

С.В. МЕЖЖЕРИН, Л.И. ПАВЛЕНКО

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины, Киев
E-mail: rozwodowska@mail.ru

СЛУЧАЙ ГИБРИДИЗАЦИИ У ЩИПОВОК (*OSTEICHTHIES*: *COBITIDAE*: *COBITIS*), ОБУСЛОВИВШИЙ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И ЭКСПАНСИЮ



Мониторинг гибридного сообщества щиповок, проведенный на протяжении шестилетнего периода, представляет собой описание уникального случая репродуктивно-го взаимодействия самок дунайской триплоидной формы *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», стихийно интродуцированной в р. Ирпень (бассейн Среднего Днепра), с местными диплоидными самцами *C. taenia*. Из полученных результатов следует, что даже при подобном рода «скрещиваниях» имеет место ограниченная инкорпорация генетического материала *C. taenia* в гибридный геном *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*». В результате у потомков происходят модификации электрофоретического гибридного спектра локуса *Aat-1*, что может быть интерпретировано как проявление генетической нестабильности. Генетически модифицированное потомство за два года не просто полностью вытеснило из Ирпеня нормальных дунайских триплоидов, но и резко увеличило представленность интрогрессантов в бассейне. В результате сообщество щиповок этой реки сейчас более чем на половину состоит из дунайских модифицированных триплоидов. При последующих гиногенетических «скрещиваниях» уже модифицированных триплоидных самок *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*» с самцами *C. taenia* в популяции появились тетраплоидные рекомбинанты и беккроссы, которые никогда не отмечались в днепровских популяциях щиповок. Факт направленных преобразований генома при гиногенетических скрещиваниях доказывает, что инициация дробления яйцеклетки сперматозоидом не является событием генетически нейтральным.

© С.В. МЕЖЖЕРИН, Л.И. ПАВЛЕНКО, 2007

Введение. Исследования групп организмов, характеризующихся нестандартными способами размножения и гибридной природой, всегда вызывали повышенный интерес, а в последнем десятилетии благодаря возможностям анализа процессов на молекулярном уровне стали своеобразной «визиткой» практически любой серьезной эволюционно-генетической школы. Тесные и противоестественные взаимодействия родительских геномов у гибридов, как правило, приводят к генетической нестабильности (трансформациям генома, нарушению половой структуры у потомства и т. д.) или полиплоидии. В последнем случае изменения генетической структуры, вызванные гибридизацией, могут быть необратимыми, приводить к образованию новых видов и соответственно интерпретироваться как эволюция, протекающая в «наши дни».

Одной из таких модельных групп позвоночных животных, интерес к эволюционно-генетическим исследованиям которой резко возрос в последнем десятилетии, является группа обыкновенных щиповок *C. taenia* aus., представляющая комплекс симпатрических и аллопатрических видов и биотипов — однополых гибридов с разной степенью плоидности. Известно, что только в Украине обитает не менее пяти диплоидных видов этого комплекса и порядка десяти биотипов, которые распределены по основным речным бассейнам [1—8].

Однополые гибридные формы в отличие от двуполых видов способны быстро расширять свой ареал. Это связано с их высокой плодовитостью и гиногенетическим размножением, которое позволяет использовать диплоидных самцов близких видов, не «растрачиваясь» на собственных особей мужского пола, благодаря этому однополые биотипы быстро захватывают доминирующее положение в сообществах щиповок [9]. Следует сказать, что размножение триплоидных щиповок, хотя и протекает при участии самцов одной из родительских форм, далеко не всегда только инициирует деление яйцеклетки, но в некоторых случаях приводит и к оплодотворению, т. е. происходит полная инкорпорация генетического материала самца. В последнем случае образуются тетраплоиды, чаще всего — это самки, также размножающиеся гиногенезом [10—12]. Возможно, что инкорпорация чужеродного генетического материала может быть неполной, когда внедряется

не полный хромосомный набор самца, а какая-то его часть, что не приводит к увеличению плоидности, но сопровождается генетической нестабильностью. Описанию такого рода взаимодействий геномов, возникающих при гиногенетических скрещиваниях местных диплоидных самцов, в данном случае *C. taenia* s. str., со спонтанно интродуцированными гибридными триплоидными самками *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» и посвящена публикация.

Материал и методы. Основой исследования послужила серия выборок щиповок, собранных соответственно с 2001 по 2006 г. в р. Ирпень непосредственно в окрестностях одноименного поселка. Выборки брались исключительно в осенний период и представлены половозрелыми экземплярами. Кроме того, в 2005 г. были добыты серии выше (окрестности с. Княжичи) и ниже (окрестности пгт Гостомеля) по течению от основного места сбора, а в 2006 г. взята серия рыб из окрестностей с. Демидов – практически из устья реки.

Определение генетической структуры гибридов и диплоидных видов проводили по известным электрофоретическим маркерам [2–5, 12–15], а плоидность гибридных форм оценивали с помощью цитометрического анализа эритроцитов [4].

Результаты исследования. Первоначально гибридные биотипы щиповок, обнаруженные в бассейнах рек Восточной Европы, интерпретировались как потомки щиповки обыкновенной *C. taenia* и неизвестного вида *C. species* [2–4, 11–13]. Их разнообразие исчерпывалось двумя реципрокными триплоидными *C. 2 taenia* – *species* и *C. taenia* – *2 species*, а также тетраплоидными *C. 3 taenia* – *species*, *C. 2 taenia* – *melanoleuca* – *species* гибридами, последний биотип был обнаружен только в р. Москве [11, 12].

Проведенные исследования генетической изменчивости щиповок Дунайского бассейна на уровне ядерных [5, 14–16] и митохондриальных [6–8] генов показали, что, с одной стороны, в образовании полиплоидов принимала участие дунайская щиповка *C. elongatoides*, которая встречается исключительно в бассейне Дуная, и именно ее геном был первоначально принят за геном неизвестного вида [11–13], а с другой – два аллопатрических генетически близких вида: щиповка обыкновенная *C. taenia*

Таблица 1
Аллельные пулы трех видов щиповок комплекса *C. taenia* – *elongatoides*, обитающих в водоемах Украины

Локус	Аллель	Виды		
		<i>C. elongatoides</i>	<i>C. taenia</i>	<i>C. «tanaitica»</i>
<i>Aat-1</i>	100		X	X
	125	X		
	155	X		
<i>Gpi-1</i>	100		X	X
	113	X		
	176	X		
<i>Ldh-B</i>	100	X	X	X
	105		X	
<i>Mdh-1A</i>	100	X	X	
	167	X		X
<i>Pt-3</i>	90	X		X
	100		X	

Таблица 2
Генотипические сочетания полиморфных локусов, диагностирующих биотипы щиповок комплекса *C. elongatoides* – *C. taenia* – *C. «tanaitica»*

Биотипы	Генотипические сочетания
2t ₁	<i>Aat-1</i> ¹⁰⁰⁻¹⁰⁰ , <i>Gpi-1</i> ¹⁰⁰⁻¹⁰⁰ , <i>Mdh-1A</i> ¹⁰⁰⁻¹⁰⁰ , <i>Pt-3</i> ¹⁰⁰⁻¹⁰⁰
e-2t ₁ , e-3t ₁	<i>Aat-1</i> ^{100-100/155} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/113} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/176} , <i>Mdh-1A</i> ^{100-100/167} , <i>Pt-3</i> ^{90/100-100}
e-t ₁ -t ₂	<i>Aat-1</i> ^{100-100/155} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/113} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/176} , <i>Mdh-1A</i> ^{100-100/167} , <i>Pt-3</i> ^{90-90/100}
e-2t ₁ -t ₂	<i>Aat-1</i> ^{100-100/155} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/113} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/176} , <i>Mdh-1A</i> ^{100-100/167} , <i>Pt-3</i> ^{90-90/100-100}
e-t ₁ -2t ₂	<i>Aat-1</i> ^{100-100/155} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/113} , <i>Gpi-1</i> ^{100-100/176} , <i>Mdh-1A</i> ^{100-100/167} , <i>Pt-3</i> ^{90-90/100}
2e-t ₂	<i>Aat-1</i> ^{100/155-155} , <i>Gpi-1</i> ^{100/113-113} , <i>Gpi-1</i> ^{100/113-176} , <i>Gpi-1</i> ^{100/176-176} , <i>Mdh-1A</i> ^{100/167-167} , <i>Pt-3</i> ^{90-90/90}

Примечание. Генотипы: e – *C. elongatoides*; t₁ – *C. taenia*; t₂ – *C. «tanaitica»*. Полуужирным шрифтом выделены генотипические сочетания, диагностирующие биотипы.

s. str. и, как считается [6–8], щиповка донская *C. «tanaitica»*. Все три вида отличаются друг от друга фиксациями аллелей ферментных и белковых локусов, анализируемых в настоящей работе (табл. 1).

Исходя из того, что в образовании полиплоидных гибридов принимают участие три вида, априорно следует предположить существование пяти триплоидных (*C. 2 elongatoides – taenia*, *C. 2 elongatoides – «tanaitica»*, *C. elongatoides – 2 taenia*, *C. elongatoides – 2 «tanaitica»* и *C. elongatoides – taenia – «tanaitica»*) и 8 тетраплоидных (*C. 3 elongatoides – taenia*, *C. 3 elongatoides – «tanaitica»*, *C. 2 elongatoides – 2 «tanaitica»*, *C. 2 elongatoides – 2 taenia*, *C. elongatoides – 3 taenia*, *C. elongatoides – 3 «tanaitica»*, *C. elongatoides – 2 taenia – «tanaitica»*, *C. elongatoides – taenia – 2 «tanaitica»*) биотипов. Основываясь на исследованиях генетической структуры щиповок Среднего и Верхнего Приднепровья [2, 4, 5, 17], можно утверждать, что здесь обитают только шесть гибридных полиплоидных форм: *C. elongatoides – 2 taenia*, *C. elongatoides – 3 taenia*, *C. elongatoides – taenia – «tanaitica»*, *C. elongatoides – 2 taenia – «tanaitica»*, *C. elongatoides – taenia – 2 «tanaitica»* и *C. 2 elongatoides – «tanaitica»*, которые диагностируются по набору электроморф (табл. 2). Исключение составляют триплоидный *C. elongatoides – 2 taenia* и тетраплоидный *C. elongatoides – 3 taenia* биотипы, электрофоретические спектры которых не отличаются. Поскольку обыкновенную щиповку *C. taenia* в Дунае замещает донская щиповка *C. «tanaitica»*, то очевидно, что биотип *C. 2 elongatoides – «tanaitica»* образуется только в бассейне Дуная, тогда как местом образования биотипов с участием *C. taenia* (*C. elongatoides – taenia – «tanaitica»* или *C. elongatoides – 2 taenia*) является водораздел бассейнов Дуная и рек Северного (Рейн, Эльба) и Балтийского (Висла) морей, где встречаются все три упомянутых вида [6–8, 15].

Типично дунайские гибридные полиплоиды *C. 2 elongatoides – «tanaitica»* и *C. elongatoides – 2 «tanaitica»*, будучи самыми распространенными в бассейне Дуная [5, 14, 15], на Среднем Днепре встречаются крайне редко, буквально единичными экземплярами, и то только биотип *C. 2 elongatoides – «tanaitica»*. В большинстве популяций его частота колеблется в пределах 0–2 % (табл. 3). Исключение составил бассейн р. Ирпень, в выборках из которой в 2001 г. было обнаружено 36 %, а в 2002 г. – 14 % особей биотипа *C. 2 elongatoides – «tanaitica»*. Наиболее вероятной причиной столь мас-

сового появления дунайского биотипа в разведенной дамбами и изолированной от Днепра небольшой реке мог быть случайный занос особей этого биотипа вместе с рыбопосадочным материалом, что могло случиться, например, при интродукции румынского карпа в экспериментальный рыбхоз «Нивка».

В 2001 г. в р. Ирпень были обнаружены особи диплоидного вида *C. taenia* (27 %), полиплоиды с доминированием геномов *C. taenia – C. «tanaitica»* (*C. elongatoides – 2 taenia*, *C. elongatoides – taenia – «tanaitica»*, *C. elongatoides – taenia – 2 «tanaitica»*), на долю которых пришлось 36 %, а также дунайский триплоид (*C. 2 elongatoides – «tanaitica»*), уровень плоидности которого был подтвержден цитометрией [4, 17] (табл. 4). Частота встречаемости дунайского биотипа здесь была в 30 раз выше, чем в целом по региону.

В следующем 2002 г. ситуация принципиально не изменилась, хотя более очевидным стало доминирование днепровских полиплоидов *C. elongatoides – 2 C. taenia – (C. «tanaitica»)*, доля которых в выборке составила 0,67. В этом же году здесь впервые была обнаружена триплоидная особь с необычным электрофоретическим вариантом *Aat-1^{95/155–155}* (рис. 1), которая по генотипам *Gpi-1^{100/113–176}*, *Mdh-1A^{100/167–167}*, *Pt-3^{90/90–90}* относится к дунайскому биотипу. Щиповки с такого рода спектрами *Aat-1* ранее единично обнаруживались в бассейне Дуная, и их появление связывали с гибридизацией неизвестного, но близкого к *C. «tanaitica»* вида (*Cobitis* sp.), с дунайской щиповкой [14].

В структуре гибридного сообщества, исследованного в 2004 г., буквально за два года произошли принципиальные изменения.

Во-первых, в двух значительных по объему выборках, взятых сентябре и октябре, не были обнаружены особи типичного дунайского биотипа *C. 2 elongatoides – «tanaitica»* со спектрами, отвечающими генотипу *Aat-1^{100/155–155}*, вместо них выявлены исключительно щиповки с электроморфами *Aat-1^{95/155–155}*, которые в 2002 г. встречались единично, а в 2001 г. не выявлялись вообще. О том, что это потомки именно дунайского триплоидного биотипа, свидетельствуют как спектры, в которых доминируют гены *C. elongatoides* (*Gpi-1^{100/113–113}*, *Gpi-1^{100/113–176}*, *Gpi-1^{100/176–176}*, *Mdh-1A^{100/167–167}*), так и отсутствие

продуктов гена $Pt-3^{100}$ в соответствующем спектре мышечных белков. Обращает на себя внимание и исключительно триплоидная структура этих необычных гибридных особей, что подтверждают диапазоны изменчивости размеров эритроцитов (табл. 5). Все они за единственным исключением были самками.

Во-вторых, дунайские биотипы резко увеличили свою представленность в популяции. Если в общей выборке 2001–2002 г. их доля была $0,21 \pm 0,06$, то в 2004 г. она уже составила $0,71 \pm 0,04$ ($t = 7,21$; $p < 0,001$). При этом встречаемость днепровских полиплоидов уменьшилась до $0,14 \pm 0,03$ (против $0,58 \pm 0,08$ в 2001–

2002 г.), а диплоидных особей сократилась более чем в два раза (от $0,225 \pm 0,07$ до $0,10 \pm 0,03$).

В-третьих, появились рекомбинантные полиплоидные самки (табл. 5), частота которых в популяции составила 4 %, причем три из них были тетраплоидами с размерами эритроцитов от 225 до 265 усл. ед., а одна – триплоидом (182 усл. ед.) (табл. 5). Такие особи легко диагностируются по симметричным спектрам (рис. 1), отвечающим генотипам $Aat-1^{95-95/155-155}$ либо $Aat-1^{100-100/155-155}$. По остальным локусам у них обнаружены асимметричные спектры, в которых доминировали либо продукты аллелей дунайской, либо «донской» щи-

Таблица 3

Соотношение биотипов щиповок комплекса *C. elongatoides* – *C. taenia* – *C. «tanaitica»* в водоемах Среднего Приднпровья

Выборки	Биотипы				n
	2t ₁	e-2t ₁ , e-3t ₁	e-t ₁ -t ₂ , e-2t ₁ -t ₂ , e-t ₁ -2t ₂	2e-t ₂	
р. Ирпень, Киевская обл. *	0,23	0,26	0,31	0,21	39
р. Десна, Киевская обл.	0,01	0,22	0,75	0,01	77
р. Удай, Полтавская обл.	0,03	0,08	0,88	0,01	99
р. Тетерев, Киевская обл.	0,21	0,31	0,48	0,00	42
р. Снов, Черниговская обл.	0,13	0,14	0,71	0,02	85
Озера и старицы в г. Киеве	0,17	0,33	0,50	0,00	12
Козинка, окрестности Киева	0,92	0,04	0,04	0,00	71
В о б щ е м	0,27	0,18	0,66	0,03	425

Примечание. Сокращения видов те же, что и в табл. 2. * Материалы 2001–2002 г.

Таблица 4

Динамика соотношения биотипов щиповок комплекса *C. elongatoides* – *C. taenia* – *C. «tanaitica»* в р. Ирпень

Выборки	Виды и биотипы							n
	Стандартные				Модифицированные			
	2t ₁	e-2t ₁ , e-3t ₁	e-t ₁ -t ₂ , e-t ₁ -2t ₂	2e-t ₂	2e-t ⁹⁵	R	B	
2001 г. (Ирпень)	0,27	0,09	0,27	0,36	–	–	–	11
2002 г. (Ирпень)	0,20	0,30	0,37	0,10	0,03	–	–	30
2004 г. (Ирпень)	0,08	0,05	0,12	–	0,71	0,04	–	110
2005 г. (Ирпень)	0,04	0,07	0,14	–	0,71	0,04	–	28
2006 г. (Ирпень)	0,05	0,05	–	–	0,75	–	0,10	20
2005 г. (Княжичи)	0,28	0,12	0,36	–	0,24	–	–	25
2005 г. (Гостомель)	0,07	–	0,14	–	0,79	–	–	14
2006 г. (Демидов)	0,23	0,14	0,45	–	0,09	–	0,09	22

Примечание. Сокращения те же, что и в табл. 2. t⁹⁵ – *C. «tanaitica»* с аллельным вариантом $Aat-1^{95}$; R – рекомбинанты, B – беккроссы.

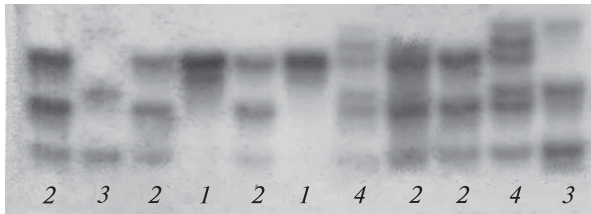


Рис. 1. Электрофоретические спектры аспаратамино-трансферазы (*Aat-1*), отвечающие генотипам: 1 – *C. taenia* (*Aat-1*^{100/100}), 2 – *C. elongatoides* – 2 *taenia* (*Aat-1*^{100-100/155}), 3 – *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» с модифицированным спектром (*Aat-1*^{95/155-155}), 4 – *C. elongatoides* – 2 *taenia* – «*tanaitica*» с модифицированным спектром *Aat-1*^{95-100-100/155}

повок. Так, у трех из четырех особей в спектрах *Gpi* преобладали продукты генов, свойственные *C. elongatoides*, а по *Mdh-1A*, наоборот, была увеличена доза генов *C. taenia* s. str. При этом локус *Pt-3* у этих четырех особей был представлен спектром, отвечающим генотипу *Pt-3*^{90-90/100}, что доказывает участие в образовании этих рекомбинантов трех гибридизирующих видов. Рекомбинантные особи никогда не отмечались у полиплоидных щиповок в Днепре [2, 4, 17], Северском Донце [3] и р. Москве [12, 13], где вместе с гибридами обитает только один родительский вид, но встречались в бассейне Дуная

Таблица 5
Средняя площадь эритроцитов, их стандартная ошибка и пределы изменчивости у щиповок комплекса *C. elongatoides* – *C. taenia* – *C. «tanaitica»* р. Ирпень (материалы 2004–2005 гг.)

Биотипы	n	M ± m	min	max
2t ₁	22	138,2 ± 2,2	125	158
e-2t	36	185,7 ± 1,86	161	210
e-3t	4	241 ± 14,2	210	276
2e-t ⁹⁵	111	186,7 ± 0,83	151	207
3e/t ⁹⁵	1	260,2 ± 22,7	237	283
R _{3n}	2	186,7 ± 5,1	181,7	191,8
R _{4n}	3	241,9 ± 12,0	224,9	265,2
B	2	245,0 ± 5,0	240	250

Примечание. 2t₁ – *C. taenia*; e-2t – *C. elongatoides* – 2 *taenia* s. l.; e-3t – *C. elongatoides* – 3 *taenia* s. l.; 2e-t⁹⁵ – *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» с модифицированным аллелем *Aat-1*⁹⁵; R_{3n} – рекомбинанты-триплоиды; R_{4n} – рекомбинанты-тетраплоиды; B – беккроссы.

[4, 18], где обитают два родительских вида и встречается множество гибридных форм.

В выборке 2005 г., собранной в непосредственной близости от пгт Ирпень, сохранились все особенности структуры гибридного сообщества, выявленные в 2004 г., т.е. отсутствовали типичные дунайские полиплоиды, вместо которых в популяции были широко представлены особи с модификациями спектра *Aat-1* (71 %) (табл. 4). Кроме того, в ней был обнаружен единственный рекомбинант-триплоид. По сравнению с предыдущим годом еще в два раза (до 4 %) уменьшилась частота встречаемости диплоидных особей *C. taenia*. Увеличение числа выборок показало, что массовое появление модифицированных дунайских биотипов наблюдали выше и ниже по течению от основного места сбора в р. Ирпень и, следовательно, это явление не узколокальное. Причем, если в выборке, взятой возле с. Княжичи, что на 30 км выше по течению, доля особей дунайского биотипа составляет только 24 %, то на 10 км ниже по течению в районе Гостомеля их представленность возрастает до 79 %. Следует отметить, что тенденция снижения концентрации полиплоидных биотипов в сообществах щиповок изолированных водоемов – явление нормальное [19] и связано с тем, что экспансия однополых щиповок идет по главным водотокам [9], а диплоидные местные популяции сохраняются на периферии жизненного пространства, в том числе и в верховьях рек или небольших речушках.

В 2006 г. в выборке, исследованной из окрестностей пгт Ирпеня, было обнаружено то же соотношение видов и биотипов, что и в предыдущем году, но при этом были обнаружены ранее отсутствовавшие биотипы. Так, две самки характеризовались уникальными электроморфами *Aat-1*^{95-100-100/155} (рис. 1). Судя по размерам эритроцитов (240–250 усл. ед.) – это тетраплоиды, которые, очевидно, являются результатом возвратной гибридизации модифицированных самок-гибридов с самцами *C. (taenia) taenia*, о чем свидетельствует доминирование в спектрах *Gpi-1*, *Mdh-1A* продуктов генов, свойственных именно этому виду.

В выборке из Демидова присутствовали те же биотипы, что и в Ирпене, но только в другом соотношении (табл. 4). В этой выборке

явно преобладают местные гибриды *C. elongatoides* – *2 taenia* s. l., а гибриды *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» с модифицированными спектрами *Aat-1* находятся в меньшинстве. Тем не менее и здесь выявлены гибриды-беккроссы со спектрами *Aat-1*^{95–100–100/155}, причем их доля (9 %) была практически такой же, как и на среднем течении реки.

Обсуждение полученных данных. Известно, что при гиногенезе или гибридогенезе, когда в момент или до оплодотворения на стадиях, предшествующих гаметогенезу, происходит исключение генома одного из родительских видов, наблюдаются случаи внедрения в норму элиминируемого генетического материала в геном потомства [20–22], причем инкорпорация может быть полной, когда речь идет об оплодотворении, или частичной, в этой ситуации корректно говорить о генных интрогрессиях. В первом случае у триплоидных особей случается тетраплоидное потомство [20], а во втором плоидность не меняется. Генные интрогрессии, как правило, не проявляются на фенотипическом уровне, а их факт подтверждается только путем генного маркирования на уровне митохондриальных или ядерных генов [21–23].

Очевидно, в случае гиногенеза у щиповок, когда ♂ *C. taenia* инициирует дробление яйцеклеток ♀ *C. elongatoides* – *2 taenia*, часть генетического материала самцов, проникшая в яйцеклетку, находит строго гомологичные участки генома и, взаимодействуя с ними, не вызывает изменений в функционировании генома. Иная ситуация имеет место при интрогрессиях генов ♂ *C. taenia* в яйцеклетки ♀ *2 C. elongatoides* – «*tanaitica*». В этом случае из-за отсутствия «родных» сайтов в геноме *C. «tanaitica»* происходят несбалансированные взаимодействия и нарушается стабильное функционирование, а может и структура генных систем, вследствие чего наблюдаются изменения изозимных спектров определенных локусов – в данном случае *Aat-1*.

Похожие случаи генетической нестабильности отмечены и в других гибридизирующих комплексах позвоночных, когда гены одного вида при возвратных скрещиваниях как бы диффундируют в геном другого. Например, аллели локуса *Ldh-B*, свойственные прудовой лягушке *R. esculenta* (= *lessonae*), после интрогрессии

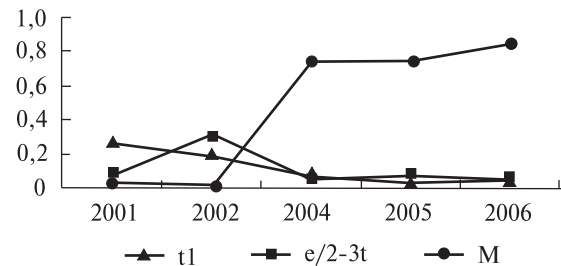


Рис. 2. Изменение структуры гибридного сообщества щиповок р. Ирпень за пятилетний период: t_1 – *C. (taenia) taenia*; $e/2-3t$ – триплоидные и тетраплоидные биотипы *C. elongatoides* – *2-3 taenia* s. l.; М – особи *C. elongatoides* – *2 «tanaitica»* с модификациями спектра *Aat-1*, а также рекомбинанты и беккроссы

в геном озерной *R. ridibunda* не только резко снижают степень экспрессии чужеродного внедрившегося гена, но и меняют электрофоретическую подвижность [22, 24], причем это событие адаптивно нейтральное, так как в дальнейшем модифицированные гены сохраняются в популяциях озерных лягушек и устойчиво передаются из поколения в поколение.

Если причиной появления в бассейне Ирпня особей дунайского биотипа со спектром, отвечающим генотипу *Aat-1*^{95/155–155}, являются массовые гиногенетические скрещивания ♀ *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» ♂ × *C. taenia*, то, по всей видимости, причиной появления рекомбинантных особей, тем более тетраплоидной конституции, являются повторные скрещивания модифицированных ♀ *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» с ♂ *C. taenia*. По причине редкости особей с рекомбинациями можно допустить, что гиногенетические скрещивания второго уровня, в отличие от скрещиваний первого, не являются событиями генетически нейтральными и сопровождаются высокой летальностью потомства из-за большого числа несбалансированных рекомбинаций, что подтверждает их триплоидно-тетраплоидная конституция.

Особый интерес вызывает появление беккроссов, характеризующихся спектрами *Aat-1*^{95–100–100/110}, которых, несмотря на некоторую рекомбинацию генетического материала, следует определять как *C. elongatoides* – *2 taenia* – «*tanaitica*». Их появление в популяции, так же

как и особей со спектрами *Aat-1*^{95/110–110}, носило «залповый» характер и, очевидно, связано с созреванием новых гибридных поколений, возникших в результате гибридизации ♂ *C. taenia* либо с ♀ *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*», либо с особями-рекомбинантами.

Таким образом, при гиногенетических скрещиваниях ♂ *C. taenia* × ♀ *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*», сопровождающихся интродукцией генетического материала, происходит дисбаланс в функционировании генных систем, и у потомства проявляются дефекты наследования, причем этот процесс накопления чужеродного генетического материала, судя по всему, идет по нарастающей: от скрещивания к скрещиванию. Накопления вначале нейтральны и не имеют видимого эффекта, затем по достижению критического числа интродукцированных генетических элементов происходят нарушения функционирования генных систем, что отражается как в нарушениях структуры электрофоретических спектров, так и в появлении рекомбинантных особей. Это положение о постепенном накоплении генетических нарушений следует из наблюдений за феноменологией появления генетически нестабильных особей в Ирпене. С одной стороны, временной промежуток с 2001 по 2004 гг., на протяжении которого произошло «залповое» изменение генетической структуры сообщества, совпадает с возрастом полового созревания щиповок, который составляет 2–3 года [25], с другой – доля чистых дунайских полиплоидов, оцененная в 2001–2002 гг. на уровне 25 %, дает по речному бассейну общую численность рыб этого биотипа порядка десятков тысяч. Это значит, что особи дунайских биотипов, отлавливавшиеся в 2001–2002 гг., не могли быть результатом одноразовой интродукции из бассейна Дуная, поскольку случайно завести такое огромное количество рыбы просто невозможно. Очевидно, щиповки дунайского биотипа появились в р. Ирпень одно-два десятилетия назад, причем гораздо в меньшем количестве и только постепенно, как свойственно всем полиплоидным формам щиповок, склонным к экспансии [9, 18], накопили численность, потеснив диплоидную *C. taenia* и местных полиплоидов. И только через определенное число гиногенетических скрещиваний,

после того как сменилось не одно поколение, в геноме дунайских триплоидов аккумулировалось критическое количество чужеродного генетического материала, перенесенного от местного диплоидного вида, что привело к видимым генетическим изменениям. Возможно, что сигналом к генетической нестабильности, проявившейся практически одновременно у всего потомства, и стали какие-либо средовые воздействия, например, потепление климата в первые годы XXI столетия, хотя, как следует из работ классического периода генетики, вспышки мутаций, наблюдавшиеся у дрозофил, явно не коррелируют с экстремальными климатическими явлениями [26].

В связи с явлением несбалансированных гиногенетических скрещиваний следует обратить внимание на определенные закономерности структуры диплоидно-триплоидных поселений щиповок, где, как правило, родительский вид сосуществует с триплоидным биотипом, у которого в двойном наборе представлен геном именно этого родительского вида. Это значит, что в смешанных популяциях, где среди диплоидов представлена только ♂ *C. taenia*, будут встречаться главным образом триплоидные гибриды ♀ *C. elongatoides* – 2 *taenia* или ♀ *C. elongatoides* – *taenia* – «*tanaitica*», как это имеет место в смешанных популяциях бассейнов рек Восточной Европы (р. Москва [13], Средней Днепр [2, 4] и Северский Донец [3]). В альтернативных сообществах, в которых диплоидные виды представлены только особями *C. elongatoides*, будут присутствовать почти исключительно гибриды *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*», как это выявлено в Дунайском бассейне [14, 15, 18], где обитают два диплоидных вида (*C. elongatoides* и *C. «tanaitica»*) и соответственно встречаются биотипы *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» и *C. elongatoides* – 2 «*tanaitica*», причем встречаемость этих биотипов пропорциональна представленности в популяции соответствующих родительских видов [18]. В редко попадающихся «альтернативных» сообществах щиповок, в которых, что характерно, преобладают диплоидные особи, как и в случае с Ирпением, проявляется генетическая нестабильность, что подтверждается находками особей с аномальными изозимными спектрами. Так, особи с модифицированным генотипом *Aat-*

^{195/155-155}, кроме р. Ирпень, обнаружены нами в популяциях среднего течения Южного Буга, где наряду с диплоидными *C. taenia* встречались еще и *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», а также на Среднем [14] и Нижнем [18] Дунае, где, очевидно, время от времени происходят несбалансированные скрещивания типа ♂ *C. «tanaitica»* × ♀ *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*». Необычные электрофоретические варианты в спектре, кодируемом локусом Aat-1, обнаружены в популяциях щиповок биотипа *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» равнинного Закарпатья [5]. Размножение указанного биотипа в этой популяции может осуществляться только в гиногенетических скрещиваниях с самцами дунайской щиповки.

Еще один случай несбалансированных гиногенетических скрещиваний наблюдается в р. Москве, где триплоидные ♀ *C. elongatoides* — 2 *taenia* размножаются с помощью ♂ *C. melanoleuca*, в результате чего образуются тетраплоиды *C. elongatoides* — 2 *taenia* — *melanoleuca*, особенностью которых является почти равное соотношение особей двух полов, что свидетельствует о необычности взаимодействия генетических систем в таком сложном генетическом образовании, поскольку обычно доля самцов среди триплоидно-тетраплоидных биотипов колеблется в пределах 1–5 % [4, 14, 15, 18, 27].

Таким образом, из-за того, что при гиногенезе происходит инкорпорация какой-то части генетического материала диплоидного вида в геном полиплоидного биотипа, которые являются чужеродными по отношению друг к другу, в ряду поколений происходят генетические изменения, причем масштаб этих, вероятнее всего, обратимых модификаций будет тем больше, чем сильнее генетически отличается диплоидный самец от полиплоидной самки. Можно предположить, что при скрещиваниях ♀ЕЕТ × ♂ЕЕ, где Е — *C. elongatoides*, а Т — *C. taenia* или *C. «tanaitica»*, или ♀ЕТТ × ♂ТТ генетические модификации не должны наблюдаться вообще. При альтернативных скрещиваниях ♀ЕЕТ × ♂ТТ (♀ЕТТ × ♂ЕЕ) могут наблюдаться минимальные нарушения, а при скрещиваниях, когда гиногенетические самки используют для размножения самцов третьего вида, как это и имеет место в р. Ирпень, рано

или поздно будут происходить более существенные изменения и появляться особи-рекомбинанты. Соответственно самыми устойчивыми во времени будут сообщества, в которых происходят скрещивания первого типа, менее второго и наименее третьего типа.

Выводы. Гиногенетические скрещивания у щиповок нельзя рассматривать как событие генетически нейтральное, поскольку при некоторых обстоятельствах может происходить инкорпорация либо ограниченной части генетического материала, либо, в случаях оплодотворения, целого отцовского генома. При ограниченных генных интрогрессиях, наблюдающихся при гиногенетических скрещиваниях самцов одного вида с триплоидными гибридными самками, образовавшимися от двух других, у потомков происходят нарушения функционирования генных систем, что может быть проинтерпретировано как случай генетической нестабильности. Вновь возникшие гибридные биотипы щиповок, имеющие генетические изменения, подобно адвентивным видам обладают свойством экспансии.

SUMMARY. Monitoring of hybrid assemblage of spined loach carried out during the six-year period represents description of the unique case of reproductive interaction of the Danube triploid females *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», spontaneously introduced in the Irpen river (Medium Dnieper river basin), with local diploid males *C. taenia*. As it appears from the obtained results, even during the similar «crosses» the restricted incorporation of *C. taenia* genetic material into *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*» hybrid genome takes place. As a result the descendants undergo modifications of electrophoretic hybrid spectrum of Aat-1 locus that can be interpreted as development of genetic instability. During two years the generically modified brood has not only completely superseded the normal Danube triploid descendants from the Irpen river, but also has sharply increased representation of introgressants in the basin. As a consequence the assemblage of spined loach of this river at the moment by more than one half consists of the Danube modified triploids. During subsequent gynogenetic «crosses» of already modified triploid female *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*» with *C. taenia* males tetraploid recombinants and backcrosses have appeared in the population which have never been observed in the Dnieper spined loach populations. The fact of the directional genome transformations during gynogenetic crosses proves that initialisation of an ovule splitting by spermatozoon is not generically neutral event.

РЕЗЮМЕ. Моніторинг гібридного угруповання щиповок, що проводився протягом шестирічного періоду, являє собою опис унікального випадку репродуктивної взаємодії самок дунайської триплоїдної форми *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*», яка була стихійно інтродукована в р. Ірпінь (басейн Середнього Дніпра), з місцевими диплоїдними самцями *C. taenia*. З отриманих результатів випливає, що навіть при подібних схрещуваннях має місце обмежена інкорпорація генетичного матеріалу *C. taenia* в гібридний геном *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*». В результаті у потомків відбуваються модифікації електрофоретичного гібридного спектра локусу *Aat-1*, що може бути інтерпретоване як виявлення генетичної нестабільності. Генетично модифіковане потомство за два роки не просто повністю витіснило з Ірпіння нормальних дунайських триплоїдів, але й різко збільшило представленість інтрогресантів в басейні. В результаті угруповання щиповок цієї річки зараз більше ніж напововину складається з дунайських модифікованих триплоїдів. При наступних гіногенетичних «схрещуваннях» вже модифікованих триплоїдних самок *C. 2 elongatoides* – «*tanaitica*» з самцями *C. taenia* в популяції з'явилися тетраплоїдні рекомбінанти і беккроси, які ніколи не відмічалися в дніпровських популяціях щиповок. Факт спрямованих перетворень геному при гіногенетичних схрещуваннях доводить, що ініціація дробіння яйцеклітини сперматозоїдом не є подією генетично нейтральною.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильев В.П. Диплоидно-триплоидный комплекс щиповок в роде *Cobitis* (Pisces, Cobitidae) // Докл. АН СССР. – 1990. – **312**, № 1. – С. 249–252.
2. Межжерин С.В., Чудагорова Т.Ю. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis taenia* (Cypriniformes : Cobitidae) бассейна Среднего Днепра // Генетика. – 2002. – **38**, № 1. – С. 86–92.
3. Межжерин С.В., Лисецкая Т.Ю. Генетическая структура видового комплекса щиповок *Cobitis* аус. (Cypriniformes : Cobitidae) бассейна Северского Донца // Цитология и генетика. – 2004. – **38**, № 1. – С. 36–43.
4. Лисецкая Т.Ю. Структура комплексу щиповок родів *Cobitis* і *Sabanejewia* (Cypriniformes: Cobitidae) басейну Середнього Дніпра та р. Сіверський Донець: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – К., 2004. – 22 с.
5. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетические доказательства существования нового диплоидно-полиплоидного комплекса рыб *Cobitis elongatoides* – *C. taenia* (Cypriniformes, Cobitidae) в фауне Украины // Доп. НАН України. – 2004. – № 10. – С. 170–174.
6. Janko K., Culing M.A., Rab P. and 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.
7. Janko K., Vasil'ev V.P., Rab P., Rabova M., Slehtova V., Vasil'eva E.D. 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**, № 4. – P. 405–420.
8. Culing M.A., Janko K., Boron A., Vasil'ev V. P. Cote I., Hewitt G.M. European colonization by the spined loach (*Cobitis taenia*) from Ponto-Caspian refugia based on mitochondrial DNA variation // Mol. Ecol. – 2006. – **15**. – P. 173–190.
9. Межжерин С.В., Чудагорова Т.Ю. Экспансия триплоидных однополых щиповок *Cobitis taenia* L. 1758 (Cypriniformes, Cobitidae) в водотоках Украины // Доп. НАН України. – 2001. – № 9. – С. 153–157.
10. Ueno K., Ojima Y. Diploid-tetraploid complexes in the genus *Cobitis* (Cobitidae, Cyprinida) // Proc. Japan Acad. – 1976. – **52**. – P. 446–449.
11. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. – М.: Наука, 1985. – 299 с.
12. Васильев В.П., Васильева Е.Д., Осинов А.Г. К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных. Диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae). 4. Тетраплоидные формы // Вопр. ихтиологии. – 1990. – **30**, вып. 6. – С. 908–919.
13. Осинов А.Г., Васильев В.П., Васильева Е.Д. К проблеме сетчатого видообразования у позвоночных. Диплоидно-триплоидно-тетраплоидный комплекс в роде *Cobitis* (Cobitidae). 2. Характеристика триплоидной формы // Вопр. ихтиологии. – 1990. – **30**, вып. 2. – С. 214–220.
14. 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**, sup. 1. – P. 67–78.
15. Bohlen J., Rab P., Plechtova V., Rabova M., Ritterbusch D., Freyhof J. Hybridogenous biotypes in spined loaches (genus *Cobitis*) in Germany with implications for conservation // Conservation of freshwater fishes: options for the future / Ed. M. J. Colares-Pereira et al. – 2002. – P. 311–321.
16. Slechtova V., Luskova V., Slechta V., Lusk S., Pivonkova J. Potential species identification by allozyme/protein markers in European spined loaches // Folia Biol. (Krakow). – 2003. – **57**, № 1. – P. 43–47.
17. Лисецкая Т.Ю., Межжерин С.В. Видовой состав и структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis taenia* (Cypriniformes, Cobitidae) бассейна Среднего Днепра // Рыбне хозяйство. – 2004. – Вып. 63. – С. 142–146.

18. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis* (Cypriniformes, Cobitidae) низовий Дуная // Цитология и генетика. — 2006. — **41**, № 1. — С. 56—65.
19. Lusk S., Колю J., Halauka K., Luskova V., Flajshans M. Identification of *Cobitis* from the Slovakian part of the Tisza basin // Folia Biol. (Krakow). — 2003. — **51**. — P. 61—65.
20. Bogart J.P., Elison R.P., Licht L.E. Temperature and sperm incorporation in polyploid salamanders // Science. — 1989. — **246**, № 4933. — P. 1032—1034.
21. Saitoh K., Kim., Lee E.-H. Mitochondrial gene introgression between spined loaches via hybridogenesis // Zool. Sci. — 2004. — **21**. — P. 795—798.
22. Межжерин С.В., Морозов-Леонов С.Ю. Диффузии генов в гибридных популяциях зеленых лягушек *Rana esculenta* L., 1758 complex (Amphibia, Ranidae) Приднпровья // Генетика. — 1997. — № 3. — С. 358—364.
23. Spolsky C., Uzzell T. Natural interspecies transfer of mitochondrial DNA in Amphibians // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1984. — **81**. — P. 5802—5805.
24. Межжерин С.В., Морозов-Леонов С.Ю., Некрасова О.Д. Естественный перенос ядерных генов в гибридных популяциях зеленых лягушек *Rana esculenta* L., 1758 complex // Генетика. — 2004. — **40**, № 12. — С. 1646—1653.
25. Мовчан Ю.В. Вьюновые, сомовые и др. // Фауна Украины. Т. 8. Рыбы. — 1988. — Вып. 2. — 366 с.
26. Гершензон С.М. «Вспышки» мутаций некоторых генов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1997. — **33**, № 4. — С. 421—430.
27. Luskova V., Колю J., Halauka K., Stramii I., Lusk S., Flajshans M. Status of populations of the genus *Cobitis* in Slovakia // Biologia, Bratislava. — 2004. — **59**, № 5. — P. 621—626.

Поступила 19.06.06