carp (*Carassius carassius* (Linnaeus, 1758)) in Ukrainian reservoirs and genetic structure of hybrids, *Cytol. Genet.*, 2012, vol. 46, no. 1, pp. 37–46. doi: 10.3103/S0095452712010069.

8. Jakovlić, I., and Gui, J.-F. Recent invasion and low level of divergence between diploid and triploid forms of *Carassius auratus* complex in Croatia, *Genetica*, 2011. vol. 139, no. 6, pp. 789–804. doi: 10.1007/s10709-011-9584-y.
9. Qin, Q., Wang, J., Hu, M., Huang, S., and Liu, S., Autotriploid origin of *Carassius auratus* as revealed by chromosomal locus analysis, *Science China Life Sciences*, 2016. vol. 59, is. 6, pp. 622–626. doi: 10.1007/s11427-016-5040-7.
10. Cherfas, N.B., Natural tripody in the females of the unisexual variety of the silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch), *Genetika*, 1966, vol. 2, no. 5, pp. 16–24.
11. Vujosevich, M.S., Zivkovic, S., Rimsa, D., Rinsa, D., Jurišič, S., and Cakič, P., The chromosomes of 9 fish species from Dunav basin in Yugoslavia, *Ichthyologia*, 1983, vol. 15, is. 2, pp. 29–40.
12. Fister, S., Soldatović, B., Karyotype analysis of a gynogenetic population of *Carassius auratus gibelio*, Bloch (Cyprinidae) from Pancevacki Rit, *Acta Veterinaria-Beograd*, 1989, vol. 39, no. 5–6, pp. 259–68.
13. Boroń, A., Karyotypes of diploid and triploid silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch), *Cytobios*, 1994, vol. 80, pp. 117–24.
14. Boroń, A., Szlachciak, J., Juchno, D., Grabowska, A., Jagusztyń, B., and Porycka, K., Karyotype, morphology, and reproduction ability of the Prussian carp, *Carassius gibelio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), from unisexual and bisexual populations in Poland. *Acta Ichthyol. Piscat.*, 2011, vol. 41, no. 1, pp. 19–28. doi: 10.3750/aip2011.41.1.04.
15. Mezhzherin, S.V., Kokodiy, S.V., On the polyphylitic origin of the European triploid crucian carp *Carassius gibelio*, Rep. Nat. Acad. Sci. Ukr., 2006, no. 7, pp. 169–74.
16. Takada, M., Tachihara, K., Kon, T., and Yamamoto, G., Biogeography and evolution of the *Carassius auratus*-complex in East Asia, *BMC Evol., Biol.*, 2010, vol. 10, no. 7. doi: 10.1186/1471-2148-10-7.
17. Rylková, K., Kalous, L., Bohlen, J., Lamatsch, D.K., and Petryl, M., Phylogeny and biogeographic history of the cyprinid fish genus *Carassius* (Teleostei: Cyprinidae) with focus on natural and anthropogenic arrivals in Europe, *Aquaculture*. 2013, is. 380–3, pp. 13–20. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.11.027
18. Tyth, B., Várakoni, E., Hidas, A. Meleg, E.E., and Varadi, L., Genetic analysis of offspring from intra- and interspecific crosses of *Carassius auratus gibelio* by chromosome and RAPD analysis, *J. Fish Biol.*, 2005, vol. 66, no. 3, pp. 784–97. doi: 10.1111/j.0022-1112.2005.00644.x.
19. Kalous, L., Knytl, M., Karyotype diversity of the offspring resulting from reproduction experiment between diploid male and triploid female of silver Prussian carp, *Carassius gibelio* (Cyprinidae, Actinopterygii), *Folia Zool*, 2011, vol. 60, no. 2, pp. 115–21. doi: 10.25225/fozo.v60.i2.a5.2011.
20. Boroń, A. Cytogenetic characterization of the loaches of the genera *Sabanejewia*, *Misgurnus* and *Barbatula* (Pisces, Cobitidae), *Folia Zool*. 2000, vol. 49, no. 1, pp. 37–44.
21. Ráb, P., Roth, P., Studenokrevn obratlovci. Cold-blooded vertebrates, *Methods of chromosome analysis. Sect. Cs. Biol. Soc.*, 1988, pp. 115–24.
22. Cucchi, C., Baruffaldi, A.A., new method for karyological studies in teleost fishes, *J. Fish. Biol.*, 1990, vol. 37, no. 1, pp. 71–5.
23. Vasil'eva, Y.D. and Vasil'ev, V.P. Gold crucian carp, *Carassius carassius* – diploid or tetraploid species? // *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1985. vol. 283, no. 1, pp. 228–30.
24. Mezhzherin, S.V., Kokodiy, S.V., Genetic structure of silver Prussian carp *Carassius* (superspecies *auratus*) (Linnaeus, 1758) colonies from the Middle Dnieper basin, *Rus. J. Genet.*, 2010, vol. 46, no. 6, pp. 725–31.
25. Stuck, M., Ustinova, J., Betto-Colliard, C., Schartl, M., Moritz, C., and Perrin, N., Simultaneous mendelian and clonal genome transmission in a sexually reproducing, all-triploid vertebrate, *Proc. Biol. Sci.*, 2012, vol. 279, no. 1732, P. 1293–9. doi: 10.1098/rspb.2011.1738.
26. Brykov, V.A., Apalikova, O.V., Eliseikina, M.G., and Kovalev, M.Yu., Mitochondrial DNA variation in diploid and triploid forms of silver crucian carp *Carassius auratus gibelio*, *Rus. J. Genet.*, 2005, vol. 41, no. 6. pp. 811–6.
27. Szabelska, A., Kirtiklis, L. and Przybył, A., 5S rDNA sequence shows differences between diploid and triploid Prussian carp *Carassius gibelio* (Teleostei, Cyprinidae), *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, 2017, vol. 17, no. 6, pp. 1127–33. doi: 10.4194/1303-2712-v17_6_06.
28. Litvinchuk, S. and Rosanov, Yu. M. Natural autotriploidy in the Danube newt. *Triturus dobrogicus* (Salamandridae), *Rus. J. Herpetol.*, 2001. vol. 8, no. 1. pp. 74–6.
29. Litvinchuk, S., Skorikov, D., and Rosanov, Yu.M., Natural spontaneous autotriploidy in the genus *Pelophylax* (Anura: Ranidae), *Rus. J. Herpetol.* 2015, vol. 22, no. 4, pp. 318–20.

Поступила в редакцию 18.01.10
 После доработки 27.07.19
 Принята к публикации 18.01.20