

С.В. МЕЖЖЕРИН, И.Л. ЛИСЕЦКИЙ

Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена

НАН Украины

01601, Киев, ул. Б. Хмельницкого, 15

E-mail: mezh@svitonline.com

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ КАРАСЕЙ (CYPRINIFORMES, CYPRINIDAE, CARASSIUS L. 1758), НАСЕЛЯЮЩИХ ВОДОЕМЫ СРЕДНЕДНЕПРОВСКОГО БАССЕЙНА



Комплексное исследование структуры популяций карасей Среднего Днепра проведено с помощью биохимического генного маркирования, цитометрии и биологического анализа. В результате выявлена структура, которая может быть интерпретирована как сообщество генетически связанных друг с другом видов и форм. Его основу составляют диплоидный серебряный карась *C. auratus*, доминирующий в большей части популяций, золотой карась *C. carassius*, выявленный только в некоторых водоемах северо-востока, и триплоидный серебряный карась *C. gibelio*, однородные популяции которого обнаружены только на северо-востоке Левобережья, хотя отдельные особи могут попадаться среди диплоидных *C. auratus*. Кроме того, выявлены три гибридные формы: диплоидная *C. auratus* — *C. carassius* и предположительно тетраплоидные *C. auratus* — *C. gibelio* и *C. gibelio* — *C. carassius*, в спектрах которых, однако, отсутствовал ряд специфичных аллелей, которые маркируют неизвестный родительский вид, давший при гибридизации с обычным диплоидным карасем триплоидный вид *C. gibelio*. Предполагаемые гибриды-тетраплоиды четко диагностируются по резко выделяющимся крупным эритроцитам, которые у гибридов *C. auratus* — *C. gibelio* на 40 % превышают размеры эритроцитов диплоидных особей, а у *C. gibelio* — *C. carassius* — на 100 %.

© С.В. МЕЖЖЕРИН, И.Л. ЛИСЕЦКИЙ, 2004

Введение. Постоянный интерес к карасям и, особенно, к серебряному карасю *Carassius auratus* L., 1758 s. lato, усилившийся на протяжении последних десятилетий [1–7], позволил установить ряд явлений, сделавших представителей рода уникальной моделью генетических и эволюционных исследований. Прежде всего, это полиплоидия, сопровождающаяся образованием однополых форм [8–11], которым в последнее время склонны придавать видовой статус [12]. Исследования, выполненные на серебряных карасях Восточной Азии, показали, что наряду с диплоидами и триплоидами в естественных популяциях встречаются еще и тетраплоиды [1], являющиеся результатом возвратной гибридизации триплоида с диплоидом [11]. Ситуация с образованием полиплоидных рас карасей выглядит особенно интригующей потому, что на самом деле «диплоидный» серебряный карась *C. auratus* s. str. — это амфидиплоид ($2n = 98-100$) [2,13]. Значит триплоидный *C. gibelio* — гексаплоид, а тетраплоидные гибриды — октоплоиды. Такой высокий уровень полиплоидии, сопровождающийся партеногенетическим способом воспроизводства, явление для позвоночных уникальное и потому требует пристального внимания.

Генетические исследования восточноазиатских карасей, выполненные с помощью биохимических маркеров [1] и анализа полиморфизма ДНК [4, 6–7], установили, что в пределах популяционного вида *C. auratus* s. lato скрываются как минимум три амфидиплоидных вида, скрещивающихся друг с другом и образующих «сетку» [14] полиплоидных рас. В отличие от восточноазиатских карасей европейские популяции *C. auratus* практически не исследованы на уровне генных маркеров, хотя и в таксономической структуре карасей Западной Палеарктики до самого недавнего времени оставалось много неясного. Прежде всего, это статус и происхождение гиногенетической триплоидной формы *C. gibelio*, которой в последней систематической сводке по рыбам Западной и Центральной Европы [12] придали статус вида. Еще в начале 60-х годов, когда была доказана триплоидная структура гиногенетических карасей [8], высказывалось предположение, что их появление — результат гибридизации *C. auratus* с каким-то другим амфидиплоидным видом [8]. Позднее эта гипотеза была конкретизирована [5], и, основываясь на ана-

лизе морфологических признаков, в качестве второго предкового вида триплоидных карасей был предложен неизвестный представитель восточноазиатской группы серебряных карасей.

Предварительные исследования генетической структуры карасей обоеполюх и двуполох популяций водоемов Центральной Украины [15], с одной стороны, подтвердили тот факт, что триплоидные особи — это гибриды *C. auratus* и неизвестного представителя группы *C. auratus* s.l., а с другой — показали, что ситуация с полиплоидными карасями намного запутаннее. Так, в двуполох популяциях встречаются самки с эритроцитами, размеры которых настолько значительны, что они даже несколько превышают размеры эритроцитов триплоидных карасей из однополых популяций, что дает все основания считать их полиплоидами. Однако анализ аллозимов дал неожиданные результаты. Во-первых, оказалось, что у этих самок отсутствуют какие-либо диагностические спектры и проявляется эффект дозы гена по константно гетерозиготным спектрам, что обычно свойственно аллотриплоидам и отличается полиплоидов от диплоидов. Во-вторых, у них обнаружен высокий уровень генетического полиморфизма, тогда как однополые популяции, в том числе и серебряного карася [15], размножающиеся партеногенезом, имеют структуру клона, что на уровне аллозимов проявляется в фиксации определенных генотипических сочетаний.

Особый интерес вызывают и взаимоотношения серебряного и золотого карася. Известно, что последний, будучи в начале XX в. фоновым видом в водоемах Украины [16], сейчас практически замещен обоеполюх серебряным карасем [17, 18]. Одним из механизмов этого вытеснения вполне могла стать и гибридизация, при которой стерильные межвидовые гибриды золотого и серебряного карасей как бы поглотили репродуктивный потенциал золотого карася — вида, который в силу ухудшившихся экологических условий и без того имел тенденцию к сокращению своей численности. Это объяснение вполне приемлемо хотя бы потому, что у пресноводных рыб гибридизация — явление распространенное, однако достоверные конкретные сведения, подтверждающие естественную гибридизацию имен-

но *C. carassius* и *C. auratus*, до сих пор отсутствуют.

С целью выявления особенностей генетической структуры комплекса серебряного карася *C. auratus* s.l. фауны Украины, а также определения факта гибридизации золотого и серебряного карасей и было проведено изучение генетической структуры ряда выборок серебряного карася, которые естественным образом воспроизводятся в водоемах Украины.

Материал и методы. Основой данного исследования послужило 27 выборок серебряного карася *C. auratus*, собранных в 2001–2003 гг. главным образом из прудов среднестепного водосборного бассейна (табл. 1). Рыбы живьем доставлялись в лабораторию, где проводили морфометрическую обработку, брали мазки крови для цитометрии, а также мышцы для электрофоретического анализа. В некоторых случаях мазки делали на месте вылова. Кроме того, в качестве контроля послужили несколько особей золотых карасей *C. carassius*, оказавшихся в прилове.

Стандартным методом электрофореза в 7,5%-ном полиакриламидном геле [19] изучен ряд ферментов, а также структурные белки мышц, которые уже показали себя как надежные маркеры при анализе генетической структуры поселений этого вида [15]: аспаратаминотрансфераза (*Aat-1*, *Aat-2*), глюкозофосфатизомераза (*Gpi-A*, *Gpi-B*), неспецифические эстеразы (*Es-1*, *Es-2*, *Es-3*) и структурные белки мышц (*Pt-1*, *Pt-2*, *Pt-3*).

Плоидность карасей определяли по площади эритроцитов [3, 8, 10, 20]. Каждый экземпляр был проанализирован как минимум по 10 эритроцитам.

Морфологический анализ гибридов проведен по числу жаберных тычинок на первой дуге — признаку, позволяющему не только однозначно идентифицировать экземпляры серебряного и золотого карася, но также отличить на сериях диплоидного *C. auratus* и триплоидного карасей *C. gibelio* [5].

Результаты исследований. Половая структура. Из 27 исследованных выборок только 7 представляли однополые популяции. Это были все без исключения выборки из Сумской области, а также выборки с Левобережья Черкасской (Кононовка) и Киевской (окрестности Яготи-

на) областей. Остальные выборки содержали самцов, доля которых колебалась в достаточно широких пределах — от 18 до 84 % (табл. 1).

Цитометрия. За весь период исследования число цитометрически изученных рыб, которых по морфологическим признакам определили как *C. auratus* s.l., составило 512 экз. При анализе распределения этих рыб по площади эритроцитов четко обозначались три независимых распределения (рис. 1), причем первое и второе имели небольшую трансгрессию, охватывающую около 5 % особей, а значения второго и третьего распределений не перекрывались вообще.

Первое распределение, явно одновершинное, охватывает диапазон значений от 110 до 160 и в него входят 85 % всех цитометрически исследованных рыб. В подавляющем большинстве случаев это особи двуполых популяций и, следовательно, представители диплоидной формы *C. auratus* s.str. Единственное исключение составила однополая выборка из окрестностей Яготина, в которой 85 % имели размеры эритроцитов до 160 усл. ед. и, следовательно, были диплоидами. У карасей остальных однополых выборок размеры эритроцитов были явно больше 160. Сопоставление средних размеров эритроцитов самок ($134,2 \pm 1,07$) и самцов ($135,3 \pm 0,91$) не выявило различий между полами, что также подтверждает диплоидную природу рыб в этой выборке.

Второе распределение имеет тенденцию к многовершинности и охватывает диапазон от 160 до 200 (рис. 1). Известно [14, 20–22], что увеличение размеров эритроцитов у триплоидных рыб по сравнению с диплоидными в среднем происходит на 1/3, что и в данном случае при сравнениях модальных значений имеет место ($135 : 175 = 1 : 1,3$). Большую часть второго распределения образуют караси однополых популяций (Кононовка, Лифино и Великие Вельмы), а также часть особей из некоторых бисексуальных популяций. Подавляющее большинство рыб в этом распределении, составленном из 62 особей, — это самки и только 2 были самцами, причем размеры эритроцитов у последних были на границе диплоидных и триплоидных особей (164, 168 усл. ед.). Следует подчеркнуть, что небольшая трансгрессия размеров эритроцитов между диплоидами и триплоидами у карасей, имею-

Таблица 1
Места сбора выборок серебряных карасей, доля в них самок (♀, %), а также число генетически маркированных (n_1) и цитометрически исследованных (n_2) особей

Место выборки	♀, %	n_1	n_2
Винницкая обл. пруд с. Дубовые Махаринцы, Ка- тинский р-н	68	35	34
Житомирская обл. пруд с. Украинка, Малинский р-н	70	—	10
Киевская обл. оз. Министерское, Киев рыбхоз «Нивка», Киев	67	—	9
пруд с. Качалы, Бородинский р-н	57	80	63
пруд с. Богдановка, Яготинский р-н	42	14	12
пруд в окрестностях г. Яготина	36	25	11
пруд с. Иванков, Бориспольский р-н	100	21	21
Одесская обл. р. Дунай, г. Вилково	37	8	8
Полтавская обл. пруд с. Райозеро, Оржицкий р-н	54	11	13
пруд с. Исковцы, Лубенский р-н	38	20	13
пруд с. Корнеевка, Гребенковский р-н	80	20	10
пруд с. Николаевка, Лубенский р-н	82	24	7
Кременчугское вдхр., окр. с. Бугаев- ка, Глобинский р-н	63	19	16
Сумская обл. пруд с. Лифино, Лебединский р-н, 2002 г.	58	20	19
то же, 2003 г.	100	26	15
пруд с. Большие Вильмы, Сумской р-н	100	22	21
пруд на территории Деснянско- Старогутского НП, Середина-Будс- кий р-н	100	20	11
Тернопольская обл. пруд с. Хоростков, Гусятинский р-н	100	18	15
пруд с. Урмань, Бережанский р-н.	16	24	24
Черкасская обл. пруд с. Шрамповка, Драбовский р-н	24	31	29
пруд № 1 с. Кононовка, Драбовс- кий р-н	65	23	17
пруд № 2 этого же села	100	19	11
с. Гречановка, Драбовский р-н	85	20	7
с. Кишенцы, Уманьский р-н	41	27	27
Иркиевский рыбхоз, Чернобаевс- кий р-н	57	20	30
	52	80	50

щая место в Среднем Приднепровье, подтверж-
дается другими исследователями [3] и входит
в пределы 5 %.

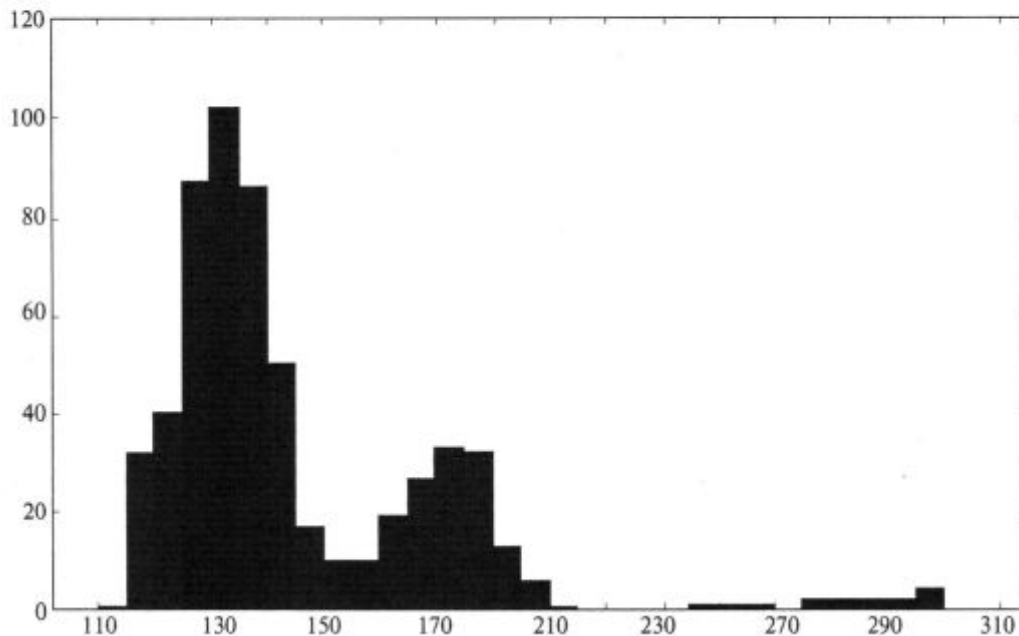


Рис. 1. Изменчивость размеров площади эритроцитов в общей выборке исследованных карасей: по вертикали — количество особей; по горизонтали — площадь эритроцитов, усл. ед.

Третье совершенно независимое распределение охватывает рыб с размерами эритроцитов от 235 до 300 усл. ед. Это значит, что в среднем эритроциты этих карасей увеличены по сравнению с диплоидными на 100 % и они, по меньшей мере, являются тетраплоидами.

Размеры эритроцитов исследованных золотых карасей хорошо соответствовали размерам эритроцитов диплоидных серебряных карасей и составили в среднем $124,5 \pm 5,5$.

Биохимическое генное маркирование предполагаемых диплоидов, составляющих группу карасей с размерами эритроцитов от 110 до 160, проведено по 10 локусам. Несмотря на высокий уровень полиморфизма, который наблюдался по локусам *Aat-1*, *Gpi-1*, *Gpi-2*, *Es-1*, *Es-2*, *Es-3*, *Pt-2* (рис. 2), все особи за исключением семи экземпляров, определенных по спектрам как гибриды, конспецифичны и должны быть отнесены к *C. auratus* s. str. Два локуса, *Aat-1* и *Gpi-1*, являются дублированными и представлены изолюкусами, вследствие чего в гетерозиготном спектре проявляется эффект дозы гена (табл. 1, рис. 1). Проверка наблюдавшихся распределений генотипов, проведенная в достаточно объемных выборках, показала хорошее соответствие наблюдаемых

и ожидаемых распределений, за исключением серии рыб из пруда с. Качалы, в которой у 12 из 14 исследованных карасей были гетерозиготные генотипы *Aat-1*^{100/100/110} и *Aat-1*^{100/110}, что свидетельствует об избытке гетерозигот в этой выборке. Кроме того, эти караси явно отличались от остальных необычайно прогонистой формой тела.

Проверка распределений в тотальной выборке диплоидных карасей подтвердила соответствие ожидаемого и наблюдаемого распределений генотипов по 5 полиморфным локусам (табл. 2). Исключение составил только локус *Es-3*, аллельные варианты *Es-3*¹⁰⁰ и *Es-3*⁹⁹ которого чрезвычайно близки по подвижности, что затруднило распознавание гетерозиготы *Es-3*^{99/100} и, по-видимому, определило дефицит гетерозигот.

Кроме того, в эту группу рыб попали также гибриды золотого и серебряного карасей, обнаруженные в выборках из прудов сел Богдановка (2 экз.) и Шрамповка (4 экз.), о чем свидетельствуют гетерозиготные генотипы *Aat-1*^{80/100}, *Aat-2*^{90/100}, *Pt-1A*^{90/100}, альтернативные аллели которых фиксированы у этих видов (рис. 2). По наличию икры эти гибриды были определены как самки. Средние размеры эритроцитов

134,4 ± 5,4 свидетельствуют об их диплоидной структуре. Особый интерес вызвала особь, у которой при стандартном электрофоретическом спектре мышечных белков и глюкозофосфат-изомеразы обнаружены совершенно необычные спектры аспаратаминотрансферазы и неспецифических эстераз (рис. 2). По облику, размерам тела и меристическим признакам эта рыба вполне вписывалась в фенотип серебряного карася, а по размерам эритроцитов (126 усл. ед.) однозначно была диплоидом. На современном уровне знаний можно только предполагать, что это либо гибрид серебряного карася с карпом, что наблюдается довольно часто [23], либо неизвестная диплоидная форма серебряного карася.

Электрофоретический анализ предполагаемых триплоидов позволил их разделить на две группы. Первую составили рыбы однополых популяций Лифино, Великие Вельмы, Кононовка-1, а также единичные экземпляры из бисексуальных выборок Нивка, Кононовка-2, Яготин и некоторых других. Эти караси характеризовались фиксацией гетерозиготных генотипов *Aat-1*^{100/100/109}, *Aat-2*^{0/110}, *Gpi-1*^{60/100/100/}, *Gpi-2*^{85/100}, *Es-1*^{90/100/110}, *Es-2*^{100/105}, *Pt-2*^{90/100} и четко диагностировались по наличию в гетерозиготе аллелей *Aat-2*¹¹⁰, *Gpi-1*⁶⁰, *Es-1*⁹⁰, характерных только для этих триплоидов. У диплоидов аллель *Es-1*⁹⁰ встречается крайне редко, а потому гибридные спектры с их участием могут рассматриваться в качестве диагностических признаков. Кроме того, константность аллельного состава триплоидов является свидетельством их монофилиичности и подтверждением клоновой структуры их популяций.

Совершенно иную генетическую структуру имеют полиплоиды, встречающиеся в бисексуальных популяциях, где они могут составлять как подавляющее большинство особей в популяции, например в Кононовке-2, где 11 особей из 9 были полиплоидами, так и быть представленными единичными экземплярами. По набору и характеру изменчивости изученных биохимических маркеров эти полиплоиды ничем не отличались от диплоидных *C. auratus* (табл. 2). У них не обнаружена константная гетерозиготность и не выявлены видоспецифичные аллели. Характерным для них также являются относительно крупные эритроциты (табл. 2),

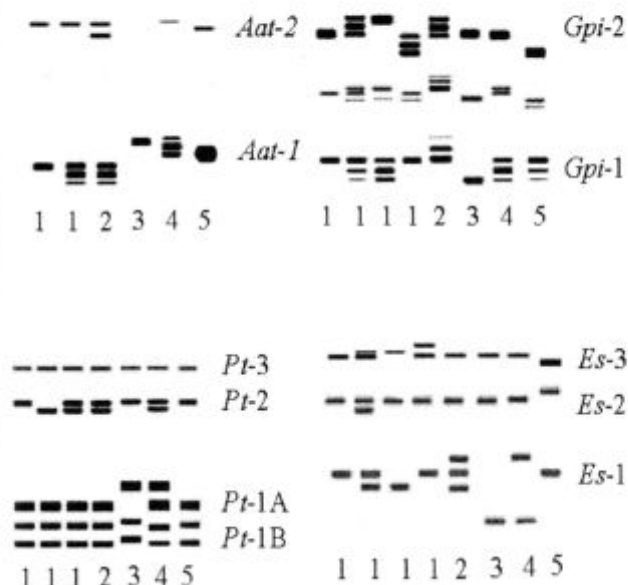


Рис. 2. Электрофоретические спектры: аспаратаминотрансфераза (*Aat-1*, *Aat-2*), глюкозофосфатизомеразы (*Gpi-1*, *Gpi-2*), неспецифических эстераз (*Es-1*, *Es-2*, *Es-3*) и общего белка мышц (*Pt-1*, *Pt-2*, *Pt-3*): 1 — серебряного карася *C. auratus* (самые обычные варианты); 2 — триплоидного *C. gibelio*; 3 — золотого карася *C. carassius*; 4 — гибридов золотого карася с серебряным *C. auratus* — *C. carassius*; 5 — формы неясного происхождения и статуса

достоверно большие, чем у триплоидов ($t = 2,96$, $p < 0,01$). Единственное различие на уровне генотипов, которое было обнаружено при сравнении диплоидных *C. auratus* с этими необычными полиплоидами, это некоторое увеличение уровня их гетерозиготности (табл. 2), что теоретически должно быть свойственно полиплоидным организмам [24]. Объяснений причин появления полиплоидов с такой необычной генетической структурой может быть несколько. Одной из наиболее вероятных нам представляется гипотеза, основанная на предположении о гибридизации *C. auratus* и *C. gibelio*, при которой образуются тетраплоидные гибриды с очень низкой экспрессией генов *C. species* — вида, давшего при гибридизации с *C. auratus* триплоидный *C. gibelio*. Гипотеза подтверждается и характером географического распределения этой необычной полиплоидной формы, встречаемость которой в популяциях карасей Левобережья, где как раз и распространены в популяции *C. gibelio*, составляет 15,4 %. Особенно высока частота этих гибридов в водоемах окре-

Таблица 2

Наблюдаемое (*obs.*) и ожидаемое (*exp.*) распределение, наблюдаемая гетерозиготность (H_{obs}) у *C. auratus* и предполагаемых гибридов *C. auratus* — *C. gibelio*

Локус и генотипы	<i>C. auratus</i>				<i>C. auratus</i> — <i>C. gibelio</i>	
	obs.	exp.	χ^2	H _{obs}	obs.	H _{obs}
<i>Aat-1</i>						
65/100/100/100	15	13,3	0,7	0,212		0,324
100/100/100/100	381	385			25	
100/100/100/109	63	82			8	
100/100/109/109	17				4	
100/109/109/109	8					
109/109/109/109	2				3,5	
<i>Gpi-2</i>						
85/85	7	8,8	2,85	0,422		0,667
85/100	74	74,3			6	
100/100	163	157,6			10	
100/115	39	43,7			9	
115/115	4	3				
85/115	14	10,3			5	
<i>Gpi-1</i>						
100/100/100/100	253	257,8	2,17	0,284	25	0,317
100/100/100/111	38	134			2	
100/100/111/111	95				9	
100/111/111/111	12					
111/111/111/111	12				16,4	
<i>Pr-2</i>						
90/90	91	102,5	4,0	0,546	6	0,667
90/100	224	205			19	
100/100	95	105			3	
<i>Es-1</i>						
90/100	3	2,9	0,01	0,376		0,545
90/110	1	0,9				
100/100	108	108			5	
100/110	67	66,2			6	
110/110	10	10				
<i>Es-2</i>						
100/100	138	137,9	0,01	0,152	5	0,545
100/105	25	24,7			6	
105/105	1	1				
<i>Es-3</i>						
96/96	1	0,3	23,4*	0,292		0
99/96	5	3,5				
100/96	8	10,6				
99/99	24	12,0				
100/99	48	72,7				
100/100	123	108,9			11	

* Различия наблюдаемого и ожидаемого распределений генотипов этого локуса статистически достоверны.

Таблица 3

Сравнительная характеристика видов и гибридов карасей

Показатель	<i>C. auratus</i> , 2n	<i>C. carassius</i> , 2n	<i>C. gibelio</i> , 3n	<i>C. auratus</i> × ? <i>C. gibelio</i> , 3n	<i>C. auratus</i> × <i>C. carassius</i> , 2n	? <i>C. gibelio</i> × <i>C. carassius</i> , ?4n
$P_{\text{эр}} \pm m$	133,3 ± 0,5	124,5 ± 5,5	178,2 ± 1,2	184,6 ± 1,8	134,4 ± 5,4	264,4 ± 3,9
Lim	110–160	119–130	158–196	161–200	122,5–149	232,3–282,8
n	372	2	46	29	4	15
$M_{\text{тыч}} \pm m$	44,9 ± 0,18	27,4 ± 0,98	47,6 ± 0,2	47,5 ± 0,5	36,2 ± 2,1	46,2 ± 0,3
Lim	33–52	26–31	44–51	42–52	29–41	43–48
n	312	5	53	25	5	17
Половая структура	♀ ♂	♀ ♂	♀	♀ ♂	♀	♀

Примечание. $P_{\text{эр}}$ — средняя площадь эритроцитов, $M_{\text{тыч}}$ — число жаберных тычинок, m — стандартная ошибка, Lim — пределы изменчивости, n — число исследованных особей, ♀ ♂ — случай, когда самцы находятся в явном меньшинстве.

стностей с. Кононовка, где в непосредственной близости обитают популяции однополых и двухполых карасей. В то же время на Правобережье, где однополые популяции не обнаружены вообще, частота предполагаемых гибридов *C. auratus* — *C. gibelio* составляет только 1,4 %.

Электрофоретический анализ предполагаемых тетраплоидов из Деснянско-Старогутского НПП показал, что по структуре спектров это типичные гибриды серебряного и золотого карасей, которые ничем не отличаются от диплоидных гибридов *C. gibelio* — *C. carassius*. Кроме этих гибридов, в выборке присутствовал один экземпляр *C. gibelio* и два *C. carassius*. Исследование карасинового населения других прудов окрестностей НПП показало, что оно представляет собой смесь *C. gibelio*, что было подтверждено анализом неспецифических эстераз и структурных белков мышц, и *C. carassius*. Такая структура популяций карасей указанной местности также дает основание считать, что в данном случае обнаружены именно гибриды триплоидного *C. gibelio* и диплоидного *C. carassius*.

Анализ морфологических признаков. В качестве ведущего морфологического признака было взято число жаберных тычинок. Этот показатель позволяет четко диагностировать золотого и серебряного карася, а по средним отличить выборки *C. auratus* и *C. gibelio* [5]. И в данном случае сравнение среднего числа жаберных тычинок у генетически определенных форм диплоидного *C. auratus* и триплоидного *C. gibelio* серебряных карасей, золотого карася *C. carassius*, предполагаемого гибрида *C. auratus* —

C. gibelio, а также гибридов золотого карася *C. carassius* — *C. auratus* и *C. carassius* — *C. gibelio* выявило достоверные различия между ними (табл. 3). Исключение составило только сопоставление по числу тычинок триплоидного *C. gibelio* и предполагаемого гибрида *C. auratus* — *C. gibelio*, у которых число тычинок было одинаково большим и достоверно выше, чем у диплоидного *C. auratus*. Как и следовало ожидать, у диплоидных гибридов *C. carassius* — *C. auratus* число жаберных тычинок было промежуточным по отношению к родительским видам, а вот у полиплоидного гибрида *C. carassius* — *C. gibelio* явно смещено в сторону признаков серебряного карася, причем настолько, что достоверно превышает число жаберных тычинок у диплоидного *C. auratus*. Это обстоятельство можно объяснить тем, что у триплоидного серебряного карася число жаберных тычинок достоверно больше, чем у диплоидного, а значит, у полиплоидных гибридов их число должно быть выше, чем у диплоидных, хотя в этом случае модель аддитивного наследования явно не срабатывает.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, в водоемах бассейна Среднего Приднепровья обитает группа генетических форм карасей: два диплоидных вида *C. auratus* s.str. и *C. carassius*, один триплоидный вид *C. gibelio*, диплоидный гибрид *C. auratus* — *C. carassius* и предположительно два тетраплоидных гибрида *C. auratus* — *C. gibelio* и *C. gibelio* — *C. carassius*. Такая совокупность видов и форм может вполне трактоваться как генетическое сообщество,

поскольку все они генетически связаны между собой процессом гибридизации. Следует подчеркнуть, что такая структура населения карасей Среднего Приднепровья выглядит вполне естественной, так как гибридизация видов рода *Carassius* — явление обычное, о чем свидетельствуют как многочисленные непосредственные наблюдения [1, 2, 4, 8, 11], так и широкое распространение полиплоидии [1, 2, 11, 13].

Однако существует обстоятельство, диссонирующее с данным построением — это отсутствие продуктов диагностических аллелей *Gpi-1*⁶⁰, *Es-1*⁹⁰, *Aat-2*¹¹⁰, присущих *C. gibelio*, в спектрах предполагаемых гибридов *C. gibelio* — *C. auratus* и *C. gibelio* — *C. carassius*. Как было установлено [15], триплоидная форма произошла в результате гибридизации диплоидного серебряного карася с неизвестным видом и имеет геномную конституцию $2C. auratus - C. species$, о чем свидетельствует наличие в электрофоретических спектрах *C. gibelio* продуктов упомянутых выше аллелей. Следует ожидать, что при последующей гибридизации и образовании тетраплоидных гибридов эти аллели, присущие *C. species*, будут у них проявляться, хотя и в очень слабой степени. Однако этого не наблюдается. Данная ситуация требует обсуждения и может быть объяснена несколькими причинами и, прежде всего, так называемой функциональной диплоидизацией генома, свойственной высокоплоидным организмам, в частности, видам осетровых с гексаплоидной или октоплоидной структурой [25]. И в данном случае тетраплоидные гибриды карасей, в силу амфидиплоидной структуры *C. auratus* и *C. carassius*, на самом деле являются октоплоидами, а потому вполне возможно, что часть генома вида представленного в меньшинстве, в данном случае — это *C. species*, будет репрессирована. Это тем более вероятно, если учесть, что даже у амфидиплоидного *C. auratus* локусы *Gpi-2* и *Pt-2* в отличие от, например, *Gpi-1* *Aat-1* не проявляют эффекта дозы, а значит, ведут себя как функционально диплоидные гены.

Второе, предполагаемые полиплоидные гибриды *C. auratus* — *C. gibelio* на самом деле автополиплоиды *C. auratus*, спонтанно появляющиеся среди диплоидных карасей. Такие караси по аллельным спектрам не будут отличаться от диплоидных, но у них должен быть несколько

выше уровень гетерозиготности и проявляться эффект дозы гена по дуплицированным локусам. Если первое и имеет место, то второе не наблюдается. Эта гипотеза даже на первый взгляд выглядит малопродуктивной еще и потому, что автополиплоидия — явление, в том числе и у рыб, чрезвычайно редкое [13], и массовое образование автополиплоидов, которые в популяциях карасей составляли бы от 20 до 80 %, просто невероятно. Однако эта гипотеза получит «второе дыхание», если предположить, что появление этих полиплоидов вызвано гибридизацией *C. auratus* и *C. gibelio*. При этом в процессе митотических делений клетки гибридного зародыша элиминируют остающиеся в меньшинстве хромосомы *C. species*. В результате вместо аллотетраплоида $3C. auratus - C. species$ фактически получится триплоид $3C. auratus$. Эта гипотеза не соответствует наблюдениям, сделанным по другим полиплоидным группам рыб. Так, например, у щиповок рода *Cobitis* обнаружена [13, 26, 27] целая серия сложных гибридов: $3C. taenia - C. elongatoides$, $C. taenia - 3C. elongatoides$, $2C. taenia - C. elongatoides - C. melanoleuca$, у которых прекрасно проявляются спектры видов, в геноме представленных в меньшинстве. Однако следует учесть, что у так называемых диплоидных карасей ядра клеток содержат более 100 хромосом, триплоиды имеют порядка 150, а тетраплоиды — соответственно более 200 [2, 13], тогда как число хромосом у тетраплоидных щиповок всего лишь чуть более 100 [13]. Поэтому вполне можно ожидать, что у тетраплоидных карасей просто происходит «переполнение» ядра генетическим материалом, что создает проблемы при митозе и приводит к элиминации генетического материала вида, представленного в полиплоидном геноме в меньшинстве. Слабым местом этой гипотезы является факт фенотипических отличий предполагаемого автополиплоида $3C. auratus$ и диплоида *C. auratus*. У первого резко возрастает число жаберных тычинок, а поскольку увеличение числа жаберных тычинок можно трактовать действием генов *C. species*, для которого характерно большое число тычинок [5], то вопрос о полной элиминации генов этого вида остается открытым.

Еще одно объяснение базируется на предположении, что полиплоиды, попадающиеся

среди диплоидных серебряных карасей, — это интродуцированная полиплоидная форма, завезенная вместе с диплоидными *C. auratus* с Дальнего Востока. При этом отсутствие диагностических спектров у этих карасей может быть объяснено недостаточным числом изученных маркеров. Однако остается неясным, почему у этих партеногенетических рыб нет фиксации генотипов полиморфных локусов, как должно быть у любых клоново размножающихся организмов. Более того, характер распределения генотипов этих полиплоидов очень похож на распределение генотипов диплоидов в этих же популяциях (табл. 2), что может быть только в случае, если эти полиплоиды вовлечены с диплоидами в единый репродуктивный процесс.

Аналогичные объяснения, связанные с репрессией или элиминацией генома неизвестного вида, давшего при гибридизации аборигенную триплоидную форму, вполне подходят и для полиплоидного гибрида из Деснянско-Старогутского НПП. Вид предположительно появился при гибридизации *C. gibelio* и *C. carassius*, поскольку аллели, свойственные *C. species*, в его электрофоретических спектрах также не проявляются.

Выводы. Таким образом, результаты генетического и биологического анализа структуры популяций карасей, обитающих в бассейне Среднего Приднепровья, показывают наличие сложного видового сообщества, в которое помимо двух диплоидных видов входит один триплоидный вид и три гибрида, из которых два полиплоидны. Очевидно, окончательный ответ на вопрос о степени пloidности и происхождении двух вероятных гибридных форм *C. auratus* — *C. gibelio* и *C. carassius* — *C. gibelio* может быть решен только после привлечения методов кариологии, когда будет подсчитано число хромосом и детально проработана их морфология.

SUMMARY. Comparative analysis of Middle Dnepr crucian carp's population structure was made by means of biochemical gene marking, cytometry and biological analysis. As a result the structure was found, which may be expounded like association of the genetically related species and forms. This association consists of diploid *C. auratus* (which predominates in population), *C. carassius* (which was found in the some of north-eastern reservoirs

only) and triploid *C. gibelio*. In Ukraine the homogeneous populations of *C. gibelio* can be found on the north-east of Eastern Ukraine only. Though some of individuals maybe present with diploid *C. auratus*. Besides were found hybrid form: diploid *C. auratus* — *C. carassius* and presumably tetraploid *C. auratus* — *C. gibelio* and *C. gibelio* — *C. carassius*. However in the tetraploid's spectra were absent a number of specific alleles, that marking *C. species* — one of the parental species of triploid *C. gibelio*. Therefore presumptive tetraploids have not difference from *C. auratus* and diploid *C. auratus* — *C. carassius* on the gene markers level. Nevertheless they are neatly diagnose by the erythrocytes which have good difference and are bigger then diploid species erythrocytes in 40 % (*C. auratus* — *C. gibelio*) and 100 % (*C. gibelio* — *C. carassius*).

РЕЗЮМЕ. Комплексне дослідження структури популяцій карасів Середнього Дніпра проведено за допомогою біохімічного генного маркування, цитометрії та біологічного аналізу. В результаті виявлено структуру, яка може бути інтерпретована як угруповання генетично пов'язаних один з одним видів та форм. Його основою є диплоїдний срібний карась *C. auratus*, який домінує у більшій частині популяції; золотий карась *C. carassius*, який виявлено лише в декількох водоймах північного сходу, та триплоїдний срібний карась *C. gibelio*, однорідні популяції якого знайдені лише на північному сході Лівобережжя, хоча окремі особини трапляються серед диплоїдних *C. auratus*. Крім того, виявлено три гібридні форми: диплоїдна *C. auratus* — *C. carassius* і, можливо, тетраплоїдні *C. auratus* — *C. gibelio* та *C. gibelio* — *C. carassius*, в спектрах яких, однак, був відсутній ряд специфічних алелів, що маркують невідомий батьківський вид, який при гібридизації зі звичайним диплоїдним карасем дає триплоїдний вид *C. gibelio*. Передбачувані гібриди-тетраплоїди чітко діагностуються через великі еритроцити, які у гібридів *C. auratus* — *C. gibelio* на 40 % перевищують розміри еритроцитів диплоїдних особин, а у *C. gibelio* — *C. carassius* — на 100 %. Вони відрізняються від диплоїдних форм числом зябрових тичинок, хоча на рівні генних маркерів не відрізняються від відповідних диплоїдних форм, що можна пояснити функціональною диплоїдизацією геному.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shimizu Y., Oshiro T., Sakaizumi M. Electrophoretic studies of diploid, triploid, and tetraploid forms of the Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorffii* // Jap. J. Ichthyol. — 1993. — 40, № 1. — P. 65–75.
2. Boron A. Karyotypes of diploid and triploid silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) // Cytobios. — 1994. — 80. — P. 117–124.
3. Абраменко М.И., Кравченко О.В., Великоиваненко А.Е. Генетическая структура популяций в диплоидно-триплоидном комплексе серебряного карася *Carassius auratus gibelio* в бассейне нижнего

- Дона // *Вопр. ихтиологии*. — 1997. — 37, № 1. — С. 62–71.
4. Luo J., Zhang Y.-P., Zhu C.L. et al. Genetic diversity in crucian carp (*Carassius auratus*) // *Biochem. Genet.* — 1999. — 37, № 9/10. — P. 267–279.
 5. Васильева Е.Д., Васильев В.П. К проблеме происхождения и таксономического статуса триплоидной формы серебряного карася *Carassius auratus* (Cyprinidae) // *Вопр. ихтиологии*. — 2000. — 40, № 5. — С. 581–592.
 6. Ye Y., Zhou J., Xiaohu W., Wu Q. Reproduction mode of an artificial allotetraploid carp (Pisces; Cyprinidae) // *Hereditas*. — 2002. — 137, № 2. — P. 140–148.
 7. Zhou L., Wang Y., Gui G. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays // *J. Mol. Evol.* — 2000. — 51. — P. 498–506.
 8. Черфас Н.Б. Естественная триплоидия у самок однополых формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch) // *Генетика*. — 1966. — 1, № 5. — С. 16–24.
 9. Головинская К.А., Ромашов Д.Д., Черфас Н.Б. Однополые и двуполые формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bl.) // *Вопр. ихтиологии*. — 1965. — 5, № 4. — С. 614–629.
 10. Черфас Н.Б. Основные итоги цитогенетического анализа однополых и двуполой форм серебряного карася // *Генетика, селекция и гибридизация рыб*. — М.: Наука, 1969. — С. 89–95.
 11. Kobayasi H., Nakano K., Nakamura M. On the hybrids, 4n ginbuna (*Carassius auratus langsdorffii*) × kinbuna (*C. auratus* subsp.) // *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* — 1977. — 43, № 1. — P. 31–37.
 12. Kottelat M. European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematics and comments on nomenclature and conservation // *Biologia, Bratislava*. — 52, Suppl.5. — 271 p.
 13. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. — М.: Наука, 1984. — 299 с.
 14. Боркин Л.Я., Даревский И.С. Сетчатое (гибридогенное) видообразование у позвоночных // *Журн. общ. биологии*. — 1980. — 41, № 4. — С. 485–505.
 15. Межжерин С.В., Лисецкий И.Л., Бабко Р.В. О происхождении триплоидной формы серебряного карася *Carassius auratus gibelio* // *Доп. НАН України*. — 2003. — № 12.
 16. Амброз А.И. Рыбы Днепра, Южного Буга и Днепро-Бугского лимана. — Киев, 1956. — 405 с.
 17. Мовчан Ю.В., Смирнов А.И. Рыбы. Коропові. Фауна України. Т. 8. — Київ : Наук. думка, 1983. — 353 с.
 18. Сухойван П.Г. Нектон (рыбы) // *Днепро-Бугская эстуарная экосистема*. — Киев : Наук. думка, 1989. — С. 196–201.
 19. Peacock F.C., Bunting S.L., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel patterns from normal human subjects // *Science*. — 1965. — 147. — P. 451–455.
 20. Sezaki K., Kobayashi H., Nakamura M. Size of erythrocytes in the diploid and triploid specimens of *Carassius auratus langsdorffii* // *Jap. J. Ichthyol.* — 1977. — 24, № 2. — P. 135–140.
 21. Sezaki K., Kobayashi H. Comparison of erythrocyte size between diploids and tetraploids in spinous loach, *Cobitis biwa* // *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* — 1978. — 44, № 8. — P. 851–854.
 22. 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.
 23. Prokes M., Barus V. On the natural hybrid between common carp (*Cyprinus carpio*) and crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) in the Czech Republic // *Folia Zool.* — 1996. — 45, № 3. — P. 277–282.
 24. Lokki J. Genetic polymorphism and evolution in parthenogenetic animals // *Hereditas*. — 1976. — 83, № 1. — P. 65–72.
 25. Ludwig A., Belfiore N., Pitra C., Svirsky V., Jenneckens I. Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (*Acipenser*, *Huso* and *Scaphirhynchus*) // *Genetics*. — 2001. — 158. — P. 1203–1215.
 26. Васильев В.П., Васильева Е.Д., Осинцев 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.
 27. Slechtova V., Luskova V., Slechta V., Lusk S., Halacka K., Bohlen J. Genetic differentiation of two diploid-polyploid complexes of spined loach, genus *Cobitis* (Cobitidae), in the Czech Republic, involving *C. taenia*, *C. elongatoides*, and *C. spp.*: allozyme interpopulation and interspecific differences // *Folia Zool.* — 2000. — 49, Suppl. — P. 67–78.

Поступила 01.03.04