

С.В. МЕЖЖЕРИН, Л.И. ПАВЛЕНКО

Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена
Национальной академии наук Украины, Киев
E-mail: mezh@svitonline.com

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ДИПЛОИДНО-ПОЛИПЛОИДНОГО КОМПЛЕКСА ЩИПОВОК *COBITIS* (CYPRINIFORMES, COBITIDAE) НИЗОВИЙ ДУНАЯ



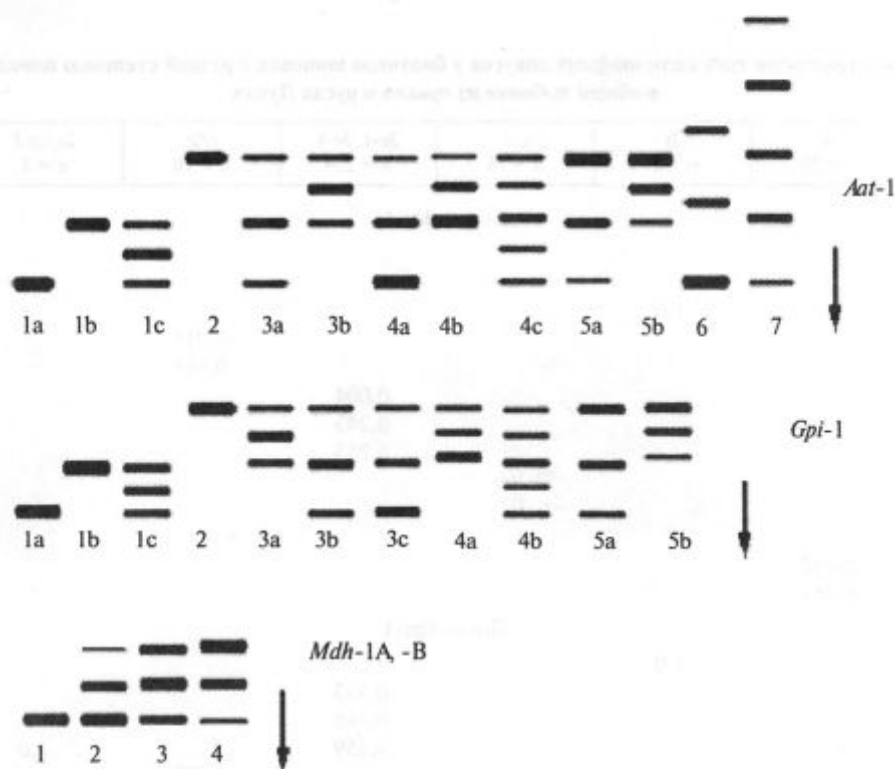
Необычайно высокое разнообразие биотипов щиповок в бассейне Нижнего Дуная было выявлено путем биохимического генного маркирования и цитометрического анализа 358 экз., собранных в русле и ериках. Наряду с двумя диплоидными видами (дунайская *C. elongatoides* и предположительно донская *C. «tanaitica»* щиповки) здесь были обнаружены еще шесть гибридных форм: диплоидная *C. elongatoides* — «*tanaitica*»; триплоидные *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» и *C. 2 elongatoides* — sp. 1 и тетраплоидные *C. 3 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — sp. 2 — 2 «*tanaitica*». Кроме того, встречались гибриды с рекомбинантным генотипом. При этом полиплоиды, несмотря на апомиктическое размножение, не имеют структуры клона, а по степени полиморфизма и характеру распределения аллелей очень похожи на родительские виды. Это значит, что в отличие от полиплоидных щиповок Днепра, появление которых в бассейне — результат экспансии, полиплоиды низовий Дуная — автохтонны и постоянно образуются при гибридизации местных диплоидных видов, причем процесс идет без видимых ограничений.

© С.В. МЕЖЖЕРИН, Л.И. ПАВЛЕНКО, 2007

Введение. Группы видов животных, при гибридизации которых образуются формы с так называемым нестандартным способом полового размножения (партогенез, гиногенез и гибридогенез) и для которых обычна структура клона, в последнее время привлекают особое внимание, что вызвано главным образом интересом к их эволюционной судьбе. Одной из таких активно разрабатываемых в последнее время групп является диплоидно-полиплоидный комплекс щиповок *Cobitis s. lato* — мелких рыб семейства вьюновых, являющихся фоновыми видами практически всех бассейнов умеренной зоны Палеарктики и образовавшихся при гибридизации друг с другом «сетку» ди-, три- и тетраплоидных гибридных форм [1–5].

Актуальность генетическим исследованиям этой группы также придает особый статус обыкновенной щиповки *C. taenia*, которая в масштабе Европы требует охраны, а потому включена в III приложение к Бернской конвенции. Следует учесть, что в настоящее время популяции, состоящие из диплоидных особей *C. taenia*, являются редкостью, поскольку обычно поселения этого вида представляют собой сообщество ди-, три- и тетраплоидных особей, в которых гибридные полиплоидные самки могут составлять более 90 %, а популяции диплоидных щиповок сохранились как бы на периферии жизненного пространства вида — в изолированных водоемах и речушках [6].

Дополнительный интерес вызывает географическая мозаичность структуры гибридного комплекса. Только в европейской части ареала почти в каждом крупном водосборном бассейне имеется свой набор диплоидных видов и гибридных форм с разной степенью плоидности [1, 2, 4–8]. Особенно высоко разнообразие щиповок в Центральной Европе на границе бассейна Дуная, с одной стороны, и Рейна, Одера и Вислы — с другой [3–4, 9, 10]. Здесь встречаются дунайская *C. elongatoides*, обыкновенная *C. taenia* и предположительно донская *C. «tanaitica»* щиповки (две последние замещают друг друга), а также отмечена серия гибридных форм. Повышенный интерес также вызывает и область Понто-Каспийского рефугиума, из которого, как считают многие исследователи [9, 10], произошли современные виды и откуда описан новый вид *C. taurica*



Изменчивость электрофоретических спектров у щиповок низовий Дуная. **Aat-1**: 1 — *C. elongatoides* (a — 155/155, b — 125/125, c — 125/155); 2 — *C. tanaïtica* (100/100); 3 — *C. elongatoides*—*tanaïtica* (a — 100/155, b — 100/125); 4 — *C. 2 elongatoides*—*tanaïtica* (a — 100/155—155, b — 100/125—125, c — 100/125—155); 5 — *C. elongatoides* — 2 *tanaïtica* (a — 100—100/155, b — 100—100/125); 6 — *C. elongatoides* — sp.-1 (80/155—155); 7 — *C. elongatoides* — sp.-2 — 2 *taenia* (50/100—100/155) **Gpi-1**: 1 — *C. elongatoides* (a — 176/176, b — 133/133, c — 133/176); 2 — *C. tanaïtica* (100/100); 3 — *C. elongatoides*—*tanaïtica* (a — 100/133, b — 100/176); 4 — *C. 2 elongatoides*—*tanaïtica* (a — 100/176—176, b — 100/133—133, c — 100/133—176); 5 — *C. elongatoides* — 2 *tanaïtica* (a — 100—100/176, b — 100—100/133); **Mdh-1A, -B**: 1 — *Mdh-1A*^{167/167}, *Mdh-1B*^{110/110}, 2 — *Mdh-1A*^{167/100}, *Mdh-1B*^{100/100} (*Mdh-1B*^{100/110}), 3 — *Mdh-1A*^{100/167}, *Mdh-1B*^{100/100}; 4 — *Mdh-1A*^{100—100/100}, *Mdh-1B*^{100/100}. У особей *C. elongatoides* встречаются варианты 1—3, у *C. tanaïtica* — варианты 1,2; у *C. elongatoides* — *tanaïtica* — варианты 1—3; у 2 *elongatoides* — *tanaïtica* — варианты 1—4, у *C. elongatoides* — 2 *tanaïtica* — варианты 1—3, у *C. elongatoides* — sp.-1 — только вариант 3; у *C. elongatoides* — sp.-2 — 2 *taenia* — варианты 1—2

[11]. В связи с изложенным особый интерес вызывает бассейн Нижнего Дуная, популяции щиповок которого до сих пор не были охвачены генетическими исследованиями. Поэтому цель настоящей работы состояла в геномном маркировании и изучении генетической структуры сообщества щиповок нижнего течения Дуная.

Материал и методы. Основой исследования послужили две серии щиповок, собранных в окрестностях г. Вилково (Одесская обл.): 55 экз. были добыты в августе 2003 г. в ериках и 303 экз. в июле-августе 2004 г. непосредственно в русле Дуная.

Анализу электрофоретической изменчивости в непрерывной трис-ЭДТА-боратной системе буферов [12] были подвергнуты следующие ферменты и белки, локусы которых имели видоспецифичные аллели, четко маркирующие виды этого рода: растворимая форма аспаратаминотрансферазы, кодируемая локусом *Aat-1*; сердечная субъединица лактатдегидрогеназы (*Ldh-B*); растворимая форма малатдегидрогеназы (*Mdh-1A*), быстро мигрирующий изофермент глюкозофосфатизомеразы (*Gpi-1*); один из структурных белков мышц (*Pr-3*), имеющий, судя по спектрам в гетерозиготе, димерную природу.

Таблица 1

Частоты генотипов трех полиморфных локусов у биотипов щиповок с разной степенью плоидности в общей выборке из ериков и русла Дуная

Аллель	2e n = 20	2t n = 5	e-t n = 16	2e-t, 3e-t n = 234	e/2t n = 70	2e/sp.1 n = 1	e/sp.2/2t n = 2
Локус <i>Aat-1</i>							
50/100—100/155							1,0
80/155—155						1,0	
100/100		1,0					
100—100/155					0,015		
100—100/125					0,985		
100/125—125				0,004			
100/125—155				0,243			
100/155—155				0,753			
100/125			0,250				
100/155			0,750				
125/125							
125/155	0,182						
155/155	0,818						
Локус <i>Gpi-1</i>							
100/100		1,0					
100/133—133				0,353			
100/133—176				0,388			
100/176—176				0,259		1,0	1,0
100—100/133					0,467		
100—100/176					0,533		
100/133			1,0				
133/133	0,571						
133/176	0,286						
176/176	0,143						
Локус <i>sMdh-1A</i>							
100—100/167				0,034			
100/167	0,222		0,563	0,380	0,196		
167/167	0,778	1,0	0,438	0,587	0,704	1,0	1,0

Примечание. Здесь и в табл. 2: 2e — *C. elongatoides*, 2t — *C. «tanaitica»*, e-t — *C. elongatoides* — «*tanaitica*», 2e/t — *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», 3e/t — *C. 3 elongatoides* — «*tanaitica*», e/2t — *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*», 2e/sp.1 — *C. elongatoides* — species 1, e/sp.2/2t — *C. elongatoides* — species 2 — 2 «*tanaitica*».

Плоидность щиповок определяли по размерам эритроцитов — методике, доказавшей не просто свою надежность в исследованиях именно этого комплекса рыб, но и, более того, оказавшейся просто незаменимой при массовом анализе материала [2, 13].

Результаты исследований. *Aat-1*. Электрофоретический анализ этого локуса выявил 5 аллелей, 4 из которых были описаны ранее для бассейна Дуная [3]. Аллель *Aat-1*¹⁰⁰ характерен для обыкновенной щиповки, а *Aat-1*¹²⁵ и *Aat-1*¹⁵⁵ являются специфичными для дунайской [3] и

проявляются у нее в гомозиготных и гетерозиготном сочетаниях (рисунок). У гибридных особей спектры этого локуса отвечают гетерозиготам, причем большей частью электроморфы имеют эффект дозы гена. Еще два электрофоретических варианта *Aat-1*⁵⁰ и *Aat-1*⁸⁰ не обнаружены у диплоидных особей, а выявлены в гетерозиготном состоянии *Aat-1*^{80/155-155} (1 экз.) и *Aat-1*^{50/100-100/155} (2 экз.). Появление особей со спектром первого типа связывают с гибридным происхождением при участии неизвестного диплоид-

Таблица 2

Изменчивость площади эритроцитов у щиповок из русла Дуная

Показатель	2e	2t	e/t	2e/t	e/2t	2e/sp.1	3/t	e/sp.2/2t
M	131,3	136,4	133,5	176,9	173,5	174	238,7	208,7
m	2,4	9,7	5,4	1,4	2,1	—	13,4	1,3
min	123,5	122,7	125,7	147,8	141,9	—	219,8	206,8
max	135,9	150,2	146,6	200,7	194,6	—	257,6	210,6
n	4	2	3	72	24	1	2	2

ного вида [3], а второй ранее не отмечался вообще.

Gpi-1. Представлен тремя аллелями, имеющими строгую видоспецифичность. Аллель *Gpi-1*¹⁰⁰ свойствен особям обыкновенной щиповки, а те, что кодируют продукты с высокой электрофоретической подвижностью *Gpi-1*¹³³ и *Gpi-1*¹⁷⁶, характерны для дунайской щиповки [3]. Для полиплоидных гибридов характерны соответствующие гетерозиготные спектры (рисунок), проявляющиеся как с эффектом дозы гена, так и без него. Аллели этого локуса в Дунае четко маркировали гибриды и родительские виды.

Mdh-1A. В бассейне Дуная как у особей *C. elongatoides*, так и у полиплоидных гибридов локус полиморфен, а потому здесь его значение в качестве диагностического локуса ограничено. Это отличает популяции Восточной Европы, в частности бассейна Днепра [6], Дона (Северского Донца) [7] и р. Москвы [14, 15], от центральноевропейских сообществ щиповок, хотя все же фиксация аллеля *Mdh-1A*¹⁶⁷ у особей, относимых к *C. «tanaitica»* [9, 10], имеет определенную эвристическую ценность, поскольку дает основание считать, что в бассейне Нижнего Дуная обитает аллоид, отличающийся от номинативного *C. taenia* s. str. Кроме того, необходимо подчеркнуть, что, судя по нестандартным спектрам у диплоидных видов (рисунок), здесь должен иметь место полиморфизм не только локуса *Mdh-1A*, но и *Mdh-1B*.

Ldh-B. У всех исследованных щиповок Нижнего Дуная наблюдали фиксацию гомозиготного генотипа *Ldh-B*^{100/100}. Наличие особей с альтернативным аллелем *Ldh-B*¹⁰⁵, находящимся в гетерозиготном сочетании *Ldh-B*^{100/105} у диплоидных и *Ldh-B*^{100-100/105} у по-

липлоидных особей, характерно для популяций *C. taenia* из бассейна Днепра [7], а также из рек Северного и Балтийского морей [3, 5]. Этот аллель отсутствует у *C. elongatoides* и не обнаружен в популяциях *C. taenia* Северского Донца [8], р. Москвы [14, 15] и бассейна Среднего Дуная [3].

Pt-3. В бассейне Дуная обнаружен только аллель *Pt-3*⁹⁰, тогда как в популяциях щиповок Днепровского бассейна у диплоидных особей фиксирован альтернативный аллель *Pt-3*¹⁰⁰, а у полиплоидов наблюдаются гетерозиготные асимметричные спектры, отвечающие генотипам *Pt-3*^{90-90/100} и *Pt-3*^{90/100-100}. Это значит, что между дунайской и днепровской формами обыкновенной щиповки *C. taenia* s. lato так же, как и по локусу *Mdh-1A*, наблюдается фиксация альтернативных аллелей. Таким образом, днепровские и дунайские формы *C. taenia* s. lato могут рассматриваться в качестве аллоидов: *C. (taenia) taenia* и предположительно *C. (taenia) «tanaitica»*.

В результате проведенного генного маркирования можно сделать вывод, что сообщество щиповок в низовьях Дуная представлено как диплоидными родительскими видами, так и серией разнообразных биотипов — полиплоидных гибридных форм.

Дунайская щиповка *C. elongatoides* (= *danubialis*). Принадлежность к этому виду устанавливается по спектрам, отвечающим фиксациям аллелей *Aat-1*¹²⁵, *Aat-1*¹⁵⁵ и *Gpi-1*¹³³, *Gpi-1*¹⁷⁶ (табл. 1). Средняя площадь эритроцитов у особей этого вида составляет 131,3 усл. ед. при достаточно узком диапазоне изменчивости от 123 и до 136 (табл. 2). На долю особей этого вида в выборке из Дуная пришлось только 2,3 % особей, а в ериках частота их встречаемости была на порядок больше — 23,3 % (табл. 3).

Таблица 3

Половая и генетическая структура сообщества шиповок *C. elongatoides* — *C. «tanaitica»* в бассейне Нижнего Дуная

Виды и биотипы	Ерики		Русло	
	♀	♂	♀	♂
<i>C. «tanaitica»</i>			5	
<i>C. elongatoides</i>	11	2	3	4
<i>C. elongatoides</i> — « <i>tanaitica</i> »			16	
<i>C. 2 (3) elongatoides</i> — « <i>tanaitica</i> »	37		197	
<i>C. elongatoides</i> — 2 « <i>tanaitica</i> »	1	1	68	
<i>C. 2 elongatoides</i> — sp.1			1	
<i>C. elongatoides</i> — sp.2 — 2 « <i>tanaitica</i> »			2	
<i>C. ? elongatoides</i> — ? « <i>tanaitica</i> »	1		3	

Факт примечательный, поскольку подтверждает, что из-за вспышки численности полиплоидных шиповок, которая, например в бассейне Днепра, произошла во второй половине XX столетия [18], диплоидные особи в большом количестве сохранились в изолированных местообитаниях: озерах и притоках, тогда как в основных водотоках доминируют полиплоиды.

«Донская» шиповка *C. «tanaitica»* (= *rossomeridionalis*, = ?*taurica*). Фиксации двух альтернативных аллелей *Pt-3⁹⁰*, *Mdh-1A¹⁶⁷* отличают эту географическую форму от номинативной *C. taenia*, а аллелей *Aat-1¹⁰⁰* и *Gpi-1¹⁰⁰* — от дунайской шиповки (табл. 1). Средняя площадь эритроцитов 136,4 и пределы их изменчивости (122—150) в принципе не отличаются от аналогичных показателей дунайской шиповки (табл. 2). Сейчас принято считать [4, 5, 9, 10], что в Дунае обитает именно *C. «tanaitica»*, хотя следует принять во внимание, что этот таксон описан с Дона. С учетом необычайной кариологической гетерогенности шиповок рек Азово-Черноморского региона [11] есть все основания предполагать, что в бассейне Дуная и Дона обитают разные представители надвидового комплекса *C. taenia* s. lato. Это тем более вероятно, что проведенное биохимическое маркирование шиповок с бассейна Дона (р. Северский Донец) [8] не выявило их существенных отличий от днепровских. Встречаемость особей, условно отнесенных к *C. «tanaitica»*, в русле Дуная была весьма низкой — около 2%, а в ериках этих шиповок не удалось обна-

ружить вообще (табл. 3). В отличие от дунайской шиповки, характеризующейся высоким уровнем полиморфизма по локусам *Aat-1*, *Gpi-1*, *Mdh-1A*, у этого вида не выявлено аллозимной изменчивости.

Диплоидные гибриды *C. elongatoides* — «*tanaitica*» обнаружены в русле Дуная, где их частота была весьма значительной — 5,2% (табл. 3). Диплоидная природа подтверждается как симметричными гибридными спектрами (рисунк), так и размерами эритроцитов ($M = 133,5$; $lim = 126—147$), сопоставимыми с аналогичными показателями диплоидных видов (табл. 2). Отсутствие органов Канестрини на грудных плавниках дает основание считать, что все это были самки.

Триплоидный гибрид *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*». Это самый массовый биотип шиповок как русла Дуная (65%), так и ериков (67%) (табл. 3). Особи этой формы были исключительно самками и надежно диагностировались по спектрам, а также размерам эритроцитов (табл. 2), которые, как и должно быть у триплоидов [2], ровно на треть больше, чем у диплоидов ($M = 176,9$; $lim = 148—201$). Аллельный пул этой гибридной формы однозначно выводится из генных наборов местной дунайской и предположительно донской шиповок, что доказывает — это родительские виды. При этом есть все основания утверждать, что гибриды образовывались в результате многократной гибридизации именно местных диплоидных видов шиповок и не являются результатом вселения со Среднего Дуная, где у особей *C. «tanaitica»* в отличие от особей с Нижнего Дуная очевидно фиксирован аллель *Mdh-1A¹⁰⁰* [16].

Тетраплоидные гибриды *C. 3 elongatoides* — *C. «tanaitica»*. Считается, что тетраплоиды возникают в результате возвратных гибридизаций [2, 15], в данном случае триплоидных самок *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*» и самцов *C. elongatoides*. В низовьях Дуная обнаружены в очень незначительном количестве (менее 2%). Площадь эритроцитов возрастает на две трети по сравнению с диплоидными особями и достигает 220—260 усл. ед. [1, 2]. Следует отметить, что содержание особей с таким высоким уровнем пloidности в гибридном сообществе Нижнего Дуная гораздо ниже, чем в популя-

Таблица 4

Аллельный состав и ожидаемая гетерозиготность геномов *C. elongatoides* у разных биотипов щиповок из трех бассейнов

Аллели	Нижний Дунай			Днепр*	Северский Донец**
	2e	2e-t	e-2t1	e-2t2, e-t1-t2	e-2t2
<i>Aat-1</i> ¹²⁵	0,075	0,13	0,015		
<i>Aat-1</i> ¹⁰⁰	0,925	0,87	0,985	1	1
<i>Gpi-1</i> ¹³³	0,231	0,45	0,533	0,612	1
<i>Gpi-1</i> ¹⁷⁶	0,769	0,55	0,477	0,388	
<i>Mdh-1A</i> ¹⁰⁰	0,11	0,223	0,098		
<i>Mdh-1A</i> ¹⁶⁷	0,89	0,777	0,902	1	1
<i>H_{exp}</i>	0,23	0,356	0,235	0,16	0

Примечание. 2e — *C. elongatoides*, 2e-t — *C. elongatoides* — «*tanaitica*», e-2t1 — *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*», e-t1-t2 — *C. elongatoides* — *taenia* — «*tanaitica*», e-2t2 — *C. elongatoides* — 2 *taenia*. * По данным [6]. ** По данным [7].

циях северных регионов. Например, доля тетраплоидных беккроссов в Среднем Приднпровье (реках Удай, Десна и Тетерев) при такой же, как и на Нижнем Дунае, насыщенности полиплоидами составляет 13, 24 и 42 % соответственно [13]. В р. Москве в зависимости от года и места исследования доля тетраплоидов *C. elongatoides* — 3 *taenia* составляла от 6 до 24 %, а с учетом биотипа *C. elongatoides* — 2 *taenia* — *melanoleuca* увеличилась еще в два раза [15]. В реках Польши (Одра и Висла) частота встречаемости тетраплоидов была в среднем 12,5 % [18]. Как установлено в лабораторных условиях [18], при скрещиваниях диплоидных самцов тигровых саламандр с триплоидными самками в зависимости от температуры может происходить либо оплодотворение, либо только инициация дробления. Поэтому можно допустить, что и в случае со щиповками инкорпорация генома чаще происходит в северных, а не в южных областях совместного обитания ди- и триплоидов.

Триплоидные гибриды *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*». Средние размеры эритроцитов рыб в этой группе (M = 173,5; 142—195) не отличаются от триплоидов альтернативного биотипа (табл. 2). Высокий уровень полиморфизма в геномной части *C. elongatoides*, в принципе сопоставимый с уровнем изменчивости соответствующего диплоидного вида (табл. 4), а также отсутствие четких межлокусных ассоциаций дают основание считать, что структура этого полиплоида так же, как и альтернативного ему, не соответствует клону. Среди 70 особей этого биотипа был выявлен один самец. Такая исключительно низкая представленность самцов среди полиплоидных щиповок отмечается и в других популяциях [4, 14]. Частота встреч в ериках особей *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» была всего 4 %, тогда как в русле Дуная она гораздо выше — 22 % (табл. 3). Незначительная численность гибридов, у которых преобладает геномная часть *C. «tanaitica»*, пропорциональна численности родительского вида, который в низовьях Дуная встречается гораздо реже, чем *C. elongatoides*.

При характеристике генетической конституции гибридов *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» обращает на себя внимание отсутствие электроморф, отвечающих генотипическим сочетаниям *Mdh-*

1A^{100-100/167}. Это подтверждает происхождение полиплоидов от местного диплоидного вида, идентифицируемого как *C. «tanaitica»*, и доказывает отсутствие иммиграций гомологичных полиплоидных форм с верховий Дуная, у которых фиксирован именно этот отсутствующий в низовьях Дуная генотип [16].

Триплоидный гибрид *C. 2 elongatoides* — species 1. Обнаружена единственная особь с нетипичным для родительских видов аллелем *Aat-1*⁸⁰ (табл. 1), который заместил аллель, маркирующий геном *C. «tanaitica»*. Ее триплоидная природа подтверждена цитометрически (табл. 2). Полиплоидные щиповки со спектрами, в которых присутствовали продукты предполагаемого аллеля *Aat-1*⁸⁰, и раньше отмечались в Дунае [3], и их появление интерпретировали как гибридизацию дунайской щиповки с неописанным на уровне аллозимов видом этого рода (*Cobitis* sp.1).

Тетраплоидный гибрид *C. elongatoides* — species 2 — 2 «*tanaitica*». Обнаружены две самки, которые имели генотип *Aat-1*^{50/100-100/155} и площадь эритроцитов 208 и 210 усл. ед., что наряду с особенностями спектра дает основание считать их тетраплоидами, в образовании которых принял участие еще третий неизвестный вид (*Cobitis* sp. 2), который маркируется аллелем *Aat-1*⁵⁰. У особей этого биотипа имеет место фиксация электроморф, отвечающих генотипам *Mdh-1A*^{167/167} и *Gpi-1*^{100/176-176}.

Наблюдаемые и ожидаемые на основе формулы Харди-Вайнберга сочетания аллелей трех полиморфных у *C. elongatoides* локусов у триплоидных гибридов *C. 2 elongatoides — tanaitica*

Локусы	Популяция	Генотипы			χ^2
<i>Aat-1</i>		100/125—125	100/125—155	100/155—155	
	Ерики	1 (0,8)	9 (9,4)	28 (27,8)	0,81
	Русло	0 (3,8)	55 (47,3)	144 (147,5)	5,13
<i>Mdh-1A</i>		100—100/167	100/167—100	167—167	
	Ерики	0 (0,3)	7 (6,4)	30 (30,3)	0,34
	Русло	6 (8,7)	68 (61,4)	105 (108,9)	1,69
<i>Gpi-1</i>		100/133—133	100/133—176	100/176—176	
	Ерики	6 (6,5)	19 (18,0)	12 (12,5)	0,11
	Русло	24 (20,5)	16 (23,0)	10 (6,5)	4,62

Гибриды *C. ? elongatoides — ? «tanaitica»* с рекомбинантным генотипом и разной степенью плоидности отмечены как в ериках, так и непосредственно в русле Дуная и в общей сложности составили чуть более 1 %. Обычно выявляются по несоответствиям генотипов локусов *Aat-1* и *Gpi-1* — один из них маркирует особь как гибрид, а второй — как родительский вид, что свидетельствует о рекомбинации. Встречаются и более сложные случаи, когда одновременно присутствуют электроморфы *Aat-1*^{100/155} и *Gpi-1*^{100/133-176}, отвечающие четно и нечетно плоидным генотипам, или когда у однозначно диплоидной особи, определенной цитометрически, имеет место тригетерозиготный спектр *Aat-1*^{100/125-155}, появление которого можно объяснить анеуплоидией. Особи с рекомбинантным генотипом выявлены и в популяциях равнинного Закарпатья [11], но никогда не отмечались в Среднем Приднепровье, где 99 % всего разнообразия щиповок приходится на две формы — диплоидную *C. taenia* и полиплоидную *C. elongatoides — 2(3) taenia*. Поэтому можно допустить, что только в очень разнообразном сообществе щиповок в каких-то редких скрещиваниях может происходить рекомбинация.

Таким образом, полученные данные по структуре гибридного комплекса щиповок Нижнего Дуная показывают, что это самое разнообразное из всех до сих пор изученных локальных сообществ рыб рода *Cobitis*. В нем представлено, как минимум, восемь генетических форм, две из которых — диплоидные виды

и шесть гибридных биотипов, не считая рекомбинантных. Гибридное сообщество щиповок Нижнего Дуная включает дунайскую щиповку *C. elongatoides*; алловид надвидового комплекса *C. (superspecies taenia)*, который сейчас называют донской щиповкой *C. (taenia) «tanaitica»* [5]; гибридную диплоидную форму *C. elongatoides — «tanaitica»*, гибридные триплоидные формы *C. 2 elongatoides — «tanaitica»*, *C. elongatoides — 2 «tanaitica»* и *C. 2 elongatoides — sp.1*; гибридные тетраплоидные формы *C. 3 elongatoides — «tanaitica»* и *C. elongatoides — sp.2 — 2 «tanaitica»*.

Обсуждение полученных данных. До сих пор не было известно ни одной популяции гибридного комплекса щиповок, где было бы больше пяти гибридных биотипов. Причем, если в диплоидно-полиплоидных сообществах с одним родительским видом и одним-двумя биотипами, в которых гибридизация ограничена только возвратными скрещиваниями, причины ограниченного разнообразия воспринимаются как нечто само собой разумеющееся, то в поселениях щиповок бассейнов Дона и Волги, где представлены два диплоидных вида *C. taenia s. str.* и *C. melanoleuca*, эта ситуация требует специального обсуждения. Как показали исследования в Северском Донце [7], эти два вида легко гибридизируют друг с другом, хотя триплоидные гибриды *C. 2 melanoleuca — taenia* или альтернативного типа до сих пор не обнаружены, что и определяет пониженное разнообразие гибридных сообществ щиповок восточноевропейских бассейнов. Очевидно, образование полиплоидов — свой-

ство исключительно гибридов щиповок дунайской и обыкновенной (в широком понимании), что, наиболее вероятно, связано с особенностями хромосомных аппаратов этих двух видов. Ведь установлено [1, 2], что при образовании триплоидов *C. 2 elongatoides-taenia* не происходит простого суммирования хромосом в кариотипе.

Автохтонность полиплоидных щиповок Нижнего Дуная подтверждается выводимостью генетической структуры полиплоидных биотипов из аллельного пула родительских видов, а также отсутствием каких-либо даже тенденций к гомозиготизации. Следует отметить случайный характер ассоциаций аллелей трех полиморфных локусов в геномной части *C. elongatoides* (табл. 5), а также отсутствие устойчивых межлокусных ассоциаций, которые имеют место у полиплоидных щиповок на Среднем Днепре [6], а у щиповок Дуная, как показали проведенные расчеты, не имеют такой строгой направленности.

Особенностью дунайского гибридного комплекса следует также считать отсутствие в нем массово встречающихся вселенцев. И в самом деле, на долю двух полиплоидных форм с неизвестными родительскими видами (*C. sp-1* и *C. sp-2*), которые, вероятнее всего, имеют инвазионное происхождение, приходится не более 1 % общего числа исследованных рыб. В то же время в гибридных популяциях щиповок Восточной Европы, где полиплоиды — это исключительно вселенцы, на их долю может приходиться свыше 90 % особей в популяции [14].

В водоемах Европы в общем описаны два широко распространенных и массовых диплоидно-полиплоидных комплекса: щиповок *Cobitis taenia — elongatoides* и серебряных карасей *Carassius auratus s. lato*, причем гибридные комплексы имеют как общие, так и отличительные признаки. Полиплоидные формы той и другой групп — это почти исключительно самки, которые имеют структуру триплоидных гибридов и размножаются с помощью гиногенеза, при этом тетраплоиды образуются путем возвратной гибридизации триплоида с родительским или другим диплоидным видом. Вместе с тем существует и ряд отличий, главное из которых — строгая клональная структура гиногенетических серебряных карасей,

когда все особи имеют единый пул аллелей [20—22], что контрастирует с полиплоидными щиповками, у которых не просто нет униморфизма, характерного для клона, но и более того, достаточно высок уровень полиморфизма, который сопоставим с изменчивостью диплоидных видов (табл. 5). Кроме того, триплоидные караси образуют изолированные поселения, а биотипы щиповок всегда сосуществуют с родительскими видами, только благодаря которым способны размножаться. Поэтому если клональная структура и автономность воспроизводства однополых карасей дают все же некоторое основание для их выделения в отдельный вид, называемый *C. gibelio*, то это совершенно неприемлемо для полиплоидных щиповок.

Причиной различий генетической структуры биотипов щиповок и карасей может быть как их разный возраст, так и то обстоятельство, что европейские караси на самом деле вселенцы из Восточной Азии и на пути своего расселения неоднократно проходили различного рода «бутылочные горлышки», причем благодаря гиногенезу основателями новых популяций могли стать буквально единичные особи, что в конечном счете могло привести к формированию клоновой структуры однополых карасей в Европе. Следует сказать, что похожая тенденция, связанная с редукцией генетического полиморфизма при расселении, имеет место и у щиповок. Так, генетический полиморфизм биотипа *C. elongatoides — taenia — «tanaitica»* или *C. elongatoides — 2 taenia* в бассейнах Днепра и Северском Донце, где они имеют инвазионную природу, гораздо ниже (табл. 4), чем *C. 2 elongatoides — «tanaitica»* или *C. elongatoides — 2 «tanaitica»* в Дунае, где они автохтонны, причем если в Днепре хотя бы сохраняется полиморфизм самого изменчивого локуса *Gpi-1*, а два других (*Aat-1*, *sMdh-1A*) фиксированы по наиболее часто встречающимся аллелям, то в Северском Донце у гомологичных триплоидов уже все три локуса мономорфны.

Выводы. Таким образом, подавляющее большинство выявленных в Нижнем Дунае полиплоидных форм, которые в настоящее время по численности существенно превосходят совместно обитающие с ними родительские виды, имеют автохтонное происхождение и, судя по

всему, возникают здесь *de novo*. При этом полученные материалы по структуре гибридных популяций подтверждают, что образование полиплоидов наиболее вероятно происходит в несколько этапов: вначале при гибридизации диплоидных родительских видов образуются диплоидные гибриды, затем путем возвратных скрещиваний гибридов с родительскими видами — триплоиды и в исключительных случаях, когда вместо гиногенеза идет оплодотворение, тетраплоидные гибриды. Исключительно высокое разнообразие и постоянное воспроизводство биотипов *de novo* отличает гибридное сообщество щиповок Дуная от Днепра, где обитает только *C. taenia* s. str., а полиплоиды — это исключительно вселенцы, которые в 70-х годах прошлого столетия в этом бассейне дали вспышку численности.

SUMMARY. The unusually high diversity of spined loache biotypes in Lower Danube was detected by means of biochemical genetic investigation and cytometric analysis of 358 specimens collected in riverbed and eriks. Along with two diploid species (*C. elongatoides* and *C. «tanaitica»*) six hybrid forms were revealed: diploid *C. elongatoides* — «*tanaitica*»; triploid *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» and *C. 2 elongatoides* — species-1 and tetraploid *C. 3 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — species-2 — 2 «*tanaitica*». Besides that the specimens with recombinant genotypes occurred. In spite of the apomictic mode of reproduction the polyploids do not possess the clonal structure but according to the level of polymorphism and the genotype distribution are isomorphous to the parental diploid species. This means that on the contrary to the polyploid cobitids of the Dnieper which have appeared in this catchment area due to the expansion of their home range the polyploid fishes from the Lower Danube reaches are autochthonous and are produced as a result of hybridization with the local diploid species. The process is seemingly going on without any kind of limitations.

РЕЗЮМЕ. Надзвичайно високе різноманіття біотипів щиповок в басейні Нижнього Дунаю було виявлено шляхом біохімічного генного маркування і цитометричного аналізу 358 екземплярів, що були зібрані в руслі та ериках. Наряду з двома диплоїдними видами (дунайською *C. elongatoides* і імовірно донською *C. «tanaitica»* щипівками) тут було знайдено ще шість гібридних форм: диплоїдна *C. elongatoides* — «*tanaitica*»; триплоїдні *C. 2 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — 2 «*tanaitica*» і *C. 2 elongatoides* — species-1 і тетраплоїдні *C. 3 elongatoides* — «*tanaitica*», *C. elongatoides* — species-2 — 2 «*tanaitica*». Крім цього, зустрічалися гібриди з рекомбінантним генотипом. При цьому

подіплоїди, незважаючи на апоміктичне розмноження, не мають структури клону, а за ступенем поліморфізму і характером розподілення алелів ізоморфні батьківським видам. Це означає, що на відміну від поліплоїдних щиповок Дніпра, поява яких в басейні — це результат експансії, поліплоїди низовій Дунаю — автотонні і постійно утворюються при гібридизації місцевих диплоїдних видів, причому процес йде без очевидних обмежень.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев В.П., Васильева Е.Д. Новый диплоидно-полиплоидный комплекс у рыб // Докл. АН СССР. — 1982. — 266, № 1. — С. 250—252.
2. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. — М.: Наука, 1985. — 299 с.
3. 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.
4. Bohlen J., Rab P. Species and hybrid richness in spined loaches of the genus *Cobitis* (Teleostei: Cobitidae), with a checklist of European forms and suggestions for conservation // J. Fish. Biol. — 2001. — 59. — P. 75—89.
5. Bohlen J., Rab P., Slechtova 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.
6. Lusk S., Kosco J., Halacka K., Luskova V., Flajshans M. Identification of *Cobitis* from the Slovakian part of the Tisza basin // Folia Biol. (Krakow). — 2003. — 51. — P. 61—65.
7. Межжерин С.В., Чудакова Т.Ю. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis taenia* (Cypriniformes: Cobitidae) бассейна Среднего Днепра // Генетика. — 2002. — 38, № 1. — С. 86—92.
8. Межжерин С.В., Лисецкая Т.Ю. Генетическая структура видового комплекса щиповок *Cobitis* ас. (Cypriniformes: Cobitidae) бассейна Северского Донца // Цитология и генетика. — 2004. — 38, № 1. — С. 36—43.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
 12. Peacock F.C., Bunting S.L., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel patterns from normal human subjects // *Science.* — 1965. — 147. — P. 1451—1455.
 13. Лисецька Т.Ю. Структура комплексу щиповок родів *Cobitis* і *Sabanejewia* (Сурприніформес: *Cobitidae*) басейну Середнього Дніпра та р. Сіверський Донець : Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Київ, 2004. — 22 с.
 14. Осинів А.Г., Васильєв В.П., Васильєва 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.
 15. Васильєв В.П., Васильєва Е.Д., Осинів 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.
 16. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетические доказательства существования нового диплоидно-полиплоидного комплекса рыб *Cobitis elongatoides* — *C. taenia* (Сурприніформес, *Cobitidae*) в фауне Украины // *Доп. НАН України.* — 2004. — № 10. — С. 170—174.
 17. Межжерин С.В., Чудакова Т.Ю. Экспансия триплоидных однополых щиповок *Cobitis taenia* L. 1758 (Сурприніформес, *Cobitidae*) в водотоках Украины // *Доп. НАН України.* — 2001. — № 9. — С. 153—157.
 18. Kotusz J. Intra- and interpopulation morphological variability in diploid and varied-ploidy *Cobitis* from Poland // *Folia Zool.* — 2000. — 49, № 1. — P. 219—227.
 19. Bogart J.P., Elison R.P., Licht L.E. Temperature and sperm incorporation in polyploid salamanders // *Science.* — 1989. — 246, № 4933. — P. 1032—1034.
 20. Zhou L., Wang Y, Gui J.: Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers // *Cytogenet. Cell Genet.* — 2000. — 88. — P. 133—139.
 21. Lin Y., Shu-Ting Y., Xue-Hong W. Jian-Fang G.I. Genetic diversity among different clones of the gynogenetic silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio*, revealed by transferrin and isozyme markers // *Biochem. Genet.* — 2001. — 39, № 5/6. — P. 213—225.
 22. Межжерин С.В., Кокодий С.В. О полифилитичности европейского триплоидного карася *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) // *Доп. НАН України.* 2006. — № 7. — С. 169—174.

Поступила 21.03.06