

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ЧЕРНОМОРСКИХ ВИДОВ БЫЧКОВ ГРУППЫ *PONTICOLA*, ОЦЕНЕННАЯ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ГЕННЫМ МАРКЕРАМ

Среди бычковых рыб семейства *Gobiidae* группа видов рода *Neogobius*, которых Б. С. Ильин (1927, 1949) выделял в подрод *Ponticola*, была предметом номенклатурной путаницы для его предшественников. Многолетние морфологические исследования в сочетании с данными по экологии (образу жизни) и анализом ареалов были обобщены в последней статье В. И. Пинчука (1991). Автор пришел к выводу, что в Черном море больше форм этой группы, чем полагал Б. С. Ильин, выделивший 5 отдельных видов; *N. syrman* (Nordmann), *N. ratan* (Nordmann), *N. cephalarges* (Pallas), *N. platyrostris* (Pallas) и *N. kessleri* (Günther), хотя стада *N. cephalarges constructor* (Nordmann) кавказских рек Б. С. Ильин (1927) признавал промежуточными между *N. cephalarges* и *N. platyrostris*. В. И. Пинчук (1991) признал отдельными видами *N. syrman* и *N. kessleri*, остальные же формы (черноморские и каспийские) — элементами сложного комплекса, который он предложил назвать ветвистым «полувидовым комплексом».

Таблица 1. Распределение фенотипов полиморфных мнوغенов и ферментных систем некоторых представителей *Neogobius*

Белок	<i>N. cephalargoides</i>			<i>N. ratan</i>	<i>N. syrman</i>
	Одесский залив мнوغены	Азовское море эстеразы	Азовское море СОД	Одесский залив мнوغены	Днестровский лиман мнوغены
Фенотипы:					
АА	63 <hr/> 62,450	21 <hr/> 20,498	28 <hr/> 26,086	39 <hr/> 37,738	7 <hr/> 5,814
АВ	24 <hr/> 20,040	20 <hr/> 21,106	14 <hr/> 17,857	27 <hr/> 29,498	2 <hr/> 4,366
ВВ	3 <hr/> 2,510	6 <hr/> 5,446	5 <hr/> 3,056	7 <hr/> 5,764	2 <hr/> 0,820
Критерий $\chi^2$	0,173	0,129	2,210	0,519	2,552
Вероятность (df=1)	>0,50	>0,50	>0,10	>0,25	>0,10
Генная частота:					
А	0,833	0,660	0,745	0,719	0,727
В	0,167	0,340	0,255	0,281	0,273

Примечание. В числителе — наблюдаемые величины; в знаменателе — теоретически ожидаемые.

Эти данные было решено дополнить данными генетической дивергенции. Электрофоретический анализ последнее время часто используется для установления таксономической принадлежности (Tsuuyuki et al., 1965; Доброволов, Доброволова, 1972 и др.).

Целью настоящей работы является установление генетических связей между черноморскими видами и формами группы *Ponticola* на основании электрофоретических данных изменчивости белков.

**Материал и методика.** Пробы рыб доставляли из уловов рыбаков или добывали удочками со 2.04 по 9.05 1990 г. Электрофоретическому анализу подвергнуты следующие виды: *N. cephalargoides* Pinchuk (138 экз.), *N. platyrostris* (87 экз.), *N. ratan* (73 экз.), *N. syrman* (11 экз.) и *N. kessleri* (10 экз.). Из морских подвидов *N. platyrostris* исследованы: *N. p. odessicus* Pinchuk (48 экз.), *N. p. platyrostris* (35 экз.), *N. p. eurycephalus* (Kessler) (4 экз.), *N. cephalargoides* собран в Одесском заливе, Керченском проливе и Азовском море близ этого пролива, *N. p. odessicus* — в Одесском заливе,

*N. p. platyrostris* у Карадага (юго-западнее Феодосии), *N. p. eurycephalus* — в Керченском проливе, *N. ratan* — в Одесском заливе, *N. syrman* и *N. kessleri* — в Днестровском лимане\*. В статье также использованы данные исследований болгарских популяций *N. cephalargoides*, *N. platyrostris* (морфологически сходных с *N. p. odessicus* и *N. ratan*), проведенных в предыдущие годы.

Реперной формой для электрофоретических спектров послужил подвид *N. p. odessicus*. Приготовление гомогенатов тканей и проведение электрофореза в крахмальном геле выполнялось по описанным ранее методикам (Доброволов, 1973).

Проявление следующих ферментов: эстеразы (ЭСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), малик энзима (МЭ), фосфоглюкомутазы (ФГМ), алкоголь-

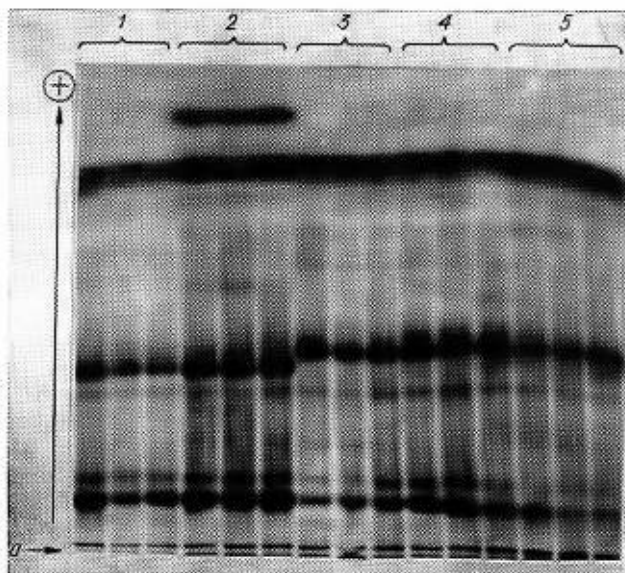


Рис. 1. Электрофоретические спектры миогенов: 1—*N. syrman*; 2—*N. ratan*; 3—*N. kessleri*; 4—*N. p. eurycephalus*; 5—*N. cephalargoides*; 0—старт.

дегидрогеназы (АДГ), супероксиддисмутазы (СОД), аспаратаминотрансферазы (ААТ), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГД), глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) и гидроксибутиратдегидрогеназы (ГВДГ) проводили по стандартным методикам (Shaw et al., 1970; Корочкина и др., 1977). Генетическое сходство и генетическую дистанцию вычисляли по М. Ней (Nei, 1972).

**Миогены.** Спектры миогенов при горизонтальном электрофорезе в крахмальном геле состоят из 15—17 компонентов в анодной части электрофореграммы, а при ИЭФ состоит из 59—61 компонента.

Миогеновые электрофоретические спектры *N. ratan* и *N. syrman* при использовании обоих методик четко отличаются от таковых *N. cephalargoides*, *N. platyrostris* и *N. kessleri* (рис. 1). Между двумя первыми видами различия хорошо выражены, а у трех последних электрофоретические спектры очень близки.

У *N. cephalargoides* наблюдается полиморфизм миогенов (табл. 1, рис. 2). Генная частота у популяций Одесского залива 0,167, района Керчи — 0,000, болгарского побережья — также 0,000.

Полиморфизм наблюдается у *N. ratan* Одесского залива и у *N. syrman* Днестровского лимана (табл. 1, рис. 2). Этот полиморфизм один из авторов (Доброволов) считает следствием интрогрессивной гибридизации между *N. ratan* и *N. syrman* в прошлом\*\*.

\* Собраны и определены В. И. Пинчуком.

\*\* У берегов Болгарии *N. ratan* имеет электрофоретические спектры только фенотипа АА, другие варианты отсутствуют.

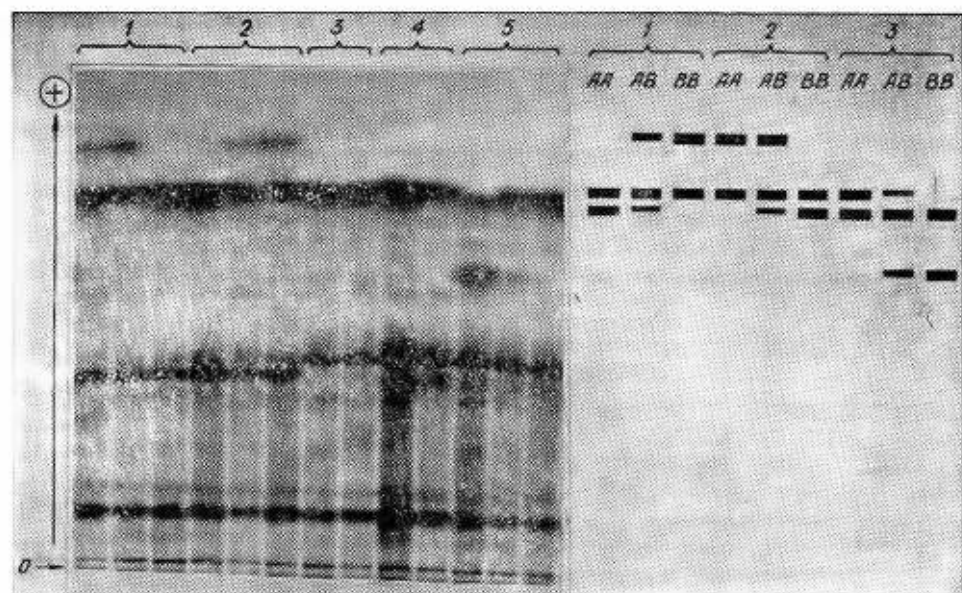


Рис. 2. Электрофоретические спектры миогенов и схема наблюдаемого полиморфизма: 1 — *N. syrman*; 2 — *N. ratan*; 3 — *N. kessleri*; 4 — *N. p. platyrostris*; 5 — *N. cephalargoides*; AA, AB и BB — фенотипы (порядок фенотипов на электрофореграммах не соответствует таковому на схеме); 0 — старт.

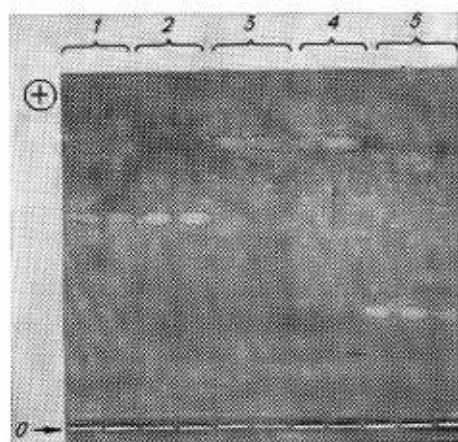
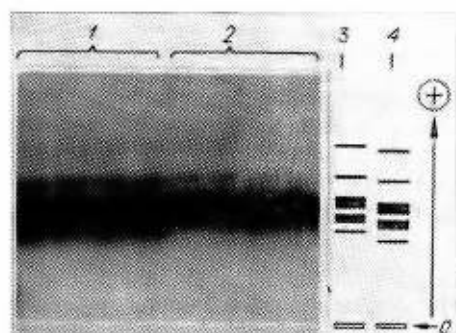


Рис. 3. Электрофореграммы гемоглобинов крови и их схемы: 1 и 4 — *N. platyrostris* (Болгария); 2 и 3 — *N. cephalargoides* (Болгария); 0 — старт.

Рис. 4. Энзимограммы СОД: 1 — *N. syrman*; 2 — *N. ratan*; 3 — *N. kessleri*; 4 — *N. p. platyrostris*; 5 — *N. cephalargoides*; 0 — старт.

Сходство спектров миогенов при использовании двух указанных методик свидетельствует о принадлежности форм *odessicus*, *eurycephalus* и *platyrostris sensu stricto* к одному виду. Миогены у *N. p. odessicus*, *N. p. platyrostris* и *N. p. eurycephalus*, судя по результатам электрофоретического анализа, оказались мономорфными, различия видового ранга между ними не обнаружены.

Гемоглобины. Проведенный электрофоретический анализ гемоглобинов *N. cephalargoides* и *N. platyrostris* (морфологически сходного с *N. p. odessicus*) из вод Болгарии выявил наглядные различия их спектров (рис. 3), что связано с их дивергенцией на видовом уровне.

Эстеразы. Установлены 4 зоны с эстеразной активностью. Самая быстрая первая зона является видоспецифической. У *N. p. odessicus* и *N. p. platyrostris* эта зона полиморфная, а у 66 особей болгарского побережья полиморфизма не наблюдается. Исследованные нами 4 особи *N. p. eurycephalus* из Керченского пролива оказались в этом отношении сходными с *N. p. platyrostris* Болгарии. Вторая зона у *N. platyrostris* полиморфная. Между популяциями *N. p. odessicus*, *N. p. platyrostris* и *N. p. eurycephalus*, а также таковыми болгарского побережья найдены различия по аллельным частотам более медленного аллеля (соответственно 0,894, 0,540, 0,125, 1,000). У *N. cephalargoides* Керченского пролива и смежного участка Азовского моря частота этого же аллеля 0,660.

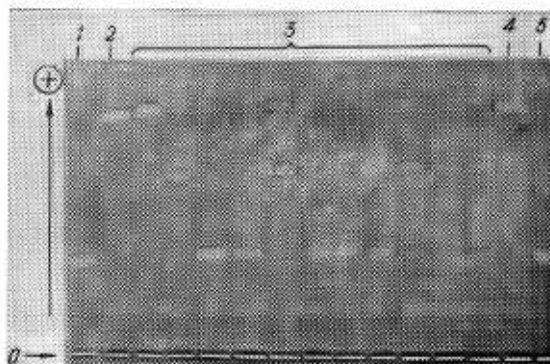
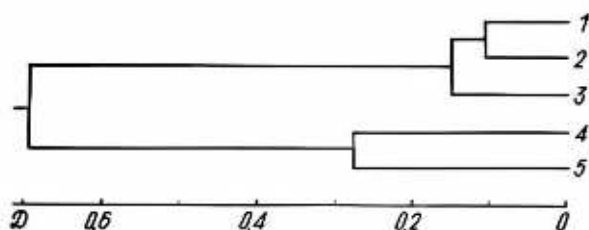


Рис. 5. Энзимogramмы СОД: 1 и 5 — *N. cephalargoides* (Одесский залив); 2 и 4 — *N. p. odessicus* (Одесский залив); 3 — *N. cephalargoides* (Азовское море); 0 — старт.

Информация о сходстве и различии между фракциями третьей и четвертой зон также использованы при вычислении индекса генетического сходства (I<sub>Nei</sub>) и дистанции (D<sub>Nei</sub>) между исследованными видами (табл. 2).

СОД (ЭК 1.2.1.37). Подвижность этого фермента одинакова у *N. platyrostris* и *N. kessleri* и значительно отличается от *N. cephalargo-*

Рис. 6. Дендрограмма филогенетических отношений между видами группы *Ponticola* (расчеты сделаны по величинам генетических расстояний, приведенным в табл. 2): 1 — *N. kessleri*; 2 — *N. platyrostris*; 3 — *N. cephalargoides*; 4 — *N. ratan*; 5 — *N. syрман*.



*ides* (рис. 4). Полиморфизм обнаружен только у *N. cephalargoides* Керченского пролива и сопредельной части Азовского моря. Этот полиморфизм (табл. 1, рис. 5), по-видимому, объясняется интрогрессивной гибридизацией с *N. p. eurycephalus*.

Таблица 2. Индексы генетического сходства I<sub>Nei</sub> (ниже диагонали) и генетической дистанции D<sub>Nei</sub> (выше диагонали) у некоторых видов *Neogobius*

Вид	<i>kessleri</i>	<i>platyrostris</i>	<i>cephalargoides</i>	<i>ratan</i>	<i>syрман</i>
<i>kessleri</i>	★	0,1113	0,1411	0,7472	0,5798
<i>platyrostris</i>	0,8947	★	0,1586	0,7205	0,6665
<i>cephalargoides</i>	0,8684	0,8533	★	0,8517	0,5263
<i>ratan</i>	0,4737	0,4865	0,4267	★	0,2788
<i>syрман</i>	0,5600	0,5135	0,6419	0,7567	★

Данные наших исследований остальных ферментов (ЛДГ, ЭК 1.1.1.27; МДГ, ЭК 1.1.1.37; МЭ, ЭК 1.1.1.40; ФГМ, ЭК 2.7.5.1; ГФИ, ЭК 5.3.1.9; 6-ФГД, ЭК 1.1.1.42; АДГ, ЭК 1.1.1.1; Г6ДГ, ЭК 3.1.1.31; ААТ, ЭК 2.6.1.1.) также использованы при составлении таблицы 2.

Полученная фенограмма генетических дистанций (рис. 6) дает представление о генетических взаимоотношениях черноморских видов бычков группы *Ponticola*, полученных на основании электрофоретического анализа предлагаемых 33 локусов.

**Выводы.** 1. На основании электрофореграмм миогенов и 11 ферментных систем представлены биохимико-генетические доказательства отличий видовой ранга между черноморскими *Neogobius ratan*, *N. cephalargoides* и *N. platyrostris*.

2. Различия между *N. p. odessicus*, *N. p. eurycephalus* и *N. p. platyrostris* только по аллельным частотам подтверждают правильность трактовки этих форм В. И. Пинчуком (1976, 1977, 1991) лишь как подвидов (географических рас) политипического вида *N. platyrostris*.

3. Обнаружен полиморфизм миогенов у *N. cephalargoides* и *N. ratan* Одесского залива, а также у *N. syrman* Днестровского лимана. Этот полиморфизм у двух последних видов данных районов возможно объясняется интрогрессией генов. Обнаружен также полиморфизм фермента СОД у популяции *N. cephalargoides* Керченского пролива и смежного района Азовского моря, что, вероятно, можно объяснить интрогрессией генов *N. p. eurycephalus*.

Авторы сердечно благодарят научных сотрудников, инженеров и рыбаков Одесского и Карадагского филиалов Института биологии южных морей АН Украины и Южного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии (г. Керчь), а также преподавателей и лаборантов Одесского университета им. И. И. Мечникова за содействие в проведении исследований по биохимической генетике бычковых рыб.

- Доброволов И. С., Доброволова С. Электрофоретическое сравнение мышечных миогенов мерлуз (род *Merluccius*) Атлантического океана // Докл. Болг. АН.—1972.—25, № 12.— С. 1701—1704.
- Доброволов И. Микроэлектрофореза върху скорбелен гел // Изв. НИОРС (Варна).—1973.—12.— С. 157—162.
- Ильин Б. С. Определитель бычков (Fam. Gobiidae) Азовского и Черного морей // Тр. Азов.-Черном. науч.-промысловой экспедиции.—1927.— Вып. 2.— С. 128—143.
- Ильин Б. С. Краткий обзор черноморских бычков (Pisces, Gobiidae) // Бюлл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. ине биол.—1949.—54, вып. 3.— С. 16—30.
- Корошкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И., Ароштан А. А. и др. Генетика изоферментов.— М.: Наука, 1977.—278 с.
- Пинчук В. И. Систематика бычков родов *Gobius* Linne (отечественные виды), *Neogobius* Hjin и *Mesogobius* Bleeker // Вопр. ихтиологии.—1976.—16, вып. 4.— С. 600—610.
- Пинчук В. И. Система бычков родов *Gobius* Linne (отечественные виды), *Neogobius* Hjin и *Mesogobius* Bleeker // Там же.—1977.—17, вып. 4.— С. 587—596.
- Пинчук В. И. К вопросу о подразделениях видов в пределах рода *Neogobius* (Perciformes) // Там же.—1991.—31, вып. 3.— С. 380—393.
- Nei M. Genetic distance between populations // *Americ Naturalist*.—1972.—106.— P. 283—292.
- Shaw C. R., Prasad R. Starch gel electrophoresis of enzymes—a compilation of recipes // *Biochem. Genetics*.—1970.—4.— P. 297—320.
- Tsuyuki H., Roberts E., Vanstone W. E. Comparative zone electrophoresis of muscle myogen and blood haemoglobins of marine and freshwater vertebrates and their applications to biochemical systematics // *J. Fish. Res. Bd. Can.*—1965.—22.— P. 203—213.

ГЕНЕТИЧНА ДИВЕРГЕНЦІЯ ЧОРНОМОРСЬКИХ ВИДІВ БИЧКІВ ГРУПИ PONTICOLA, ОЦІНЕНА ЗА БІОХІМІЧНИМИ МАРКЕРАМИ. Доброволов І. С., Пінчук В. І.—Вестн. зоол., 1993, Н 2.—На основі електрофоретичних досліджень представлено біохіміко-генетичні підтвердження правильності запропонованої В. І. Пінчуком (1976, 1977, 1991) номенклатури бичків групи *Ponticola* Чорного моря (5 видових назв: *Neogobius syrman*, *N. ratan*, *N. cephalargoides*, *N. platyrostris*, *N. kessleri* та 3 підвидові назви: *N. p. platyrostris*, *N. p. eurycephalus*, *N. p. odessicus*). У деяких видів виявлено поліморфізм міогенів, в одному випадку фермента супероксиддисмутази, який іноді пояснюється інтрогресією генів в результаті випадкового схрещування.

GENETIC DIVERGENCE IN BLACK SEA GOBY FISH GROUP PONTICOLA, AS EVALUATED BY BIOCHEMICAL MARKERS. Dobrovolo I. S., Pinchuk V. I.—Vestn. zool., 1993, N 2.—Biochemical-genetic evidence obtained by electrophoretic investigations to support reliability of the Black Sea goby fish group *Ponticola* nomenclature proposed by V. I. Pinchuk (1976, 1977, 1991): 5 species (*Neogobius syrman*, *N. ratan*, *N. cephalargoides*, *N. platyrostris*, *N. kessleri*) and 3 subspecies (*N. p. platyrostris*, *N. p. eurycephalus*, *N. p. odessicus*) names. In some species myogene polymorphism, in one case superoxididismutase polymorphism have been found, explained by gene introgression as a result of occasional crossing.

## ЗАМЕТКИ

CREMASTUS LINEIGER HELLEN, 1949, STAT. N. ET TEMELUCHA NIGER HELLEN, 1949, STAT. N. ET COMB. N. (HYMENOPTERA, ICHNEUMONIDAE) — При обробці колекційних матеріалів із Zoological Museum University of Helsinki, Finland (куратор д-р А. Albrecht) нами була изучена типовая серия *Cremastus bellicosus* Grav, var. *lineiger* Hellen (Commentat. biol., 1949, 8[17]:22) (5 ♀, 3 ♂) и *Cremastus variipes* Szepi. var. *niger* Hellen (Commentat. biol., 1949, 8[17]:22) (2 ♀, 1 ♂) являющихся, как оказалось, хорошими самостоятельными видами. Здесь обозначаются: *Cremastus lineiger* Hellen — лектотип: ♀, «Tenerife, Tacoronte [leg.] R. Frey» (lectotypus design); паралектотипы: 2 ♀, «Tenerife, Pico di Teyde [leg.] R. Stora», ♀, 2 ♂, «Tenerife, Los Mercedes [leg.] R. Frey», ♀, ♂, с такой же этикеткой, что и лектотип; *Temelucha niger* Hellen — лектотип: ♀, «Azor: Terceira, Bagacina 17.07 (год не указан) [leg.] Stora», «Spec. typ. No 13014 Cr. variipes v. niger Hellen» (lectotypus design), паралектотип: ♂, «Azor: S. Miguel, Ponta Delgata 14—16.05. (год не указан)», «Spec. typ. No 13015 Cr. variipes v. niger Hellen», 1 самка без брюшка с номером 14013 и этикеткой «Azores: Fayal, Calderia 4.07 (год не указан)», определена и этикетированна нами как *Temelucha* sp. nov. *niger* Hellen. — Н. Б. НАРОЛЬСКИЙ (Институт зоологии АН Украины, Киев)