

С. В. Межжерин, Л. И. Павленко, Н. В. Роженко, Д. Б. Верлатый
**Щиповки комплекса *Cobitis elongatoides-taenia*
(Cyrpriniformes, Cobitidae) Северо-Западного
Причерноморья как модель филогеографических
построений**

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

*Biochemical genetic investigation and cytometric analysis from diploid-polyploid spined loaches associations of lower reaches of the rivers of Danube, Dniester, and Dnieper found substantial distinctions of their genetic structure and, consequently, certain historical isolations and, in case with Dniester, the uniqueness of the population consisting exceptionally of individuals of hybrid polyploid biotypes. Thus, in all basins, polyploid specimens only of the Danube origin are found. Diploid species of Danube (*C. elongatoides*, *C. "tanaitica"*) have not contained introgressive genes and have autochthonous origin, while the diploid form predominating in lower Dnieper basin has genes not less than three allospecies of *C. (superspecies) taenia* with predominance of genes of *C. (taenia) taenia* and, consequently, has adventure nature de bene esse.*

В последние годы щиповки рода *Cobitis* стали модельным объектом эволюционно-генетических построений, отражающих фауно-генетические процессы, протекающие в Западной Палеарктике. Причиной такого выбора стало необычайно высокое разнообразие внешне весьма консервативной группы диплоидных видов, образующих ряд полиплоидных гибридных форм (биотипов), для которых характерно асимметричное распределение геномов родительских видов. В частности, проведенные комплексные исследования щиповок Центральной и Южной Европы, акцентированные на регион Причерноморья и включавшие анализ кариотипов, аллозимов и секвенирование [1–3], показали, что здесь сконцентрирован ряд уникальных диплоидных видов и полиплоидных биотипов щиповок, появление которых исследователи связывают с колонизационными эффектами, вызванными ледниковыми нашествиями. В частности, именно отсюда описан новый вид щиповок *C. taurica*, диагностирующийся только по кариотипу, но не имеющий ни однозначного морфологического диагноза, ни генетических отличий на уровне аллозимов, а по гаплотипам митохондриальных генов [3] вид выглядит как сборный таксон.

Целью проведенного нами исследования стало сопоставление генетической структуры сообществ щиповок низовий трех главных рек Северо-Западного Причерноморья: Дуная, Днестра и Днепра, что позволило не только провести ревизию видового состава и структуры щиповок, но и определиться с характером филогеографических связей этого сложного видового комплекса в данном регионе.

Материалом для исследований послужили щиповки, собранные на протяжении 2003–2006 гг. в низовьях соответствующих бассейнов: 353 особи из Нижнего Дуная (с. Вилково, русло и ерики); 224 особи из Нижнего Днестра (русло, канал возле с. Маяки в 30 км от устья); 34 особи из Нижнего Днепра (окрестности г. Херсон). Большая часть щиповок были половозрелыми. Исключение составила только выборка щиповок Днестровского лимана, которая на 90% была представлена сеголетками.

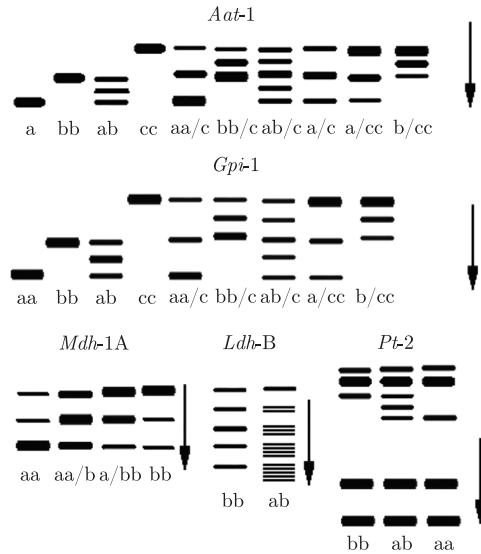


Рис. 1. Схемы электрофоретической изменчивости спектров ферментов и белков у щиповок популяций Северо-Западного Причерноморья, кодируемых соответствующими локусами

С помощью электрофореза в полиакриламидном геле и трис-ЭДТА-боратной системе буферов изучена изменчивость шести биохимических генных маркеров (рис. 1), обычно используемых [4–6] при анализе структуры сообществ щиповок.

В результате проведенного генного маркирования было выявлено три диплоидных вида и серия аллопloidных биотипов (табл. 1).

Дунай. В бассейне Дуная обнаружено [7] самое высокое разнообразие щиповок (табл. 1) среди изученных на сегодняшний день: два диплоидных вида (*C. elongatoides* и *C. "tanaitica"*), аллодиплоид *C. elongatoides* — *C. "tanaitica"*, две триплоидных формы *C. 2 elongatoides* — *"tanaitica"*, которая численно доминирует в этом сообществе, *C. elongatoides* — *C. 2 "tanaitica"*, а также в небольшом количестве встречающиеся тетраплоиды *C. 3 elongatoides* — *C. "tanaitica"*, *C. elongatoides* — species — 2 *"tanaitica"* и рекомбинанты разной степени плоидности. Генотипическая структура выявленных форм представлена в табл. 2, 3.

Днестр. Здесь обнаружена уникальная, принципиально отличающаяся от всех известных сообществ щиповок популяция, состоящая исключительно из полиплоидных особей двух типов. Этот вывод подтверждает множественность и асимметричность аллоферментных спектров всех без исключения исследованных особей. До сих пор в бассейне Днепра

Таблица 1. Виды и биотипы щиповок, обнаруженные в бассейнах Дуная, Днестра и Днепра

| Виды и биотипы | Нижний Дунай | Нижний Днестр | Нижний Днепр |
|---|--------------|---------------|--------------|
| <i>C. elongatoides</i> | 6 | — | — |
| <i>C. "tanaitica"</i> | 20 | — | — |
| <i>C. "taurica"</i> = (<i>C. taenia</i> — <i>"tanaitica"</i>) | — | — | 27 |
| <i>C. elongatoides</i> — <i>tanaitica</i> | 16 | — | — |
| <i>C. 2 (3) elongatoides</i> — <i>"tanaitica"</i> | 234 | 143 | 8 |
| <i>C. elongatoides</i> — 2 (3) <i>"tanaitica"</i> | 70 | 81 | — |
| <i>C. elongatoides</i> — sp.1 | 1 | — | — |
| <i>C. elongatoides</i> — 2 <i>"tanaitica"</i> — sp. 2 | 2 | — | — |

в самых насыщенных полиплоидами сообществах насчитывалось до 85% таких особей, в пределах Дунайской системы — до 95% [8], но, в любом случае, это всегда были диплоидно-полиплоидные группировки. И это вполне естественно, поскольку полиплоидные щиповки — это на 98–99% самки, которые размножаются гиногенезом и использующие для этого самцов родительских или близких видов. Поэтому состоящие из гибридов популяции щиповок должны иметь очень низкий репродуктивный потенциал или даже быть не способными к длительному самовоспроизводству. Тем не менее число исследованных на Нижнем Днестре экземпляров ($n = 224$) значительно, а потому факт обнаружения сообщества щиповок, полностью состоящего из гибридных полиплоидов, выглядит достоверным.

Большая часть щиповок Днестра, также как и Дуная, относится к типу *C. 2 elongatoides* — “*tanaitica*”, хотя и с некоторыми особенностями гибридных спектров. Это и незначительная асимметричность спектра у гетерозигот *Aat-1*^{aa/c} или *Aat-1*^{a/cc}, которая обычно наблюдается у полиплоидных щиповок, и гетерозиготы *Aat-1*^{ab/c}, у которых гетеродимерные спектры настолько слабо выражены, что спектр, отвечающий *Aat-1*^{ab/c}, по сути, превращается в *Aat-1*^{a/c}. Необычными являются и особи *C. 2 elongatoides* — “*tanaitica*” со спектрами, соответствующими генотипу *Aat-1*^{abc}, у которых подавлен синтез аллеля *Aat-1*^a. Кроме того, около 5% особей в выборке обладали рекомбинантными генотипами, т. е. по одним локусам диагностировались как биотипы с доминированием генов *C. elongatoides*, а по другим, наоборот, как особи, у которых в двойном наборе геном *C. “tanaitica”*.

Таблица 2. Распределение генотипов исследованных локусов у диплоидных видов

| Виды или биотипы | <i>Aat-1</i> | <i>Gpi-1</i> | <i>Ldh-B</i> | <i>Mdh-1A</i> | <i>Pt-3</i> |
|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------|
| <i>C. elongatoides</i> (Дунай) | aa (0,8) | aa (0,1) | bb | aa (0,8) | bb |
| | ab (0,2) | ab (0,3) | | ab (0,2) | |
| | | bb (0,6) | | | |
| <i>C. “tanaitica”</i> (Дунай) | cc | cc | bb | aa | bb |
| <i>C. taurica</i> (Нижний Днепр) | cc | cc | ab (0,1) | bb | aa (0,25) |
| | | | bb (0,9) | | ab (0,55) |
| | | | | | bb (0,15) |
| <i>C. taenia</i> (Средний Днепр) | cc | cc | ab (0,2) | bb | aa |
| | | | bb (0,8) | | |

Таблица 3. Распределение генотипов исследованных локусов у полиплоидных биотипов из низовий Дуная, Днестра и Днепра

| Локус | Генотипы | <i>C. 2 (3) elongatoides</i> –“ <i>tanaitica</i> ” | | | <i>C. elongatoides-2 (3) “tanaitica”</i> | |
|---------------|----------|--|-------|-------|--|-------|
| | | Дунай | Днепр | Днепр | Дунай | Днепр |
| <i>Aat-1</i> | aa/c | 0,75 | 0,39 | 0,75 | — | — |
| | ab/c | 0,24 | 0,61 | 0,25 | — | — |
| | bb/c | 0,01 | — | — | — | — |
| | a/cc | — | — | — | 0,98 | 1,00 |
| | b/cc | — | — | — | 0,02 | — |
| <i>Gpi-1</i> | aa/c | 0,259 | — | — | — | — |
| | ab/c | 0,388 | 0,75 | — | — | — |
| | bb/c | 0,353 | 0,25 | — | — | — |
| | b/cc | — | — | — | 0,467 | 1,00 |
| | a/cc | — | — | — | 0,533 | — |
| <i>Mdh-1A</i> | abb | 0,03 | — | — | — | — |
| | aab | 0,38 | — | 0,875 | 0,20 | 0,70 |
| | aaa | 0,59 | 1,00 | 0,125 | 0,64 | 0,30 |

Биотипы *C. 2 (3) elongatoides* — “*tanaitica*” днестровских и дунайских популяций, хотя и численно доминируют в бассейнах, но отличаются по представленности в их геноме тех или иных генотипов дунайской щиповки (см. табл. 3), популяции которой, в отличие от представителей *C. (superspecies) taenia*, характеризуются высокой степенью генетического полиморфизма. Вторым биотипом, на долю которого пришлось 36%, были особи *C. elongatoides* — 2 (3) “*tanaitica*”, для которых также характерны другие частоты генотипов, чем для щиповок этого биотипа в Дунае (см. табл. 3).

Днепр, также как и Днестр, представляет обедненное по сравнению с Дунаем сообщество, состоящее из диплоидного вида, по генному пулу более всего похожего на *C. (superspecies) taenia* (см. табл. 2), и популяций представленного в меньшинстве полиплоидного биотипа *C. 2 (3) elongatoides* — “*tanaitica*”. Щиповок, обитающих в низовьях Днепра, Южного Буга, Крыма и Дуная, ранее относимых к номинативному виду *C. taenia*, теперь следует считать принадлежащими к виду *C. taurica* [3], и которых, что самое интересное, даже при описании сами же авторы считали генетически неоднородными. Полученные нами данные по биохимическому генному маркированию дают основания считать обнаруженную в низовьях Днепра диплоидную форму гибридным ассоциатом, основу которого составляет номинативный вид *C. taenia* s. str., популяция которого в данном случае насыщена генами дунайского (*Pt-3^b*) и в меньшей степени волинского (*Ldh-B^a*) алловидов.

Таким образом, проведенное исследование дает основание для ряда интересных обобщений и выводов, которые подтверждают как связь между собой популяций разных бассейнов, так и их определенную автономность.

Во-первых, в трех исследованных сообществах щиповок выявлены только биотипы дунайского происхождения. Даже на Нижнем Днепре, в среднем течении которого в популяциях доминируют полиплоиды *C. elongatoides* — 2 *taenia* или *C. elongatoides* — *taenia* — “*tanaitica*”, был определен только альтернативный биотип *C. 2 elongatoides* — *C. “tanaitica”*, проникший сюда, очевидно, не из низовий Днестра, а непосредственно из Дуная.

Во-вторых, характер распределения диплоидных видов в регионе существенно отличается от полиплоидных биотипов и характеризуется двумя альтернативными очагами: дунайским и днепровским, где обитают разные диплоидные виды. Хотя, вероятнее всего, в популяциях днепровской *C. taenia* все же имеется примесь генов дунайской *C. “tanaitica”*, в частности аллеля *Pt-3^b*, хотя в этом случае следует объяснить, почему здесь отсутствует ген *Mdh-1 A^a*, также характерный именно для этого дунайского вида. Поэтому нельзя исключить и того, что в популяциях Нижнего Днепра проявляется влияние донской формы (*C. (taenia) rossomeridionalis*).

Результаты исследования дают основания считать, что в Северо-Западном Причерноморье перемещение склонных к экспансии полиплоидных биотипов щиповок происходит в западно-восточном направлении с Дуная на Днепр, а не в северо-южном, в частности, по руслу Днепра. Факт можно посчитать закономерным, если учесть, что популяции гребенчатого тритона Нижнего Днепра, как это было недавно установлено [9], на самом деле относятся не к номинативному виду *Triturus cristatus*, а к дунайскому тритону *T. dobrogicus* — эндемику бассейна Дуная. Таким образом, и у земноводных перемещение видов в этом регионе происходит в западно-восточном направлении, а не, как на первый взгляд кажется более логичным, вниз по течению с севера на юг.

Большой научный интерес представляет и уникальная популяция Нижнего Днестра, формирующаяся исключительно за счет гибридных особей. Ведь до сих пор несмотря на десятки исследований щиповок в Европе так называемые all-hybrid популяции обнаружены

не были, так как всегда вместе с гибридами присутствовали пусть даже и в очень незначительном количестве особи одного из родительских видов. В чем причина появления этой необычной популяции в бассейне Нижнего Днестра? Вероятнее всего, это изоляция и отсутствие иммиграций диплоидных особей, которые либо отсутствовали здесь вообще, либо, вероятнее всего, были генетически поглощены полиплоидными биотипами при гиногенетических скрещиваниях. В любом случае возникает вопрос о механизмах репродукции щиповок в днестровской популяции, которая состоит исключительно из гибридов и которые, как считается, способны размножаться только гиногенезом. Прежде всего, можно допустить, что у щиповок низовий Днестра размножение происходит не путем псевдогамии, а чисто партеногенетически. Однако более правдоподобным выглядит иное объяснение: 1–2% полиплоидов являются самцами и именно за счет них поддерживается система скрещиваний. Следует учесть, что для гиногенеза не обязательно нужны полноценные гаметы — ведь задача самцов не оплодотворение, а только стимуляция деления. Также возможен и гермафродитизм, который отмечен у триплоидных карасей [10, 11]. Более того, совсем не исключено, что задействован каждый из этих механизмов.

1. Janko K., Culing M. A., Rab P., Kotlik P. Ice age cloning – comparison of the Quaternary evolutionary histories of sexual and clonal forms of spiny loaches (*Cobitis*, Teleostei) using the analysis of mitochondrial DNA variation // Mol. Ecol. – 2005. – **14**. – P. 2991–3004.
2. Culing M. A., Janko K., Boron A. et al. European colonization by the spined loach (*Cobitis taenia*) from Ponto-Caspian refugia based on mitochondrial DNA variation // Ibid. – 2006. – **15**. – P. 173–190.
3. Janko K., Vasil'ev V. P., Rab P. et al. Genetic and morphological analyses of 50-chromosome spined loaches (*Cobitis*, Cobitidae, Pisces) from the Black Sea basin that are morphologically similar to *C. taenia*, with the description of a new species // Folia Zool. – 2005. – **54**, No 4. – P. 405–420.
4. Осинов А. Г., Васильев В. П., Васильева Е. Д. К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных. Диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae). II. Характеристика триплоидной формы // Вопр. ихтиологии. – 1990. – **30**, вып. 2. – С. 214–220.
5. Межжерин С. В., Чудакорова Т. Ю. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis taenia* (Cypriniformes: Cobitidae) бассейна Среднего Днепра // Генетика. – 2002. – **38**, № 1. – С. 86–92.
6. Slechtova V., Luskova V., Slechta V. et al. 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**, Sup. 1. – P. 67–78.
7. Межжерин С. В., Павленко Л. И. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis* (Cypriniformes, Cobitidae) Низовий Дуная // Цитология и генетика. – 2007. – **41**, № 1. – С. 56–65.
8. Lusk S., Kosco J., Halacka K. et al. Identification of *Cobitis* from the Slovakian part of the Tisza basin // Folia Biol. (Krakow). – 2003. – **51**. – P. 61–65.
9. Arntzen J. W., Bugster R. J., Cogalniceanu D., Wallis G. P. The distribution and conservation status of the Danube crested newt, *Triturus dobrogicus* // Amphibia-Reptilia. – 1997. – **18**. – P. 133–142.
10. Горюнова А. И. О размножении серебряного карася // Вопр. ихтиологии. – 1960. – **7**, вып. 15. – С. 106–110.
11. Межжерин С. В., Кокодий С. В. О полифилитичности европейского триплоидного карася *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) // Доп. НАН України. – 2006. – № 7. – С. 169–174.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
НАН Украины, Киев
Одесский национальный университет
им. И. И. Мечникова
Херсонская гидробиологическая станция НАН Украины

Поступило в редакцию 28.12 2006