

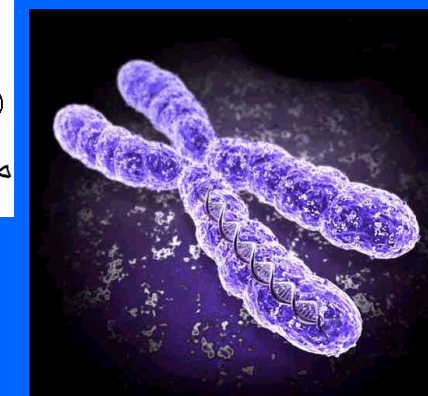
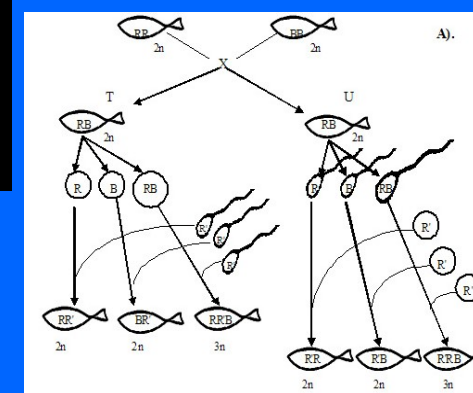
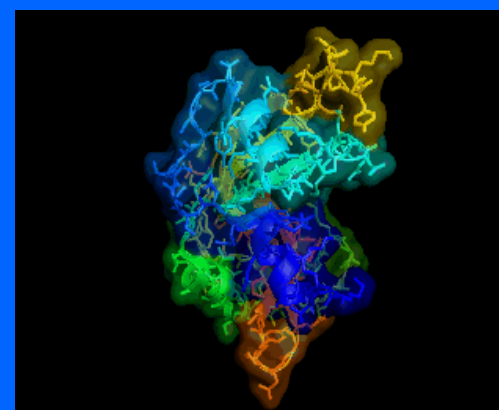
ISSN 0320-3557  
Российская академия наук

Труды Института биологии  
внутренних вод имени И.Д. Папанина  
Российской академии наук  
Выпуск 80 (83), 2017



<http://www.ibiw.ru>

# ГЕНЕТИКА И БИОХИМИЯ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ  
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК**



**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД ИМЕНИ И.Д. ПАПАНИНА РАН**



**ТРУДЫ ИБВВ РАН**

**ВЫПУСК 80(83)**

**2017**

**ОКТЯБРЬ – ДЕКАБРЬ**

Выходят 4 раза в год

# **ГЕНЕТИКА И БИОХИМИЯ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ**

УДК 556.531.4(282.247.41)  
ББК 28.59я4+28.69я4  
Г 34

**Генетика и биохимия водных животных** / [отв. ред. Ю. В. Слынько]. – Борок : Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН. Труды ; вып. 80(83). – 2017. – 100 с.

*А. М. Андреева, В. В. Большаков, Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов, А. Д. Куликова, Е. Е. Слынько, А. А. Солдатов, Е. Н. Пакунова, И. А. Парфенова, В. Г. Терещенко, Л. И. Терещенко, Ю. В. Чеботарева, Н. А. Шобанов, Ю. В. Слынько*

Выпуск трудов посвящен ряду актуальных проблем генетики и биохимии водных животных. В статьях отражены результаты исследований по анализу закономерностей наследования количественных и качественных признаков, генетическим особенностям отдаленной гибридизации, структурным и функциональным вопросам биохимии и кариологии рыб и беспозвоночных.

Книга рассчитана на генетиков, биохимиков, популяционных и эволюционных биологов, гидробиологов, экологов и специалистов в области проблем теории эволюции, а также студентов биологических и экологических факультетов.

#### Ответственный редактор тома

кандидат биологических наук **Ю. В. Слынько**

#### Рецензенты:

Чл.-корр. НАН Украины, доктор биологических наук, профессор **Г. Е. Шульман**

Доктор биологических наук, профессор **Д. В. Политов**

Доктор биологических наук **В. Б. Вербицкий**

#### Редакционная коллегия Трудов ИБВВ РАН:

*С. А. Поддубный (гл. редактор), д.г.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. В. Крылов (зам. гл. редактора), д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. А. Бобров, к.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Б. К. Габриелян, д.б.н., проф., НАН РА НЦ ЗГЭ, Ереван, Армения*

*В. К. Голованов, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*А. Н. Дзюбан, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Хай Доан Нё, д.ф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам*

*В. Т. Комов, д.б.н., проф., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*В. И. Лазарева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Н. М. Минеева, д.б.н., ИБВВ РАН, Борок, Россия*

*Лам Нгуен Нгок, д.ф., проф., Институт океанографии, ВАНТ, Нячанг, Вьетнам*

*А. А. Протасов, д.б.н., проф., ИГБ НАНУ, Киев, Украина*

*К. Робинсон, д.ф., EAWAG, Цюрих, Швейцария*

*В. П. Семенченко, д.б.н., чл.-кор. НАНБНПЦ НАН по биоресурсам, Минск, Беларусь*

*Печатается по решению Ученого совета ИБВВ РАН*

**The Genetics and Biochemistry of Aquatic Animals** / [Editor-in-chief Yu. V. Slynko]. – Borok : Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences, issue 80(83). – 2017. – 100 p.

*Andreeva A. M., Bolshakov V. V., Izumov Yu. G., Krylov V. V., Kulikova A. D., Soldatov A. A., Slynko E. E., Pakunova E. N., Parfenova I. A., Tereschenko V. G., Tereschenko L. I., Chebotareva Yu. V., Shobanov N. A., Slynko Yu. V.*

This compilation of works devoted to a number of topical issues of genetics and biochemistry of aquatic animals. The articles of the collection reflects the results of studies on the laws of inheritance analysis of quantitative and qualitative traits, genetic features hybridization, structural and functional issues of biochemistry and karyotype of fish and invertebrates.

The book is designed for geneticists, biochemists, population and evolutionary biology, hydrobiology, environmentalists and specialists in the problems of the theory of evolution, as well as students of biological and environmental departments.

#### Editor-in-chief of the volume

Candidate of biological sciences **Yu. V. Slynko**

#### Reviewers:

Corr.-Member of the NASU, doctor of biological sciences, professor **G. E. Shulman**

Doctor of biological sciences, professor **D. V. Politov**

Doctor of biological sciences **V. B. Verbitskiy**

#### Editorial board of IBIW RAS Transactions:

*S. A. Poddubnyi (editor), Dr. of geogr., IBIW RAS, Borok, Russia*

*A. V. Krylov (deputy editor), Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia*

*A. A. Bobrov, PhD., IBIW RAS, Borok, Russia*

*Hai Doan Nhu, PhD., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam*

*A. N. Dzyuban, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*B. K. Gabrielyan, Dr. of biol., prof., SC ZHE NAS RA, Yerevan, Armenia*

*V. K. Golovanov, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*V. T. Komov, Dr. of biol., prof., IBIW RAS, Borok, Russia*

*V. I. Lazareva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*N. M. Mineeva, Dr. of biol., IBIW RAS, Borok, Russia*

*Lam Nguyen Ngoc, PhD., prof., Institute of Oceanography, VAST, Nha Trang, Vietnam*

*A. A. Protasov, Dr. of biol., prof., IHB NASU, Kiev, Ukraine*

*C. Robinson, PhD., EAWAG, Zurich, Switzerland*

*V. P. Semenchenko, Dr. of biol., corr. member NASB, Minsk, Belarus*

*Published by the decision of IBIW RAS Academic council*

*Адрес редакции: 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н,*

*Институт биологии внутренних вод РАН*

*тел./факс (48547) 2-48-09; e-mail: [trud@ibiw.yaroslavl.ru](mailto:trud@ibiw.yaroslavl.ru)*

© Институт биологии внутренних вод РАН, 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

*А. М. Андреева*

СТЕХИОМЕТРИЯ БЕЛКОВЫХ АГРЕГАТОВ ПЛАЗМЫ РЫБ ..... 5–19

*В. В. Большаков, Н. А. Шобанов*

ВЛИЯНИЕ МИКРОУСЛОВИЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ  
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ *CHIRONOMUS PLUMOSUS* ИЗ  
РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА ..... 20–29

*А. Д. Куликова, А. А. Солдатов*

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЧЕТЫРЕХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП *MYTILUS*  
*GALLOPROVINCIALIS* LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) ИЗ ЧЕРНОГО МОРЯ ..... 30–37

*Ю. В. Слынько, Е. Е. Слынько*

СИСТЕМА РАЗМНОЖЕНИЯ ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ КАРПОВЫХ РЫБ ..... 38–59

*Е. Е. Слынько, Е. Н. Пакунова, Ю. В. Слынько*

ВРЕМЯ АКТИВАЦИИ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОВ В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ  
РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.) И  
ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.) ..... 60–68

*А. А. Солдатов, И. А. Парфенова*

ЦИТОХРОМНАЯ СИСТЕМА И УРОВЕНЬ МИОГЛОБИНА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ  
КЕФАЛИ-СИНГИЛЯ (*LIZA AURATA* RISSO) В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
ГИПОТЕРМИИ ..... 69–75

*Ю. В. Чеботарева, Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов*

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППИРОВКИ СЕГОЛЕТОК ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS* (L.)  
(CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРУДОВЫХ  
ВЫБОРКАХ ..... 76–85

*В. Г. Терещенко, Л. И. Терещенко*

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СКОРОСТЬ РОСТА ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ СЧЕТКА  
*OSMERUS EPERLANUS EPERLANUS* (L.) КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА .. 86–94

*Ю. В. Слынько*

ПАМЯТИ ВЛАДИМИРА НИКОЛАЕВИЧА ЯКОВЛЕВА ..... 95–96

*А. А. Солдатов*

ПАМЯТИ ГЕОРГИЯ ЕВГЕНЬЕВИЧА ШУЛЬМАНА ..... 97–98



## CONTENTS

<i>A. M. Andreeva</i> PROTEIN AGGREGATES STOICHIOMETRY IN FISH PLASMA .....	5–19
<i>V. V. Bolshakov, N. A. Shobanov</i> THE ROLE OF MICROHABITAT CONDITIONS IN FORMATION OF CYTOGENETIC STRUCTURE OF POPULATION <i>CHIRONOMUS PLUMOSUS</i> FROM RYBINSK RESERVOIR .....	20–29
<i>A. D. Kulikova, A. A. Soldatov</i> GENETIC CHARACTERISTICS OF THE FOUR MORPHOLOGICAL GROUPS OF <i>MYTILUS</i> <i>GALLOPROVINCIALIS</i> LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) FROM THE BLACK SEA ...	30–37
<i>Yu. V. Slyn'ko, E. E. Slyn'ko</i> SYSTEM'S OF BREEDING FOR DISTANT HYBRIDS CYPRINIDAE FISHES .....	38–59
<i>E. E. Slyn'ko, E. N. Pakunova, Yu. V. Slyn'ko</i> THE TIME OF ACTIVATE OF PARENTAL GENES IN EARLY EMBRYOGENESIS RECYPROCLY HYBRIDS OF FIRST GENERATION FROM BREAM ( <i>ABRAMIS BRAMA</i> L.) AND ROACH ( <i>RUTILUS RUTILUS</i> L.) .....	60–68
<i>A. A. Soldatov, I. A. Parfyonova</i> CYTOCHROME SYSTEM AND THE LEVEL OF MYOGLOBIN IN THE SKELETAL MUSCLE OF MULLET ( <i>LIZA AURATA</i> RISSO) IN EXPERIMENTAL CONDITION OF HYPOTHERMIA .....	69–75
<i>Yu. V. Chebotareva, Yu. G. Izyumov, V. V. Krylov</i> MORPHOLOGICAL GROUPING OF ROACH FINGERLINGS <i>RUTILUS RUTILUS</i> (L.) (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) IN THE EXPERIMENTAL POND .....	76–85
<i>V. G. Tereshchenko, L. I. Tereshchenko</i> SPECIFICAL GROWTH RATE SMELT POPULATION ABUNDANCE <i>OSMERUS</i> <i>EPERLANUS</i> (L.) IN KUIBYSHEV RESERVOIR .....	86–94
<i>Yu. V. Slynko</i> THE MEMORY OF VLADIMIR N. YAKOVLEV .....	95–96
<i>A. A. Soldatov</i> THE MEMORY OF GEORGIY E. SHULMAN .....	97–98

## СТЕХИОМЕТРИЯ БЕЛКОВЫХ АГРЕГАТОВ ПЛАЗМЫ РЫБ

А. М. Андреева

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru

Исследовали структурную организацию и состав белковых комплексов плазмы и тканевых жидкостей организма, реорганизации комплексов в ходе капиллярной фильтрации из плазмы в интерстициальную жидкость организма у морских и пресноводных Teleostei. По результатам работы рассчитаны стехиометрические модели белковых комплексов плазмы и предложена модель становления структурной организации белков плазмы в эволюции Teleostei. Обсуждается функциональная целесообразность присутствия белковых комплексов в плазме рыб.

**Ключевые слова:** костистые рыбы, белки плазмы, белковый комплекс, 2D-электрофорез, MALDI.

### ВВЕДЕНИЕ

В общих чертах белковые агрегаты можно охарактеризовать как надмолекулярные структуры из полипептидных цепей. Агрегирование является общим свойством белковых молекул и встречается на всех уровнях организации живой материи [Довидченко и др., 2014 (Dovidchenko et al., 2014)]. Наблюдаемый в последние десятилетия интерес к механизмам агрегирования белков обусловлен обнаружением связи между мисфолдингом – нарушением пространственной укладки белков – и заболеваниями человека [Bucciantini et al., 2002; Ellis, Pinheiro, 2002; Walsh et al., 2002; Stefani, Dobson, 2003; Neumann et al., 2009; Kwiatkowski et al., 2009; Vance et al., 2009; Doi et al., 2010]. На склонность белков к агрегированию влияют не только особенности первичной и вторичной структур полипептидных цепей, но и микроокружение белка. Разные стратегии в организации макромолекул четко прослеживаются на примере внутри- и внеклеточных белков. Так, разная компартментализация и разные барьерные свойства окружающих белки оболочек, разные буферные системы и конвективные свойства жидкостей внутри клетки и во внеклеточных жидкостях организма, а также разные функциональные задачи – все это в комплексе определяет различные стратегии в организации белков внутри и вне клетки.

Согласно установленным ранее принципам, внутриклеточные белки организованы преимущественно как олигомеры и состоят из нескольких полипептидных цепей, связанных нековалентно; внеклеточные белки организованы преимущественно как мономеры и состоят из 1 полипептидной цепи [Schulz, Schirmer, 1979]. Целесообразность такой дифференци-

ции обусловлена, прежде всего, необходимостью плотной упаковки белков внутри клетки, способствующей снижению осмотического давления и вязкости во внутриклеточном пространстве. Для внеклеточных пространств стратегия организации белков проявляется в разных размерах их мономерных форм. “Истинные” белки плазмы (но не “транзитные”) являются крупными мономерами; это предотвращает их быструю фильтрацию в интерстициальную жидкость [Schulz, Schirmer, 1979].

Есть ли исключения из этой закономерности? Что касается внутриклеточных белков, то их организация достаточно консервативна. Что же касается белков плазмы, то их структурная организация в разных группах Vertebrata оказалась различной. У Mammalia в норме белки плазмы являются мономерами; даже если они состоят из нескольких полипептидных цепей, то последние связаны друг с другом ковалентно. Агрегированные формы белков плазмы у человека встречаются исключительно при патологиях [Stefani, Dobson, 2003]. Между тем, в плазме низших позвоночных – рыб – обнаружены белковые комплексы, относительное содержание которых достигает 20–30%, а в отдельных случаях 50% [Andreeva, 2010]. Никаких гипотез и концепций относительно этого феномена не предложено. В данном исследовании мы постараемся разобраться в структурной организации белковых комплексов плазмы рыб, предложим их стехиометрические модели, обсудим функциональную целесообразность их присутствия в крови, а также вопросы, касающиеся эволюции структурной организации белков плазмы у Teleostei.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Объекты исследования.** В качестве объектов использовали плазму костистых рыб: султанки *Mullus barbatus* L., звездочета

*Uranoscopus scaber*, морского ерша *Scorpaena porcus* L., бычков кругляка *Neogobius melanostomus* P. и мартовика *Mesogobius*

*batrachocephalus* P., морского налима *Gaidropsarus mediterraneus* L., зеленушки *Symphodus tinca* L. (Черное море); речной камбалы *Platichthys flesus* L., камбалы лиманды *Limanda limanda* L., зубатки *Anarhichas lupus* L., трески *Gadus morhua* L., бычка керчака *Myoxocephalus scorpius* L. (Белое море); шуки *Esox lucius* L., судака *Stizostedion lucioperca* L., окуня *Perca fluviatilis* L., пеляди *Coregonus peled* G., карпа *Cyprinus carpio* L., леща *Abramis brama* L., синца *A. ballerus* L., плотвы *Rutilus rutilus* L., карася серебряного *Carassius auratus* L. (Рыбинское водохранилище, р. Волга); дальневосточной мелкочешуйной красноперки *Tribolodon brandtii* D. (Японское море, р. Волчанка); карпа *Cyprinus carpio* L. (подрощен в экспериментальных прудах ИБВВ РАН).

В экспериментах по акклимации пресноводных рыб к условиям повышенной солености использовали лещей и плотву 2+. Половозрелых рыб отлавливали в мае в р. Волга; в результате естественного нереста производителей в экспериментальных нерестовых прудах получали потомство, которое подращивали в экспериментальных нагульных прудах до 2+ и использовали далее в экспериментах по акклимации к солености.

Определение стадии зрелости гонад. Стадии зрелости гонад половозрелых рыб определяли по шкале зрелости половых продуктов [Сакун, Буцкая, 1968 (Sakun, Butskaya, 1968)].

Получение плазмы крови ПК рыб. Кровь отбирали из хвостовых сосудов рыб сразу после их отлова. Для получения плазмы кровь собирали в пробирки с 1%-ным раствором (*m/V*) гепариноида, осевшие эритроциты удаляли центрифугированием при комнатной температуре в течение 10 мин. при 14000 g.

Получение тканевой жидкости ТЖ. Мышечную жидкость отбирали выше боковой линии между краем жаберной крышки и спинным плавником. С помощью ножниц с длинными лезвиями делали кожный разрез и микронаконечником дозатора оттягивали кожу в глубине “кармана” так, чтобы создать в нем разрежение. Благодаря “подсасывающему” эффекту этого разрежения мышечная жидкость собиралась в “кармане” в количестве нескольких микролитров, которые отбирали для анализа. При необходимости использовали “бумажный метод” отбора мышечной жидкости [Andreeva et al., 2015a].

Электрофоретические методы. Низкомолекулярную (НМ) фракцию оценивали по числу белков, молекулярной массе MW и электрофоретической подвижности *Rf* белков, и

расположению на электрофореграмме в 7.5%-ном ПААГ.

Способ организации белков по типу мономер/олигомер определяли по расположению, числу и MW белковых “пятен” в денатурирующем двумерном электрофорезе (2D-E) в градиенте концентраций 5–40% полиакриламидного геля (ПААГ) и денатурирующем электрофорезе – в 11%-ном ПААГ с 8 М мочевиной [Creighton, 1979] и 12.5%-ном Ds-Na-ПААГ в восстанавливающих условиях [Laemmli, 1970]. В первом направлении проводили диск-электрофорез в 7.5- или 4.9%-ном ПААГ.

В качестве маркеров MW использовали полимеры сывороточного альбумина человека HSA (67, 134, 201, 268, 335 кДа) и овальбумина OA (45, 90, 135 кДа) и PageRuler™ Prestained Protein Ladder Plus (11, 17, 28, 36, 55, 72, 95, 130, 250 кДа) (Fermentas). Денситометрирование, расчет относительного содержания (ОС) и MW белков проводили с помощью программы ONE-Dscan, Ver 1.31 (Scananalytic Inc.).

Экспериментальная акклимация неполовозрелых лещей к условиям повышенной солености воды. Для исключения влияния фактора созревания гонад на капиллярную фильтрацию использовали неполовозрелых лещей возраста 2+, полученных в результате естественного нереста производителей и подрощенных в экспериментальных прудах. Рыб акклимировали к воде различной солености – 8.0, 10.0 и 11.5‰ в соответствии с рекомендациями по акклимации пресноводных рыб в диапазоне “критической солености” [Хлебович, 1974 (Khlebovich, 1974); Мартемьянов, 1989 (Martemyanov, 1989)], добавляя соль NaCl в аквариумы в расчете 1 г/л в сутки. В контрольный аквариум соль не добавляли. В аквариумах поддерживали устойчивый температурный и гидрохимический режим.

Масс-спектрометрия MALDI. Операции по подготовке проб анализируемых белков для масс-спектрометрии выполнены в соответствии с протоколом, описанным ранее [Андреева, 2013 (Andreeva, 2013)]. Масс-спектры (*ms*) продуктов трипсинолиза получали на tandemном MALDI-времяпролетно-масс-спектрометре Ultraflextreme BRUKER (“Bruker Daltonics”, Германия), оснащенном УФ лазером (Nd) в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона в диапазоне масс 700–4500 *m/z*. Точность измеренных моноизотопных масс после докалибровки по пикам автолиза трипсина составляла 50 ppm. При необходимости получали спектры фрагментации *ms-ms* отдельных пептидов. Для их получения использовали тан-

демный режим прибора, точность измерения фрагментных ионов была не ниже 1 Да. Масс-спектры обрабатывали с помощью программного пакета FlexAnalysis 2.4 (“Bruker Daltonics”, Германия).

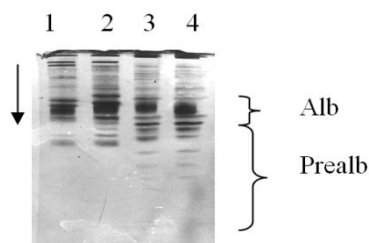
Идентификацию белков проводили с помощью программы Mascot (опция “пептидный фингерпринт”, [www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com)). Поиск проводили в базах данных NCBI среди белков всех организмов и/или EST vertebrates. Кандидатные белки, имеющие параметр достоверности  $score > 83$ , считали определенными надеж-

но ( $p < 0.05$ ). С использованием программного обеспечения Biotoools 3.0 (“Bruker Daltonics”, Германия) проводили поиск кандидатных белков по объединенным данным  $ms+(ms-ms)$ . Если кандидатные последовательности обнаруживались в неаннотированной базе данных EST в виде библиотек кДНК, то реконструированную на основе мРНК аминокислотную последовательность вставляли в Protein BLAST и далее задавали поиск кандидатного белка среди белков всех позвоночных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Белковые комплексы обнаружены нами в низкомолекулярной (НМ) фракции белков плазмы рыб. Рассмотрим организацию этой фракции на примере представителей пресноводных и морских Teleostei.

Организация низкомолекулярной фракции белков плазмы у пресноводных Teleostei. НМ-фракция белков плазмы расположена на электрофореграмме в зоне электрофоретической подвижности  $Rf$  0.37–0.87 и состоит из двух подфракций (рис. 1).



**Рис. 1.** Диск-Е плазмы: 1, 2 – леща, 3, 4 – судака. “Alb” и “Prealb” – подфракции НМ-фракции белков плазмы.

**Fig. 1.** Disk-E of bream (1, 2) and zander (3, 4) blood plasma. “Alb” and “Prealb” – subfractions of LM- plasma protein fraction.

Первая подфракция представлена в виде “пятна” с нечеткими контурами, на ее долю приходится более половины всего белка фракции; вторая подфракция, как правило, гетерогенна и состоит из 2–15-ти белков (рис. 1). Первая подфракция связывает альбуминспецифичный краситель синий Эванса, поэтому мы назвали ее альбуминоподобной (Alb); вторая – не связывает краситель [Andreeva, 2012] и по ее локализации на электрофореграмме – перед Alb – мы обозначили ее как преальбумины (Prealb) (рис. 1).

В 2D-E в неденатурирующих условиях первая подфракция представлена одним белковым “пятном” с MW около 120 кДа, вторая – 2–15 белками от 45 до 100 кДа (рис. 2, *верхний ряд*); в денатурирующем геле с мочевиной обе подфракции представлены несколькими белками (рис. 2, *средний ряд*). В SDS-ПААГ первая подфракция представлена белками с MW около 14, 25 и 50–60 кДа, вторая – 2–3 белками с MW около 50–60 кДа (рис. 2, *нижний ряд*).

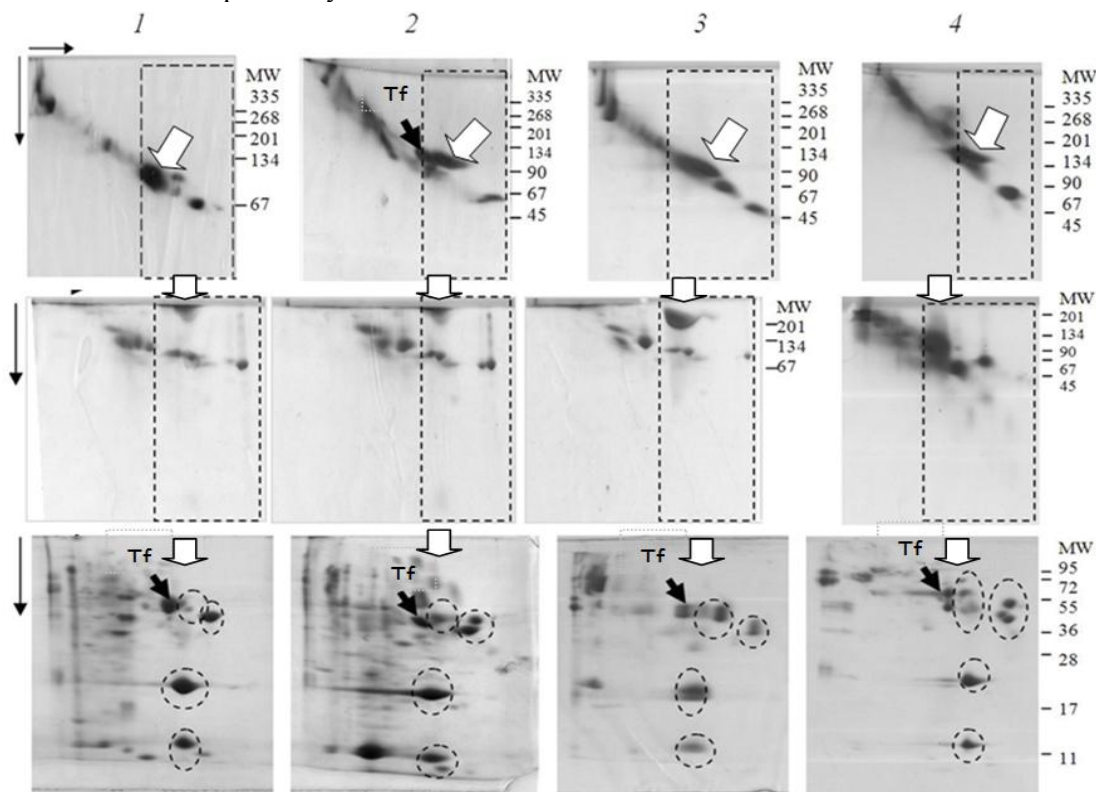
У разных представителей пресноводных Teleostei – карповых, окуневых, щуковых, лососевых рыб – НМ-фракции белков плазмы организованы сходным образом [Andreeva, 2012]. Данное обстоятельство позволяет использовать результаты идентификации белков у отдельных видов с секвенированными геномами для идентификации соответствующих белков у видов с несеквенированными геномами. В качестве модельного вида мы использовали карпа.

Как обнаружить белковые комплексы в плазме рыб? Неденатурированные белковые комплексы выглядят на электрофореграммах в виде “пятен” с нечеткими контурами. Их локализацию в геле определяли по белку-“навигатору” трансферрину (Tf). В диск-E Tf расположен непосредственно над комплексом, в 2D-E примыкает к комплексу слева (рис. 2). Tf окрашивается реактивом Мюллера [Palmour, Sutton, 1971], что удобно для его быстрой идентификации в геле. Кроме того, Tf успешно идентифицируется с помощью MALDI как у

модельных, так и у “диких” видов с несеквенированными геномами [Andreeva et al., 2015a].

Комплексы обнаруживали по сопоставлению количества белковых пятен на дорожке Alb в разных 2D-Е системах – в градиенте концентраций ПААГ, в ПААГ с 8 М мочевиной и SDS-ПААГ в восстанавливающих условиях, и по сопоставлению величин MW белков в этих системах. В денатурирующих условиях комплексы диссоциировали под действием мочевины или додецилсульфата натрия на отдельные полипептидные цепи. Сопоставление величин MW белков в разных условиях дает

представление о стехиометрии комплекса и стабилизирующих его связях. Так, в градиенте ПААГ MW комплекса у карповых рыб составил около 120 кДа: в ПААГ с мочевиной комплекс диссоциировал на 3 белка с MW около 120, 90 и 56 кДа; в SDS-ПААГ – в основном на 3 белка с MW около 60, 29 и 12 кДа (рис. 2). Сопоставление этих величин позволяет предположить, что 120 кДа-белок является комплексом, состоящим, как минимум, из 3-х белков, связанных друг с другом нековалентными (водородными) связями.

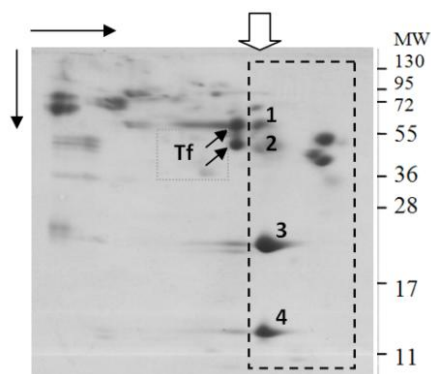


**Рис. 2.** 2D-Е плазмы: *верхний ряд*, градиент концентраций ПААГ – лещ (1), плотва (2), красноперка (3), карп (4); *средний ряд*, ПААГ с мочевиной – синец (1), лещ (2), плотва (3), красноперка (4); *нижний ряд*, SDS-ПААГ – плотва (1), карась (2), красноперка (3), карп (4). Рамками выделены НМ-фракции, овалами – группы белков. Белые стрелки в верхнем ряду указывают на нативный белковый комплекс, в среднем и нижнем рядах – на дорожку комплекса.

**Fig. 2.** 2D-E of blood plasma. *Upper row*: 2D-PAGE (5-40% PAG) of bream (1), roach (2), eastern redfin (3) and carp (4) plasma. *Middle row*: 2D-PAGE with 8 M urea of zope (1), bream (2), roach (3) and eastern redfin (4) plasma. *Lower row*: 2D-SDS-PAGE of roach (1), crucian carp (2), eastern redfin (3) and carp (4) plasma. LM- protein fractions are designated by dotted frames, protein groups – by dotted ovals. White pointers in *upper row* indicate the native protein complex, in middle and lower rows – to the track of the complex.

Идентификация белков в составе комплекса плазмы карпа. У модельного вида – карпа – белки в составе комплекса плазмы идентифицировали с помощью MALDI. Для этого белки вырезали из 2D-SDS-ПААГ, подвергали трипсинолизу, получали ms и идентифицировали, отбирая среди выборки кандида-

тов наиболее адекватные. У карпа в настоящее время в DB Proteins/NCBI имеется свыше пяти тысяч расшифрованных белковых последовательностей. Мы идентифицировали 4 белка в составе белкового комплекса плазмы карпа (рис. 3, белки 1–4).



**Рис. 3.** 2D-SDS-E плазмы карпа. В рамку выделены белки НМ-фракции. Белая стрелка указывает дорожку белкового комплекса и белки 1–4 в его составе.

**Fig. 3.** 2D-SDS-PAGE of carp blood plasma. The proteins of LM-fraction are designated by dotted frame. White pointer indicates to the protein complex track and to the proteins 1–4 in its composition.

В таблице 1 представлено по одному кандидату с наибольшей достоверностью *score* для каждого из четырех белков карпа (табл. 1). Для белка 1 на рисунке 3 ( $MW_{obs}$  около 64 кДа) гомологи обнаружены в неаннотированной DB EST/NCBI, поэтому расчетная величина молекулярной массы ( $MW_{calc}$ ) в таблице 1 отсутствует. Кандидаты для этого белка представлены библиотеками кДНК, сконструированными на основе популяций мРНК печени карпа (CF662379). Для идентификации белка 1 мы вставляли реконструированную на основе мРНК аминокислотную последовательность в

Protein BLAST и задавали поиск среди белков всех позвоночных. Из предложенных кандидатов мы отобрали наиболее адекватный, на наш взгляд, гомолог – “Warm temperature acclimation-related 65 kDa protein” карповой рыбы пестрого толстолобика *Hypophthalmichthys nobilis* R. Этот белок часто обозначают как гемопексин (Hx), так как он содержит в структуре “Hemopexin-like”-повторы, связывает гем и транспортирует его в печень (GenBank ACO51168.1). Для остальных трех белков комплекса плазмы карпа кандидаты были определены с помощью программы Mascot (табл. 1).

**Таблица 1.** Идентификация белков в составе белкового комплекса плазмы карпа

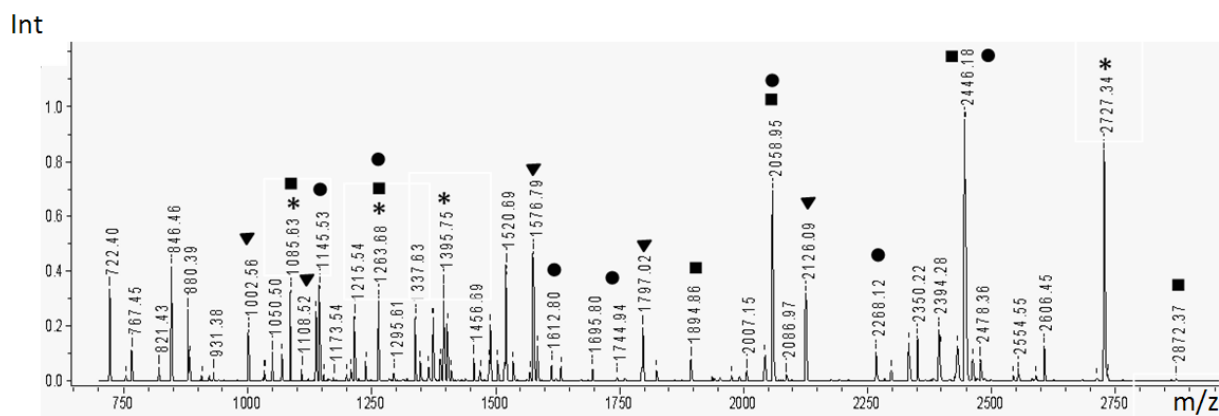
**Table 1.** Identification of the proteins in the composition of protein carp plasma complex

Protein №	Candidate proteins (NCBI)	Accession Number (NCBI)	MW, kDa calc/obs <sup>1</sup>	Score <sup>2</sup>	Coverage <sup>3</sup> %
1	Warm temperature acclimation-related 65 kDa protein [Hypophthalmichthys nobilis] (silver carp)	GenBank ACO51168.1	/63.4	173	43
2	Fetuin long form [Cyprinus carpio]	gi 29501368	51.666/52.8	144	6
3	apolipoprotein A-I [Cyprinus carpio]	gi 13445027	20.797/22.0	260	63
4	14 kDa apolipoprotein [Cyprinus carpio]	gi 385865216	15.718/12.8	241	73

№ – номер белка по рис.3; <sup>1</sup> расчетная и экспериментальная величины молекулярной массы полипептидной цепи, <sup>2</sup> вероятностный коэффициент достоверности, <sup>3</sup> перекрытие аминокислотных последовательностей. Protein number (№) is given according to fig.3; <sup>1</sup> calculated and experimental values of protein MW, <sup>2</sup> parameter of reliability, <sup>3</sup> amino-acid sequences overlapping.

Сопоставив число белковых пятен на дорожке белкового комплекса, величины MW нативных и денатурированных белков и результаты MALDI-идентификации, мы пришли к выводу о наличии в составе белкового комплекса плазмы карпа четырех транспортных белков – гемопексина, фетуина и двух негомологических аполипопротеинов А-I и Apo-14. Для

проверки этого результата мы сравнили ms нативного белкового комплекса и ms отдельных денатурированных белков в его составе. Результаты показали наличие в масс-спектре нативного комплекса сигналов от всех входящих в его состав белков – гемопексина, фетуина и аполипопротеинов (рис. 4).



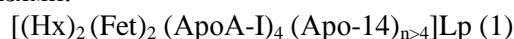
**Рис. 4.** Масс-спектр нативного белкового комплекса *T. brandtii* и сигналы отдельных белков в его составе: “Warm temperature acclimation-related 65 kDa”-белка (▼), фетуина (●) Apo A-I (\*) и Apo-14 (■).

**Fig. 4.** Mass-spectra of *T. brandtii* native plasma protein complex and the signals of separate proteins in its composition: “Warm temperature acclimation-related 65 kDa”-protein (▼), fetuin (●) Apo A-I (\*) and Apo-14 (■).

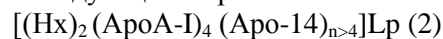
Учитывая однотипную организацию белкового комплекса плазмы у исследованных представителей пресноводных карповых, окуневых, щуковых и лососевых рыб (каarp, брахидактилюс, густера, укля, плотва, лещ, чехонь, дальневосточных краснопёрок рода *Tribolodon*, щука, судак, окунь, пелядь) и сходные показатели MW белков в составе комплексов, мы пришли к выводу об их едином составе – из гемопексина, фетуина и аполипопротеинов.

Стехиометрическая модель комплекса. Использование разных электрофоретических систем и MALDI позволило установить состав и ориентировочную стехиометрию белкового комплекса плазмы у пресноводных костистых рыб. Учитывая экспериментальную величину MW комплекса (около 100–120 кДа) и MW отдельных белков в его составе – около 67 кДа для Hx, около 53 кДа для фетуина, 26 и 14 кДа для Apo A-I и Apo-14 соответственно, мы предположили, что НМ-фракция содержит ассоциаты разных белков с приблизительно сходными показателями MW – гомодимеры Hx и Fet, тетрамеры Apo A-I и олигомеры Apo-14

более высокого порядка, стабилизированные водородными связями. В составе такой структуры присутствуют и липиды (Lp) [Andreeva, 2012], связанные с белками нековалентными связями:



Гемопексин и два аполипопротеина присутствовали в составе комплекса плазмы у всех исследованных нами видов пресноводных Teleostei, между тем как фетуин обнаружен не у всех рыб. С учетом данного обстоятельства универсальную стехиометрическую модель белкового комплекса плазмы рыб можно представить следующим образом:



Стехиометрическая модель и структурные реорганизации белкового комплекса плазмы. В диск-Е два основных способа организации НМ-фракции мы обозначили как “базовый” и “пластический”. Они сопутствовали разным сезонам и разным стадиям репродуктивного цикла рыб и различались величинами  $R_f$ , MW и степенью гетерогенности белков фракции (рис. 5).



**Рис. 5.** Диск-Е белков плазмы леща и организация НМ-фракции по “базовому” (1, 2) и “пластическому” (3, 4) типам.

**Fig. 5.** Disk-E of bream plasma proteins and LM-fraction organization according to “basic” (1, 2) and “plastic” (3, 4) types.



Базовый тип характеризуется более высокими показателями MW нативного комплекса (около 120 кДа) и максимальной гетерогенностью подфракции Prealb; пластический тип - минимальными показателями MW нативного комплекса (около 100 кДа) и гетерогенности подфракции Prealb (рис. 5). Базовый и пластический типы НМ-фракции чередовались в течение года: характерный для летне-осеннего и зимнего периодов базовый тип сменялся весной на пластический. Базовые НМ-фракции встречались у рыб с гонадами I–III стадий зрелости, пластические НМ-фракции – у рыб с гонадами IV стадии зрелости. В период подготовки рыб к нересту происходила реорганизация комплекса плазмы, в ходе которой MW комплекса снижалась со 120 до 100 кДа. Между тем, субъединичный состав комплекса в ходе сезонной и генеративной динамик не менялся. Исходя из вышеизложенного, мы предположили, что в течение года белковые комплексы плазмы регулярно перестраивались: ассоциаты из олигомеров разных белков реорганизовывались в гетероолигомеры из разных мономеров – гемопексина и двух аполипопротеинов:  
 $[(Hx)_2 (ApoA-I)_4 (Apo-14)_{n=4}]Lp [(Hx) (ApoA-I) (Apo-14)] Lp (3)$

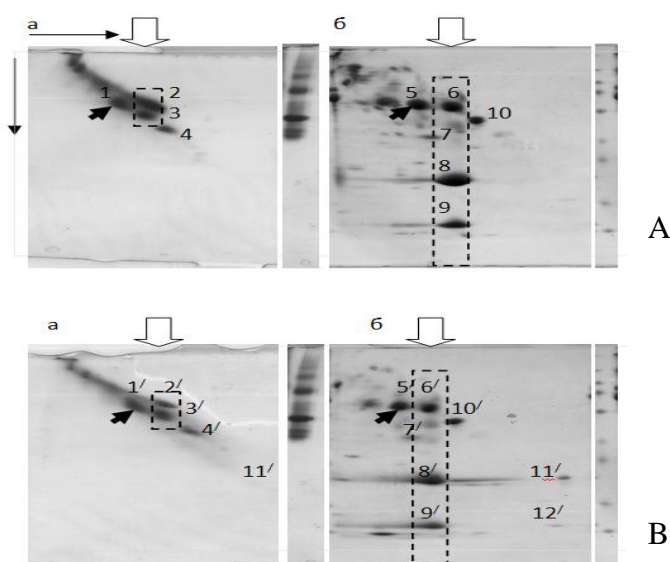
Структурные реорганизации белкового комплекса плазмы в ходе капиллярной фильтрации в интерстициальное пространство.  
 В плазме готовящейся к зимовке красноперки *T. brandtii* обнаружены 120 кДа- и 90 кДа-комплексы, в составе которых выявлено четы-

ре субъединицы с MW около 12, 22, 41 и 64 кДа (рис. 6).

Теоретически 64 кДа-субъединицы могут формировать 120 кДа-димеры, 41 кДа-субъединицы – 120 кДа-тримеры, 12 кДа- и 22 кДа- субъединицы – олигомеры более высокого порядка с MW около 90 кДа. Кроме того, не исключена возможность формирования комплексов смешанного состава. Идентификация субъединиц в составе комплекса из мышечной жидкости показала их принадлежность к Hx и аполипопротеинам Apo A-I и Apo-14 (табл. 2). Денатурированный Apo A-I из плазмы и мышечной жидкости был представлен двумя субъединицами с MW около 29 и 41 кДа, что позволяет предположить наличие в жидкостях организма не только его 29 кДа- формы, но и ковалентного производного.

Протеомные карты плазмы и мышечной жидкости рыб практически совпадали, но только в мышечной жидкости были обнаружены отдельные отсутствующие в плазме белки, обозначенные как 11' и 12' (рис. 6). Они оказались неагрегированными мономерными формами Apo A-I и Apo-14 соответственно.

Таким образом, в мышечной жидкости отдельные белки присутствовали как в составе комплекса, так и в виде свободных мономерных форм, что позволяет предположить диссоциацию комплекса в ходе его капиллярной фильтрации из плазмы в интерстициальное пространство.



**Рис. 6.** Протеомные карты плазмы (А) и мышечной жидкости (Б) красноперки в градиенте ПААГ (а) и SDS-ПААГ (восстанавливающие условия) (б). 1–9 – белки плазмы, 1'–13' – мышечной жидкости. Пунктиром выделена область белкового комплекса. Белая стрелка указывает дорожку комплекса.

**Fig. 6.** Proteomic maps of eastern redfin blood plasma (A) and interstitial muscle fluid (B) in gradient PAGE (a) and SDS-PAGE (reducing conditions) (b). 1–9 – plasma proteins, 1'–13' – interstitial fluid proteins. Dotted line isolated the region of protein complex. White pointer indicates the track of complex.



**Таблица 2.** Идентификация белков мышечной жидкости *T. brandtii*<sup>1</sup>

**Table 2.** *T. brandtii* interstitial fluid proteins identification<sup>1</sup>

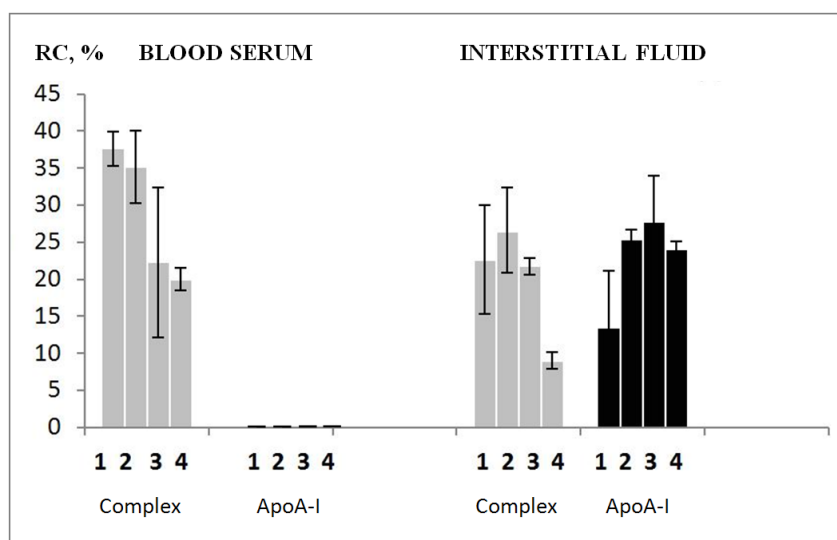
Protein №	Candidate proteins (NCBI)	Accession Number (NCBI)	MW, kDa calc/obs	Score	Coverage %
1(1'), 5(5')	transferrin [Ctenopharyngodon idella]	gi 193480074	73.5/65	80	2
6(6')	warm temperature acclimation-related 65kDa protein, partial [Ctenopharyngodon idella]	gi 218202908	16.6/65.0	94	43
7(7')	apolipoprotein A-I-1 [Hemibarbus mylodon]	gi 206598060	29.9/41.0	93	6
8(8')	apolipoprotein A-I-1 [Hemibarbus mylodon]	gi 206598060	29.9/24.3	93	6
9(9')	«14 kDa apolipoprotein» [Pimephales promelas]	gi 110351026	14.8/13.0	63	6
10(10')	serpina1 protein [Danio rerio]	GenBank AAH62869.1	/53.0	423	98
11(11')	apolipoprotein A-I-1 [Hemibarbus mylodon]	gi 206598060	29.9/24.3	93	6

<sup>1</sup> нумерация белков в соответствии с рис. 6; остальные обозначения см. в табл. 1.

<sup>1</sup> protein numeration is given according to fig. 6; the remaining designations see in Table 1.

Структурные реорганизации комплексов плазмы при адаптациях рыб к солености. При экспериментальной акклимации лещей и плотвы к условиям повышенной солености была отмечена тенденция к диссоциации белковых комплексов плазмы в ходе их капиллярной фильтрации в интерстициальную мышечную

жидкость. При солености 11.5‰ содержание комплекса в плазме снижалось в два раза, в жидкости белых мышц – в 3–4 раза (рис. 7). Параллельно было отмечено почти двукратное увеличение относительного содержания мономерного Апо А-I в мышечной жидкости рыб.



**Рис. 7.** Динамика относительного содержания белкового комплекса и Апо А-I в сыворотке крови и интерстициальной жидкости белых мышц леща в условиях акклимации рыб к соленой воде: 1 – пресная вода, 2 – 8‰, 3 – 10‰, 4 – 11.5‰. ОСФ – относительное содержание белков в %.

**Fig.7.** Dynamics of relative content (RC, %) of protein complex and ApoA-I in the bream blood serum and interstitial muscle fluid in acclimation conditions to saline water: 1 – fresh water, 2 – 8‰, 3 – 10‰, 4 – 11.5‰.

Белковые комплексы плазмы у морских видов рыб. Поиск белковых комплексов в

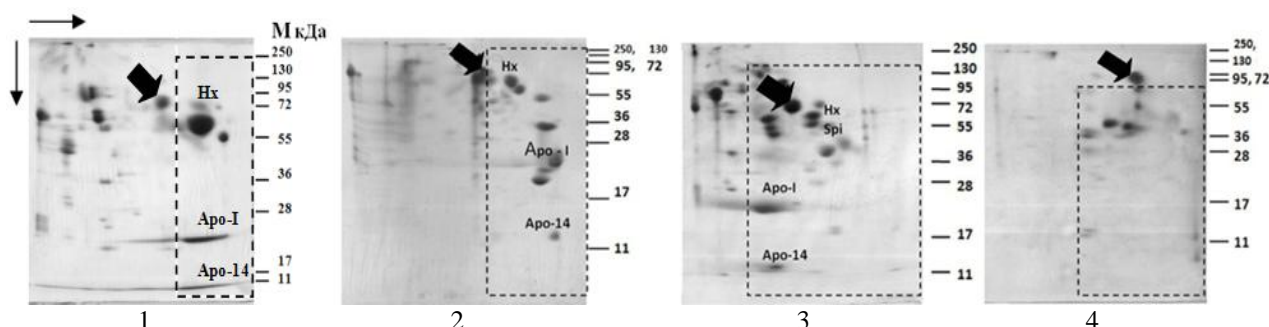
плазме рыб из других отрядов и семейств Pisces был проведен по такому же алгоритму,

что и у пресноводных и проходных карповых, а именно, по сопоставлению протеомных карт плазмы в разных 2D-E-системах с последующей идентификацией белков с помощью MALDI. Стоит особо отметить, что у диких видов идентификация белков в составе комплекса с помощью масс-спектрометрии большей частью была затруднительна. Во многих случаях белки объектов не имели гомологов среди белков модельных видов, представленных в DB NCBI аминокислотными и кодирующими их нуклеотидными последовательностями. Тем не менее, с учетом особенностей организации белковых комплексов плазмы у модельных видов рыб, был проведен поиск белковых комплексов у 30-ти морских и пресноводных видов Teleostei из 9 отрядов и 15 семейств.

Несмотря на то, что у морских Teleostei в структуре НМ-фракции белков плазмы были обнаружены те же белки, что и у пресноводных рыб, у морских видов не было отмечено свойственного для пресноводных видов единообразия структуры НМ-фракции (рис. 8).

Во-первых, локализация на протеомной карте плазмы аполипопротеинов и гемопекси-

на у морских видов несла черты видоспецифичности (рис. 8). У бычка-мартовика эти белки находились на разных дорожках и образовывали только гомоолигомеры; у речной камбалы к этой особенности добавлялось особое расположение белков на карте – по разные стороны от белка “навигатора” трансферрина; у зеленушки не найден Аро А-I; между тем, как у представленного на рисунке для сравнения пресноводного вида – щуки – НМ-фракция белков плазмы была организована как и у карповых рыб (рис. 8). Во-вторых, не у всех морских видов рыб белковые агрегаты обнаружены в плазме. Если у беломорских видов - трески, речной камбалы, лиманды и бычков – комплексы в плазме присутствовали, то у большинства исследованных черноморских видов комплексы в плазме не обнаружены. Сравнивая количество белков НМ-фракции плазмы этих видов в разных 2D-E мы обратили внимание, что количество белков в неденатурирующих условиях, как правило, было сопоставимо с количеством белков в ПААГ с 8М мочевиной (табл. 3), что косвенно указывает на отсутствие комплексообразования.



**Рис. 8.** 2D-SDS-E белков плазмы 1 – щуки, 2 – бычка-мартовика, 3 – речной камбалы, 4 – зеленушки. В рамки выделены белки НМ- фракции. Черная стрелка указывает на трансферрин.

**Fig. 8.** 2D-SDS-PAGE of the plasma proteins of *Esox lucius* (1), *Mesogobius batrachocephalus* (2), *Platichthys flesus* (3), *Symphodus tinca* (4). LM-protein fraction is framed by dotted line. Black pointer indicates transferrin.

**Таблица 3.** Максимальное количество белков НМ-фракции плазмы у черноморских видов рыб в разных электрофоретических системах (1D- и 2D-E)

**Table 3.** Maximum quantity of proteins of LM- plasma fraction in Black Sea fish species at the different electrophoresis systems (1D- and 2D-E)

Виды Species	диск-E disk-E	2D-E, градиент 2D-PAGE, 5–40%	2D-E, 8М мочевины 2D-PAGE, 8M urea	2D-SDS-E 2D-SDS-PAGE
<i>Mullus barbatus</i>	6	10	11	12
<i>Uranoscopus scaber</i>	9	15	17	24
<i>Symphodus tinca</i>	7	16	17	24
<i>Gaidropsarus mediterraneus</i>	8	18	20	21
<i>Scorpaena porcus</i>	7	15	24	34
<i>Neogobius melanostomus</i>	7	12	11	22
<i>Mesogobius batrachocephalus</i>	10	18	16	41

Только у скорпены в градиенте ПААГ и ПААГ с мочевиной в НМ-фракции было обнаружено 15 и 24 белков соответственно, что

предполагает наличие агрегированных форм в нативных условиях (табл. 3).

И в-третьих, при наличии в плазме морских видов белковых комплексов, последние

были представлены исключительно гомоолигомерами. Например, у беломорских видов в составе белковых комплексов обнаружены только гомоолигомеры гемопексина и аполипопротеинов.

Таким образом, белковые комплексы обнаружены нами в плазме как пресноводных,

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование выявило универсальный характер организации белковых комплексов плазмы у пресноводных Teleostei. Эти комплексы представляют собой ассоциаты из мономерных и олигомерных форм гемопексина и аполипопротеинов. В течение года происходят динамичные перестройки комплексов, в процессе которых 120 кДа-ассоциаты из олигомеров гемопексина и аполипопротеинов (и липидов) –  $[(Hx)_2(ApoA-I)_4(Apo-14)_{n>4}]Lp$  – сменяются на 100 кДа-ассоциаты из мономерных форм этих же белков (и липидов) –  $[(Hx)(ApoA-I)(Apo-14)]Lp$ . Рассчитанные на основе электрофоретических методов стехиометрические модели комплексов подтверждают и данные масс-спектрометрии MALDI, с помощью которой сигналы индивидуальных белков обнаружены в масс-спектрах нативных комплексов.

У морских Teleostei отсутствие единообразия в организации белковых комплексов плазмы проявляется в их составе – у разных видов они представлены гомоолигомерами ApoA-I или Apo-14, гомоолигомеры Hx нами не установлены. Кроме того, комплексы выявлены не у всех исследованных морских видов рыб.

Наличие стехиометрических белковых комплексов в жидкостях организма пресноводных Teleostei, их олигомерная организация, состав (из транспортных белков) и регулярные структурные реорганизации в ходе сезонных и репродуктивных ритмов – все это позволяет считать их присутствие в плазме рыб функционально оправданным. Очевидна транспортная функция комплекса, следующая из состава его белков – гемопексина (переносит гем) и аполипопротеинов A-I (переносят холестерин). Между тем, появление мономерных форм белков при капиллярной фильтрации комплекса в интерстициальную жидкость в условиях акклимации рыб к повышенной солености – позволяет предположить участие белковых комплексов и в осморегуляции. Сравнительный анализ диссоциации комплекса у акклимированных к соленой воде рыб (лещ, плотва) и у проходной красноперки демонстрирует ее приуроченность к разным событиям: 1) осморегуляторным – у леща и

так и морских костистых рыб. Но если у первых отмечено единообразие их организации, то среди морских видов наблюдается разнообразие комплексов 1) по признаку их наличия/отсутствия в плазме, 2) по их локализации на протеомной карте плазмы и 3) по составу белков.

плотвы, так как диссоциация комплекса происходит у рыб в условиях нарастающей солености воды, что совпадает с направлением реакции диссоциации олигомерных комплексов при нарастании ионной силы *in vitro*; 2) и к метаболическим процессам – у проходной красноперки, так как диссоциация комплекса *in vivo* характерна не для морской, а для речной фазы жизни рыб и связана, вероятно, с подготовкой рыб к зимовке, а не с осморегуляцией. Данное обстоятельство, а также установленная ранее согласованность параметров капиллярной фильтрации белка плазмы с питанием, сезоном, созреванием и возрастом [Andreeva et al., 2015a, b; Andreeva, 2012], демонстрируют универсальную роль белковых комплексов в метаболизме рыб.

Систематизируя костистых рыб по признаку наличия/отсутствия белковых комплексов в плазме крови, можно выделить два “полярных” варианта: с одной стороны, это пресноводные рыбы, в крови которых стабильно присутствуют единообразно организованные белковые комплексы; с другой стороны, это морские виды, в крови которых белковых комплексов нет. “Промежуточный” вариант включает в себя морские виды с разным набором гомоолигомеров из разных аполипопротеинов. Мы связали этот феномен с ранними этапами становления протеома жидкой внутренней среды организма у низших позвоночных – рыб. История таксона Pisces неразрывно связана с океаном и с последующим освоением пресных вод [Romer, Parsons, 1986]. Учитывая обнаруженные нами особенности организации белков жидкой среды организма у морских и пресноводных рыб, мы предположили, что протеом плазмы у предков современных рыб, обитающих в области критической солености около 8‰ и несколько выше [Хлебович, 1974 (Khlebovich, 1974)], мог быть представлен слабыми ассоциатами из отдельных белков. При освоении предковыми формами рыб пресных и высокосолённых акваторий могли быть задействованы противоположные стратегии организации белков жидкой среды организма. У видов, столкнувшихся в эволюционной истории с пресными водами, одним из возмож-

ных приспособлений могло стать агрегирование белков плазмы, снижающее онкотическое давление крови и, как следствие, поступление воды в организм. У морских видов наоборот: увеличение количества белковых мономеров в крови способствовало росту онкотического давления крови, что снижало риск обезвоживания организма в соленой воде. Косвенным доказательством выдвинутой концепции является наличие у карповых рыб, становление которых связывают с пресными водами, типичных для пресноводных Teleostei белковых комплексов в крови; именно у карповых рыб содержание комплексов в крови достигает максимальных среди исследованных нами видов Teleostei величин [Andreeva, 2010].

Еще одним аспектом выполненного исследования является особая роль входящего в состав комплекса плазмы белка – переносчика холестерина аполипопротеина Apo A-I. Этот белок обнаружен у всех пресноводных, но не у всех морских видов. Именно этот белок накапливается в интерстициальной жидкости белых мышц пресноводных рыб при помещении их в соленую воду, что позволило нам рассматривать его как осморегуляторный белок. В качестве осморегуляторного данный белок рассматривают и другие авторы [Jiong Chen et al., 2009].

Возникают вопросы: (1) почему именно аполипопротеин A-I связан у рыб и с транспортом, и с осморегуляцией, (2) почему именно этот белок формирует динамичные белковые комплексы в плазме Teleostei и (3) почему этот белок отсутствует в крови некоторых морских видов рыб? Ответы на первые два вопроса кроются, на наш взгляд, в пойкилотермной природе рыб. Эта природа предопределяет приуроченность всех обменных процессов рыб к условиям среды. Весной происходит активация биосинтетических процессов в организме. В первую очередь активация синтеза касается белков, обслуживающих энергетический обмен и, в их числе, транспортных белков аполипопротеинов, переносящих липиды. Важ-

ность такого транспорта определяется тем, что липиды у рыб являются основным энергетическим субстратом [Шульман и др., 1978 (Schulman et al., 1978); Watanabe, 1982; Babin et al., 1997; Paolucci et al., 1998; Kondo et al., 2001, 2005; Durliat et al., 2000; Shen et al., 2000; Jiong Chen et al., 2009]. Установлено, что Apo A-I, помимо обратного транспорта холестерина [Jackson et al., 1976], выполняет у рыб его прямой транспорт из печени к периферическим тканям [Ando, Mori, 1993], а также переносит свободные жирные кислоты [De Smet et al., 1998] и выполняет ряд функций, не связанных с энергетическим обменом [Li Zhou et al., 2005]. Активное участие данного белка в метаболизме рыб объясняет его синтез в разных тканях рыб [Jiong Chen et al., 2009]. Если весной в условиях активного синтеза транспортного белка он не будет агрегировать при поступлении в плазму, то это приведет к нарастанию ее онкотического давления и нарушению водного баланса в организме. Именно агрегирование белка, наряду с его перераспределением относительно стенки капилляра [Andreeva et al., 2015b] является фактором, снижающим перепады онкотического давления жидкостей организма, что важно для поддержания в нем стабильной фильтрации. Ответ на третий вопрос, касающийся отсутствия аполипопротеина A-I в плазме некоторых морских видов рыб, могут дать исследования экспрессии гена *ApoA-I* у проходной рыбы айю *Plecoglossus altivelis*, представителя семейства айювых подотряда корюшковых рыб [Jiong Chen et al., 2009]. Авторами работы было показано достоверное снижение экспрессии гена *ApoA-I* в ряде тканей у рыб в условиях соленой воды, между тем как у рыб из пресной воды ген оставался экспрессированным во всех исследованных тканях. Можно предположить, что для восполнения дефицита данного белка в тканях рыб в условиях соленой воды использовались резервы сывороточного Apo A-I, что и приводило к его исчезновению из крови.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность И.И. Рудневой, В.Г. Шайда (ИнМБИ РАН, г. Севастополь) и Н.Е. Ламаш (ИБМ ДВО РАН) за предоставленные образцы плазмы черноморских рыб и дальневосточной красноперки, и М.В. Серебряковой (МГУ, г. Москва) за масс-спектрометрический анализ белков. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проекты № 13-04-00427-а и 16-04-00120-а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреева А.М. 2013. Идентификация некоторых белков крови и тканевой жидкости у рыб с нерасшифрованным геномом // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. Т. 49. № 6. С. 394–402. [Andreeva A.M. Identification of some blood and tissue fluids proteins in fishes with the undeciphered genome // Zhurnal Evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii. 2013. V. 49. № 6. P. 394–402]. In Russian.
- Довидченко Н.В., Леонова Е.И., Галзитская О.В. Механизмы образования амилоидных фибрилл // Усп. Биол. Химии. 2014. Т.54. С. 203–230. [Dovidchenko N.V., Leonova E.I., Galzitskaya O.V. Mechanisms of the formation of the amiloid fibrils // Uspekhi biologicheskoy khimii. 2014. V. 54. P. 203–230]. In Russian.
- Мартемьянов В.И. Влияние солености на пресноводных рыб // Зоол. журн. 1989. Т. 68. № 5. С. 72–81. [Martemyanov V.I. Influence of salinity on the fresh-water fishes // Zool. zhurnal. 1989. V. 68. № 5. P. 72–81]. In Russian.
- Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучение половых продуктов рыб. Мурманск. ПИНРО. 1968. 46 с. [Sakun O.F., Butskaya N.A. Determination of maturity stages and the study of the sexual products of the fishes. Murmansk. PINRO. 1968. 46 p.]. In Russian.
- Хлебович В.В. 1974. Критическая соленость биологических процессов. Л.: Наука, 236с. [Khlebovich V.V. Critical salinity of the biological processes. Leningrad: Nauka, 1974. 236 p.]. In Russian.
- Шульман Г.Е. и др. Элементы физиологии и биохимии общего и активного обмена у рыб. Киев: Наукова думка. 1978. 204с. [Schulman G.E. et al. Elements of physiology and biochemistry of general and active metabolism in the fishes. Kiev: Naukova dumka. 1978. 204 p.]. In Russian.
- Ando S., Mori Y. Characteristics of serum lipoprotein features associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish // Nippon Suisan Gakkaishi. 1993. V. 59. P. 1565–1571.
- Andreeva A.M., Lamas N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P., Bolshakov V.V. Reorganization of Low-Molecular-Weight Fraction of Plasma Proteins in the Annual Cycle of Cyprinidae // Biochemistry (Moscow). 2015a. V. 80. № 2. P. 208–218. DOI: 10.1134/S0006297915020078.
- Andreeva A.M., Lamash N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P. Seasonal Dynamics in Capillary Filtration of Plasma Proteins in Eastern Redfins of the Genus *Tribolodon* (Cyprinidae) // Journal of Ichthyology. 2015b. Vol. 55. № 5. P. 723–734.
- Andreeva A.M. The structure of fish serum albumins // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2010. Vol.46. P. 135–144. DOI: 10.1134/S0022093010020018.
- Andreeva A.M. Structural and functional organization of fish blood proteins. Nova Science Publisher: N.Y. 2012. 188 p.
- Babin P.J., Thisse C., Durliat M., Andre M., Akimenko M.A., Thisse B. Both apolipoprotein E and A-I genes are present in a nonmammalian vertebrate and are highly expressed during embryonic development // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1997. V. 94. P. 8622–8627. DOI: 10.1073/pnas.94.16.8622
- Bucciantini M., Gianni E., Chiti F., Baroni F., Formigli L., Zurdo J., Taddei N., Ramponi G., Dobson C.M., Stefani M. Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases // Nature. 2002. V. 416(6880). P. 507–511. DOI: 10.1038/416507a
- Creighton T.E. Electrophoretic analysis of the unfolding of proteins by urea // J. Mol. Biol. 1979. Vol. 129. P. 235–264. DOI:10.1016/0022-2836(79)90279-1.
- De Smet H., Blust R., Moens L. Absence of albumin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio*: binding of fatty acids to high density lipoprotein // Fish Physiol. Biochem. 1998. V. 19. P. 71–81.
- Doi H., Koyano S., Suzuki Y., Nukina N., Kuroiwa Y. The RNA-binding protein FUS/TLS is a common aggregate-interacting protein in polyglutamine diseases // Neuroscience research. 2010. V. 66. P. 131–133. DOI: 10.1016/j.neures.2009.10.004
- Durliat M., Andrea M., Babin P.J. Conserved protein motifs and structural organization of a fish gene homologous to mammalian apolipoprotein E // Eur. J. Biochem. 2000. V. 267. P. 549–559. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2000.01033.x
- Ellis R.J., Pinheiro T.J. Medicine: danger–misfolding proteins // Nature. 2002. V. 416(6880). P. 483–484. DOI: 10.1038/416483a
- Jackson R.L., Morrisett J.D., Gotto A.M. Lipoprotein structure and metabolism // Physiol. Rev. 1976. V. 56. P. 259–316.
- Jiong Chen, Yu H. Shi, Hai Q. Hu, He Niu, Ming Y. Li. Apolipoprotein A-I, a hyperosmotic adaptation-related protein in ayu (*Plecoglossus altivelis*) // Comp. Biochemistry and Physiology, Part B. 2009. V. 152. P. 196–201. DOI: 10.1016/j.cbpb.2008.11.005
- Kondo H., Kawazoe I., Nakaya M., Kikuchi K., Aida K., Watabe S. The novel sequences of major plasma apolipoproteins in the eel *Anguilla japonica* // Biochim. Biophys. Acta. 2001. V. 1531. P. 132–142. DOI: 10.1016/S1388-1981(01)00099-3
- Kondo H., Morinaga K., Misaki R., Nakaya M., Watabe S. Characterization of the pufferfish *Takifugu rubripes* apolipoprotein multigene family // Gene. 2005. V. 346. P. 257–266. DOI: 10.1016/j.gene.2004.11.015
- Kwiatkowski T.J., Jr Bosco D.A., Leclerc A.L., Tamrazian E., Vanderburg C.R., Russ C., Davis A., Gilchrist J., Kasarskis E.J., Munsat T., Valdmanis P., Rouleau G.A., Hosler B.A., Cortelli P., de Jong P.J., Yoshinaga Y., Haines J.L. Pericak-Vance M.A., Yan J., Ticozzi N., Siddique T., McKenna-Yasek D., Sapp P.C., Horvitz H.R., Landers

- J.E., Brown R.H.. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis // *Science* (New York, N.Y.). 2009. V. 323. P. 1205–1208. DOI: 10.1126/science.1166066
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature*. 1970. Vol. 227(4). № 5259. P. 680–685. DOI: 10.1038/227680a0
- Li Zhou, Yang Wang, Bo Yao, Chuang-Ju Li, Guan-Dong Ji, Jian-Fang Gui. Molecular cloning and expression pattern of 14 kDa apolipoprotein in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* // *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 2005. V. 142. P. 432–437. DOI: 10.1016/j.cbpb.2005.09.007
- Neumann M., Rademakers R., Roeber S., Baker M., Kretzschmar H.A., Mackenzie I.R.A. A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology, *Brain* // *Journal of neurology*. 2009. V. 132. P. 2922–2931. DOI: 10.1093/brain/awp214
- Palmour R.M., Sutton H.E. Vertebrate transferrins molecular weight, clinical composition and iron binding studies // *Biochem*. 1971. V. 10. P. 4026–4032. DOI: 10.1021/bi00798a003
- Paolucci M., Guerriero G., Botte V., Ciarcia G. Apolipoproteins and their electrophoretic pattern throughout the reproductive cycle in the green frog *Rana esculenta* // *Comp. Biochem. Physiol. B*. 1998. V. 119. P. 647–654. DOI: 10.1016/S0305-0491(98)00040-6
- Romer A.S., Parsons Th.S. *The Vertebrate Body*. Philadelphia – NY – Chicago: Saunders College Publishing, 1986. 624p.
- Schulz, G.E., Schirmer, R.H. *Principles of Protein Structure*. Springer, 1979. 314p.
- Shen Y., Lindberg A., Olivecrona G. Apolipoprotein CII from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is functionally active but structurally very different from mammalian apolipoprotein CII // *Gene*. 2000. V. 254. P. 189–198. DOI: 10.1016/S0378-1119(00)00268-7
- Stefani M., Dobson C.M. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution // *Mol. Med*. 2003. V. 81. P. 678–699. DOI 10.1007/s00109-003-0464-5
- Vance C., Rogelj B., Hortobágyi T., De Vos K.J., Nishimura A.L., Sreedharan J., Hu X., Smith B., Ruddy D., Wright P., Ganesalingam J., Williams K.L., Tripathi V., Al-Saraj S., Al-Chalabi A., Leigh P.N., Blair I.P., Nicholson G., de Belleruche J., Gallo J.-M., Miller C.C., Shaw C.E. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6 // *Science* (N.Y.). 2009. V. 323. P. 1208–1211. DOI: 10.1126/science.1165942
- Walsh D.M., Klyubin I., Fadeeva J.V., Cullen W.K., Anwyl R., Wolfe M.S., Rowan M.J., Selkoe D.J. Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo // *Nature*. 2002. V. 416. P. 535–539. DOI: 10.1038/416535a
- Watanabe T. Lipid nutrition in fish // *Comp. Biochem. Physiol. B*. 1982. V. 73. P. 3–15.

## REFERENCES

- Ando S., Mori Y. 1993. Characteristics of serum lipoprotein features associated with lipid levels of muscle and liver from five species of fish // *Nippon Suisan Gakkaishi*. V. 59. P. 1565–1571.
- Andreeva A.M., Lamas N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P., Bolshakov V.V. 2015a. Reorganization of Low-Molecular-Weight Fraction of Plasma Proteins in the Annual Cycle of Cyprinidae // *Biochemistry (Moscow)*. V. 80. № 2. P. 208–218. DOI: 10.1134/S0006297915020078.
- Andreeva A.M., Lamash N.E., Serebryakova M.V., Ryabtseva I.P. 2015b. Seasonal Dynamics in Capillary Filtration of Plasma Proteins in Eastern Redfins of the Genus *Tribolodon* (Cyprinidae) // *Journal of Ichthyology*. Vol. 55. № 5. P. 723–734.
- Andreeva A.M. 2010. The structure of fish serum albumins // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. Vol. 46. P. 135–144. DOI: 10.1134/S0022093010020018.
- Andreeva A.M. 2013. Identifikatsiya nekotorykh belkov i tkanevoy zhidkosti u ryb s nerasshifrovannym genomom [Identification of some blood and tissue fluids proteins in fishes with the undeciphered genome] // *Zhurnal Evolyutsionnoi biokhimii i fiziologii*. V. 49. № 6. S. 394–402. [In Russian].
- Andreeva A.M. 2012. *Structural and functional organization of fish blood proteins*. Nova Science Publisher: N.Y. 188 p.
- Babin P.J., Thisse C., Durliat M., Andre M., Akimenko M.A., Thisse B. 1997. Both apolipoprotein E and A-I genes are present in a nonmammalian vertebrate and are highly expressed during embryonic development // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* V. 94. P. 8622–8627. DOI: 10.1073/pnas.94.16.8622
- Bucciantini M., Giannoni E., Chiti F., Baroni F., Formigli L., Zurdo J., Taddei N., Ramponi G., Dobson C.M., Stefani M. 2002. Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases // *Nature*. V. 416(6880). P. 507–511. DOI: 10.1038/416507a
- Creighton T.E. 1979. Electrophoretic analysis of the unfolding of proteins by urea // *J. Mol. Biol.* Vol. 129. P. 235–264. DOI: 10.1016/0022-2836(79)90279-1.
- De Smet H., Blust R., Moens L. 1998. Absence of albumin in the plasma of the common carp *Cyprinus carpio*: binding of fatty acids to high density lipoprotein // *Fish Physiol. Biochem.* V. 19. P. 71–81.
- Doi H., Koyano S., Suzuki Y., Nukina N., Kuroiwa Y. 2010. The RNA-binding protein FUS/TLS is a common aggregate-interacting protein in polyglutamine diseases // *Neuroscience research*. V. 66. P. 131–133. DOI: 10.1016/j.neures.2009.10.004

- Durliat M., Andrea M., Babin P.J. 2000. Conserved protein motifs and structural organization of a fish gene homologous to mammalian apolipoprotein E // *Eur. J. Biochem.* V. 267. P. 549–559. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2000.01033.x
- Dovidchenko N.V., Leonova E.I., Galzitskaya O.V. 2014. Mekhanizmy obrazovaniya amiloidnykh fibril [Mechanisms of the formation of the amiloid fibrils] // *Uspekhi biologicheskoy khimii.* V. 54. S. 203–230. [In Russian].
- Ellis R.J., Pinheiro T.J. 2002. Medicine: danger–misfolding proteins // *Nature.* V. 416(6880). P. 483–484. DOI: 10.1038/416483a
- Jackson R.L., Morrisett J.D., Gotto A.M. 1976. Lipoprotein structure and metabolism // *Physiol. Rev.* V. 56. P. 259–316.
- Jiong Chen, Yu H. Shi, Hai Q. Hu, He Niu, Ming Y. Li. 2009. Apolipoprotein A-I, a hyperosmotic adaptation-related protein in ayu (*Plecoglossus altivelis*) // *Comp. Biochemistry and Physiology, Part B.* V. 152. P. 196–201. DOI: 10.1016/j.cbpb.2008.11.005
- Khlebovich V.V. 1974. Kriticheskaya solenost biologicheskikh protsessov [Critical salinity of the biological processes]. Leningrad: Nauka. 236 s. [In Russian].
- Kondo H., Kawazoe I., Nakaya M., Kikuchi K., Aida K., Watabe S. 2001. The novel sequences of major plasma apolipoproteins in the eel *Anguilla japonica* // *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1531. P. 132–142. DOI: 10.1016/S1388-1981(01)00099-3
- Kondo H., Morinaga K., Misaki R., Nakaya M., Watabe S. 2005. Characterization of the pufferfish *Takifugu rubripes* apolipoprotein multigene family // *Gene.* V. 346. P. 257–266. DOI: 10.1016/j.gene.2004.11.015
- Kwiatkowski T.J., Jr Bosco D.A., Leclerc A.L., Tamrazian E., Vanderburg C.R., Russ C., Davis A., Gilchrist J., Kasarskis E.J., Munsat T., Valdmann P., Rouleau G.A., Hosler B.A., Cortelli P., de Jong P.J., Yoshinaga Y., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Yan J., Ticozzi N., Siddique T., McKenna-Yasek D., Sapp P.C., Horvitz H.R., Landers J.E., Brown R.H.. 2009. Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis // *Science (New York, N.Y.).* V. 323. P. 1205–1208. DOI: 10.1126/science.1166066
- Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature.* Vol. 227(4). № 5259. P. 680–685. DOI: 10.1038/227680a0
- Li Zhou, Yang Wang, Bo Yao, Chuang-Ju Li, Guan-Dong Ji, Jian-Fang Gui. 2005. Molecular cloning and expression pattern of 14 kDa apolipoprotein in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* // *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B.* V. 142. P. 432–437. DOI: 10.1016/j.cbpb.2005.09.007
- Martemyanov V.I. 1989. Vliyaniye solenosti na presnovodnykh ryb [Influence of salinity on the fresh-water fishes] // *Zool. zhurnal.* V. 68. № 5. S. 72–81. [In Russian].
- Neumann M., Rademakers R., Roeber S., Baker M., Kretschmar H.A., Mackenzie I.R.A. 2009. A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology, Brain // *Journal of neurology.* V. 132. P. 2922–2931. DOI: 10.1093/brain/awp214
- Palmour R.M., Sutton H.E. 1971. Vertebrate transferrins molecular weight, clinical composition and iron binding studies // *Biochem.* V. 10. P. 4026–4032. DOI: 10.1021/bi00798a003
- Paolucci M., Guerriero G., Botte V., Ciarcia G. 1998. Apolipoproteins and their electrophoretic pattern throughout the reproductive cycle in the green frog *Rana esculenta* // *Comp. Biochem. Physiol. B.* V. 119. P. 647–654. DOI: 10.1016/S0305-0491(98)00040-6
- Romer A.S., Parsons Th.S. 1986. The Vertebrate Body. Philadelphia – NY – Chicago: Saunders College Publishing, 624p.
- Sakun O.F., Butskaya N.A. 1968. Opredeleniye stadiy zrelosti i izucheniye polovykh produktov ryb [Determination of maturity stages and the study of the sexual products of the fishes]. Murmansk. PINRO. 46 s. [In Russian].
- Schulman G.E. et al. 1978. Elementy fiziologii i biokhimii obshego i aktivnogo obmena u ryb [Elements of physiology and biochemistry of general and active metabolism in the fishes]. Kiev: Naukova dumka. 204 s. [In Russian].
- Schulz, G.E., Schirmer, R.H. 1979. Principles of Protein Structure. Springer. 314p.
- Shen Y., Lindberg A., Olivecrona G. 2000. Apolipoprotein CII from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is functionally active but structurally very different from mammalian apolipoprotein CII // *Gene.* V. 254. P. 189–198. DOI: 10.1016/S0378-1119(00)00268-7
- Stefani M., Dobson C.M. 2003. Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution // *Mol. Med.* V. 81. P. 678–699. DOI 10.1007/s00109-003-0464-5
- Vance C., Rogelj B., Hortobágyi T., De Vos K.J., Nishimura A.L., Sreedharan J., Hu X., Smith B., Ruddy D., Wright P., Ganesalingam J., Williams K.L., Tripathi V., Al-Saraj S., Al-Chalabi A., Leigh P.N., Blair I.P., Nicholson G., de Belleruche J., Gallo J.-M., Miller C.C., Shaw C.E. 2009. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6 // *Science (N.Y.).* V. 323. P. 1208–1211. DOI: 10.1126/science.1165942
- Walsh D.M., Klyubin I., Fadeeva J.V., Cullen W.K., Anwyl R., Wolfe M.S., Rowan M.J., Selkoe D.J. 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid  $\beta$  protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo // *Nature.* V. 416. P. 535–539. DOI: 10.1038/416535a
- Watanabe T. 1982. Lipid nutrition in fish // *Comp. Biochem. Physiol. B.* V. 73. P. 3–15.

## PROTEIN AGGREGATES STOICHIOMETRY IN FISH PLASMA

**A. M. Andreeva**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: aam@ibiw.yaroslavl.ru*

Structural organization and composition of protein complexes from plasma and organism tissue fluids, reorganization of complexes in the process of its capillary filtration from plasma into interstitial fluids in sea- and fresh-water fishes (Teleostei) were investigated. The stoichiometric models of plasma protein complexes are calculated. The model of formation of plasma protein structural organization in the Teleostei evolution is proposed. The functional expediency of presence of protein complexes in fish plasma is discussed.

*Keywords:* bony fishes, plasma proteins, protein complex, 2D- electrophoresis, MALDI



## ВЛИЯНИЕ МИКРОУСЛОВИЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ *CHIRONOMUS PLUMOSUS* ИЗ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

В. В. Большаков, Н. А. Шобанов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, Россия, e-mail: victorb@ibiw.yaroslavl.ru

В работе представлен предварительный анализ данных по влиянию микроусловий среды обитания *Chironomus plumosus* на формирование цитогенетической структуры популяции из Рыбинского водохранилища. Найдены базовые последовательности дисков политенных хромосом и их сочетания характерные для всех изученных точек, в результате чего была выделена общая популяция “Рыбинское водохранилище”. Для каждой из изученных точек определены характерные последовательности дисков хромосом, что связано с особенностями гидрологического и гидрохимического режима водохранилища и его притоков. Благодаря высокому разнообразию геномных комбинаций популяция “Рыбинское водохранилище” относится к центральному типу.

**Ключевые слова:** хирономиды, хромосомы, адаптация, *Chironomus plumosus*.

### ВВЕДЕНИЕ

Давно известно, что разные инверсии обладают различным экологическими оптимумами, вследствие чего особи с разным порядком генов по-разному приспосабливаются к условиям существования [Дубинин, 1966 (Dubinin, 1966)]. Создаваемое таким образом разнообразие генотипов является генетическим резервом вида и способствует его адаптации к условиям обитания (Маут, 1970). Поэтому в центральных популяциях ареала с различными сочетаниями экологических условий наблюдается более высокий процент гетерозиготности, в отличие от популяций со строго специфическими условиями обитания [Стегний, 1993 (Stegniy, 1993); Dobzhansky, 1957]. Проявляется эффект сверхдоминирования, адаптивного преимущества гетерозигот [Дубинин, 1966 (Dubinin, 1966)]. Некоторые рецессивные аллели в гомозиготном состоянии малоадаптивны или даже сублетальны; сохраняются в популяциях потому, что в гетерозиготах они обеспечивают своим носителям превосходство над гомозиготами по доминантным аллелям того же локуса [Чудов, 2002 (Chudov, 2002)]. Это подтверждается экспериментами по выживаемости вида *Chironomus plumosus* L., в бескислородных условиях, когда гетерозиготные особи *pluB1.2*. (St/Bt) проявили более высокую устойчивость к аноксии [Pedersen, 1984].

При сравнении популяций сибирских и западноевропейских популяций *C. balatonicus* (Devai, Wuelker, Scholl, 1983) и *C. muratensis* (Ryser, Scholl, Wuelker 1983) было обнаружено существенное различие в их кариофондах: последовательность *balD1* совсем не встречается в Западной Сибири, в Венгрии ей обладают 84% личинок, тоже касается и последователь-

ности *murD1* не отмеченной в сибирских популяциях в гомозиготе, однако, встречающейся в Швеции у 79% особей [Кикнадзе, Керкис, 1986 (Kiknadze, Kerkis, 1986)]. Подобное наблюдается также у личинок из водоёмов, разделённых всего несколькими километрами. При анализе кариотипов *C. plumosus* из русловой части Рыбинского водохранилища и прудов в п. Борок не было найдено ни одной общей геномной комбинации. Условно эти популяции разделили на Водохранилищную (характерны последовательности *pluB1.2*. и *pluB2.2*.) и Прудовую (только *pluB11*) [Шобанов, 1994б (Shobanov, 1994b); Shobanov, Bolshakov, 2011)]. Водохранилища, являясь искусственными сооружениями, обладают большой изменчивостью морфометрических, гидрологических, гидрохимических характеристик во времени. При активной сработке в зимнее время площадь Рыбинского водохранилища сокращается вдвое, а объём почти на 70%. Наполнение происходит, в основном, во время весеннего половодья, в это время водохранилище заполняется высокоминерализованной речной водой. В летние месяцы речной сток заметно снижается и речные воды определяются лишь в русловых областях соответствующих рек [Буторин, 1969 (Butorin, 1969); Ривьер, 1986 (River, 1986)]. Поэтому в разных областях водохранилища, благодаря вышеописанным процессам, в соответствии с условиями обитания формируются разнообразные биотопы, особенно в зонах смешения речных вод с водной массой водохранилища. Было показано, что в зонах трансформации и смешения различных водных масс – участках с повышенной гидродинамической активно-

стью, где происходит интенсификация физико-химических и биохимических процессов – наблюдается повышение биомассы и численности гидробионтов [Поддубный, Сухова, 2002 (Poddubnyy, Suhova, 2002)].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом исследования послужили личинки *Chironomus plumosus* из русловой части Рыбинского водохранилища, собранные в 2013, 2014 и 2015 гг. Глубина в точках сбора составляла от 12 до 16 м, грунт серый ил. Подробное описание точек сбора в таблице 1. Расстояние между точками составляло от 25 до 45 км. Личинок фиксировали в спирт-уксусной смеси (раствор Карнуа) – 3 части 96% этанола и 1 части ледяной уксусной кислоты. Если фиксирующего раствора приходилось менее чем 0.5 мл на 1 особь, производили его 2–4-х кратную смену в течение первых суток (пока он не переставал желтеть в результате вытекания гемолимфы). Далее все манипуляции с подготовкой препаратов проводили с использованием вольфрамовых игл с электролитической заточкой под стереомикроскопом МБС-1. Слюнные железы выделяли, поместив личинку

Поэтому, для изучения влияния микро-условий на формирование цитогенетической структуры популяции хирономид, нами были изучены личинки *C. plumosus* собранные из разных районов Рыбинского водохранилища в разные периоды времени.

в чашку Петри с 70% этанолом. Препараты политенных хромосом готовили по методу С.Ю. Дёмина [Дёмин, 1989 (Dyomin, 1989)]. Фотографирование хромосом проводили на микроскопе JenaVal с объективом x40 при помощи фотоаппарата Canon PowerShot A720. При видовой идентификации по кариотипу предпочитали использовать цитофотокарты из Атласа “Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini” [Кикнадзе и др., 1991 (Kiknadze et al., 1991)], и картирование по модернизированной системе Максимовой [Максимова, 1976 (Maksimova, 1976); Шобанов, 1994а (Shobanov, 1994а)]. Инверсионные варианты хромосомных плеч обозначали по Шобанову [Шобанов, 1994а (Shobanov, 1994а)]. Расчет цитогенетических расстояний проводили по Нею [Nei, 1972].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате цитогенетического анализа популяции *C. plumosus* из акватории Рыбинского водохранилища в 2013–2015 гг. была проанализирована 151 личинка (табл. 1), обнаружено 15 последовательностей дисков хромосом (табл. 2), формирующих 64 геномные комбинации (табл. 3).

**Хромосома I (AB).** В плече A обнаружено 4 последовательности дисков. Последовательность *pluA1* (1a-12u. Стандарт) [Кикнадзе, Керкис, 1986 (Kiknadze, Kerkis, 1986); Шобанов, 1994 а, б (Shobanov, 1994а, b)], обнаружена во всех популяциях, частота её встречаемости 1.0. Последовательность *pluA2* (1a-4j. 10i-4k. 10j-12u) встречается как в виде гетерозиготы с *pluA1*, частота встречаемости 0.03–0.17, так и в виде гомозиготы на одной станции с частотой 0.17. Последовательность *pluA3* (1a-1d. 8h-10i. 4j-1e. 4k-8g. 10j-12u) встречена нами только в виде гетерозиготы с *pluA1*, частота встречаемости 0.17–0.42. Последовательность *pluA4* (1a-3g. 7e-8g. 7d-6c. 9b-10i. 4j-3h. 8h-9a. 6b-4k. 12l-10j. 12m-12u) встречена в гетерозиготе с *pluA1* в трех популяциях, частота встречаемости 0.08–0.33.

В плече B обнаружено 2 последовательности. Последовательность *pluB1* (12u-25s. Стандарт), частота встречаемости 0.0–1.0.

На большинстве станций доминирует последовательность *pluB2* (12u-15f. 23-15g. 23f-25s), встречается как в виде гетерозиготы с *pluB1*, с частотой 0.23–0.83, так и в виде гомозиготы с частотой 0.0–0.83.

**Хромосома II (CD).** В плече C обнаружено 2 последовательности дисков. Последовательность *pluC1* (14o-25q. Стандарт) доминирует в большинстве популяций, частота встречаемости составляет 0.58–1.0. Последовательность *pluC2* (14o-16h. 22f-16i. 22g-25q) встречается как в гетерозиготе с *pluC1*, частота встречаемости 0.25–0.83, так и в гомозиготном состоянии с частотой 0.0–0.42.

В плече D обнаружено 2 последовательности. Доминирует *pluD1* (1a-14o. Стандарт), частота ее встречаемости составляет 0.83–1.0. Последовательность *pluD2* (1a-2i. 7i-2j. 7j-14o) встречается в гетерозиготе с *pluD1* с частотой 0.0–0.50, и в гомозиготе, с частотой 0.0–0.17.

**Хромосома III (EF).** В плече E обнаружено 2 последовательности. Доминирует *pluE1* (1a-11b. Стандарт), частота её встречаемости составляет 1.0. Последовательность *pluE2* (1a-2g. 8c-3a. 8d-11b) встречена только в гетерозиготе, частота встречаемости 0.0–0.50.

Таблица 1. Характеристика изученных популяций

Table 1. Characteristics of investigated populations

№	Станция Sampling	Дата сбора Date	Количество особей Quantity of individuals	Самцы (%) Male (%)	Самки (%) Female (%)	Возрастная структура, количество особей, % Age structure, number of individuals, %							ГК GC	ГТЗ на особь HTZ per individual	ГТЗ HTZ	ГМЗ особей HMZ individ- uals	
						Фаза развития Phase of development											
						I	II	III	IV	V	VI	VII					
1.	Коприно N58°04'262'' E38°18'080'' Koprino N58°04'262'' E38°18'080'' Молога N58°12'826'' E38V27'510'' Mologa N58°12'826'' E38V27'510''	21.05.2013	6	50	50	50	17	33	33	17	8	8	6	13	2.2	2	
		17.05.2015	12	75	25		25	33	8					11	18	1.5	1
		17.09.2015 фев. 1991*	13 150	83 80	17 20		17	40	60	22	12	4	1	31	27	2.1	
2.	Молога N58°12'826'' E38V27'510'' Mologa N58°12'826'' E38V27'510'' Средний двор N58°30'444'' E38°20'943'' Sredniy Dvor N58°30'444'' E38°20'943''	21.05.2013	6	-	-	33	17	17		17	17		5	11	1.8	2	
		03.09.2013	12	83	17		30	10	10	40			20	10	17	1.4	
		17.09.2015	12	88	13		58	33		8				9	21	1.8	3
3.	Средний двор N58°30'444'' E38°20'943'' Sredniy Dvor N58°30'444'' E38°20'943''	21.05.2013	8	88	13	13		13		25	38	25	8	15	1.9	2	
		17.09.2015	12	43	57			33		58			8	11	18	1.5	2
		21.05.2013	12	11	89					63	13		25	12	22	1.8	2
4.	Брейтово N58°19'319'' E37°56'944'' Breitovo N58°19'319'' E37°56'944''	15.10.2013	12	71	29	29	29	29	29	0		29	10	16	1.3	3	
		07.07.2014	11	90	10		25	55	9	18		18	11	15	15	1.4	2
		17.05.2015	12	33	67		25	25	25	25	25			8	25	2.1	
		18.08.2015	11	33	67	67	25	38		25		13	11	20	1.8	1	
		17.09.2015	12	82	18		10	50		40				10	22	1.8	2

Количество: ГК – геномные комбинации, ГТЗ – гетерозиготы, ГМЗ – гомозиготы.

\* – Шобанов, 1994б.

Quantity: GC – genomic combination, HTZ – heterozygous, HMZ – homozygous.

\* – Shobanov, 1994 b.

**Таблица 2.** Частота встречаемости (%) зиготических сочетаний в исследуемых популяциях *C. plumosus* из Рыбинского водохранилища

**Table 2.** Frequency of occurrence (%) zygotic combinations in the studied populations of *C. plumosus* from Rybinsk Reservoir

Станция Sample	Дата Date	Плечи хромосом Chromosomal arms																	
		A						B						C					
		11	12	22	13	14	11	12	22	11	12	22	11	12	22	11	12	22	11
1. Коприно 1. Koprino	21.05.13	0.34			0.33	0.33	0.17		0.83	0.33	0.50	0.17	0.67	0.33	0.50	0.50	0.50	0.17	0.83
	17.05.15	0.50		0.17	0.33			0.83	0.17	0.42	0.42	0.16	0.58	0.33	0.09	0.75	0.25	0.25	0.17
	17.09.15	0.46	0.08		0.38	0.08		0.23	0.77	0.23	0.77		0.77	0.23		0.54	0.46	1.00	1.00
	21.05.13	0.83	0.17				0.33	0.67		0.17	0.83		0.83		0.17	1.00			1.00
	03.09.13	0.50	0.25	0.08	0.17		0.17	0.17	0.67	0.42	0.25	0.33	1.00			0.58	0.42		0.08
2. Молога 2. Mologa	17.09.15	0.58			0.42		0.25	0.25	0.50	0.17	0.66	0.17	0.67	0.33		0.83	0.17		1.00
	21.05.13	0.63			0.13	0.25	0.13	0.50	0.38	0.38	0.50	0.13	0.50	0.50		1.00			1.00
	17.09.15	0.50			0.42	0.08	0.33	0.42	0.25	0.50	0.25	0.25	0.75	0.25		0.83	0.17		1.00
3. Средний двор 3. Sredniy Dvor	21.05.13						0.17		0.50	0.25	0.50	0.42	1.00			0.75	0.25		0.25
	17.09.15	0.50					0.33		0.25	0.33	0.50		0.67	0.33	0.08	0.83	0.17		1.00
	21.05.13	1.00					0.17	0.33	0.50	0.25	0.50	0.25	0.67	0.25	0.08	0.75	0.25	0.25	0.25
	15.10.13	0.58			0.42		0.17	0.33	0.50	0.16	0.42	0.42	1.00			0.83	0.17	1.00	1.00
	07.07.14	0.75			0.25		0.25	0.33	0.42	0.25	0.42	0.33	0.67	0.33		0.75	0.25	1.00	1.00
4. Брейтово 4. Breytovo	17.05.15	0.67			0.33		0.25	0.58	0.17	0.25	0.75		0.83	0.17		0.75	0.25	1.00	1.00
	18.08.15	0.33	0.50		0.17		0.17	0.33	0.50	0.08	0.25	0.67	0.67	0.33		0.83	0.17	1.00	1.00
	17.09.15	0.58			0.42		0.16	0.42	0.42	0.33	0.67		0.83	0.17		0.83	0.17	1.00	1.00

**Таблица 3.** Частоты встречаемости геномных комбинаций в популяциях *C. plumosus* из Рыбинского водохранилища

**Table. 3.** The frequency of genomic combinations in populations of *Ch. plumosus* in Rybinsk Reservoir

№ п/п	Станции Sample	Коприно Koprino			Молога Mologa			Средний двор Sredniy Dvor		Брейтово Breytovo					
	Комбинация Combination	21.05.2013	17.05.2015	17.09.2015	21.05.2013	03.09.2013	17.09.2015	21.05.2013	17.09.2015	21.05.2013	15.10.2013	07.07.2014	17.05.2015	18.08.2015	17.09.2015
1	A1.1. B1.1. C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.						0.08		0.08						
2	A1.1. B1.1. C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.					0.08									
3	A1.1. B1.1. C1.1. <b>D2.2.</b> E1.1. F1.1.									0.08					
4	A1.1. B1.1. <b>C1.2.</b> D1.1. E1.1. F1.1.				0.33							0.09	0.25		
5	A1.1. B1.1. <b>C1.2.</b> D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.									0.08		0.09			
6	A1.1. B1.1. <b>C2.2.</b> D1.1. E1.1. F1.1.								0.08			0.09		0.09	
7	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.				0.17				0.08						0.08
8	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.		0.08									0.09	0.08		
9	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.			0.08	0.17	0.08		0.13	0.08	0.08		0.09	0.25	0.09	0.08
10	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.1. <b>D1.2.</b> <b>E1.2.</b> F1.1.						0.08								
11	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.				0.17			0.13		0.08					0.17
12	A1.1. <b>B1.2.</b> C1.2. <b>D1.2.</b> D1.1. F1.1.			0.08											
13	A1.1. <b>B1.2.</b> C2.2. D1.1. E1.1. F1.1.									0.08	0.08				
14	A1.1. <b>B1.2.</b> C2.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.								0.08						
15	A1.1. <b>B1.2.</b> C2.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.		0.08							0.08					
16	A1.1. <b>B1.2.</b> C2.2. D1.1. <b>E1.2.</b> <b>F1.2.</b>									0.08					
17	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.	0.17				0.08		0.13			0.17	0.09			0.17
18	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.			0.08		0.17			0.08	0.08					
19	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.1. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.		0.08									0.09			
20	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.		0.17	0.08			0.17	0.13		0.08	0.08	0.09	0.08		0.08
21	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> <b>F1.2.</b>									0.08					
22	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.			0.08							0.08				
23	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.		0.08	0.08			0.08							0.09	
24	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.2. <b>D1.2.</b> <b>E1.2.</b> F1.1.									0.08					
25	A1.1. <b>B2.2.</b> C1.2. <b>D1.2.</b> <b>E1.2.</b> <b>F1.2.</b>									0.08					
26	A1.1. <b>B2.2.</b> C2.2. D1.1. E1.1. F1.1.	0.17				0.17	0.17	0.13		0.08	0.08				
27	A1.1. <b>B2.2.</b> C2.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.													0.09	
28	<b>A1.2.</b> B1.1. <b>C2.2.</b> D1.1. E1.1. F1.1.													0.09	
29	<b>A1.2.</b> B1.1. <b>C2.2.</b> D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.					0.08									
30	<b>A1.2.</b> B1.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.				0.17										
31	<b>A1.2.</b> B2.2. C1.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.			0.08											
32	<b>A1.2.</b> B2.2. C1.2. D1.1. <b>E1.2.</b> <b>F1.2.</b>					0.08									
33	<b>A1.2.</b> B2.2. C2.2. D1.1. E1.1. F1.1.					0.08									
34	<b>A1.2.</b> B2.2. C2.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.													0.09	
35	<b>A1.3.</b> B1.1. C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.														0.08
36	<b>A1.3.</b> B1.1. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.									0.08					0.08
37	<b>A1.3.</b> B1.1. C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.			0.08			0.17		0.08						
38	<b>A1.3.</b> B1.1. <b>C2.2.</b> <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.								0.08						
39	<b>A1.3.</b> B1.2. C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.						0.08								
40	<b>A1.3.</b> B1.2. C1.1. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.							0.13						0.09	
41	<b>A1.3.</b> B1.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.						0.08		0.08					0.09	
42	<b>A1.3.</b> B1.1. C1.2. <b>D1.2.</b> <b>E1.2.</b> <b>F1.2.</b>	0.17													
43	<b>A1.3.</b> B1.2. C1.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.					0.08					0.08		0.08		0.08
44	<b>A1.3.</b> B1.2. C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.												0.08		
45	<b>A1.3.</b> B1.2. C2.2. D1.1. E1.1. F1.1.									0.17					
46	<b>A1.3.</b> B1.2. C2.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.													0.09	
47	<b>A1.3.</b> B1.2. C2.2. <b>D2.2.</b> E1.1. F1.1.											0.09			
48	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.		0.08			0.08			0.17						
49	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.		0.08	0.08											
50	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.1. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.												0.08		
51	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.	0.17		0.15			0.08								0.08
52	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.2. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.			0.08								0.09			0.08
53	<b>A1.3.</b> B2.2. C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.		0.08									0.09			
54	<b>A1.3.</b> B2.2. C2.2. D1.1. E1.1. F1.1.									0.08					
55	<b>A1.3.</b> B2.2. C2.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.													0.09	
56	<b>A1.3.</b> B2.2. C2.2. <b>D2.2.</b> <b>E1.2.</b> F1.1.		0.08											0.09	
57	<b>A1.4.</b> B1.2. C1.1. D1.2. E1.1. F1.1.			0.08											
58	<b>A1.4.</b> B1.1. C1.2. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.							0.13							
59	<b>A1.4.</b> B1.2. C1.1. <b>D1.2.</b> E1.1. F1.1.								0.08						
60	<b>A1.4.</b> B1.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.							0.13							
61	<b>A1.4.</b> B2.2. C1.1. D1.1. <b>E1.2.</b> F1.1.	0.17													
62	<b>A1.4.</b> B2.2. C1.2. <b>D1.2.</b> <b>E1.2.</b> F1.1.	0.17													
63	<b>A2.2.</b> B2.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1.		0.08												
64	<b>A2.2.</b> B2.2. C1.1. D1.1. E1.1. F1.1.		0.08												

В плече F обнаружено 2 последовательно-  
сти. Доминирует последовательность *pluF1* (11b-

22m. Стандарт), частота встречаемости 1.0. По-  
следовательность *pluF2* (11b-13d. 16k-13e. 16-

22m) встречена в гетерозиготе с *pluF1* в двух популяциях с частотой 0.0–0.25.

**Хромосома IV.** Плечо G. Мономорфно. Гомологи всегда не спарены. Стандартная последовательность *pluG1* (1a-8z).

Изначально выбранные точки планировалось рассматривать как единую популяцию “Рыбинское водохранилище”, т.к. все они располагаются в Главном плесе водохранилища, как мы предполагали изначально, в одинаковых условиях. Расстояние между точками составляло от 21 до 45 км. Но, ни в одной популяции не были встречены сразу все последовательности.

Тогда как на дендрограмме цитогенетических расстояний между отдельными популяциями, рассчитанными с помощью индекса Нэя [Nei, 1972], наблюдается сложная структура, и выявить какую-либо закономерность невозможно. Личинки из одной точки, но собранные в разное время, по своей цитогенетической структуре могут относиться к другим популяциям. Что подтверждает существование генетического обмена между ними, и, позволяет нам анализировать популяцию “Рыбинское водохранилище” как единую, а изученные точки считать субпопуляциями.

Нами были выделены геномные комбинации, за счёт которых и происходит формирование единой популяции “Рыбинское водохранилище”: A1.1. B1.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1., A1.1. B2.2. C1.2. D1.1. E1.1. F1.1., A1.1. B2.2. C2.2. D1.1. E1.1. F1.1. и A1.1. B2.2. C1.1. D1.1. E1.1. F1.1., частота их встречаемости составляет 25.8%.

Основными хромосомными последовательностями для объединенной популяции, вероятно, обладающими важной адаптивной функцией, являются последовательности с высокой частотой встречаемости. К таковым относятся *pluA1* и *pluA3* – у 98% и 27% особей соответственно. Последовательность *pluB2*, в гомо- и гетерозиготном состоянии встречена нами у 83%, *pluB1* у 17% особей. Ранее уже неоднократно высказывалось предположение об адаптивной значимости последовательности *pluB2* для личинок *C. plumosus*, обитающих на большой глубине [Кикнадзе и др., 1987 (Kiknadze et al., 1987); Петрова, 1996 (Petrova, 1996); Pedersen, 1984] и русловой части Рыбинского водохранилища в частности [Шобанов, 1994b (Shobanov, 1994b); Shobanov, Bolshakov, 2011]. Относительно высокая частота встречаемости *pluB1* может быть связана, прежде всего, с миграционными процессами с берега в весенне-летний период, т.к. личинки с данной последовательностью были обнаружены преимущественно в осенний период – 11%, и лишь 6% в весенний. Элиминация личинок с “неадаптированной” последовательностью может происходить в период метаморфоза, когда малейшие

отклонения различных факторов от нормы в окружающей среде приводят к гибели особи. Наблюдается классическая картина вытеснения неадаптивных последовательностей вследствие отбора под действием неблагоприятных условий; на примере дрозофил показана элиминация неадаптивных, искусственно внесенных в природную популяцию, последовательностей в течение одного сезона с 28%, сначала до 17 и в конце наблюдений до 9% [Дубинин, 1966 (Dubinin, 1966)]. Последовательности *pluC1* и *pluC2* встречаются с частотой у 79 и 72% особей соответственно. Последовательность *pluD1* обнаружена у 98%, и *pluD2* у 25% особей. Последовательность *pluE1* встречена нами у 100% особей, и *pluE2* у 23% особей. Последовательность *pluF1* обнаружена у 100% особей.

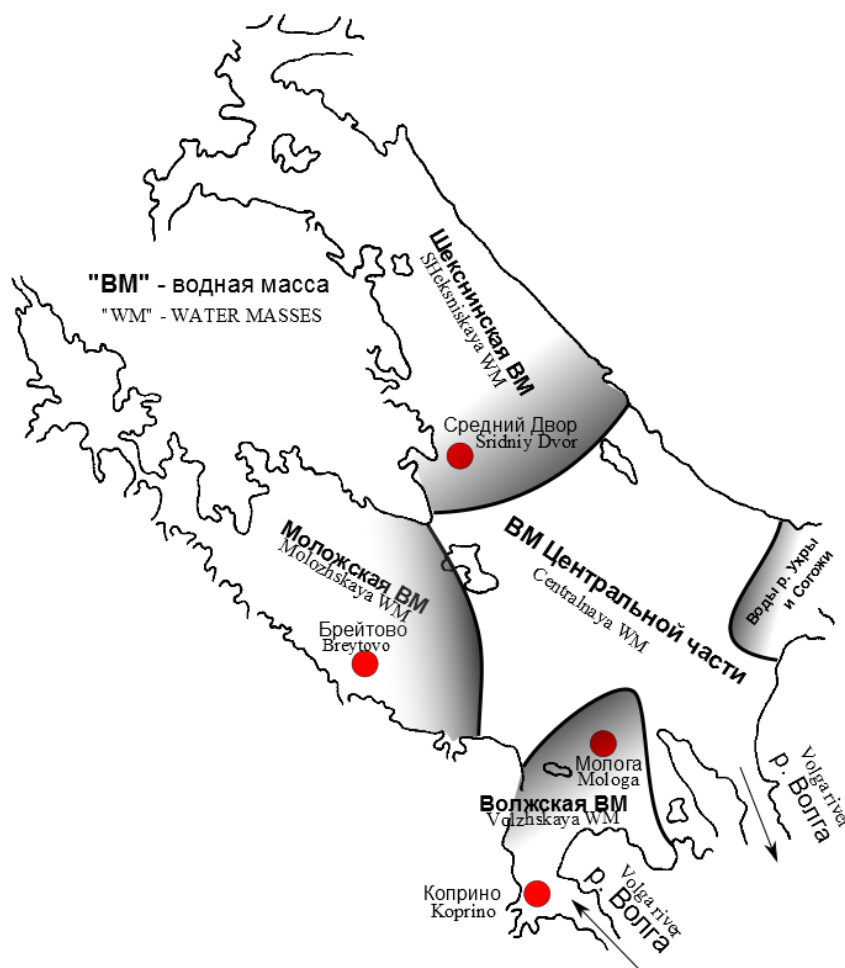
Таким образом, для обобщенной популяции, характерными являются последовательности *pluA1*, *pluA3*, *pluB2*, *pluC1*, *pluC2*, *pluD1*, *pluD2*, *pluE1* и *pluF1*.

Если анализировать каждую изученную точку как самостоятельную популяцию, то можно выделить последовательности характерные для каждой из них. Так последовательность *pluA4* обнаружена только на станциях “Молога” и “Средний Двор”. Последовательность *pluA2* очень редка, однако, на станциях “Молога” и “Коприно” обнаруживается как в гетеро-, так и в гомозиготном состоянии, и аномально часто (у 50% особей) встречена в одном сборе со ст. “Брейтово, 18.08.2015” лишь в гетерозиготном состоянии, и через месяц не была обнаружена ни у одной исследованной особи, что может свидетельствовать о ее низкой значимости (или летальности) в условиях именно данной точки. О высокой адаптивной значимости может служить частота встречаемости последовательности *pluD2* (25%), и что особенно интересно на станциях “Коприно”, “Молога” и «Брейтово» в весенний период встречена в гомозиготном состоянии. Последовательность *pluE2* обнаружена во всех точках только в гетерозиготном состоянии.

На основании индекса MCP (Main Common Palearctic sequences) [Gunderina et al., 1999] популяции “Молога”, “Средний Двор” и “Брейтово” относятся к “BC” типу (стандартные *pluB1* и *pluC1* встречаются менее чем у 50% особей), а популяция “Коприно” к “ABC” (стандартные *pluA1*, *pluB1* и *pluC1* встречаются менее чем у 50% особей). Это может свидетельствовать о том, что данные популяции относятся скорее к “центральному” типу, так как очень высока степень гетерозиготности по всем последовательностям, за исключением плеча G четвертой хромосомы. Хотя бы одна гетерозигота встречена у

86% особей, а количество гетерозигот на особь варьирует от 1.4 до 2.2 (табл. 1). Известно, что гетерозиготные особи лучше адаптируются к резко изменяющимся условиям среды, а гетерозиготные популяции лучше осваивают микроусловия и наиболее эффективно используют все доступные ресурсы [Дубинин, 1966 (Dubinin, 1966); Кикнадзе и др., 1991 (Kiknadze et al., 1991)]. Вероятно, ответ на вопрос о высоком разнообразии геномных комбинаций и появлению последовательностей специфических для конкретных точек, следует искать в самом водохранилище.

Рыбинское водохранилище обладает большими размерами, и, соответственно, в разных его районах могут формироваться различные условия обитания для гидробионтов. По распределению водных масс в нем выделяют четыре основных плеса, среди которых Волжский, Моложский и Шекснинский соответствуют названию питающих их рек, и Главный. Воды основных питающих рек продолжительное время сохраняют свои физико-химические характеристики и в водохранилище (см. рисунок) [Буторин, 1969 (Butorin, 1969); Ривьер, 1986 (River, 1986)].



**Рис.** Схема выделения водных масс Рыбинского водохранилища с помощью оптимального цикла (по: Буторин, 1969). Коприно, Молога, Средний Двор, Брейтово – точки сбора материала.

**Fig.** Scheme isolation of water masses in the Rybinsk reservoir using optimum cycle (by: Butorin, 1969). Koprino, Mologa, Sredniy Dvor, Breytovo – point of sampling.

Таким образом, исследуемые нами точки, в границах Рыбинского водохранилища относятся к разным речным системам, что и приводит к появлению специфических геномных комбинаций. Кроме того, в области смешения вод р. Сить, обладающей очень высокой минерализацией, Мологи и Центральной части водохранилища формируется уникальная зона гибридизации нескольких видов хирономид. В 2010 г. в устье р. Себла и в 2015 г. на

ст. “Брейтово”, расположенными в непосредственной близости друг от друга, нами были обнаружены гибриды *C. muratensis* x *C. plumosus* (1 особь) и *C. entis* x *C. plumosus* (2 особи). При этом во всех случаях у личинок были обнаружены последовательности *pluB2* и *pluC2*. Вид *C. muratensis* за все время исследования водохранилища в данных точках нами обнаружен не был, *C. entis* встречен однократно в октябре 2010 г. Причиной этого является

разная экологическая приуроченность видов: *C. entis* и *C. muratensis* обитают на мелководьях (1–3 м) и не переносят аноксии [Шобанов, 2001 (Shobanov, 2001)], *C. plumosus* обитает как на мелководьях, так и на глубинах до 20 м и способен в течение продолжительного периода переносить практически полное отсутствие кислорода. В результате этого наблюдения мы можем предположить, что данные последовательности (*pluB2* и *pluC2*) обладают высокой адаптивной значимостью и способствуют выживанию даже межвидовых гибридов в изменяющихся условиях русловой части Рыбинского водохранилища.

В Рыбинском водохранилище из-за высокого разнообразия микроусловий формируются популяции хирономид, обладающие уни-

кальным набором геномных комбинаций, которые способны их осваивать. Складывается интересная ситуация, когда во всех районах водоёма обнаруживается один, но высокополиморфный вид; обладающий высокой изменчивостью, как на цитогенетическом, так и на биохимическом уровнях [Bolshakov, Andreeva, 2012]. Во всех изученных точках обнаруживаются общие (высоко адаптивные) последовательности дисков хромосом и их сочетания, что указывает на существование между популяциями генетического обмена, позволяет рассматривать их, как одну единую – “Рыбинское водохранилище”. Наряду с этим были выделены последовательности уникальные для конкретной точки.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта №16-34-00124 мол. а.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Буторин Н.В. Гидрологические процессы и динамика водных масс в водохранилищах Волжского каскада. М.: Наука, 1969. 323 с.
- Демин С.Ю. Изменчивость степени конденсированности политемных хромосом в клетках разных органов личинок *Chironomus plumosus* из природы: Автореф. канд. дис. Л. 1989. 25 с.
- Дубинин Н.П. Эволюция популяций и радиация. М.: Атомиздат, 1966. 473 с.
- Кикнадзе И.И., Керкис И.Е. Сравнительный анализ рисунок дисков политемных хромосом видов-двойников комаров хирономусов группы PLUMOSUS из Западной Сибири // Цитология. 1986. Т. 28, № 4. С. 430–435.
- Кикнадзе И.И., Керкис И.Е., Филиппова М.А. Хромосомный полиморфизм в сибирских природных популяциях *Chironomus plumosus* L. // Зоол. журн. 1987. Т. 66, Вып. 6. С. 877–822.
- Кикнадзе И.И., Филиппова М.А., Сиринов М.Т., Керкис И.Е. Закономерности хромосомного полиморфизма у *Chironomus entis* (Diptera, Chironomidae) // Зоол. Журн. 1991. Т. 70, Вып. 8. С. 106–120.
- Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е., Шобанов Н.А., Зеленцов Н.И., Гребенюк Л.П., Истомина А.Г., Правослов В.А. Кариология и морфология личинок трибы Chironomini. Атлас. Новосибирск: Наука, 1991. 115 с.
- Максимова Ф.Л. К вопросу о кариотипе *Chironomus plumosus* L. // Цитология. 1976. Т. 18, № 10. С. 1164–1169.
- Петрова Н.А., Ильинская Н.Б., Кайданов Л.З. Адаптивный характер инверсионного полиморфизма у мотыля *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae). Пространственное распределение инверсий по ареалу // Генетика. 1996. Т. 32, № 12. С. 1629–1642.
- Поддубный С.А., Сухова Э.В. Моделирование влияния гидродинамических и антропогенных факторов на распределение гидробионтов в водохранилищах: Руководство для пользователей. Рыбинск: Рыб. Дом печати, 2002. 120 с.
- Ривьер И.К. Состав и экология зимних зоопланктонных сообществ. Л.: Наука, 1986. 160 с.
- Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993. 111 с.
- Шобанов Н.А. Кариотип *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera, Chironomidae). I. Стандартизация дисков политемных хромосом в системе Максимовой // Цитология. 1994а. Т. 36, № 1. С. 117–122.
- Шобанов Н.А. Кариотип *Chironomus plumosus* (L.) (Diptera, Chironomidae). IV. Внутри- и межпопуляционный полиморфизм // Цитология. 1994б. Т. 36, № 11. С. 1129–1146.
- Bolshakov V.V., Andreeva A.A. Peculiarities of structural organization of hemoglobin of *chironomus plumosus* // J. of Evol. Bioch. and Phys. 2012. Vol. 48. № 3. P. 265–271. DOI: 10.1134/S0022093012030024
- Dobzhansky T. Genetics of natural populations. XXVI. Chromosomal variability in island and continental populations of *Drosophila willistoni* from Central America and the West Indies // Evolution. 1957. № 11. P. 280–293.
- Gunderina L.I., Kiknadze I.I., Golygina V.V. Intraspecific differentiation of the cytogenetic structure in natural populations of *Chironomus plumosus* L., the central species in the group of sibling species (Chironomidae: Diptera) // RUSS. J. GEN. 1999. V. 35. № 2. P. 142–150
- Mayr E. . Populations, species, and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1970. 453 p.
- Nei M. Genetic distance between populations // Amer. natur. 1972. Vol. 106. P. 283–291.
- Pedersen B.V. The effect of anoxia on the survival of chromosomal variants in larvae of the midge *Chironomus plumosus* L. (Diptera: Chironomidae) // Hereditas. 1984. № 101. P. 75–77.



- Shobanov N.A. Function of Ventral and Lateral Processes in Larvae of Chironomus (Diptera, Chironomidae) // J. of Evol. Biochem. and Phys. 2001. Vol. 37. № 4. P. 384–387. DOI: 10.1023/A:1012970711312
- Shobanov N.A., Bolshakov V.V. Karyofund of Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae): V. Terminal and Interstitial Populations // Cell and Tissue Biology. 2011. Vol. 5. № 2. P. 196–201. DOI:10.1134/S1990519X11020155

## REFERENCES

- Butorin N.V. Gidrologicheskie processy i dinamika vodnyh mass v vodohranilishchah Volzhskogo kaskada [Hydrological processes and dynamics of water masses in the reservoirs of the Volga cascade]. M.: Nauka. 1969. 323 s. [In Russian]
- Bolshakov V.V., Andreeva A.A. Peculiarities of structural organization of hemoglobin of chironomus plumosus // J. of Evol. Biochem. and Phys. 2012. Vol. 48. № 3. P. 265–271. DOI: 10.1134/S0022093012030024
- Gunderina L.I., Kiknadze I.I., Golygina V.V. Intraspecific differentiation of the cytogenetic structure in natural populations of Chironomus plumosus L., the central species in the group of sibling species (Chironomidae: Diptera) // RUSS. J. GEN. Vol. 35. № 2. 1999, pp. 142–150
- Demin S.YU. Izmenchivost' stepeni kondensirovannosti politennyh hromosom v kletkah raznyh organov lichinok Chironomus plumosus iz prirody [The variability of the degree of condensation of polytene chromosomes in the cells of various organs of larvae Chironomus plumosus of nature]. Avtoref. kand.dis. L. 1989. 25 s. [In Russian]
- Dobzhansky T. Genetics of natural populations. XXVI. Chromosomal variability in island and continental populations of Drosophyla willistoni from Central America and the West Indies // Evolution. 1957. № 11. P. 280–293.
- Dubin N.P. Evolyuciya populyacii i radiaciya [Evolution of populations and radiation]. M.: Atomizdat. 1966. 473 s. [In Russian]
- Kiknadze I.I., Kerkis I.E. Sravnitel'nyi analiz risunka diskov politennyh hromosom vidov-dvoynikov komarov hironomusov gruppy PLUMOSUS iz Zapadnoi Sibiri [Comparative analysis of polytene chromosome banding patterns of sibling species of mosquitoes chironomus PLUMOSUS group of Western Siberia] // Citologiya. 1986. T. 28. № 4. S. 430–435. [In Russian]
- Kiknadze I.I., Kerkis I.E., Filippova M.A. Hromosomnyi polimorfizm v sibirskih prirodnyh populyaciyah Chironomus plumosus L. [Chromosomal polymorphism in natural populations of Siberian Chironomus plumosus L.] // Zool. zhurn. 1987. T. 66. № 6. S. 877–822. [In Russian]
- Kiknadze I.I., Filippova M.A., Siirin M.T., Kerkis I.E. Zakonomernosti hromosomnogo polimorfizma u Chironomus entis (Diptera, Chironomidae) [Patterns of chromosomal polymorphism in Chironomus entis (Diptera, Chironomidae)] // Zool. zhurn. 1991. T. 70. № 8. S. 106–120. [In Russian]
- Kiknadze I.I., Shilova A.I., Kerkis I.E., Shobanov N.A., Zelencov N.I., Grebenyuk L.P., Istomina A.G., Prasolov V.A. Kariologiya i morfologiya lichinok triby Chironomini. Atlas. [Cariology and morphology of the larvae of the tribe Chironomini. Atlas]. Novosibirsk: Nauka, 1991. 115 s. [In Russian]
- Mayr E. . Populations, species, and evolution. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 1970. 453 p.
- Maksimova F.L. K voprosu o kariotipe Chironomus plumosus L. [On the Karyotype of Chironomus plumosus L.] // Citologiya. 1976. T. 18. № 10. S. 1164–1169. [In Russian]
- Nei M. Genetic distance between populations // Amer. natur. 1972. Vol. 106. P. 283–291.
- Pedersen B.V. The effect of anoxia on the survival of chromosomal variants in larvae of the midge Chironomus plumosus L. (Diptera: Chironomidae) // Hereditas. 1984. №. 101. P. 75–77.
- Petrova N.A., Il'inskaya N.B., Kajdanov L.Z. Adaptivnyi harakter inversionnogo polimorfizma u motylya Chironomus plumosus (Diptera, Chironomidae). Prostranstvennoe raspredelenie inversii po arealu [The adaptive nature of the inversion polymorphism in bloodworm Chironomus plumosus (Diptera, Chironomidae). The spatial distribution of the reversal of its range] // Genetika. 1996. T. 32. № 12. S. 1629–1642. [In Russian]
- Poddubnyy S.A., Suhova E.V. Modelirovanie vliyaniya gidrodinamicheskikh i antropogennykh faktorov na raspredelenie gidrobiontov v vodohranilishchah: Rukovodstvo dlya pol'zovatelei [Modeling the effect of hydrodynamic and anthropogenic factors on the distribution of aquatic reservoirs: User Guide]. Rybinsk: "Rybinskiy Dom Pechati". 2002. 120 s. [In Russian]
- River I.K. Sostav i ekologiya zimnih zooplanktonnykh soobshchestv [The composition and ecology of winter zooplankton communities]. L.: Nauka. 1986. 160 s. [In Russian]
- Stegniy V.N. Arhitektonika genoma, sistemnye mutacii i ehvolyuciya [Architectonics of genome, system mutations and evolution]. Novosibirsk: Izdatelstvo Novosibirskogo Universiteta. 1993. 111 s. [In Russian]
- Shobanov N.A. Kariofond Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae). I. Sdandardizaciya diskov politennyh hromosom v sisteme Maksimovoi [Karyofund of Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae). I. Standardization bands of polytene chromosomes in the Maximova system] // Citologiya. 1994a. T. 36. № 1. S. 117–122. [In Russian]
- Shobanov N.A. Kariofond Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae). IV. Vnutri- i mezhpopyulacionnyy polimorfizm [Karyofund of Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae). IV. Intra- and interpopulation polymorphism] // Citologiya. 1994b. T. 36. № 11. S. 1129–1146. [In Russian]
- Shobanov N.A. Function of Ventral and Lateral Processes in Larvae of Chironomus (Diptera, Chironomidae) // J. of Evol. Biochem. and Phys. 2001. Vol. 37. № 4. P. 384–387. DOI: 10.1023/A:1012970711312
- Shobanov N.A., Bolshakov V.V. Karyofund of Chironomus plumosus (L.) (Diptera, Chironomidae): V. Terminal and Interstitial Populations // Cell and Tissue Biology. 2011. Vol. 5. № 2. P. 196–201. DOI:10.1134/S1990519X11020155

# THE ROLE OF MICROHABITAT CONDITIONS IN FORMATION OF CYTOGENETIC STRUCTURE OF POPULATION *CHIRONOMUS PLUMOSUS* FROM RYBINSK RESERVOIR

V. V. Bolshakov, **N. A. Shobanov**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences  
152742 Borok, Russia, e-mail: victorb@ibiw.yaroslavl.ru*

The role of microhabitat conditions in different areas of Rybinsk Reservoir in formation of cytogenetic structure in population of *Chironomus plumosus* is analyzed. The basic sequences of the polytene chromosomes bands and their combinations specific for all samples were found, on the basis of this date "Rybinsk reservoir" populations was assigned. At that time, for all of the studied points specific sequences were found. This may be associated with the features of hydro chemical and hydrological regimes of reservoir and it inflows. Due to the high diversity of genomic combinations population "Rybinsk reservoir" refers to the central type.

*Keywords:* chironomid, chromosomes, adaptations, *Chironomus plumosus*

УДК 591.124:575.17(262.5)

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЧЕТЫРЕХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) ИЗ ЧЕРНОГО МОРЯ

А. Д. Куликова, А. А. Солдатов

Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН  
29011 г. Севастополь, пр-т Нахимова 2, e-mail: [qulikova@gmail.com](mailto:qulikova@gmail.com), [alekssoldatov@yandex.ru](mailto:alekssoldatov@yandex.ru)

Исследованы генетические характеристики 4-х цветовых групп двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* (черная, переходная, темно- и светло-коричневая группы), идентифицированных методом компьютерной обработки фотографий. При помощи RAPD анализа было показано, что черноморской популяции мидии свойственно высокое генетическое разнообразие. Установлено наличие генетической обособленности моллюсков со светло-коричневой окраской раковины, что, по-видимому, обусловлено наличием экологической изоляции между скальной и иловой формами мидии.

**Ключевые слова:** *Mytilus galloprovincialis*, цветовой полиморфизм, генетическое разнообразие, RAPD, Черное море.

### ВВЕДЕНИЕ

Морской двустворчатый моллюск *Mytilus galloprovincialis* Lam., или мидия, является массовым видом в умеренных климатических зонах обоих полушарий [Hilbish et al., 2000]. Он формирует свои поселения на различных биотопах (прибрежные конструкции, скальные субстраты, донные иловые отложения). Такой обширный ареал вида обеспечивается его пластичностью, в основе которого должно лежать генетическое разнообразие. Среди особей существенно варьируют форма и цвет створок [Жуковская, Кодолова, 2002 (Zhukovskaya, Kodolova, 2002)]. Исследования изоферментных спектров [Grant, Cherry, 1985; Quesada et al., 1995] и молекулярно-генетические работы [Ma et al., 2000; Diz, Presa, 2008] так же говорят о значительном внутривидовом разнообразии мидии.

*Mytilus galloprovincialis* вместе с другими представителями рода *Mytilus* формирует обширные гибридные зоны [Väinölä, Hvilson, 1991]. Такие гибриды способны к размножению, и к бэк-кросс скрещиванию [Suchanek et al., 1997], повышая, таким образом, уровень генетического разнообразия родительских видов.

Популяция *M. galloprovincialis* в Черном море неоднородна. Говорят о существовании двух экологических групп, приуроченных к местам обитания: скальной и иловой соответственно. В донных популяциях количественно

преобладают моллюски с коричневой окраской створок, на прибрежных субстратах выше частота встречаемости мидий черно-фиолетового цвета [Казанкова, 2008 (Kazankova, 2008)]. Показан наследственный характер признака окраски раковины у мидии, при чем коричневый цвет доминирует над черным [Stolbova et al., 1996]. Существует мнение, что цвет раковины является побочным проявлением функционального гена или ряда генов [Иванов, Булатов, 1989 (Ivanov, Bulatov, 1989)]. Это предположение получило подтверждение в работах, демонстрирующих наличие функциональных различий между мидиями с различной окраской раковины [Щербань, 2000; Александрова и др., 2001 (Tsherban, 2000; Aleksandrova et al., 2001); Kulikova et al., 2015]. Описанные выше особенности моллюсков, обладающих разным цветом створок, позволяют предположить наличие генетической неоднородности между ними.

На настоящий момент, исследования генетической структуры черноморской популяции мидии выполнены только на уровне белковых продуктов генов [Stolbova, Ladygina, 1994]. Анализ с использованием молекулярно-генетических методов не проводили. Этим аспектам проблемы и посвящена настоящая работа.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований послужили половозрелые особи моллюска *M. galloprovincialis* (семейство Mytilidae) с различным характером пигментации створок. Длина раковины составляла 42–75 мм. Животных собирали разово с коллекторных установок мидийного хозяйства ООО "Яхонт ЛТД", расположен-

ных в б. Кацивели (крымское побережье Черного моря) в 2010 г.

Моллюски были разделены на четыре цветовые группы (черную, переходную, темно- и светло-коричневую) по признаку окраски створок. Разделение осуществлялось методом компьютерной обработки фотографий, разрабо-

танной ранее [Куликова, 2012 (Kulikova, 2012)]. Особи, использованные в эксперименте, были условно обозначены как Черная 1–8, Переходная 1–8, Темно-коричневая 1–13 и Светло-коричневая 1–9.

ДНК выделяли по стандартной методике с использованием набора реактивов AmpliSens (Москва). Для выделения использовалась мышечная ткань ноги и аддукторов. ДНК амплифицировалось в присутствии пяти олигонуклеотидных праймеров (название и нуклеотид-

ная последовательность указаны в табл.1). Общая температурная схема для ПЦР состояла из: предварительной денатурации (93°, 3 мин.), 35 последовательных циклов амплификации, и финальной элонгации (72°, 6 мин.). Каждый из повторяющихся циклов имел следующий вид: денатурация (93°, 45 сек.), отжиг (температура варьировала в зависимости от используемого праймера, 45 сек., табл. 1) и элонгация (72°, 1 мин.).

**Таблица 1.** Характеристики праймеров, использованных при амплификации

**Table 1.** Characteristics of primers used for amplification

Праймер Primer	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence	C-G,%	t отжига,°C Annealing t, °C
olig 10	TGTCCACCAG	60	36
olig 17	AGGCCGCTTA	60	32
olig 31	AGGCGTGCAA	60	32
olig 42	GGGATATCGC	60	32
olig43	CATGCAAGAC	50	30

Амплифицированную ДНК разделяли методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. Окрашивание проводили раствором бромистого этидия, детекцию наработанных фрагментов осуществляли в ультрафиолетовом свете. Полученные электрофореграммы фотографировали и обрабатывали в специализированной программе TotalLab TL120 v2008. Каждый RAPD фрагмент рассматривается как отдельный локус. Количество обнаруженных локусов посчитали достаточным для расчета генетических дистанций [Kalinowski, 2002]. Учитывались все полосы, дающие четкие пики при анализе электрофореграммы в TotalLab. При статистической обработке использовали все результаты, полученные при амплификации олигонуклеотидных праймеров.

Для каждой цветовой группы определяли число проявивших себя локусов, а также долю полиморфных локусов [Nei, 1987]. Локус считали мономорфным, если частота одного из его аллелей превышала уровень 0.95. Частоту аллелей рассчитывали исходя из уравнения Харди-Вайнберга. Аналогично устанавливали

долю полиморфных локусов для выборки в целом и индивидуально для каждого праймера.

Расчет основных генетических параметров проводили с помощью программного обеспечения PopGene32 (1.32). Для каждого локуса определяли частоты аллелей (p, q) на основании которых рассчитывали среднюю ожидаемую гетерозиготность (H) (Nei, 1987), информационный индекс Шеннона-Уивера (I) [Lewontin, 1972]. Рассматривали, как целую выборку, так и каждую из цветковых групп по отдельности. Генетические расстояния между четырьмя цветовыми группами так же рассчитывали при помощи PopGene32. Для оценки степени совпадения/различия использовали оригинальную модель Нея (Nei, 1972).

Расчет генетических расстояний между отдельными особями проводили в программе MVSP (версия 3.22, Kovach Computing Services). Схожесть особей (S) оценивали, используя коэффициент простого совпадения. Деревья строили методом средней связи (UPGMA).

Уровень генетической подразделенности между цветовыми группами оценивали при помощи индекса фиксации  $F_{st}$  в интерпретации Нея [Nei, Chesser, 1983].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате амплификации ДНК мидии в присутствии пяти олигонуклеотидных праймеров было обнаружено 99 фрагментов (табл. 2), 75 из которых носили полиморфный характер ( $P = 0.95$ ). Длина фрагментов варьировала в пределах 116–1500 п.н. Число локусов, наработанных с использованием каждого

из праймеров, было значительно. Наибольшее количество локусов было показано при амплификации ДНК в присутствии праймера olig 42 (25 фрагментов), наименьшее – olig 17 (16 фрагментов). При использовании праймеров olig 10, olig 31, olig 43 число обнаруженных

фрагментов составило 17, 23 и 18 соответственно.

Особый интерес представляю собой данные, полученные при амплификации в присутствии olig 43. Указанный праймер успешно инициировал реакцию амплификации ДНК большинства мидий светло-коричневой группы, но не давал наработанных фрагментов с ДНК мидий других групп. Исключения составили особи Черная 4, Переходная 1 и 2, Темно-коричневая 7 и 8 для которых были обнаружены соответствующие фрагменты, а также осо-

**Таблица 2.** Общая характеристика RAPD-фрагментов

**Table 2.** Total characteristics of the RAPD fragments

Праймер Primer	Кол-во локусов Number of loci	Длины ампликонов, п.н. Length of amplicons, p.n.	P95
olig 10	17	160–1180	0.82
olig 17	16	116–1346	0.56
olig 31	23	148–1034	0.91
olig 42	25	187–1500	0.72
olig43	18	231–1241	0.72

**Таблица 3.** Основные показатели генетического полиморфизма для черноморской мидии

**Table 3.** The main indicators of genetic polymorphism for the Black Sea mussels

Группа Group	N	Np	P <sub>95</sub>	H	I	S
Черная (Black)	71	70	0.71	0.20	0.31	0.72
Переходная (Transitional)	73	72	0.73	0.22	0.34	0.69
Темно-коричневая (Dark brown)	81	58	0.59	0.21	0.33	0.71
Светло-коричневая (Light brown)	82	77	0.78	0.21	0.34	0.69
Общее (Total)	99	75	0.76	0.23	0.37	0.69

Основные генетические характеристики между четырьмя цветовыми группами были распределены равномерно. Более низкое значение доли полиморфных локусов показано для мидий с темно-коричневой окраской створок. Для *M. galloprovincialis* черной группы значения средней ожидаемой гетерозиготности и информационный индекс Шеннона-Уивера были ниже, чем для других цветовых групп.

Используя расчетные данные ожидаемой гетерозиготности, определили индекс фиксации  $F_{st}$ . Обычно этот показатель рекомендуется к использованию с маркерами кодоминантного типа, однако в ряде статей показана возможность его использования и при анализе RAPD [Nadler et al., 1995; Jiménez et al., 2002; Mukherjee et al., 2013]. Индекс фиксации составил 0.1. Это означает, что 10% всей генетической изменчивости приходится на межгрупповые различия, что свидетельствует об уме-

би Светло-коричневая 5, 7 и 8, которые в рамках своей группы не вступали в реакцию амплификации с olig 43. Такая избирательность отжига была показана в нескольких повторностях. Основываясь на данных, о наличии отсутствия фрагмента, были рассчитаны генетические характеристики как для четырех цветовых групп, так и для выборки в целом (табл. 3). Полученные данные указывают на высокий уровень генетического разнообразия в черноморской популяции *M. galloprovincialis*.

ренной генетической подразделенности черноморской популяции.

При построении дерева, все исследованные особи разделились на два кластера (рис. 1). В один кластер попали преимущественно мидии светло-коричневой группы и особи, для которых успешно протекала амплификация в присутствии праймера olig 43. Второй кластер был представлен мидиями всех четырех цветовых групп, в том числе сюда входил ряд *M. galloprovincialis* со светло-коричневой окраской (особи 1, 5, 7 и 8).

Такой характер кластеризации позволяет предположить генетическую обособленность светло-коричневой мидии. Для подтверждения данного предположения были рассчитаны генетические расстояния между четырьмя морфологическими группами. На соответствующем дереве светло-коричневая группа формирует отдельную ветвь (рис. 2).

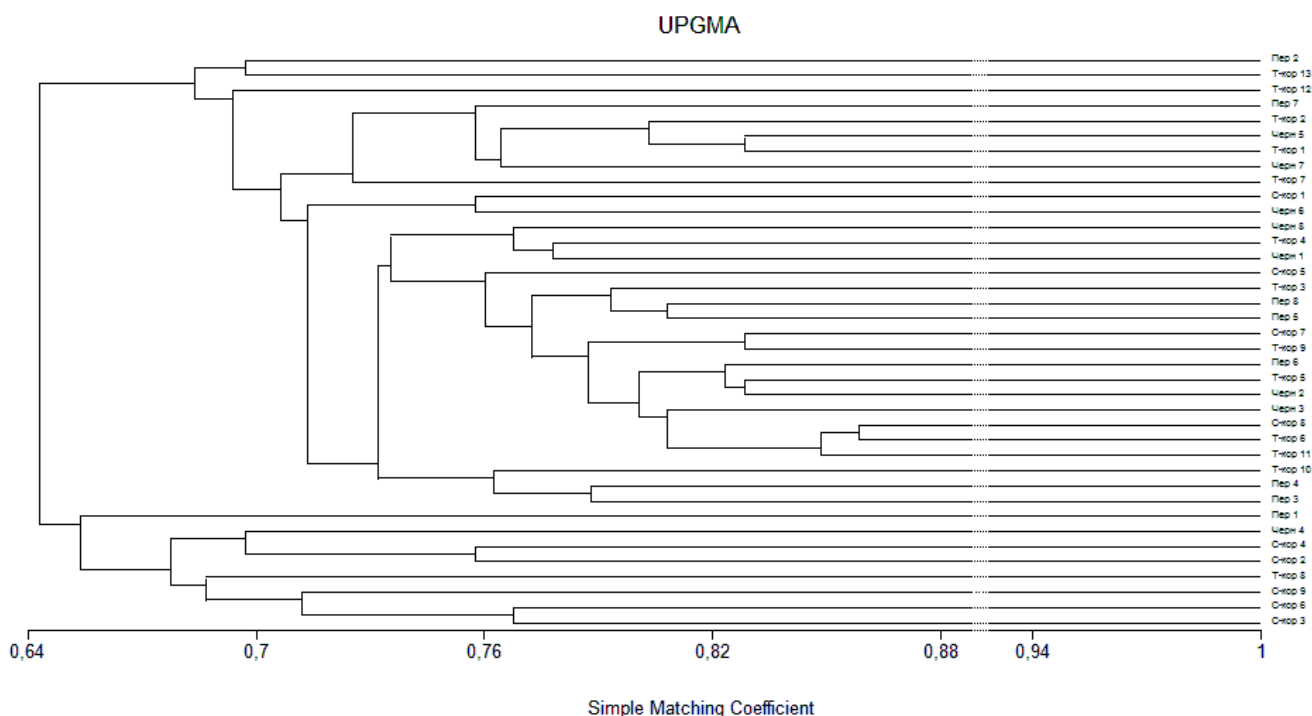
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что морские виды обладают большим генетическим разнообразием, чем пресноводные и, в особенности, наземные ор-

ганизмы [Feral, 2002]. В случае *M. galloprovincialis* высокий уровень полиморфизма обусловлен еще и особенностями биологии

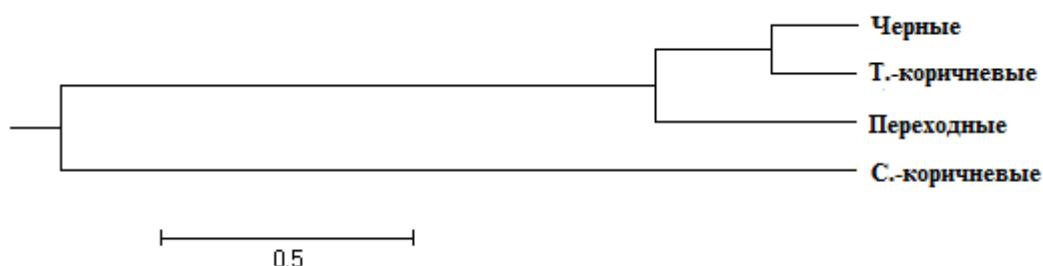
вида. У мидии взрослые особи ведут прикрепленный образ жизни, в то время как на личиночной стадии они подвижны, и активно разносятся течениями. Дистанция распространения личинок при этом может достигать 10-50 км [McQuaid, Phillips, 2000; Gilg, Hilbish, 2003]. По-видимому, распределение *M. galloprovincialis* по всему бассейну Черного моря на личиночной стадии обеспечивает высокий

уровень генетического разнообразия, наблюдаемого в рамках изучаемой популяции. Высокие значения полиморфизма были получены также для средиземноморской популяции мидии [Diz, Presa, 2008], и других видов двустворчатых моллюсков, имеющих аналогичную стратегию расселения [Holmes, Witbaard, 2003; Apte et al., 2003].



**Рис. 1.** Степень схожести особей *M. galloprovincialis* с различной окраской створок.

**Fig. 1.** The degree of similarity of individuals of *M. galloprovincialis* with different colored shells.



**Рис. 2.** Генетическое расстояние между четырьмя цветовыми группами *M. galloprovincialis*.

**Fig. 2.** The genetic distance between the four color groups of *M. galloprovincialis*.

Принято считать, что для прикрепленных морских видов, имеющих длительную личиночную стадию, должно быть свойственно высокое значение внутривидовой изменчивости по сравнению с межвидовой изменчивостью [Feral, 2002]. Это подтверждается, в настоящей работе, при сравнении генетических характеристик четырех цветных групп, которые существенно не разли-

чались. Однако при построении деревьев, как для отдельных особей, так и для выделенных групп, светло коричневые мидии были обособлены. Рассчитанный индекс фиксации так же свидетельствовал о наличии умеренной генетической внутривидовой подразделенности.

Шанс наличия географической изоляции существенно снижается для видов, которым

характерен широкий диапазон расселения на личиночной стадии [Palumbi, 1994]. При этом на практике для морских организмов показано наличие генетической неоднородности, которая часто распространяется по градиенту экологических факторов (соленость, температура, содержание кислорода и т.д.). Считается, что такая подразделенность может формироваться под воздействием отбора, обусловленного спецификой местообитания [Feral, 2002; Zardi et al., 2007]. Эта позиция получила подтверждение и в рамках рода *Mytilus*, не смотря на возможность широкого расселения и наличия межвидовой гибридизации, виды комплекса голубой мидии (*M. edulis*, *M. trossilus*, *M. galloprovincialis*) в значительной степени разнятся между собой генетически [KoeHN, 1991; McDonald et al., 1991]. При этом приспособленность видов к локальным условиям среды определяет ареалы их обитания [Suchanek et al., 1997; Fields et al., 2006]. Как упоминалось ранее, в Черном море выделяют несколько экологических групп *M. galloprovincialis*: скальную и иловую. Первая массово встречается на твердых субстратах в верхнем горизонте (до 10 м), последняя формирует массовые поселения на глубине 20–50 м и характеризуется преобладанием мидий со светлой окраской створок [Заика и др., 1990 (Zaika et al., 1990)]. С увеличением глубины значительно изменяются гидрохимические условия воды:

снижается средне годовичная температура (7–9°C), начиная с 50 м, резко падает содержание кислорода (с 7–8 до 5 мл/л), увеличивается соленость. Различия условий среды в местах обитания моллюска могут стимулировать возникновение экологической изоляции между группами. Данные о нересте мидии показывают, что для скальной и иловой формы пик генеративной активности приходится на разные месяцы (скальная – весна, осень; иловая – конец весны, лето), что непосредственно связано с динамикой температурного режима в соответствующих местах обитания [Ревков, Шалыпин, 1999; Ревков, 2000 (Revkov, Shalyapin, 1999; Revkov, 2000)]. Далее личинки могут свободно перемещаться в толще воды, однако большая их часть остается на тех же глубинах, на которых прошел массовый нерест [Казанкова, Немировский, 2003 (Kazankova, Nemirovsky, 2003)], формируя новые поселения. Обособленность мидий со светло-коричневой окраской раковины может быть объяснено тем, что данная цветовая группа, количественно преобладая в донных поселениях, сильнее подвержена отбору, направленному на соответствие жизненных функций моллюска условиям среды обитания. Закреплению различий способствует экологическая изоляция, обусловленная разнесенными во времени пиками нереста у скальной и иловой формы моллюска.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате RAPD анализа установлено, что для черноморской популяции характерен высокий уровень генетического разнообразия. Это соответствует данным, показанным для других морских двустворок, и объясняется особенностями биологии вида. При сравнении четырех цветовых групп *M. galloprovincialis*

была обнаружена генетическая обособленность мидии со светло-коричневой окраской раковины. Подразделенность внутри черноморской популяции, по-видимому, формируется вследствие экологической изоляции скальной и иловой мидии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова О.Л., Солдатов А.А., Головина И.В. Особенности глутатионпероксидной системы в тканях двух цветовых морф черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2001. Вып. 58. С. 22–26.
- Жуковская Е.А., Кодолова О.П. Взаимосвязь цветового полиморфизма и морфологических признаков у раковин черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // ВІСНИК Житомирського державного університету імені Івана Франка. 2002. № 10. С. 43–46.
- Заика В.Е. и др. Митилиды Черного моря. Киев, Наукова думка, 1990. 208 с.
- Иванов В.Н., Булатов К.В. Об использовании цвета раковины как признака-маркера в изучении генетического состава популяции черноморских мидий // Фенетика популяций: Матер. III Всесоюз. совещ. М., 1989. С. 105–106.
- Казанкова И.И. Частота цветовых морф в поселениях *Mytilus galloprovincialis* в прибрежных водах южного и юго-западного Крыма // Экология моря. 2008. Вып. 75. Р. 38–41.
- Казанкова И.И., Немировский М.С. Пространственно-временная динамика численности личинок черноморских *Bivalvia* в весенний период и ее связь с гидрофизическими особенностями района // Морской экологический журнал. 2003. Т. 2, № 3. С. 94–101.
- Куликова А.Д. Выявления цветовых морф моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lam. с использованием компьютерной обработки фотографий // Мор. экол. журн. 2012. Т. 11, № 3. С. 63–67.

- Ревков Н.К. Годовая динамика меропланктона (Bivalvia, Gastropoda) и особенности пула личинок мидии (*Mytilus galloprovincialis*) в Каламитском заливе Черного моря // Гидробиологический журнал. 2000. Т. 36. № 1. С. 46–55.
- Ревков Н.К. Шаляпин В.К. Особенности вертикального распределения личинок *Mytilus galloprovincialis* и формирование поселений мидии в Черном море // Экология моря. 1999. Вып. 48. С. 58–62.
- Щербань С.А. Особенности соматического и генеративного роста у некоторых цветковых морф мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. 2000. Вып. 53. С. 77–81.
- Apte S., Star B., Gardner J.P.A. A comparison of genetic diversity between cultured and wild populations, and a test for genetic introgression in the New Zealand greenshell mussel *Perna canaliculus* (Gmelin 1791) // Aquaculture. 2003. Vol. 219. №. 1. P. 193–220.
- Diz A.P., Presa P. Regional patterns of microsatellite variation in *Mytilus galloprovincialis* from the Iberian Peninsula // Mar. Biol. 2008. Vol. 154. №. 2. P. 277–286.
- Féral J. P. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2002. Vol. 268. №. 2. P. 121–145.
- Fields P.A., Rudomin E.L., Somero G.N. Temperature sensitivities of cytosolic malate dehydrogenases from native and invasive species of marine mussels (genus *Mytilus*): sequence-function linkages and correlations with biogeographic distribution // J. Exp. Biol. 2006. Vol. 209. №. 4. P. 656–667.
- Gilg M.R., Hilbish T.J. The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography // Ecology. 2003. Vol. 84. №. 11. P. 2989–2998.
- Grant W.S., Cherry M.I. *Mytilus galloprovincialis* Lam. in southern Africa // J. Exp. Marine. Biol. Ecol. 1985. 90. P. 179–191.
- Hilbish T.J. et.al. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration // Mar. Biol. 2000. Vol. 136. P. 69–77.
- Holmes S.P., Witbaard R., Van der Meer J. Phenotypic and genotypic population differentiation in the bivalve mollusk *Arctica islandica*: results from RAPD analysis // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2003. Vol. 254. P. 163–176.
- Jiménez J.F. et.al. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subbaeticum*, *Scrophulariaceae*) using RAPD markers // Heredity. 2002. Vol. 89, №. 5. P. 387–393.
- Kalinowski S.T. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? // Heredity. 2002. Vol. 88. №. 1. P. 62–65.
- Koehn R.K. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus* // Aquaculture. 1991. Vol. 94, №. 2. P. 125–145.
- Kulikova A. D., Soldatov A. A., Andreenko T. I. Tissue transaminase activities in the black-sea mollusc *Mytilus galloprovincialis* Lam. with different shell color // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2015. Vol. 51. №. 1. P. 23–31.
- Lewontin R.C. Testing the theory of natural selection // Nature. 1972. Vol. 236. P. 181–182.
- Ma X.L., Cowles D.L., Carter R.L. Effect of pollution on genetic diversity in the bay mussel *Mytilus galloprovincialis* and the acorn barnacle *Balanus glandula* // Mar. Environ. Res. 2000. Vol. 50. №. 1. P. 559–563.
- McDonald J.H., Seed R., Koehn R.K. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres // Mar Biol. 1991. Vol. 111. №. 3. P. 323–333.
- McQuaid C.D., Phillips T.E. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2000. Vol. 201. P. 211–220.
- Mukherjee A et.al. RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae) // Turkish Journal of Botany. 2012. Vol. 37. P. 605–618.
- Nadler S.A., Lindquist R.L., Near T.J. Genetic structure of midwestern *Ascaris suum* populations: a comparison of isoenzyme and RAPD markers // The Journal of parasitology. 1995. Vol. 81, № 3. P. 385–394.
- Nei M. Genetic distance between populations // American naturalist. 1972. P. 283–292.
- Nei M. Molecular Evolutionary genetics. Columbia University Press, 1987. 512 p.
- Nei M., Chesser R.K. Estimation of fixation indices and gene diversities // Ann. Hum. Genet. 1983. Vol. 47, Pt 3. P. 253–259.
- Palumbi S.R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1994. Vol. 25. P 547–572.
- Quesada H., Zapata C., Alvarez G. A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors // Mar. Ecol. Prog. Ser. 1995. Vol. 116. P. 99–115.
- Stolbova N.G., Ladygina L. Vol. Genetic variability of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. off the Crimea coast // Cytology and genetics. 1994. Vol. 28. P. 66–66.
- Stolbova N.G., Pirkova A. V., Ladygina L. V. Inheritance of shell color in mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam // Cytology and Genetics. 1996. Vol. 30. №. 6. P. 61–63.
- Suchanek T.H. et.al. Zoogeographic distributions of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (bivalvia: mytilidae) and their hybrids in the north pacific // Biol Bull. 1997. Vol. 193. №. 2. P. 187–194.
- Väinölä R., Hvilson M.M. Genetic divergence and a hybrid zone between Baltic and North Sea *Mytilus* populations (*Mytilidae*: *Mollusca*) // Biol. J. Linnean Soc. 1991. Vol. 43, iss. 2. P. 127–148.



Zardi G.I. et.al. Unexpected genetic structure of mussel populations in South Africa: indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* // Mar. Ecol. Prog. Ser. 2007. Vol. 337. P. 135–144.

## REFERENCES

- Aleksandrova O.L., Soldatov A.A., Golovina I.V. 2001. Osobennosti glutationperoksidnoi systemi v tkanyah dvuh tsvetovih morf chernomorskoj midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [Features of the glutathione peroxide system in the tissues of the two color morphs of Black Sea mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam] // Ekologiya morya. Vip. 58. S. 22–26. [In Russian]
- Apte S., Star B., Gardner J.P.A. 2003. A comparison of genetic diversity between cultured and wild populations, and a test for genetic introgression in the New Zealand greenshell mussel *Perna canaliculus* (Gmelin 1791) // Aquaculture. Vol. 219. No. 1. P. 193–220.
- Diz A.P., Presa P. 2008. Regional patterns of microsatellite variation in *Mytilus galloprovincialis* from the Iberian Peninsula // Mar. Biol. Vol. 154. No. 2. P. 277–286.
- Féral J. P. 2002. How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity? // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol. 268. No. 2. P. 121–145.
- Fields P.A., Rudomin E.L., Somero G.N. 2006. Temperature sensitivities of cytosolic malate dehydrogenases from native and invasive species of marine mussels (genus *Mytilus*): sequence-function linkages and correlations with biogeographic distribution // J. Exp. Biol. Vol. 209. No. 4. P. 656–667.
- Gilg M.R., Hilbish T.J. 2003. The geography of marine larval dispersal: coupling genetics with fine-scale physical oceanography // Ecology. Vol. 84. No. 11. P. 2989–2998.
- Grant W.S., Cherry M.I. 1985. *Mytilus galloprovincialis* Lam. in southern Africa // J. Exp. Marine. Biol. Ecol. Vol. 90. P. 179–191.
- Hilbish T.J. 2000. Origin of the antitropical distribution pattern in marine mussels (*Mytilus* spp.): routes and timing of transequatorial migration // Mar. Biol. Vol. 136. P. 69–77.
- Holmes S.P., Witbaard R., Van der Meer J. 2003. Phenotypic and genotypic population differentiation in the bivalve mollusk *Arctica islandica*: results from RAPD analysis // Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 254. P. 163–176.
- Ivanov V.N., Bulatov K.V. 1989. Ob ispolzovanii tsveta rakovin kak priznaka-markera v izuchenii geneticheskogo sostava populyatsii chernomorskoj midii [On the usage of shell color as a marker in the study of the genetic composition of the population of the Black Sea mussels] // Fenetika populatsiy: Mater. III Vsesoyuz. sovesch. M., S. 105–106. [In Russian]
- Jiménez J.F. et.al. 2002. Genetic variability in a narrow endemic snapdragon (*Antirrhinum subbaeticum*, *Scrophulariaceae*) using RAPD markers // Heredity. Vol. 89, №. 5. P. 387–393.
- Kalinowski S.T. 2002. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? // Heredity. Vol. 88. No 1. P. 62–65.
- Kazankova I.I. 2008. Chastota tsvetovih morf v poseleniyah *Mytilus galloprovincialis* v pribreznih vodah yuznogo i yugo-zapadnogo Krima [The frequency of colour morphs in the settlements of *Mytilus galloprovincialis* in the coastal waters of the southern and south-western Crimea] // Ekologiya morya. Vip. 75. S. 38–41. [In Russian]
- Kazankova I.I., Nemirovskiy M.S. 2003. Prostranstvenno-vremennaya dinamika chislennosti lichinok chernomorskih Bivalvia v vesennyi period i eyo svyaz s gidrofizicheskimi osobennostyami raiona [Features of the vertical distribution of the larvae of *Mytilus galloprovincialis* and the formation of mussel settlements in the Black Sea] // Morskoy ekologicheskiy zhurnal. T. 2. № 3. S. 94–101. [In Russian]
- Koehn R.K. 1991. The genetics and taxonomy of species in the genus *Mytilus* // Aquaculture. Vol. 94, No. 2. P. 125–145.
- Kulikova A.D. 2012. Viyavleniye tsvetovih morf molluska *Mytilus galloprovincialis* Lam. s ispolzovaniem kompyuternoi obrabotki fotografii [Identification of colour groups of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. by digital photo computer processing] // Morskoy ekologicheskiy zhurnal. T. 11. № 3. S. 63–67 [In Russian]
- Kulikova A. D., Soldatov A. A., Andreenko T. I. 2015. Tissue transaminase activities in the black-sea mollusc *Mytilus galloprovincialis* Lam. with different shell color // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. Vol. 51. No. 1. P. 23–31.
- Lewontin R.C. Vol. 236. Testing the theory of natural selection // Nature. 1972. P. 181–182.
- Ma X.L., Cowles D.L., Carter R.L. 2000. Effect of pollution on genetic diversity in the bay mussel *Mytilus galloprovincialis* and the acorn barnacle *Balanus glandula* // Mar. Environ. Res. Vol. 50. No 1. P. 559–563.
- McDonald J.H., Seed R., Koehn R.K. 1991. Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the Northern and Southern Hemispheres // Mar. Biol. Vol. 111. No 3. P. 323–333.
- McQuaid C.D., Phillips T.E. 2000. Limited wind-driven dispersal of intertidal mussel larvae: in situ evidence from the plankton and the spread of the invasive species *Mytilus galloprovincialis* in South Africa // Mar. Ecol. Prog. Ser. Vol. 201. P. 211–220.
- Mukherjee A et.al. 2012. RAPD and ISSR analysis of some economically important species, varieties, and cultivars of the genus *Allium* (Alliaceae) // Turkish Journal of Botany. Vol. 37. P. 605–618.
- Nadler S.A., Lindquist R.L., Near T.J. 1995. Genetic structure of midwestern *Ascaris suum* populations: a comparison of isoenzyme and RAPD markers // The Journal of parasitology. Vol. 81, No 3. P. 385–394.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations // American naturalist. P. 283–292.
- Nei M. 1987. Molecular Evolutionary genetics. Columbia University Press, 512 p.

- Nei M., Chesser R.K. 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities // *Ann. Hum. Genet.* Vol. 47, Pt 3. P. 253–259.
- Palumbi S.R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 25. P. 547–572.
- Quesada H., Zapata C., Alvarez G. 1995. A multilocus allozyme discontinuity in the mussel *Mytilus galloprovincialis*: the interaction of ecological and life-history factors // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 116. P. 99–115.
- Revkov N.K. 2000. Godovaya dinamika meroplanktona (Bivalvia, Gastropoda) i osobennosti pula lichinok midii (*Mytilus galloprovincialis*) v Kalamitskom zalive Chernogo moray [Annual dynamics of meroplankton (Bivalvia, Gastropoda) and larval pool features of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in Kalamit bay of Black Sea] // *Hydrobiol. Z. T.* 36. № 1. S. 46–55. [In Russian]
- Revkov N.K., Shalyapin V.K. 1999. Osobennosti vertikalnogo raspredeleniya lichinok *Mytilus galloprovincialis* i formirovanie poselenii midii v Chernom more [Features of the vertical distribution of the larvae of *Mytilus galloprovincialis* and the formation of mussel settlements in the Black Sea] // *Ekologiya moray. Vip.* 48. S. 58–62. [In Russian]
- Stolbova N.G., Ladygina L. V. 1994. Genetic variability of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. off the Crimea coast // *Cytology and genetics.* Vol. 28. P. 66–66.
- Stolbova N.G., Pirkova A. V., Ladygina L. V. 1996. Inheritance of shell color in mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam // *Cytology and Genetics.* Vol. 30. No 6. P. 61–63.
- Suchanek T.H. et.al. 1997. Zoogeographic distributions of the sibling species *Mytilus galloprovincialis* and *M. trossulus* (bivalvia: mytilidae) and their hybrids in the north pacific // *Biol. Bull.* Vol. 193. No 2. P. 187–194.
- Tscherban S.A. 2000. Osobennosti somaticheskogo i generativnogo rosta u nekotoryh tsvetovih morf midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [Features of somatic and generative growth in some color morphs of mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam.] // *Ekologiya morya. Vip.* 53. S. 77–81. [In Russian]
- Väinölä R., Hvilson M.M. 1991. Genetic divergence and a hybrid zone between Baltic and North Sea *Mytilus* populations (Mytilidae: Mollusca) // *Biol. J. Linnean Soc.* Vol. 43, iss. 2. P. 127–148.
- Zaika V.E. et.al. 1990. Mitilidi Chernogo moray [Mytilids of Black sea]. Kiiv, Naukova dumka, 208 s. [In Russian]
- Zardi G.I. et.al. 2007. Unexpected genetic structure of mussel populations in South Africa: indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 337. P. 135–144.
- Zhukovskaya E.A., Kodolova O.P. 2002. Vzaimosvyaz tsvetovogo polymorfizma i morfologicheskikh priznakov u rakovin chernomorskoï midii *Mytilus galloprovincialis* Lam. [The correlation of colour polymorphism and morphological characteristics in the Black Sea shells mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam.] // *Visnik Zhitomirskogo derzhavnogo universitetu imeni Ivana Franka.* № 10. S. 43–46. [In Russian]

## GENETIC CHARACTERISTICS OF THE FOUR MORPHOLOGICAL GROUPS OF *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LAM. (MYTILIDAE: MOLLUSCA) FROM THE BLACK SEA

A. D. Kulikova, A. A. Soldatov

*A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Studies RAS*

*29011 Sevastopol, Ave Nakhimov 2, e-mail: qulikova@gmail.com, alekssoldatov@yandex.ru*

Investigated the genetic characteristics of the 4 color groups of the bivalve mollusk *Mytilus galloprovincialis* (black, transitional, dark and light brown groups) identified by a method of computer processing photos. Using RAPD analysis, it was shown that the black sea populations of mussels are characterized by high genetic diversity. The presence of genetic isolation of clams with a light brown coloration that appears to be due to the presence of environmental isolation between the rocky and silt forms the mussels.

*Keywords: Mytilus galloprovincialis, color polymorphism, genetic diversity, RAPD, Black sea*

## ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ РАЗМНОЖЕНИЯ ОТДАЛЕННЫХ ГИБРИДОВ КАРПОВЫХ РЫБ

Ю. В. Слынько, Е. Е. Слынько

*Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
152742, п. Борок, Ярославской области, Некоузского района, e-mail: syv@ibiw.yaroslavl.ru*

Впервые осуществлены масштабные анализирующие скрещивания самцов лабораторно полученных реципрокных гибридов  $F_1$  плотвы, леща и синца. Получены и выращены генерации бэккроссов. Проведен детальный морфологический, генетико-биохимический и цитогенетический анализ по обширному комплексу признаков гибридов  $F_1$  и ВС. Обнаружены ранее не известные эффекты наследования генов, гаметической сегрегации гаплоидных геномов и поликлональности потомства гибридов. На примере гибридов плотвы, леща и синца описана и экспериментально подтверждена принципиально новая система размножения – проапомиксис. Предполагается, что она присуща всей категории отдаленных гибридов "от случая к случаю".

*Ключевые слова:* карповые рыбы, гибриды, система размножения, скрещивания, эффекты наследования, изменчивость количественных и качественных признаков.

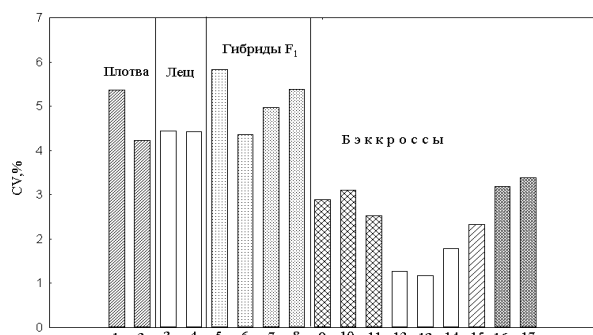
### ВВЕДЕНИЕ

Межвидовая гибридизация нередко определяется, как наиболее существенный и реальный фактор эволюции, наряду с воздействием мутаций, гомогенизации и отбора [Robles et al., 2005]. У межвидовых гибридов в первом поколении наблюдаются весьма существенные отклонения от закономерного менделеевского наследования, в том числе, последовательностей рДНК. Эти отклонения связывались большинством авторов с нарушением механизмов согласованной эволюции [Челомина и др., 2008 (Chelomina et al.); Skalska et al., 2003]. При анализе изменчивости количественных признаков в комплексе скрещиваний "Плотва-Лещ" в генерациях родительских видов и их реципрокных гибридов первого поколения была сходна. Ни в одном случае не выявлено достоверных различий в коэффициентах вариации: ни между разными генерациями на внутривидовом уровне, ни между родительскими видами, ни между генерациями гибридов первого поколения, в том числе между реципрокными вариантами, ни между родительскими видами и гибридами (рис. 1, табл. 1). В дискретных группах возвратных гибридов данного комплекса скрещиваний, напротив, отмечалось значительное снижение изменчивости по подавляющему большинству количественных признаков. По числу ветвистых лучей, всем пластическим признакам, количеству отверстий в *frontale* и *dentale* изменчивость в той или иной степени снижалась практически во всех дискретных группах восстановленных видов и восстановленных гибридов  $F_1$ . По количеству позвонков и отверстий в *nasale* снижение изменчивости было незначительным или отсутствовало в некоторых отдельных группах восстановленных видов или восста-

новленных гибридов  $F_1$ , как правило, в сравнении с наименее изменчивой по этим признакам плотвой. Для триплоидов, порядка половины всех проанализированных признаков характеризовались уровнями изменчивости, сопоставимыми с родительскими видами и гибридами первого поколения. Тем не менее, в целом имело место достоверное снижение суммарной морфологической изменчивости количественных признаков практически во всех группах бэккроссов (рис. 1, табл. 1).

В наибольшей степени изменчивость понижалась в диплоидных группах восстановленных родительских видов, более, чем на 50% в сравнении с родительскими видами и  $F_1$ . В диплоидных группах восстановленных  $F_1$  изменчивость в среднем понижалась более, чем на 30%, а в группах триплоидов суммарная морфологическая изменчивость снижалась на 20–30%. Триплоиды, таким образом, обладали наибольшим уровнем изменчивости среди всех групп бэккроссов. В ряде случаев, их изменчивость достоверно превышала изменчивость в других группах возвратных гибридов, или достоверно не отличалась от некоторых генераций родительских видов и гибридов первого поколения. Тем не менее, триплоиды по уровню изменчивости в основном значимо уступали родительским видам и гибридам первого поколения и даже в тех случаях, когда различия были недостоверны, изменчивость по-прежнему была более низкой. В комплексе скрещиваний "Плотва-Синец" наблюдалась почти аналогичная ситуация (табл. 2, рис. 2). Уровни изменчивости в генерациях сибсов родительских видов и гибридов первого поколения были сходны и не имели достоверных различий. Исключение составила только гене-

рация СхП 1993 г., уровень изменчивости количественных признаков, в которой значимо превышал изменчивость во всех других генерациях. Во всех дискретных генерациях бэккроссов отмечено в основном значимое снижение изменчивости по сравнению с родительскими видами и гибридами первого поколения. Также, как и в комплексе скрещиваний "Плотва-Лещ", наиболее низкой изменчивостью характеризовалась дискретная группа восстановленного вида ("плотва"), в среднем на 40–50% ниже, чем у родительских видов и гибридов первого поколения (без учета генерации СхП 1993 г.).



**Рис. 1.** Морфологическая изменчивость в выборках генераций плотвы, леща и их гибридов. CV, % – средний коэффициент вариации по сумме 11 счетных и 6 пластических признаков. 1, 2 – генерации плотвы 1990 и 1993 гг.; 3, 4 – генерации леща 1986 и 1989 гг.; гибриды первого поколения: 5, 6 – Лещ x Плотва 1989 и 1994 гг.; 7, 8 – Плотва x Лещ 1990 и 1993 гг.; бэккроссы: восстановленные гибриды в генерациях: 9 – Лещ x Лещ-Плотва, 1997 г., 10 – Лещ x Плотва-Лещ, 1996 г., 11 – Лещ x Лещ-Плотва, 1998 г.; восстановленный лещ в генерациях: 12 – Лещ x Плотва-Лещ, 1996 г., 13 – Лещ x Лещ-Плотва, 1997 г., 14 – Лещ x Лещ-Плотва, 1998 г.; 15 – восстановленная плотва в генерации Плотва x Плотва-Лещ, 1996 г.; триплоидные гибриды в генерациях: 16 – Плотва x Плотва-Лещ, 1996 г., 17 – Лещ x Лещ-Плотва, 1997 г.

**Fig. 1.** Morphological variability in the samples of generations of roach, bream and hybrids. CV, % – the average coefficient of variation of the sum of 11, counting and 6 plastic signs. 1, 2 – generation of roach in 1990 and 1993; 3, 4 – generation of bream in 1986 and 1989; the first generation of hybrids: 5, 6 – Bream x Roach 1989 and 1994; 7, 8 – Bream x Roach 1990 and 1993; backcrosses: the restored hybrids in generations: 9 – Bream x Bream-Roach, 1997, 10 – Bream x Roach-Bream, 1996, 11 – Bream x Bream-Roach, 1998; restored bream in the generation of 12: Bream x Roach-Bream, 1996, 13 – Bream x Bream-Roach, 1997, 14 – Bream x Bream-Roach, 1998; 15 – restored of roach in the generation of Roach x Roach-Bream, 1996; triploid hybrids in the generations: 16 – Roach x Roach-Bream, 1996, 17 – Bream x Bream-Roach, 1997.

У триплоидов уровень изменчивости был несколько выше, чем у восстановленной "плотвы" и в среднем на 20–30% ниже, чем у родительских видов и гибридов F<sub>1</sub>. В основном снижение изменчивости было достоверным, хотя в сравнении с отдельными генерациями (Синец 1993 г. и ПхС 1993 г.) снижение оказалось незначимым. Подобно возвратным гибридам системы скрещиваний "Плотва-Лещ" достоверность различий по разным признакам варьировала, по некоторым признакам различия оказывались недостоверными, однако эти колебания изменчивости по признакам носили случайный характер – отсутствие повторяемости по генерациям и по категориям признаков. Можно констатировать, что наблюдаемое значимое снижение уровней изменчивости количественных признаков в дискретных группах бэккроссов обоих комплексов скрещиваний является закономерным процессом. Как правило, при скрещивании сортов, линий и близкородственных видов для бэккроссов и F<sub>2</sub> характерно, скорее, не значимое понижение количественной изменчивости, а ее повышение, что является следствием рекомбинационных процессов [Рокицкий, 1978 (Rokitsky, 1978); Жученко, Король, 1985 (Zhuchenko, Korol', 1985); Мазер, Джинкс, 1985 (Mather, Jinks, 1985)]. Достоверным падением количественной изменчивости в поколениях post-F<sub>1</sub> характеризуются только полуклоны и клоны у однополых видов гибридного происхождения, что рассматривается в качестве надежного подтверждения клонального типа наследования, в частности, при однополым размножении у межвидовых гибридов *Poeciliopsis* [Vrijenhoek, 1984, 1994].

Анализ аллозимной изменчивости проводили по полиморфным для обоих видов локусам, кодирующим ферменты клеток мышечных тканей – пероксидаза (Pxd), лактатдегидрогеназа (Ldh) и аспаратаминотрансфераза (Aat) (рис. 3). По локусам Pxd и Aat плотва и лещ сходны по одному аллелю и различаются по трем, по локусам Ldh они сходны по одному аллелю и различны по двум. Следовательно, хотя бы часть из образующихся при гибридизации фенотипов является специфичной для гибридов. В принципе, в условиях полностью контролируемого эксперимента по проведению индивидуального скрещивания, описание генотипов получаемых вариантов не составляет сложности даже в условиях взаимодействия сходных аллелей скрещиваемых видов. Анализ производителей родительских особей и их потомства первого поколения показал, что у гибридов формируются фенотипы, полностью

соответствующие ожидаемым вариантам исходя из аллельных вариантов родительских особей и закономерностей кодоминантного наследования мономерных (PXD), димерных (AAT) и тетрамерных (LDH) изоферментов. Представленность генотипов в случае поливариантных картин была приблизительно равно-

вероятной (табл. 3). Именно из этих генераций гибридов первого поколения отбирались самцы для проведения возвратных скрещиваний. Электрофоретические варианты рассматриваемых полиморфных локусов, формирующиеся у особей бэккроссов прежде всего подтвердили дискретный характер потомства (табл. 4).

**Таблица 1.** Оценка достоверности различий коэффициента вариации количественных признаков в генерациях леща, плотвы, гибридов первого поколения и дискретных групп бэккроссов

**Table 1.** An assessment of the difference significance in variability of quantitative and qualitative characteristics in the generation of bream, roach, F1 hybrids and discrete groups of backcrosses

	L1	L2	P1	P2	PXL1	PXL2	LXP1	LXP2	F97	F6	F8	L96	L97	L98	P96	T96
L2	0.2															
P1	0.2	0.4														
P2	0.8	0.8	0.5													
PXL1	1.2	1.1	1.2	1.3												
PXL2	1.5	1.6	1.6	1.6	0.7											
LXP1	1.0	1.3	0.4	0.0	2.0	2.0										
LXP2	0.0	0.2	0.3	0.5	1.5	1.6	1.0									
F97	<u>7.3</u>	<u>6.8</u>	<u>5.3</u>	<u>5.1</u>	<u>5.1</u>	<u>4.6</u>	<u>4.9</u>	<u>5.3</u>								
F96	<u>6.4</u>	<u>5.7</u>	<u>4.4</u>	<u>4.9</u>	<u>5.1</u>	<u>5.3</u>	<u>4.0</u>	<u>5.0</u>	0.1							
F98	<u>4.9</u>	<u>5.0</u>	<u>4.9</u>	<u>4.2</u>	<u>4.7</u>	<u>4.5</u>	<u>3.9</u>	<u>4.7</u>	1.1	0.9						
L96	<u>4.6</u>	<u>4.6</u>	<u>4.0</u>	<u>3.6</u>	<u>5.2</u>	<u>4.7</u>	<u>4.0</u>	<u>4.8</u>	1.8	1.7	0.9					
L97	<u>4.0</u>	<u>4.1</u>	<u>4.2</u>	<u>4.0</u>	<u>4.5</u>	<u>4.6</u>	<u>3.7</u>	<u>3.9</u>	1.9	1.9	1.1	0.6				
L98	<u>5.0</u>	<u>5.0</u>	<u>4.4</u>	<u>4.1</u>	<u>4.6</u>	<u>4.6</u>	<u>3.7</u>	<u>4.2</u>	1.0	1.0	.1	.8	1.1			
P96	<u>4.7</u>	<u>5.3</u>	<u>5.9</u>	<u>4.5</u>	<u>4.5</u>	<u>4.4</u>	<u>3.6</u>	<u>4.6</u>	0.3	0.1	1.8	1.6	1.8	1.4		
T96	<u>2.3</u>	<u>2.3</u>	<u>2.9</u>	<u>2.5</u>	<u>2.7</u>	<u>2.9</u>	1.8	<u>2.2</u>	0.9	0.9	1.7	1.6	<u>2.3</u>	1.5	0.9	
T97	<u>4.3</u>	<u>3.5</u>	<u>2.2</u>	2.1	<u>4.2</u>	<u>3.8</u>	<u>3.0</u>	<u>3.1</u>	<u>2.3</u>	1.9	2.1	<u>3.5</u>	<u>2.9</u>	1.8	1.4	0.4

**Таблица 2.** Оценка достоверности различий коэффициента вариации количественных признаков в генерациях синца, плотвы, гибридов первого поколения и дискретных группах бэккроссов

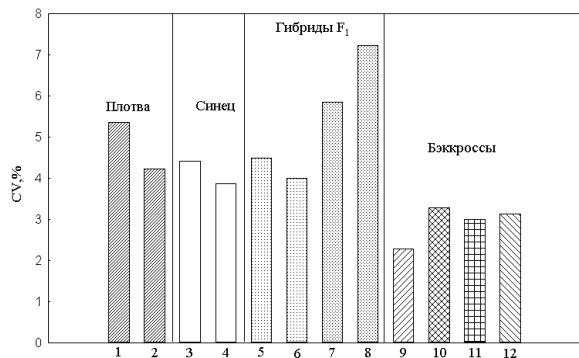
**Table 2.** An assessment of the difference significance in variability of quantitative and qualitative characteristics in the generation of blue bream, roach, F1 hybrids and discrete groups of backcrosses

	S1	S2	P1	P2	PXS1	PXS2	SXP1	SXP2	P96	T94	T96
S2	0.6										
P1	0.2	0.1									
P2	0.6	0.4	0.5								
PXS1	0.6	0.9	0.6	0.9							
PXS2	1.0	1.3	0.9	1.2	0.4						
SXP1	2.1	<u>2.6</u>	2.1	2.0	1.5	1.6					
SXP2	<u>2.3</u>	<u>2.5</u>	<u>2.4</u>	<u>2.5</u>	<u>2.4</u>	<u>2.2</u>	1.5				
P96	<u>2.8</u>	<u>2.7</u>	<u>3.4</u>	<u>3.3</u>	<u>2.6</u>	<u>2.8</u>	<u>3.3</u>	<u>3.4</u>			
T94	<u>2.5</u>	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>	1.9	<u>2.2</u>	<u>3.0</u>	<u>3.9</u>	<u>3.5</u>	1.9		
T96	<u>2.7</u>	<u>2.9</u>	<u>2.7</u>	1.9	<u>2.2</u>	<u>2.8</u>	<u>4.7</u>	<u>3.7</u>	1.4	0.8	
TS96	<u>2.4</u>	2.1	2.0	1.7	<u>2.3</u>	<u>2.8</u>	<u>4.0</u>	<u>4.1</u>	1.1	0.8	0.3

Все особи, определенные, как диплоидные восстановленные родительские виды имели спектры, представленные только аллелями родительских видов; все особи, описанные как диплоидные гибриды типа F<sub>1</sub>, имели соответствующие спектры, присущие гибридам первого поколения, а все особи, отнесенные к классу триплоидных, характеризовались соответствующими гибридными спектрами. В случае контаминации полностью различных аллелей электрофоретический спектр содержал новообразования, которые никогда не отмеча-

лись ни у родительских особей, ни у гибридов первого поколения, и не могли бы определяться четвертичной структурой соответствующего изофермента в диплоидном состоянии: генотипы a/c/d по локусу Pxd (6-ти полосочный спектр) и a/c/d по локусу Aat (5-ти полосочный спектр) в классе триплоидов генерации LхЛ-П, 1997 г. (рис. 4). Характер этих спектров по количеству и распределению полос полностью соответствовал принципам конформационных взаимодействий п-п цепей при формировании четвертичной структуры. Подобная картина

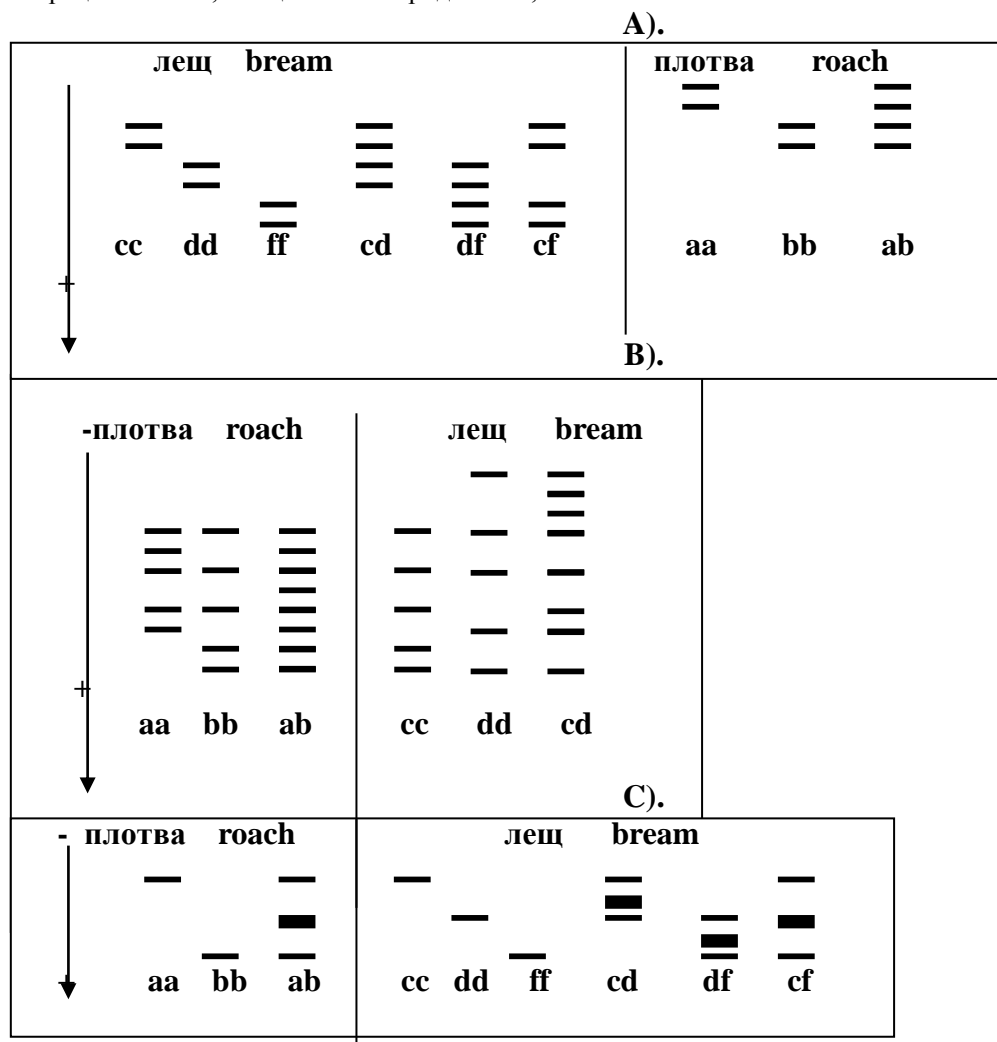
могла возникнуть только при взаимодействии продукта аллеля родительского вида и всего гетерозиготного спектра гибрида первого поколения. Различающиеся аллели, родительских видов, сформировавших гетерозиготный спектр у гибрида первого поколения, наследовались сцеплено, гетерозиготность приобретала характер константной.



**Рис. 2.** Морфологическая изменчивость в выборках генераций плотвы, синца и их гибридов. CV, % –

средний коэффициент вариации по сумме 11 счетных и 6 пластических признаков; 1, 2 – плотва 1990 и 1993 гг.; 3, 4 – Синец 1989 и 1993 гг.; гибриды первого поколения: 5, 6 – Плотва x Синец, 1990 и 1993 гг.; 7, 8 – Синец x Плотва, 1990 и 1993 гг.; бэкрессы: 9 – восстановленная Плотва в генерации Плотва x Синец-Плотва 1996 г.; триплоидные гибриды в генерациях: 10 – Плотва x Плотва-Синец 1994 г., 11 – Плотва x Синец-Плотва 1996 г., 12 – Синец x Синец-Плотва 1996 г.

**Fig. 2.** Morphological variability in the samples of the generations of roach, blue bream and their hybrids. CV, % – average coefficient of variation on the sum of 11 calculating and 6 plastic signs; 1, 2 – Roach 1990 and 1993; 3, 4 – Blue bream 1989 and 1993; F1 hybrids: 5, 6 – Roach x Blue bream, 1990 and 1993; 7, 8 – Blue bream x Roach, 1990 and 1993; backcrosses: 9 – the restored Roach in the generation Roach x Blue bream-Roach 1996; triploid hybrids in the generations: 10 – Roach x Roach - Blue bream 1994, 11 – Roach x Blue bream - Roach 1996, 12 – Blue bream x Blue bream-Roach 1996.



**Рис. 3.** Электрофоретические фенотипы локусов Pxd (A), Ldh (B) и Aat (C) плотвы и леща. aa, bb, cc и т.д. – условные наименования генотипов.

**Fig. 3.** Electrophoretic phenotypes of loci Pxd (A), Ldh (B) and Aat (C) of roach and bream. aa, bb, cc etc. – Code names of genotypes.

**Таблица 3.** Генотипы полиморфных локусов в генерациях гибридов первого поколения плотвы и леща 1989 г.

**Table 3.** Genotypes of polymorphic loci in the generation in F1 hybrids of roach and bream in 1989

№	Гибрид Hybrid	PXD		LDH		AAT	
		Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f
1	♀Плотва х ♂Лещ ПхЛ	a/a		a/a		a/a	
		c/f		c/c		d/d	
		a/c	0.44	a/c	1.00	a/d	1.00
		a/f	0.56				
2	♀Лещ х ♂Плотва ЛхП	c/d		c/c		c/f	
		a/a		a/b		a/a	
		a/c	0.52	a/c	0.46	a/c	0.59
		a/d	0.48	b/c	0.54	a/f	0.41

Такого рода новообразования возникают, как правило, при кратном увеличении плоидности и рассматриваются в качестве прямых доказательств полиплоидии [Малецкий, Полякова, 1977 (Maletskij, Polyakova, 1977); Серов, 1977 (Sarov, 1977)]. У плотвы и синца, отсутствует столь отчетливая межлокусной дифференциация по различающимся аллелям (рис. 5). В локусах Pxd и Aat все аллели у обоих видов сходны. По локусам Ldh синец мономорфен и сходен с быстрым аллелем Ldh у

плотвы, т.е. имеются различия только по одному аллелю. Поэтому генотипическая интерпретация спектров у их гибридов возможна только при анализе потомства от индивидуальных скрещиваний при установленных генотипах родительских особей. Генотипы и их распределение у гибридов первого поколения тех генераций, особи из которых использовались при проведении возвратных скрещиваний приведены в табл. 5.

**Таблица 4.** Генотипы полиморфных локусов в дискретных группах бэккроссов комплекса скрещиваний "Плотва-Лещ"

**Table 4.** The genotypes of polymorphic loci in discrete groups of backcrosses' complex "Roach – Bream"

Генерация Generation	Родители, потомство Parents, generation	Плоидность Ploidy	PXD		LDH		AAT	
			Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f
ПхП-Л, 1996	Самка	2n	a/a		a/a		a/a	
	Самец	2n	a/c		a/c		a/d	
	BC	"II"	a/a	1.00	a/a	1.00	a/a	1.00
		"T"	a/a/c	1.00	a/a/c	1.00	a/a/d	1.00
ЛхП-Л, 1996	Самка	2n	d/f		c/c		c/c	
	Самец	2n	a/f		a/c		a/d	
	BC	"II"	d/f	0.40	c/c	1.00	c/d	1.00
		"F <sub>1</sub> "	f/f	0.60				
ЛхЛ-П, 1997	Самка	2n	a/d	0.44	a/c	1.00	a/c	1.00
	Самец	2n	a/f	0.56				
	BC	"II"	c/d		c/c		c/d	
		"II"	a/d		b/c		a/f	
ЛхЛ-П, 1998	Самка	2n	c/d		c/c		d/f	
	Самец	2n	a/c		a/c		a/f	
	BC	"II"	c/c	0.72	c/c	1.00	d/f	0.43
		"F <sub>1</sub> "	c/d	0.28			f/f	0.57
		"F <sub>1</sub> "	a/c	0.44	a/c	1.00	a/d	0.33
			a/d	0.56			a/f	0.67

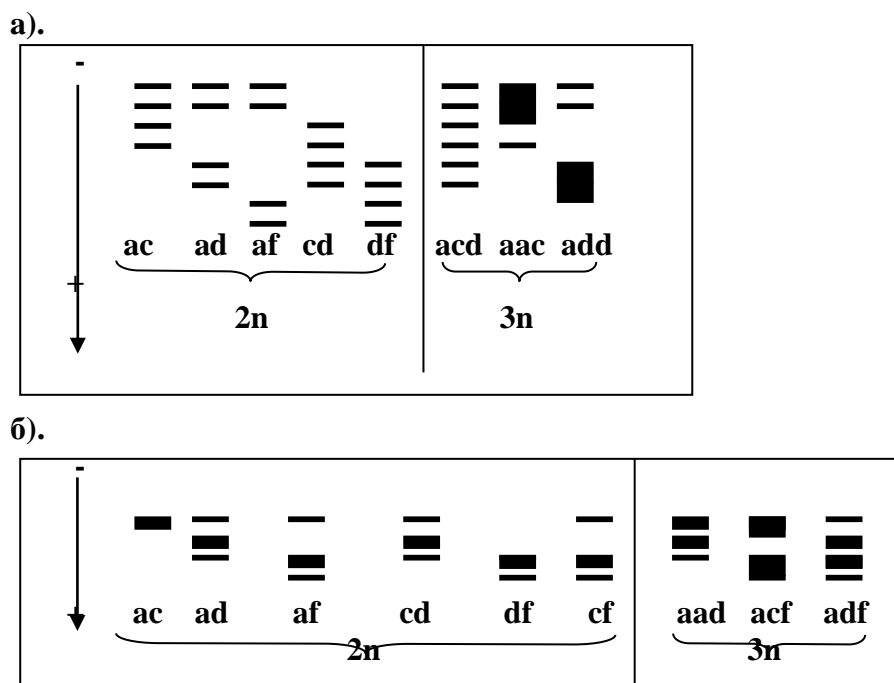
В тех случаях, когда у гибридов наличествовало по два фенотипических варианта, их

соотношение соответствовало распределению 1:1. Дискретность у возвратных гибридов в

целом прослеживалась по генотипам данных локусов (табл. 6). Во всяком случае, все особи, идентифицированные ранее, как диплоидная восстановленная плотва имели спектры присутствия плотве, а триплоидные особи характеризовались гетерозиготными спектрами. Только в одном случае, по локусу Aat в генерации ПхС-П 1996 г., не было возможности дифференцировать дискретные группы, все потомство было представлено идентичными гетерозиготными спектрами. Таким образом, и для полиморфных локусов мы можем констатировать сцепленный характер наследования в поколениях бэккроссов. Более того, локусы не только сцеплены между собой, но и демонстрируют, по характеру расщепления, как сцепление с мономорфными моногенными локусами, так и с полигенными признаками. Геномы родительских видов у гибридов первого поколения не рекомбинируют, они сегрегированы и наследуются при размножении гибридов клонально. В норме, на внутривидовом уровне, использованные в анализе полиморфные локусы наследуются независимо друг от друга. Аллельная изменчивость, которая возникает внутри дискретных групп, является следствием этой независимости локусов и представленные результаты свидетельствуют, что она вносится исключительно самкой родительского вида, использованной в конкретном

скрещивании. По этой же причине не происходит и полной утраты морфологической изменчивости, чего можно было бы ожидать в случае полного клонирования. Поскольку наследование генома у гибридов первого поколения клональное, то, следовательно, данные по изменчивости дают все основания утверждать, что получаемые в потомстве возвратного скрещивания дискретные группы представляют собой полуклоны. Характер аллозимной и морфологической изменчивости и тип наследования аллелей полиморфных и мономорфных локусов и полигенных морфологических признаков у гибридов плотвы, леца и синца фактически такие же, как и при скрещивании самок *Poeciliopsis monacha-lucida* с самцами *P. monacha* [Vrijenhoek, 1984, 1994]. Основное отличие нашей ситуации заключается в том, что у гибридов комплекса *Poeciliopsis* клонируется только материнский по происхождению геном *monacha*, а в нашем случае клонируются оба родительских генома, независимо от их происхождения.

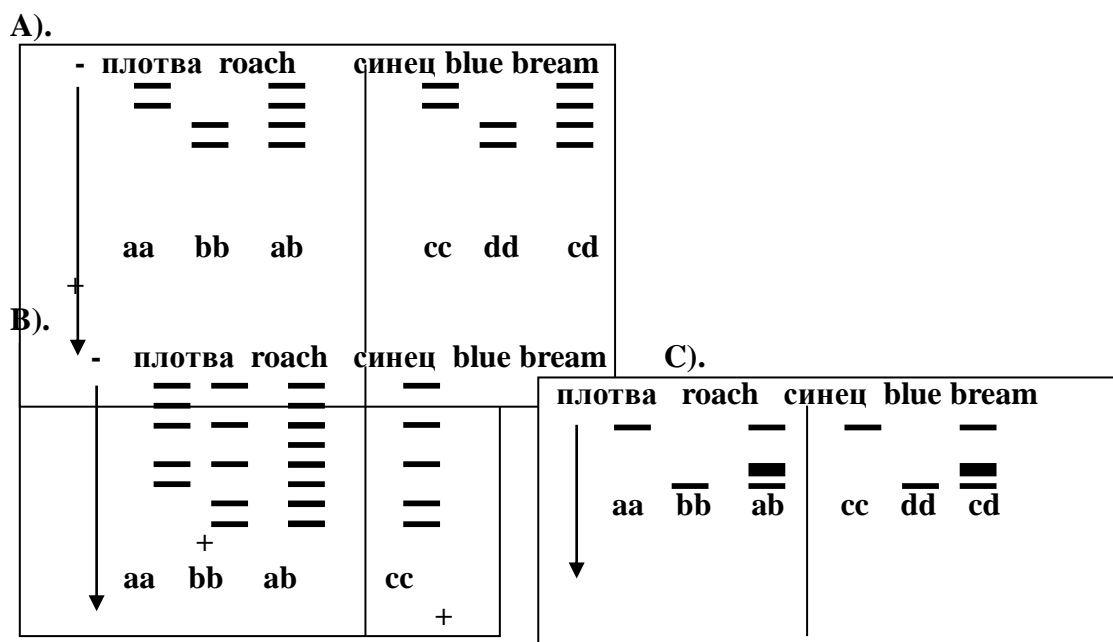
Результаты проведенных экспериментов оказались не соответствующими теоретическим моделям, наследования нескольких моногенных несцепленных признаков, так и количественных полигенных признаков (модель множественных факторов).



**Рис. 4.** Гетерозиготные спектры у диплоидных и триплоидных бэккроссов комплекса скрещиваний плотвы и леца: а) – по локусу PXD, б) – по локусу AAT.

**Fig. 4.** Heterozygous spectra in diploid and triploid backcrosses' complex at crossbreeding of roach and bream: а) - locus PXD, б) – AAT locus.





**Рис. 5.** Электрофоретические фенотипы локусов PXD (A), LDH (B) и AAT (C) плотвы и синца. aa, bb, cc и т.д. – условные наименования генотипов.

**Fig. 5.** Electrophoretic phenotypes of loci PXD (A), LDH (B) and AAT (C) blue bream and roach. aa, bb, cc etc. – Code names of genotypes.

**Таблица 5.** Генотипы полиморфных локусов в генерациях гибридов первого поколения плотвы и синца 1990 г.

**Table 5.** The genotypes of polymorphic loci at generation F1 hybrids of roach and blue bream 1990

№		PXD		LDH		AAT	
		Генотип	f	Генотип	f	Генотип	f
1	♀ плотва	a/a	1.00	a/b	0.58 0.42	a/a	1.00
	♂ Синец	h/h		f/f		h/h	
	ПхС	a/h		a/f		a/h	
				b/f			
2	♀ Синец	g/h	1.00	f/f	1.00	g/h	1.00
	♂ Плотва	a/a		a/a		b/b	
	СхП	a/g=a/h		a/f		b/g=b/h	

Обозначения: "=" – при различной генотипической структуре электрофоретические спектры идентичны

Key: "=" – electrophoretic spectra are identical at different genotypic structure

**Таблица 6.** Генотипы полиморфных локусов в дискретных группах бэккроссов комплекса скрещиваний "Плотва-Синец"

**Table 6.** The genotypes of polymorphic loci in discrete groups of backcrosses' complex at crossbreeding "Roach-Blue bream"

Генерация Generation	Родители, потомство Parents, generation	Плоидность Ploidy	PXD		LDH		AAT	
			Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f	Генотип Genotype	f
ПхП-С, 1994	Самка	2n	a/a		a/a		a/a	
	Самец	2n	a/h		a/f		a/h	
	BC	"П"	a/a	1.00	a/a	1.00	a/a	1.00
		"Т"	a/a/h	1.00	a/a/f	1.00	a/a/h	1.00
ПхС-П, 1996	Самка	2n	a/a		a/a		a/a	
	Самец	2n	a/g(a/h)		a/f		b/g(b/h)	
	BC	"П"	a/a	1.00	a/a	1.00	a/b	?
		"Т"	-/a/g (a/a/h)	1.00	-/a/f	1.00	a/b/g (a/b/h)	?
СхС-П, 1996	Самка	2n	h/h		f/f		g/h	
	Самец	2n	a/g(a/h)		a/f		b/g(b/h)	
	BC	"Т"	a/g/h (a/h/h)	1.00	a/f/f	1.00	b/g/g. (b/h/g. b/h/h)	1.00

В первом случае, постулируется присутствие в  $F_2$  или ВС широкого спектра рекомбинантных типов, включая родительские типы, а изменчивость отдельных полиморфных локусов будет обусловлена комбинацией всех различающихся аллелей обоих родительских особей; во втором – менделевское расщепление по нескольким или многим адоминантным генам с аддитивными эффектами, максимальная генетическая дисперсия  $F_2$  и ВС и гальтоновское непрерывное распределение частот фенотипов, пропорциональное числу генетических факторов [Li, 1978 (Ли, 1978); Мазер, Джинкс, 1985 (Mather, Jinks, 1985); Камптон, 1991 (Kampton, 1991)]. Чем больше пар генов участвуют в расщеплении, тем меньше в  $F_2$  и ВС доля особей, фенотипически сходных с родительскими формами [Рокицкий, 1978 (Rokitsky, 1978)]. При наличии паратипической компоненты изменчивости обнаружить дискретную изменчивость невозможно даже по одному признаку, контролируемому парой несцепленных генов и тем более невозможно выявить дискретную изменчивость по большому числу признаков, контролируемых большим количеством генов. Изменчивость использованных в представленном материале морфологических признаков, судя по имеющимся данным [Кирпичников, 1987 (Kirpichnikov, 1987)], определяется десятками аддитивно действующих генов и содержит значительную паратипическую компоненту. Однако в генетических экспериментах, как правило, анализируются не отдельные гены, а эффективные факторы (группы сцепления), максимальное число которых равно числу хромосом гаплоидного набора совместно с количеством хиазм на геном.

Известно, что количественные признаки дрозофилы, как и других изученных в этом отношении объектов, контролируются полигенами, локализованными во всех хромосомах и рекомбинация в любой паре хромосом непосредственно влияет на изменчивость этих признаков. Современными исследованиями установлено принципиальное сходство систем генетической регуляции онтогенеза у насекомых и позвоночных и выдающейся роли этих систем в эволюции обеих групп [Carrol, 1995]. Оказалось возможным не только идентифицировать несколько общих семейств так называемых генов развития (*D*-генов), но и установить гомологию каждого из генов дрозофилы с многократно дублированными генами позвоночных. Наиболее изученным и наиболее важным в функциональном отношении является семейство гомеотических генов (*Hox*-гены), контролирующих дифференцировку сегментов

насекомых и сомитов позвоночных вдоль оси тела. Последовательность расположения гомеотических генов в хромосоме соответствует последовательности их зон действия по оси тела. В онтогенезе каждый из этих генов регулирует активность большого числа генов-мишеней (порядка 100–200), расположенных во всех хромосомах. В число мишеней, помимо структурных генов входят и регуляторные гены других семейств, тоже воздействующие на свои специфические мишени. Таким образом формируется регуляторная мультигенная сеть, организованная по иерархическому принципу и интегрирующая в процессе развития всю функциональную часть генома. Полагается, что число *Hox*-генов весьма консервативно. У карповых рыб насчитывается 38 *Hox*-генов, столько же, сколько и в других классах позвоночных, однако в последнее время показана их дифференциальная специфичность для разных родов и видов этого семейства [Zardoya et al., 1996]. В целом эти исследования позволили существенно конкретизировать представления классической генетики о взаимодействии главных и полимерных генов – в роли последних выступают многочисленные структурные гены-мишени, эффект мутаций в каждом из которых пренебрежимо мал.

Все это дает веские основания полагать, что использованные нами в анализе признаки контролируются регуляторными системами практически всех *Hox*-генов у рассматриваемых видов. Только общее число генов-регуляторов, локализованных в разных хромосомах превышает 100.

Использованные нами в анализе локусы, кодирующие изоферменты, также вероятней всего расположены в разных хромосомах, о чем свидетельствуют, как наши собственные данные о независимом характере наследования этих полиморфных локусов в естественных популяциях плотвы, леща и синца [Слынько, 1993, 1997 (Slynko, 1993, 1997)] и данные по индивидуальным скрещиваниям, так и данные по группам сцепления биохимических генов у других видов рыб [Кирпичников, 1987 (Kirpichnikov, 1987); Morizot, Siciliano, 1984] и результаты генетического картирования у мыши и человека. У мыши локусы *Sod*, *Ldh-A*, *Ldh-B*, *Est* и *Pxd* расположены соответственно в 16 (17), 7, 6, 9 и 2 хромосомах, а у человека – соответственно в 21q (6p), 12p, 11p, 11q, 11p хромосомах [Арефьев, Лисовенко, 1995 (Aref'ev, Lisovenko, 1995)].

Таким образом, можно с уверенностью утверждать, что данные по всей совокупности полигенных и моногенных признаков надежно

репрезентативны весь геном. Отсюда следует, что наблюдаемое в наших экспериментах восстановление всех признаков родительских фенотипов (от формы костей черепа до размеров эритроцитов) возможно только при полном отсутствии менделевской рекомбинации гомологичных хромосом, и в качестве единицы наследования (группы сцепления) выступает весь геном или гаплотип [Мазер, Джинкс, 1984 (Mather, Jinks, 1984)]. В этом случае возможны только два варианта "немнделевского" расщепления: 1. Полная сегрегация и раздельное клонирование обоих родительских гаплотипов по схеме  $AB \Rightarrow A+B$  и восстановление родительских и гибридных генотипов при бэккроссировании по схеме  $AA \times AB = AA + AB$  ( $BB \times AB = BB + AB$ ), где A и B гаплотипы родительских видов.; 2. Неполная сегрегация (поликлональность), при котором должна реализоваться схема образования гамет  $AB \Rightarrow A + B + AB$  и образования генотипов потомства  $AA \times AB = AA + AB + AAB$  ( $BB \times AB = BB + AB + ABB$ ). Три других возможных варианта исхода экспериментов фальсифицируют гипотезу: 3. Рекомбинативное (менделевское) расщепление; 4. Отсутствие сегрегации родительских геномов и образование только диплоидных гамет AB и триплоидных потомков типа AAB и ABB; 5. Расщепление по типу гибридогенеза с потерей отцовского по происхождению генома ( $AB \Rightarrow A$ ), при котором результаты возвратных скрещиваний несимметричны ( $AA \times AB = AA$  и  $BB \times AB = AB$ ). Варианты спонтанной инактивации ядра яйцеклетки, ведущей к андрогенезу при оплодотворении диплоидным спермием, или спонтанной диплоидизации, ведущей к гиногенезу маловероятны ввиду чрезвычайной редкости этих процессов. Ни для одного из использованных в настоящей работе видов неизвестны случаи спонтанного гино- или андрогенеза. Среди всего европейского комплекса карповых рыб спонтанная диплоидизация помимо широко известной естественной гиногенетической формы серебряного карася обнаружена только у линя (*Tinca tinca* L.) [Flajshans et al., 1995], единственного представителя монотипического подсемейства Tincinae с неясными филогенетическими связями и особым таксономическим статусом [Богущая, 1986 (Bogutskaya, 1986)].

Известно, что оба варианта клонального наследования реализуются только при однополом размножении у живородящих карпозубых рыб и у зеленых лягушек [Berger, 1976; 1977; Боркин, Даревский, 1980 (Borkin, Darevskij, 1980); Moore, 1984; Vrijenhoek, 1984; Dawley,

1989; Vrijenhoek, 1994]. При гиногенезе *Poecilia formosa* клонируются и развиваются без оплодотворения яйцеклетки, содержащие полный геном, в результате чего потомство генетически идентично родительской особи и наблюдается только паратипическая изменчивость количественных признаков. При гибридогенезе диплоидных *Poeciliopsis monachalucida* клонируются яйцеклетки, содержащие только материнский по происхождению гаплотип *monacha*, что при скрещивании с родительскими видами дает два различных результата – с самцом *P. monacha* восстанавливается фенотип "monacha", а с самцом *P. lucida* восстанавливается фенотип гибрида "monachalucida", поскольку отцовский по происхождению геном *lucida* элиминируется в мейозе [Cimino, 1972]. В первом случае все потомство гомозиготно, а во втором гетерозиготно по всем фиксированным у родительских видов аллелей независимых локусов, изменчивость по полиморфным локусам обусловлена только рекомбинантной изменчивостью самцов. Изменчивость по количественным признакам снижается более, чем наполовину. То есть потомство в обоих случаях представлено полуклонами. При гибридогенезе стабилизированной формы гибридного происхождения *Rana esculenta* наблюдается фактически "анцестральное разнообразие" способов клонирования геномов: элиминация одного из гаплотипов, независимое клонирование обоих гаплотипов, клонирование нередуцированного гибридного генома [Gunter, 1975; Tunner, 1974; Бергер, 1976 (Berger, 1976); Боркин, Тихенко (Borkin, Tikhenko, 1979, 1979); Боркин, Даревский, 1980 (Borkin, Darevskij, 1980); Виноградов и др., 1988 (Vinogradov et al., 1988); Lada et al., 1995]. Самки *R. esculenta* клонируют, как гаплоидный геном "ridibunda", так и диплоидный геном "ridibunda-lessonae", а самцы – и геном "ridibunda", и геном "lessonae". Единственное общее свойство обеих форм гибридогенеза, обеспечивающее клонирование – элиминация отцовского по происхождению генома, у *R. esculenta* оказывается интерполярным и факультативным. При этом, наряду с полуклонами в бэккроссных потомствах, в случае внутригибридного скрещивания потомство будет представлено полными клонами. Недавно было установлено, что у гибридов, как *R. ridibunda*, так и *R. esculenta* с двумя другими видами зеленых лягушек (*R. shqiperia*, *R. epirotica*) вообще не наблюдается премейотического исключения в гаметогенезе геномов этих видов, однако при этом отмечены факты рекомбинации [Guerrini et al., 1997]. Это обстоятельство, по-видимому, допустимо рассматри-

вать в качестве дополнительного свидетельства в пользу "анцестральности" гибридогенеза у зеленых лягушек, с одной стороны, а с другой, учитывая, что эти два вида (*R. shqipëria*, *R. epeirotica*) являются близкородственными для *Rana ridibunda*, вполне вероятно, что их геномы недостаточно дивергировали, чтобы работали цитогенетические механизмы сегрегации геномов. Премейотическая сегрегация родительских геномов полагается в качестве исходного механизма, определяющего возможность последующей (в ходе мейоза) элиминации одного из родительских геномов и клонирования оставшегося [Uzzell, 1970; Cimini, 1972; Tunner, 1974; Vrijenhoek, 1979]. Существенным свидетельством в пользу реальности данного механизма явилась оригинальная работа М. Беннета [Bennet, 1986] по обнаружению пространственного разобщения гаплоидных геномов родительских видов на препаратах митотических метафазных пластинок межродовых гибридов ржи и ячменя. Причем расположение гаплоидных наборов характеризуется высокой степенью упорядоченности – разобщение гаплоидных наборов не зависит от общего сходства последовательностей ДНК. Гомологи, обладающие наибольшим сходством последовательностей, в среднем больше удалены друг от друга, чем негомлогичные хромосомы с менее сходными последовательностями. Был высказан ряд принципиальных предположений, в которых сделана попытка обосновать, что такое упорядоченное расположение хромосомных наборов может, во-первых, обуславливать тенденцию к формированию устойчивых временных ассоциаций генов, находящихся в гетерологичных хромосомах, а, во-вторых, представляется вполне вероятным, что сходный порядок хромосом в двух гаплоидных геномах является основной предпосылкой при реализации механизма распознавания при конъюгации хромосом в мейозе у диплоидов. Особо подчеркивается, что такого рода пространственная упорядоченность, вероятно характерна не только для гибридов, но и для нормальных диплоидных видов, определяя такое общее свойство хромосом эукариот при конъюгации, как распознавание по принципу "свой – чужой". Только в случае видов, это распознавание реализуется в виде "узнавания" своего гомолога, так как пространственно разобщены комплексы гомологичных хромосом, а в случае гибридов пространственно разобщены комплексы негомологов, или родительских геномов, и распознавание "своего-чужого" реализуется в виде вербальной формулы "ближе "чужой" негомолог, но из "своего" генома, чем "свой"

гомолог, но из "чужого" генома". Эти представления напрямую перекликаются со взглядами Б.Ф. Чадова [(Chadov, 1981)] о существовании генетической программы системного ответа в ответ на структурные преобразования генома. А более сильной структурной реорганизации генома естественной природы, чем отдаленная гибридизация, когда сталкиваются совершенно чужеродные геномы, трудно предположить [Augros, Stanciu, 1987; Foutdevila, 1987; Potts, Reid, 1988; Petit et al., 1999]. Потомства гибридных самцов, как Плотва-Лещ и Лещ-Плотва, так и Плотва-Синец и Синец-Плотва от скрещивания с самками родительских видов обладают всеми характерными признаками полуклонов – существенным снижением количественной изменчивости, отсутствием рекомбинантных типов по совокупности мономорфных и полиморфных локусов, а изменчивость по отдельным полиморфным локусам возникает только за счет самки родительского вида, в случае ее гетерозиготности. Принципиальная особенность результатов нашего эксперимента заключается в том, что в отличие от самок *Poeciliopsis monacha-lucida* гибридные самцы, как плотвы и леща, так и плотвы, и синца воспроизводят не один, а три типа сперматозоидов, приводящие к формированию жизнеспособного потомства – гаплоидные гаметы плотвы (R), гаплоидные гаметы леща (A) и диплоидные гаметы с нередуцированным хромосомным набором гибрида первого поколения (RA).

Известно, что самки гибрида карась-каarp могут продуцировать, как гаплоидные, так и диплоидные яйца [Черфас и др., 1981; (Cherfas et al., 1981); Черфас, 1987 (Cherfas; 1987); Ojima et al., 1975], аналогичная гаметная продукция была недавно обнаружена у самок гибридов *Phoxinus eos-neogaeus* [Goddard et al., 1998]. Наличие триплоидов надежно подтверждено и в потомстве самок *Rana esculenta* [Berger et al., 1978]. Вместе с тем у самцов гибридов рыб случаи полиморфизма спермиев по плоидности (или по размерам) не описывались.

В отношении рассматриваемой нами пары видов (лещ-плотва), несмотря на регулярные обнаружения в природе самок и самцов гибридов на IV и даже V стадии зрелости, тем не менее, общепринятым было мнение, что частично фертильны только самки, а самцы по преимуществу стерильны [Николюкин, 1952 (Nikolyukin, 1952)]. Так, по собственным экспериментальным данным Н.И. Николюкина [Николюкин, 1952, 1972 (Nikolyukin, 1952, 1972)] удачными были только возвратные скрещивания самки гибрида с плотвой. Экспе-

рименты по анализирующим и внутригибридным скрещиваниям гибридов плотвы и леща из британского водохранилища Grafham Water, засвидетельствовали фертильность, как самок, так и самцов гибридов [Wood, Jordan, 1987]. В этих экспериментах были осуществлены два возвратных скрещивания природных гибридов с плотвой (ТПлотва  $\times$  UF<sub>1</sub> и TF<sub>1</sub>  $\times$  УПлотва) и одно внутригибридное скрещивание, получив достаточно представительные по числу экземпляров потомства на стадии личинки (соответственно по 600 и 54 личинки бэккроссов и 24 – F<sub>2</sub>). Поскольку морфологическая изменчивость изучалась только у личинок и только по одному признаку (число лучей в анальном плавнике), то дискретные группы фенотипов не были установлены. Однако, повышения изменчивости в потомствах BC и F<sub>2</sub> не наблюдалось, а значения признака в потомствах обеих генераций BC примерно соответствовало значениям этого же признака в наших генерациях BC по совокупности всех дискретных групп. Аналогичны и данные в эксперименте Н.И. Николюкина – из 9 полученных им мальков у 6 экз. число лучей в А соответствовало значениям числа лучей у гибридов F<sub>1</sub>, а у трех – значениям нашей промежуточной группы триплоидов.

Мы не исключаем, что при гаметогенезе возникают также анеуплоидные гаметы. В качестве последних могут быть интерпретированы гаметы среднего размерного класса. Среди икринок гибридов карпо-карасей описывались аналогичные по размерам, содержащие, как было установлено, анеуплоидные наборы хромосом [Черфас, Емельянова, 1986 (Cherfas, Emelyanova, 1986)]. Производство анеуплоидных гамет отмечалось и у самцов диплоидных *Rana esculenta* [Gunter, 1975]. Однако, судя по характеру жизнеспособного потомства бэккроссов в нашем случае все анеуплоидные формы элиминируются, что подтверждается и кариологическими данными.

Таким образом, редукция числа хромосом при производстве гаплоидных гамет с нерекombинировавшими геномами осуществляется не за счет избирательной элиминации отцовского по происхождению генома, а за счет сегрегации обоих родительских гаплотипов. Отсутствие любых рекомбинантных типов во всех пяти фенотипических классах в комплексе скрещиваний "Плотва-Лещ", полученных в возвратных скрещиваниях с самками обоих родительских видов, свидетельствует о том, что все эти пять типов жизнеспособных зигот (RR, AA, RA(=AR), RRA, AAR) возникли в

результате комбинаторики родительских гаплотипов (рис. 6):

$$RR \times AR (RA) = RR + RA + RRA$$

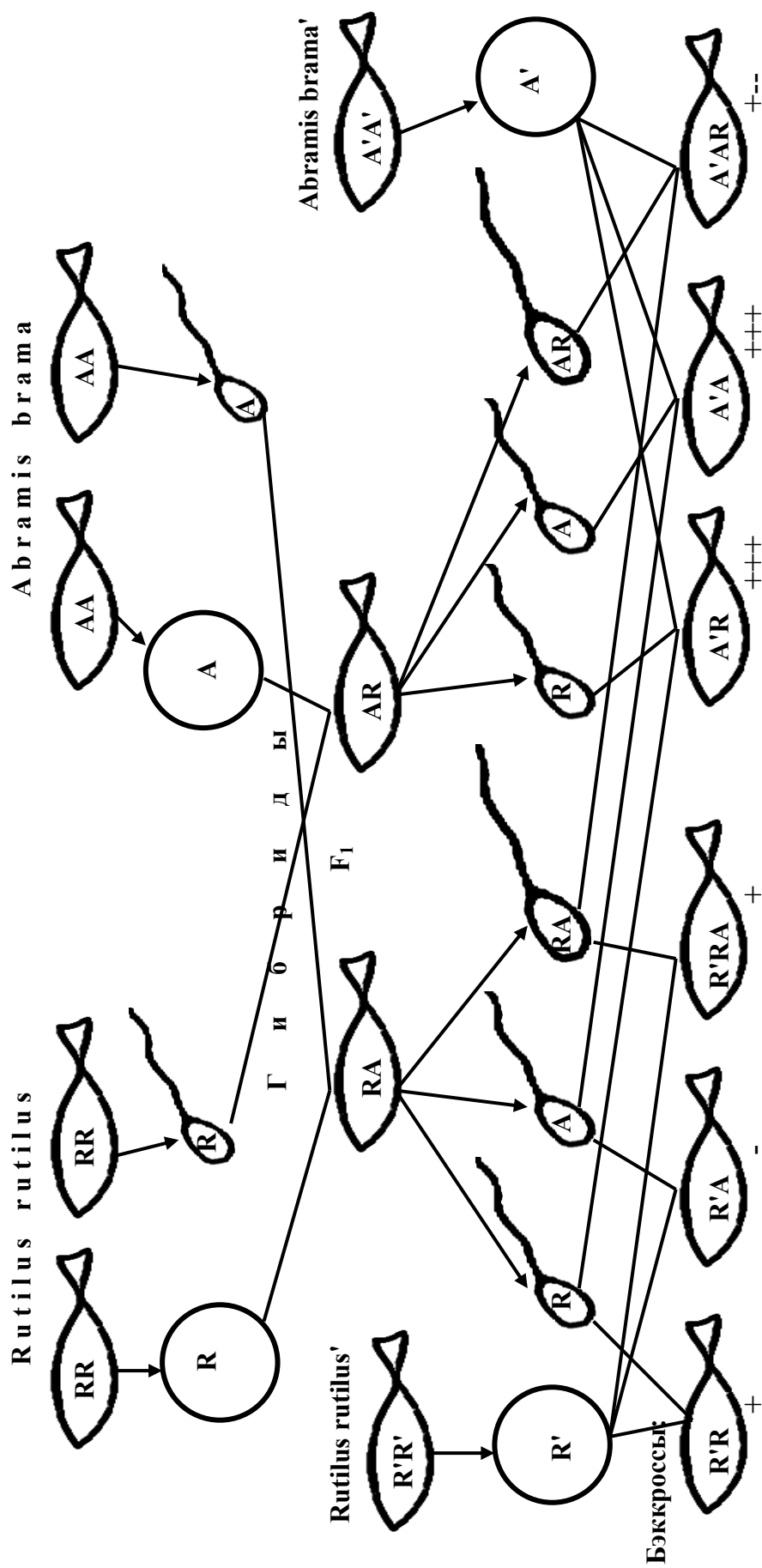
$$AA \times AR (RA) = AA + AR + AAR,$$

где R, A – гаплоидные геномы соответственно плотвы и леща.

В наших экспериментах классы RR и AA составляют дискретную фенотипическую группу диплоидных особей и представляют собой восстановленную плотву (RR) в генерациях ПхП-Л, 1996 г. и восстановленного леща (AA) в остальных генерациях BC комплекса "Плотва-Лещ". Классы RA, AR составляют дискретную диплоидную группу и представляют собой восстановленных гибридов первого поколения. Классы RRA и AAR составляют дискретную триплоидную группу и представляют особей, промежуточных между гибридом и соответствующим родительским видом.

Следует заметить, что в некоторых начальных экспериментах с гибридами рыб указывалось, что, например, при реципрокных возвратных скрещиваниях гибридов карпо-карасей с карасем и карпом до половины и более потомства составляли соответственно чистые караси или чистые карпы, а остальные экземпляры имели частично вид гибридов первого поколения, а частично занимали промежуточное положение между гибридом первого поколения и соответствующим родительским видом.

При внутригибридном скрещивании в потомстве были представлены и чистые караси, и чистые карпы, и карпо-караси [Knauth, 1893]. К сожалению, результаты этих экспериментов представлены в сжатом виде без изложения морфологических описаний. Аналогичные результаты К. Кнауте представлял и по гибридам уклей и верховки [Knauth, 1893, 1895]. Помимо того, что эти данные могут, с известной долей осторожности, приниматься в качестве подтверждения общего характера выявленного нами эффекта, они свидетельствуют, в совокупности со сведениями о неоднократно отмеченном полиморфизме гамет самок гибридов, что предлагаемая нами схема присуща не только самцам гибридов, но и самкам. В экспериментах комплекса скрещиваний "Плотва-Синец" результат был не столь отчетливый – реально было получено всего три фенотипических класса (RR, RRA и AAR), а доля триплоидов во всех трех вариантах скрещиваний составляла не менее 50%.



**Рис. 6.** Результаты анализирующих скрещиваний гибридов плотвы и леща и схема взаимодействия их геномов. R – гаплоидный геном плотвы, A – гаплоидный геном леща; "+", "++", "+++" – обнаруженные и "-" – отсутствующие биотипы по каждому варианту скрещивания.

**Fig. 6.** The results of test crossing at hybrids of roach and blue bream and the scheme of their genomes' interaction. R – haploid genome of roach, B – haploid genome bream; "+", "++", "+++" – found and "-" – missing biotypes of each crossbreeding.

Значительное же усиление асимметрии по представленности и объему фенотипических классов, вероятно, может диктоваться двумя обстоятельствами: 1. гибриды плотвы и синца, в отличие от гибридов плотвы и леща, относятся к категории искусственных, никогда не возникающих в природе, 2. плотва и синец более дистанционированы друг от друга в филогенетическом отношении, чем плотва и лещ, вследствие чего их геномы имеют более высокий уровень негомологии, чем геномы плотвы и леща. Возможно, что при нарастании негомологичности геномов они все в меньшей степени оказываются способными нормально воспроизвести весь механизм мейоза. Это нарушение, прежде всего, будет сказываться на процессах редукции числа хромосом после удвоения, что и приводит к возрастанию доли диплоидных гамет, а соответственно к возрастанию доли триплоидов в потомстве. То, что геном плотвы тем не менее демонстрирует способность к независимому прохождению мейоза и воспроизводству в виде гаплоидных гамет, может свидетельствовать, по нашему мнению, о другой стороне рассматриваемого процесса, определяемой самой спецификой данного вида. Плотва, будучи видом, чье эволюционное развитие происходило, по-видимому, в поле перманентной гибридизации с большим количеством разных видов, вполне могла приобрести ряд свойств, в том числе структурного характера, защищающего целостность генома от повреждающих воздействий при взаимодействии с негомологичными геномами, что и может обуславливать обнаруживаемую в наших экспериментах с синцом способность генома плотвы воспроизводиться в гаплоидном виде. Основное наше предположение сводится к тому, что именно совместное действие этих механизмов и проявление имеющихся свойств приводит к тому, что в гаметогенезе гибридов плотвы и синца преимущественно воспроизводятся нередуцированный диплоидный набор гибрида и гаплоидный набор плотвы. Гаплоидный набор синца, по-видимому, воспроизводится в значительно меньшем количестве гамет, о чем свидетельствуют соотносительные доли размерных классов ядер сперматозоидов плотвы и синца в гаметном пуле гибридов – сперматозоидов размерного класса плотвы в два-три раза больше, чем сперматозоидов размерного класса синца, тогда как, к примеру, в гаметном пуле гибридов плотвы и леща, встречаемость сперматозоидов размерных классов плотвы и леща приблизительно одинакова, иногда у леща даже выше. Вероятно, что по этим же причинам и доля анеуплоидных, несбалансированных гамет у гибридов плотвы и синца гораздо выше. Тем не менее, и в комплексе скрещиваний "Плотва-Синец" мы видим отсутствие преимущественной элиминации отцов-

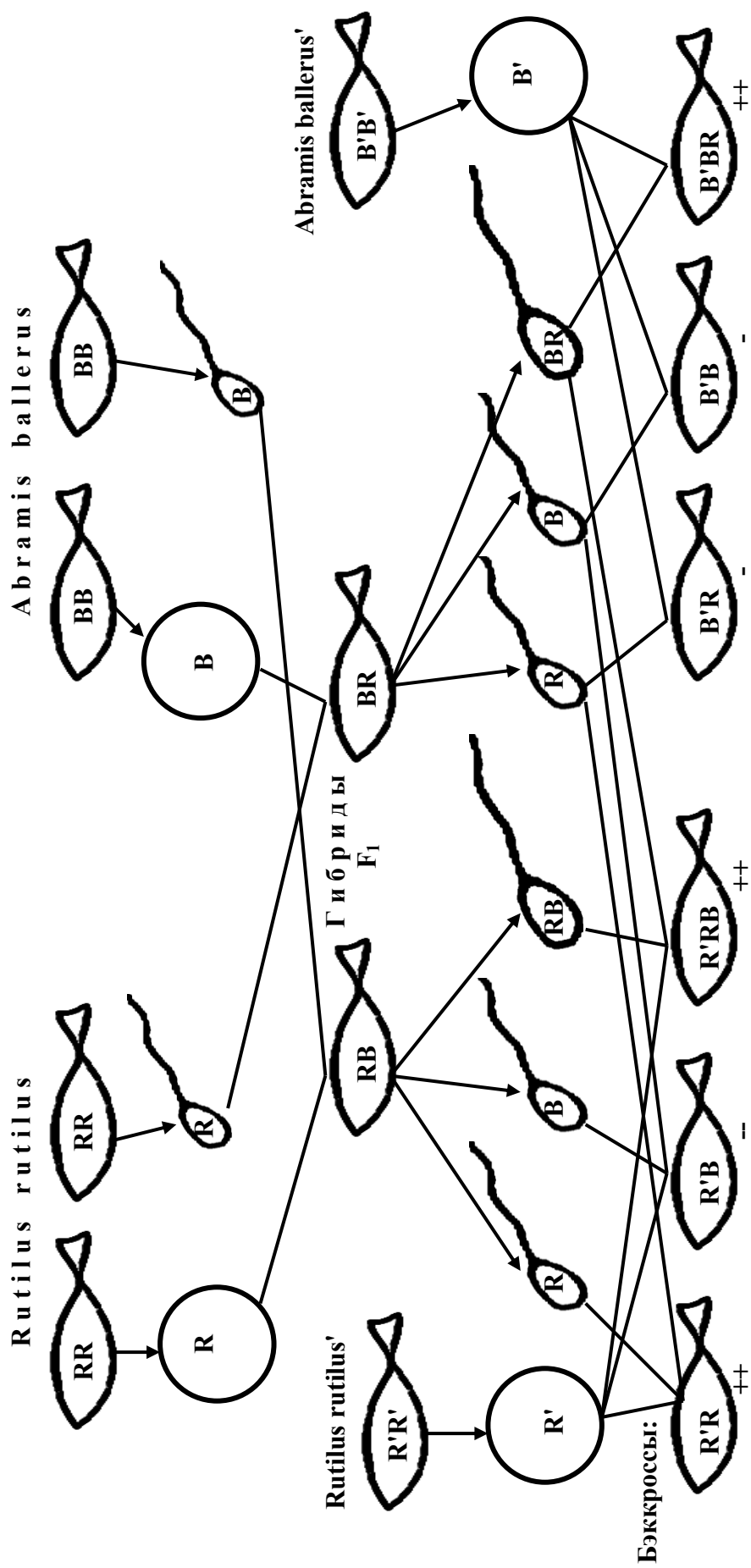
ского по происхождению генома, т.к. и в потомстве ПхП-С и в потомстве ПхС-П восстанавливаются генотипы и фенотипы плотвы (RR). Поэтому предложенная для комплекса "Плотва-Лещ" формула комбинирования полных геномов справедлива и по отношению к комплексу скрещиваний "Плотва-Синец" (рис. 7). Что особенно важно, принципиальная согласованность по основным позициям (отсутствие менделевской рекомбинации, клональность наследования и отсутствие преимущественной элиминации отцовского по происхождению генома) характера размножения, как естественно, так и искусственно гибридизирующих видов служит серьезным основанием для суждений, с одной стороны, о типичности этого механизма, во всяком случае применительно к гибридам ельцовым, а, с другой, о том, что данный механизм является непосредственным отражением степени гомологичности геномов скрещиваемых видов.

Таким образом, именно комбинаторика гаплотипов является прямым результатом гетероспермии гибридных самцов: гигантские сперматозоиды содержат нередуцированный диплоидный набор хромосом гибрида, а два выявляемых размерных класса мелких гамет содержат гаплоидные наборы родительских видов.

Возвратные скрещивания самцов гибридов первого поколения с самками родительских видов характеризуются двумя уникальными и принципиальными особенностями: 1. Полным восстановлением фенотипов и генотипов родительских видов и гибридов первого поколения. 2. Появлением двух дискретных классов триплоидных особей, фенотипически промежуточных между соответствующим родительским видом и гибридом первого поколения.

Возвратные скрещивания самцов гибридов первого поколения с самками родительских видов характеризуются двумя уникальными и принципиальными особенностями: 1. Полным восстановлением фенотипов и генотипов родительских видов и гибридов первого поколения. 2. Появлением двух дискретных классов триплоидных особей, фенотипически промежуточных между соответствующим родительским видом и гибридом первого поколения.

Ни один из известных способов полового или однополого размножения не может дать подобного результата. Он становится возможным, как свидетельствуют представленные данные, только в случае полного отсутствия менделевской рекомбинации, реализации клонального характера наследования обоих родительских геномов с сохранением, однако, таких признаков полового размножения, как синкария и способности к воспроизводству значительного количества гаплоидных гамет.



**Рис. 7.** Результаты анализирующих скрещиваний гибридов плотвы и синца и схема взаимодействия их геномов. R – гаплоидный геном плотвы, B – гаплоидный геном синца; "+" – обнаруженные и "-" – отсутствующие биотипы по каждому скрещиванию.

**Fig. 7.** The results of test crossing at hybrids of roach and blue bream and the scheme of their genomes' interaction. R – haploid genome of roach, B – haploid genome blue bream; "+" – found and "-" – missing biotypes of each crossbreeding.



В случае триплоидов – наследование также клональное, и также сохраняется синкария, но диплоидный хромосомный набор гибрида нередуцируется. Полиплоидия при размножении гибридов достаточно обычна, однако считается, что она может быть достигнута только путем диплоидизации яйцеклеток у самок гибридов и оплодотворения ее гаплоидным сперматозоидом самца родительского вида [White, 1973]. Клональное же наследование гаплоидного набора, как мы уже упоминали выше, возможно только при однополном размножении самок, в случае элиминации отцовского по происхождению гаплотипа [Cimino, 1972; Schultz, 1977; Vrijenhoek, 1984]. Так, уже в первом поколении у части потомков от межвидовой гибридизации леща и плотвы наблюдается полная элиминация одного из родительских ITS1 фрагментов. Подобный феномен полной элиминации одного из родительских вариантов ITS1 ранее не был обнаружен ни у растительных, ни у животных межвидовых гибридов. Как правило, формирование гибридного генома при отдаленных скрещиваниях сопровождается целым комплексом неортодоксальных генетических и эпигенетических изменений, влияющих не только на уровень генетического разнообразия, но и на генную экспрессию, рекомбинации и т.п. [Adams, 2007; Pikaard, 2003; Челомина и др., 2008 (Chelomina et al., 2008)]. В нашем случае это тем более актуально, поскольку рассматриваемый кластер рибосомных генов, и в частности ITS1 фрагмент, непосредственным образом связан с процессами инициации сплайсинга и формирования зрелой ядерной ДНК образованного гибрида. Существенным подтверждением того, что мы наблюдаем процесс согласования работы геномов, служит тот факт, что до завершения бластулы у всех гибридов присутствуют оба родительских ITS1 фрагмента. Полная элиминация одного из родительских вариантов ITS1 наблюдается, только начиная со стадии гастролы. По этой причине, большинство эпигенетических механизмов репрессивного из родительских геномов, и прежде всего в результате мимикрирующего действия минигенов и белков, содержащихся в ооците маловероятны. Известно, что именно на этапе бластуляции происходит включение собственного ядерного генома зародыша и запуск морфогенеза [Корочкин, 2002 (Korochkin, 2002)]. Именно поэтому наблюдаемые эффекты по устранению одного из родительских ITS1 вариантов, вероятней всего являются результатом необходимой гомогенизации структуры гомеологичных пар высоко видоспецифичных

генов рДНК при согласовании работы разнообразных геномов. Такая гомогенизация может обуславливаться несколькими альтернативными процессами [Сингер, Берг, 1998 (Singer, Berg, 1998)]. Во-первых, неравный кроссинговер, который обеспечил бы гомогенизацию генов рДНК по крайней мере в нескольких геномах. Во-вторых, новые делеции в генах, происходящие вслед за амплификациями. В-третьих, генная конверсия. Мы также не исключаем полностью и возможного эпигенетического механизма устранения одного из родительских рДНК в результате метилирования и гистоновое деацетилирование фрагмента, допускаявшегося в ряде случаев для гибридов растений [Pikaard, 2003]. Впервые обнаруженный феномен полной элиминации одного из родительских вариантов ITS1 фрагмента уже в первом поколении межвидовых гибридов леща и плотвы, несомненно, является следствием согласования работы контаминированных чужеродных геномов на этапе инициации ядерного генома гибридного зародыша.

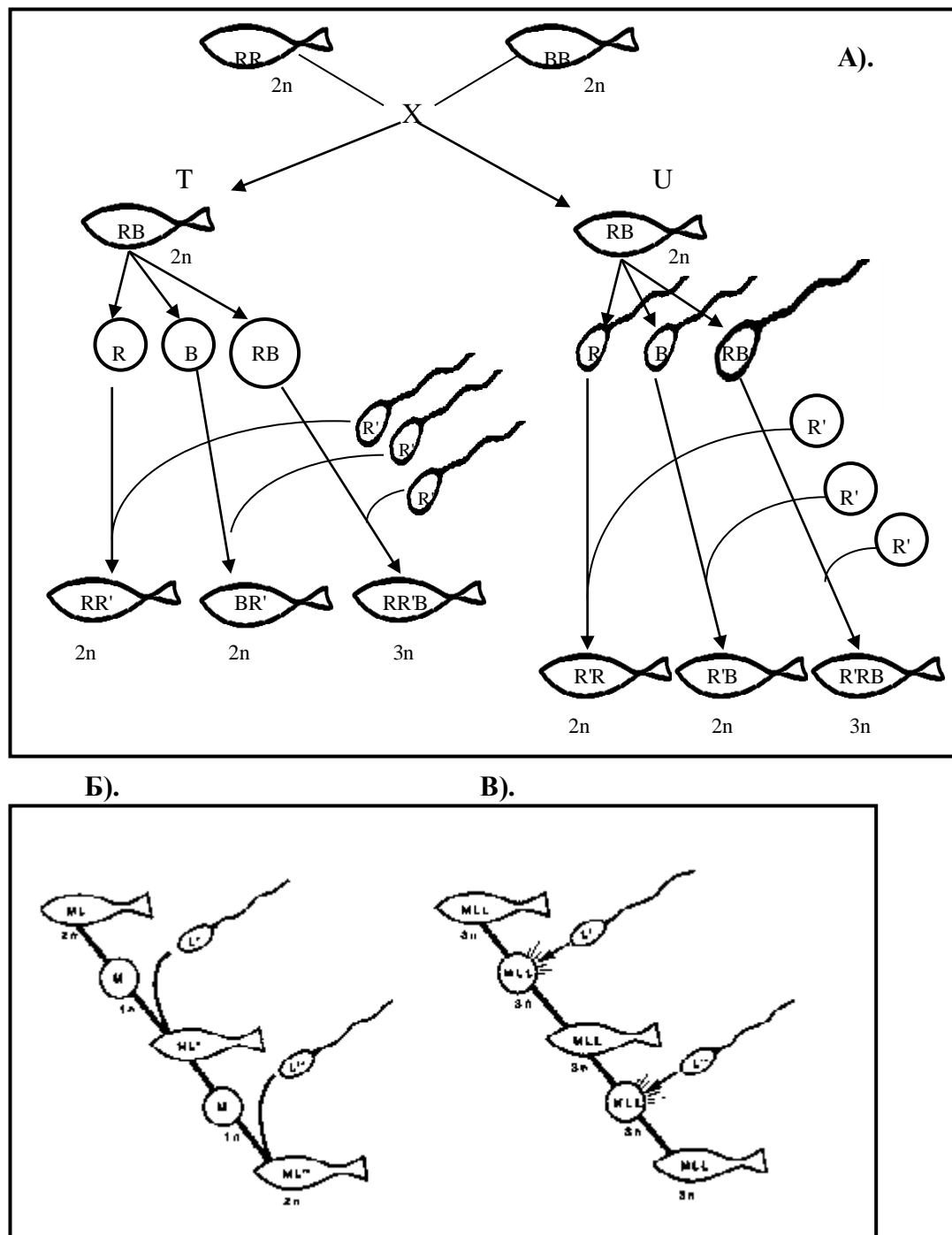
Система размножения, сочетающая основные признаки полового размножения и апомиксиса может быть выделена в особый, промежуточный тип размножения, названный нами "проапомиксисом" (рис. 8).

Способ размножения, в виде которого реализуется данная система размножения, мы предлагаем называть, учитывая справедливую терминологическую коррективу Л.Я. Боркина и И.С. Даревского, [Боркин, Даревский, 1980 (Borkin, Darevskij, 1980)] – эукредитогенезом. Отличие от предложенного ими термина "кредитогенез", как более правильного наименования гибридогенеза, заключается в требовании обязательного возвращения кредита. При кредитогенезе, во всяком случае у *Poeciliopsis*, возврату подлежит только одолженный гибриду геном *monasha*, а геном *lucida* одалживается без возврата. Налицо отчетливый "сексуальный паразитизм" в отношении бисексуального вида *P. lucida* [Schultz, 1971]. У *Rana esculenta* уже прослеживаются элементы возвращения обоих геномов.

В нашем же случае геномы не только обязательно возвращаются, но и как будет указано ниже, возвращаются с "процентами". Что и дает нам основания обозначать этот способ размножения, как "настоящий кредитогенез". Из всех известных до сих пор способов апомиктического размножения у позвоночных в наибольшей степени сходен с обнаруженным у гибридов плотвы, леща и синца – кредитогенез (гибридогенез) *Rana esculenta*. При обоих способах имеет место полиморфизм гамет, спо-

способность к размножению обоих полов гибрида и поликлональность. Однако система размножения гибридов, возникших в результате случайной гибридизации, отличается от систем регулярного апомиксиса любых однополых форм отсутствием специализированных цитогенетических механизмов клонирования. Все

единичные акты мейоза у всех однополых форм жестко унифицированы. Любая особь способна клонировать только материнский геном одного типа – диплоидный или триплоидный в случае гиногенеза, гаплоидный – в случае гибридогенеза.



**Рис. 8.** Принципиальная схема проапомиксиса (А) в сравнении со схемами гибридогенеза (Б) и гиногенеза (В). Схемы гибридо- и гиногенеза приведены из: [Vrijenhoek, 1984].

**Fig. 8.** Schematic diagram of proapomixis (A) compared with the patterns of hybridogenesis (B) and gynogenesis (B). Hybrid- and gynogenesis schemes are given from: [Vrijenhoek, 1984].

Даже у *Rana esculenta* наблюдаются вполне отчетливые признаки специализации:

имеются однополо-женские популяции, а клонирование в норме обеспечивается элимина-

цией отцовского генома. Более того, сама *R. esculenta* представляет собой стабилизированную гибридную форму, чье возникновение связывается с событиями последнего ледникового периода [Боркин, Даревский, 1980 (Borkin, Darevskij, 1980); Lada et al., 1995)]. Это дает основания говорить, что эукредитогенез случайных гибридов является наиболее примитивной, неспециализированной формой апомиксиса. Система размножения зеленой лягушки выступает в качестве эволюционной переходной формы от проапомиксиса к системе регулярного апомиксиса.

Интрогрессия, возникающая при половом размножении, и однополое размножение обычно рассматриваются, как два противоположные результата гибридизации. Интрогрессия всегда влияет на приспособленность взаимодействующих видов. Инкорпорация генов одного вида в генофонд другого, с одной стороны, повышает адаптивные возможности вида, а с другой может привести к появлению несбалансированных генотипов, устраняемых отбором. Однополое размножение исключает интрогрессию и всякую возможность воздействия гибрида на генетическую структуру взаимодействующих популяций родительских видов. Однако, в случае облигатного партеногенеза гибрид выступает в роли конкурента родительских видов, обладающего двойным преимуществом в скорости размножения и более высоким адаптивным потенциалом [Смит, 1981 (Smith, 1981); Williams, 1975]. В случае гиногенеза и гибридогенеза, как это имеет место у рыб, это двойное преимущество достигается за счет снижения репродуктивного потенциала родительских видов и гибрид выступает по отношению к ним в роли сексуального паразита [Vrijenhoek, 1984]. В случае эукредитогенеза гибридов плотвы и леща, гибрид участвует в воспроизводстве обоих родительских видов. При этом, обеспечивается надежная изоляция генофондов этих видов. Однако появляются два фактора, которые могут значительно и быстро повысить приспособленность взаимодействующих популяций родительских видов. Вспышки массовой гибридизации, как правило, наблюдаются при резком изменении экологических условий местобитаний. Гибриды, обладающие повышенной приспособленностью в нарушенных местообитаниях, способствуют тем самым сохранению конкретных геномов обоих родительских видов. Тиражирование родительских геномов при размножении гибрида создает возможность группового

отбора не по отдельным группам сцепления или генным ассоциациям, что резко повышает приспособленность видов, пребывающих в экстремальных условиях. Явление гаметической интеграции широко распространено в популяциях бисексуальных видов и явно выступает в качестве одного из наиболее значимых факторов формирования и поддержания высоких уровней приспособленности [Левонтин, 1978 (Levontin, 1978); Животовский, 1984 (Zhivotovskij, 1984)]. Более того, согласно предположению Р. Левонтина [Левонтин, 1978 (Levontin, 1978)], наиболее эффективно адаптационное и, возможно, эволюционное значение гаметическая интеграция будет приобретать в том случае, если в состав генной ассоциации вовлекался бы весь гаплоидный геном. Поскольку при бисексуальном апомиксисе гаплотипы клонируются и возвращаются родительским видам, то вполне вероятным будет допущение, что естественная отдаленная гибридизация является одним из основных механизмов процесса гаметической интеграции. Возможно, что способность к отдаленной гибридизации может поддерживаться неограниченно длительное время именно, как эволюционно важный фактор гаметической интеграции.

Также было установлено, что в результате отдаленной гибридизации происходит интрогрессия чужеродной мтДНК в геном другого вида, что в свою очередь может рассматриваться в качестве причины парафилии, обнаруженной у 23% животных при анализе 2319 филогенетических деревьев отдельных видов [Funk, Omland, 2003; Hayden et al., 2014]. Предполагается, что сочетание в гибридном геноме мтДНК одного вида и ядерной ДНК другого может корректировать коадаптацию ядерных геномов скрещивающихся видов и сообщать эволюции последнего дополнительную направленность. Исследования комбинаторики на уровне морфотипов у бэккроссов леща и плотвы позволили установить, что формируются три дискретные группы потомства: особи с морфотипом гибридов первого поколения, особи с признаками одного из родительских видов и особи с промежуточными значениями морфологических признаков [Яковлев и др., 2000 (Yakovlev et al., 2000); Wood, Jordan, 1987; Pitts et al., 1997; Hayden et al., 2010]. Как правило, доля морфологически идентичных одному из родительских видов возрастала, если гибрид по матери был представлен тем видом, с которым производилось возвратное скрещивание.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проапомиксис, как система размножения гибридов плотвы, леща и синца, несомненно, представляет собой наиболее примитивную, наиболее генерализованную и наиболее эволюционно эквипотентную форму апомиксиса у позвоночных животных. Потомки возвратного скрещивания гибридов полностью воспроизводят генетическую структуру агамных комплексов (оба родительских вида, диплоидные гибриды и две триплоидные формы), а потомки межгибридного скрещивания будут иметь ту же структуру с добавлением еще тетраплоидной формы. Теоретически, каждая из этих гибридных форм может приобрести независимое существование путем перехода к однополному размножению (гибридогенез и гиногенез). Вероятно, такой переход к гибридогенезу мы наблюдаем в случае крестогенеза *Rana esculenta*. Тетраплоиды же могут дать начало тетраплоидным бисексуальным видам, минуя стадию однополости. Однако, судя по всему, все эти возможности чрезвычайно редко оказываются востребованными эволюцией. Среди европей-

ских и североамериканских ельцовых нет ни одного полиплоидного вида. Что же касается однополых форм в этой группе, то они, как правило, оказываются эфемерными и эволюционно бесперспективными, как это и предполагается классической теорией. По нашему мнению, и однополость и полиплоидность являются только эпифеноменом вышеописанной системы апомиктического размножения гибридов. Последняя представляет взаимодействующим видам те же адаптивные преимущества, что и факкультативный апомиксис растений и беспозвоночных. Система размножения гибридов плотвы и леща, типичных и массовых представителей ельцовых рыб, как нам представляется, является обычной для всей этой группы и вероятно будет обнаружена при более тщательном изучении естественной гибридизации "от случая к случаю" у других рыб и тетрапод. Правомочность этого предположения значительно подкрепляется аналогичной системой размножения лабораторных гибридов плотвы и синца.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем глубокую благодарность нашему учителю и наставнику Владимиру Николаевичу Яковлеву, а также всем сотрудникам лаборатории эволюционной экологии ИБВВ РАН, помогавших все эти годы накапливать и содержать уникальный материал по гибридам рыб.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арефьев В.А., Лисовенко Л.А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов. М.: Изд-во ВНИРО, 1995. 407 с.
- Беннетт М.Д. Нуклеотипическая основа пространственной упорядоченности хромосом эукариот и ее значение для эволюции генома и фенотипической изменчивости // Эволюция генома, М.: Мир, 1986. С. 234–256.
- Бергер Л. Является ли прудовая лягушка *Rana esculenta* L. обыкновенным гибридом? М.: Экология, 1976. Т. 2. С. 37–43.
- Богущая Н.Г. К вопросу о положении линия *Tinca tinca* (L.) в системе карповых рыб (Cyprinidae) // Труды Зоол. ин-та АН СССР. 1986. № 154. С. 49–65.
- Боркин Л.Я., Тихенко Н.Д. Некоторые аспекты морфологической изменчивости, полиморфизма окраски, роста, структуры популяции и суточной активности *Rana lessonae* на северной границе ареала // Труды Зоол. ин-та АН СССР. 1979. № 89. С. 18–54.
- Боркин Л.Я., Даревский И.С. Сетчатое (гибридогенное) видообразование у позвоночных // Журн. общ. биол. 1980. Т. XLI, № 4. С. 485–505.
- Виноградов А.Е., Розанов Ю.М., Цауне И.А., Боркин Л.Я. Элиминация генома одного из родителей до премейотического синтеза ДНК у гибридогенного вида *Rana esculenta* // Цитология. 1988. Т. 30, № 6. С. 691–698.
- Животовский Л.А. Интеграция полигенных систем в популяциях. М.: Наука, 1984. 183 с.
- Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука, 1985. 400 с.
- Камптон Д.Э. Естественная гибридизация и интрогрессия у рыб. (Методы обнаружения и генетическая интерпретация) // Популяционная генетика и управление рыбным хозяйством. М.: Агропромиздат, 1991. С. 199–233.
- Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. 520 с.
- Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: Изд-во МГУ, 2002. 264 с.
- Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. 352 с.
- Ли Ч. Введение в популяционную генетику. М.: Мир, 1978. 555 с.
- Мазер К., Джинкс Дж. Биометрическая генетика. М.: Мир, 1985. 463 с.
- Малецкий С.И., Полякова Е.В. Генетика изоферментов растений // Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. С. 250–275.
- Николюкин Н.И. Межвидовая гибридизация рыб. Саратов: Саратовское областное государственное издательство, 1952. 312 с.
- Николюкин Н.И. Отдаленная гибридизация осетровых и костистых рыб. М.: Пищ. пром-ть, 1972. 335 с.

- Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. М.: Высшая школа, 1978. 448 с.
- Серов О.Л. Механизмы образования гибридных изоферментов как модель изучения взаимодействия генов // Генетика изоферментов. М.: Высшая школа, 1977. С. 187–198.
- Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир. 1998. С. 377–394.
- Слынько Ю.В. Распределение рыб в масштабе крупных географических областей // Экологические факторы пространственного распределения и перемещения гидробионтов. С.-Пб.: Гидрометеиздат, 1993. С. 259–279.
- Слынько Ю.В. Генетическая структура и состояние рыб Рыбинского водохранилища // Современное состояние рыбных запасов Рыбинского водохранилища. Ярославль: Изд-во ЯрТГУ, 1997. С. 153–177.
- Смит Дж.М. Эволюция полового размножения. М.: Мир, 1981. 271 с.
- Чадов Б.Ф. Поведение хромосом в митозе и мейозе и хромосомная организация ядра у *Drosophila melanogaster* // Молекулярные основы генетических процессов. М.: Наука, 1981. С. 463–474.
- Челомина Г.Н., Рожкован К.В., Рачек И.Е., Журавлев Ю.Н. Повышение генетического разнообразия 18S рДНК в F1 гибридах (*Acipenser schrenckii* x *A.baerii*, *A. schrenckii* x *Huso dauricus*) осетровых рыб // ДАН. 2008. Т. 421. С. 845–849.
- Черфас Н.Б. Гиногенез у рыб // Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. С. 309–335.
- Черфас Н.Б., Гомельский Б.И., Емельянова О.В., Рекубратский А.В. Триплоидия у возвратных гибридов серебряного карася с карпом // Генетика. 1981. Т. 17, № 6. С. 1136–1139.
- Черфас Н.Б., Емельянова О.В. Роль отдаленной гибридизации в возникновении однополо-женских комплексов у рыб (результаты исследований природных популяций и гибридизационных экспериментов) // Биология развития и управление наследственностью. М.: Наука, 1986. С. 82–105.
- Яковлев В.Н., Слынько Ю.В., Гречанов И.Г., Крысанов Е.Ю. Проблема отдаленной гибридизации у рыб // Вопросы ихтиологии. 2000. Т. 40, № 3. С. 312–326.
- Adams K.L. Evolution of duplicate gene expression in polyploid and hybrid plants // J. Heredity. 2007. Vol. 98. P. 136–141.
- Augros R., Stanciu G. 1987. Systematic differentiation. A new evolutionary synthesis // Biol. Forum. Vol. 80, № 4. P. 551–556.
- Berger L. 1977 Systematics and hybridization in the *Rana esculenta* complex // The reproductive biology of amphibians. N.-Y. – London: Plenum Press. P. 367–388.
- Berger L., Roguski H., Uzzell T. Triploid F<sub>2</sub> progeny of water frogs (*Rana esculenta* complex). Krakow: Folia Biol. 1978. Vol. 26, № 3. 135 p.
- Carroll S.B. 1995. Homeotic genes and the evolution of arthropoda and chordates // Nature. Vol. 376. P. 479–485.
- Cimino M.C. 1972. Egg-production, polyploidization and evolution in a diploid all-female fish of the genus *Poeciliopsis* // Evolution. Vol. 26. P. 294–306.
- Dawley R.M. 1989. An introduction to unisexual vertebrates. Evolution and ecology of unisexual vertebrates // Albany: New York State Museum Bulletin. Vol. 466. P. 1–18.
- Flajshans M., Linhart O., Kvasnicka P. 1995. Spontaneous triploidy in tench, *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) // Pol. Arch. Hydrob. Vol. 42, № 1/2. P. 147–148.
- Foutdevila A. 1987. The unstable genome: an evolutionary approach // Genet. Iber. Vol. 39, № 3/4. P. 315–343.
- Funk D. J., Omland K. E. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA // Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics. Vol. 34. P. 397–423.
- Goddard K.A., Megwinoff O., Wessner L.L., Giaimo. 1998. Confirmation of gynogenesis in *Phoxinus eos-neogaeus* (Pisces: Cyprinidae) // J. Hered. Vol. 89. P. 151–157.
- Guerrini F., Bucci S., Ragghianti M., Mancino G., Hotz H., Uzzell T., Berger L. 1997. Genomes of two water frog species resist germ line exclusion in interspecies hybrids // J. Exp. Zool. Vol. 279, № 2. P. 163–176.
- Gunter R. 1975. Untersuchungen der meiose bei manchen von *Rana ridibunda* Pall., *Rana lessonae* Cam. und der bastardform "*Rana esculenta*" L. // Biologisches Zentralblatt. Vol. 94, № 3. P. 277–294.
- Hayden B., Pulcini D., Kelly-Quinn M., CTGrady M. et al. 2010. Hybridisation between two cyprinid fishes in a novel habitat: genetics, morphology and life-history traits // Evolutionary Biology. Vol. 10. P. 169–180.
- Hayden B., Harrod C., Kahilainen K.K. 2014. Lake morphometry and resource polymorphism determine niche segregation between cool –and cold–water–adapted fish // Ecology. 95. P. 538–552.
- Knauth K. 1893. Über einer neuen fortpflanzungsfähigen Cypriniden aus Mittelschlesien *Alburnus leydigii mibi* sp.n. // Zool. Anz. 16. P. 448–450.
- Knauth K. Ichthyologische Mitteilungen 1895 // Zool. Garten Frankfurt a M. 33, Jahrg. 7. 221 p.
- Lada G.A., Borkin L.J., Vinogradov A.E. 1995. Distribution, population systems and reproductive behavior of green frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the central chernozem territory of Russia // Russ. J. Herpetol. Vol. 2. № 1. P. 46–57.
- Moore W.S. 1984. Evolutionary ecology of unisexual fishes // Evolutionary genetics of fishes. N.Y.–London: Plenum Press, P. 329–398.
- Morizot D.C., Siciliano M.J. 1984. Gene mapping in fishes and other vertebrates // Evolutionary genetics of fishes. N.Y.–London: Plenum Press, P. 173–234.
- Ojima J., Hayashi M., Ucho K. 1975. Triploidy appeared in the back-cross offspring from funa-carp crossing // Proc. Japan. Acad. Vol. 51, № 8. P. 702–711.

- Petit C., Bretagnolle F., Felber F. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species // Elsevier Science. Vol. 14, № 8. P. 306–311.
- Pikaard C.S., Grummt I. 2003. Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription // Nature Reviews Molecular Cell Biology. Vol. 4 (8). P. 641–649
- Pitts C.S., Jordan D.R., Cowx I.G., Jones N.V. 1997. Controlled breeding studies to verify the identity of roach and common bream hybrids from a natural population // Journal of Fish Biology. Vol. 51. P. 686–696.
- Potts B.M., Reid J.B. 1988. Hybridization as a dispersal mechanism // Evolution (USA). Vol. 42, № 6. P. 1245–1255.
- Robles F., de la Herra'n R, Ludwig A., Ruiz-Rejo'n C., Ruiz-Rejo'n M, Garrido-Ramos M. 2005. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon // Genome. Vol. 48, № 1. P. 18–28.
- Skalska K., Lim K.Y., Matyasek R., Koukalova B., Leitch F.R., Kovarik A. 2003. Rapid evolution of parental rDNA in a synthetic tobacco allotetraploid line // American Journal of Botany. Vol. 90, № 7 P. 988–996.
- Schultz R.J. 1971. Special adaptive problems associated with unisexual fish // Amer. Zool. 11. P. 351–360.
- Schultz R.J. 1977. Evolution and ecology of unisexual fishes // Evolutionary Biology. N.Y.: Plenum Press. Vol. 10. P. 277–331.
- Tunner H.G. 1974. Die klonale structure einer Wasserfroschpopulation // Z. Zool. Syst. and Evolutionsforsch. Vol. 12, № 4. P. 308–314.
- Uzzell T.M. 1970. Meiotic mechanisms of naturally occurring unisexual vertebrates // Amer. Natur. 104. P. 433–445.
- Vrijenhoek R.C. 1979. Factors affecting clonal diversity and coexistence. // Amer. Zool. Vol. 19, № 3. P. 787–797.
- Vrijenhoek R.C. 1984. The evolution of clonal diversity in *Poeciliopsis* // Evolutionary genetics of fishes. N.Y. – London: Plenum Press. P. 399–430.
- Vrijenhoek R.C. 1994. Unisexual fish: Model systems for studying ecology and evolution // Annual Review of Ecology and Systematics. Vol. 25. P. 71–96.
- White M.J.D. 1973. Animal cytology and evolution. Cambridge: University Press. 961 p.
- Williams G.C. 1975. Sex and evolution. Princeton: Univ. Press. 201 p.
- Wood A.B., Jordan D.R. 1987. Fertility of roach x bream hybrids, *Rutilus rutilus* (L.) x *Abramis brama* (L.) and their identification // J. Fish Biol. № 30. P. 249–261.
- Zardoya R., Abouheif E., Meyer A. 1996. Evolutionary analyses of hedgehog and Hoxd-10 genes in fish species closely related to the zebrafish // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. № 93. P. 1036–1041.

## REFERENCES

- Adams K.L. Evolution of duplicate gene expression in polyploid and hybrid plants // J. Heredity. 2007. Vol. 98. P. 136–141.
- Aref'ev V.A., Lisovenko L.A. 1995. Anglo-russkij tolkovyj slovar' geneticheskikh terminov [English-Russian explanatory dictionary of genetic terms]. M.: Izd-vo VNIRO. 407 s. [In Russian]
- Augros R., Stanciu G. 1987. Systematic differentiation. A new evolutionary synthesis // Biol. Forum. Vol. 80, № 4. P. 551–556.
- Bennett M.D. 1986. Nukleotipicheskaya osnova prostranstvennoj uporyadochennosti khromosom ehukariot i ee znachenie dlya ehvolyutsii genoma i fenotipicheskoy izmenchivosti [Evolyutsiya genoma Nucleotypic basis of spatial orderliness of eukaryote chromosomes and its value for evolution of a genome and phenotypical variability // Evolution of a genome]. M.: Mir. S. 234–256. [In Russian]
- Berger L. 1976. Yavlyaetsya li prudovaya lyagushka *Rana esculenta* L. obyknovennym gibridom? [Whether the pond frog of *Rana esculenta* L. is an ordinary hybrid?] [In Russian]
- Berger L. 1977 Systematics and hybridization in the *Rana esculenta* complex // The reproductive biology of amphibians. N.-Y. – London: Plenum Press. P. 367–388.
- Berger L., Roguski H., Uzzell T. Triploid F<sub>2</sub> progeny of water frogs (*Rana esculenta* complex). Krakow: Folia Biol. 1978. Vol. 26. № 3. 135 p.
- Bogutskaya N.G. 1986. K voprosu o polozhenii linya *Tinca tinca* (L.) v sisteme karpovykh ryb (Cyprinidae) [To a question of position of a tench of *Tinca tinca* (L.) in Cyprinidae] // Trudy Zool. In-ta AN SSSR. № 154. S. 49–65. [In Russian]
- Borkin L.Y., Darevskij I.S. 1980. Setchatoe (gibridogennoe) vidoobrazovanie u pozvonochnykh [Network (hybridgene) speciation at vertebrata] // Zhurn. obshh. biol. T. XLI. № 4. S. 485–505. [In Russian]
- Borkin L.Y., Tikhenko N.D. 1979. Nekotorye aspekty morfologicheskoy izmenchivosti, polimorfizma okraski, rosta, struktury populyatsii i sutochnoj aktivnosti *Rana lessonae* na severnoj granitse areala [Some aspects of morphological variability, polymorphism of coloring, body height, structure of population and daily activity of *Rana lessonae* on northern border of an area] // Trudy Zool. In-ta AN SSSR. № 89. S. 18–54. [In Russian]
- Carroll S.B. 1995. Homeotic genes and the evolution of arthropoda and chordates // Nature. Vol. 376. P. 479–485.
- Chadov B.F. 1981. Povedenie khromosom v mitoze i mejoze i khromotsentral'naya organizatsiya yadra u *Drosophila melanogaster* // Molekulyarnye osnovy geneticheskikh protsessov [Behavior of chromosomes in a mitosis and meiosis and the chromocentral organization of a core at *Drosophila melanogaster* // Molecular bases of genetic processes]. M.: Nauka. S. 463–474. [In Russian]
- Chelomina G.N., Rozhkovan K.V., Rachek I.E., Zhuravlev Yu.N. 2008. Povyshenie geneticheskogo raznoobraziya 18S pDNK v F1 gibridakh (*Acipenser schrenckii* x *A.baerii*, *A. schrenckii* x *Huso dauricus*) osetrovyykh ryb [Increase in a

- genetic variety 18S RDNK in F1 hybrids (*Acipenser schrenckii* x *A. baerii*, *A. schrenckii* x *Huso dauricus*) of sturgeon fishes] // DAN. T. 421. C. 845–849. [In Russian]
- Cherfas N.B. 1987. Ginogenez u ryb // Kirpichnikov V.S. Genetika i selektsiya ryb [Ginogenez at fishes // Kirpichnikov V. S. Genetics and selection of fishes]. L.: Nauka. 7. S. 309–335. [In Russian]
- Cherfas N.B., Emel'yanova O.V. 1986. Rol' otдалennoj gibrizatsii v vozniknovenii odnopolozhnykh kompleksov u ryb (rezul'taty issledovaniy prirodnykh populyatsiy i gibrizatsionnykh ehksperimentov) // Biologiya razvitiya i upravlenie nasledstvennost'yu [Role of the remote hybridization in emergence of same-sex and female complexes at fishes (results of researches of natural populations and the gibrizatsionnykh of experiments) // Biology of development and management of heredity]. M.: Nauka. S. 82–105. [In Russian]
- Cherfas N.B., Gomel'skiy B.I., Emel'yanova O.V., Rekubratskiy A.V. 1981. Triploidiya u vozvratnykh gibrizatsionnykh serebryanogo karasya s karpom [Triploidiya at returnable hybrids of a silver crucian with a carp] // Genetika. T. 17. № 6. S. 1136–1139. [In Russian]
- Cimino M.C. 1972. Egg-production, polyploidization and evolution in a diploid all-female fish of the genus *Poeciliopsis* // Evolution. Vol. 26. P. 294–306.
- Dawley R.M. 1989. An introduction to unisexual vertebrates. Evolution and ecology of unisexual vertebrates // Albany: New York State Museum Bulletin. Vol. 466. P. 1–18.
- Flajshans M., Linhart O., Kvasnicka P. 1995. Spontaneous triploidy in tench, *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) // Pol. Arch. Hydrob. Vol. 42, № 1/2. P. 147–148.
- Foutdevila A. 1987. The unstable genome: an evolutionary approach // Genet. Iber. Vol. 39, № 3/4. P. 315–343.
- Funk D. J., Omland K. E. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA // Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics. Vol. 34. P. 397–423.
- Goddard K.A., Megwinoff O., Wessner L.L., Giaimo. 1998. Confirmation of gynogenesis in *Phoxinus eos-neogaeus* (Pisces: Cyprinidae) // J. Hered. Vol. 89. P. 151–157.
- Guerrini F., Bucci S., Ragghianti M., Mancino G., Hotz H., Uzzell T., Berger L. 1997. Genomes of two water frog species resist germ line exclusion in interspecies hybrids // J. Exp. Zool. Vol. 279, № 2. P. 163–176.
- Gunter R. 1975. Untersuchungen der meiose bei manchen von *Rana ridibunda* Pall., *Rana lessonae* Cam. und der bastardform "*Rana esculenta*" L. // Biologisches Zentralblatt. Vol. 94, № 3. P. 277–294.
- Hayden B., Harrod C., Kahilainen K.K. 2014. Lake morphometry and resource polymorphism determine niche segregation between cool –and cold–water–adapted fish // Ecology. 95. P. 538–552.
- Hayden B., Pulcini D., Kelly–Quinn M., CTGrady M. et al. 2010. Hybridisation between two cyprinid fishes in a novel habitat: genetics, morphology and life-history traits // Evolutionary Biology. Vol. 10. P. 169–180.
- Kampton D.E. 1991. Estestvennaya gibrizatsiya i introgressiya u ryb. (Metody obnaruzheniya i geneticheskaya interpretatsiya) [Natural hybridization and introgression at fishes. (Methods of detection and genetic interpretation) // Populational genetics and management of fishery // Populyatsionnaya genetika i upravlenie rybnym khozyajstvom]. M.: Agropromizdat. S. 199–233. [In Russian]
- Kirpichnikov V.S. 1987. Genetika i selektsiya ryb [Genetics and fish breeding]. L.: Nauka. 520 s. [In Russian]
- Knauth K. 1893. Über einer neuen fortpflanzungsfähigen Cypriniden aus Mittelschlesien *Alburnus leydigii mibi* sp.n. // Zool.Anz. 16. P. 448–450.
- Knauth K. Ichthyologische Mitteilungen 1895. // Zool. Garten Frankfurt a M. 33, Jahrg. 7. 221 p.
- Korochkin L.I. 2002. Biologiya individual'nogo razvitiya (geneticheskij aspekt) [Ontogeny biology (genetic aspect)]. M.: Izd-vo MGU. 264 s. [In Russian]
- Lada G.A., Borkin L.J., Vinogradov A.E. 1995. Distribution, population systems and reproductive behavior of green frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the central chernozem territory of Russia // Russ. J. Herpetol. Vol. 2, № 1. P. 46–57.
- Levontin R. 1978. Geneticheskie osnovy ehvolyutsii [Genetic bases of evolution]. M.: Mir. 352 s. [In Russian]
- Li Ch. 1978. Vvedenie v populyatsionnyuyu genetiku. [Introduction to population genetics]. M.: Mir. 555 s. [In Russian]
- Maletskij S.I., Polyakova E.V. 1977. Genetika izofermentov rastenij // Genetika izofermentov [Genetics of isoenzymes of plants // Genetics of isoenzymes]. M.: Nauka. S. 250–275. [In Russian]
- Mather K., Jinks J. 1985. Biometricheskaya genetika [Biometric genetics]. M.: Mir. 464 s. [In Russian]
- Moore W.S. 1984. Evolutionary ecology of unisexual fishes // Evolutionary genetics of fishes. N.Y.–London: Plenum Press. P. 329–398.
- Morizot D.C., Siciliano M.J. 1984. Gene mapping in fishes and other vertebrates // Evolutionary genetics of fishes. N.Y.–London: Plenum Press. P. 173–234.
- Nikolyukin N.I. 1952. Mezhdvidovaya gibrizatsiya ryb [Trans-species hybridization of fishes]. Saratov: Saratovskoe oblastnoe gosudarstvennoe izdatel'stvo. 312 s. [In Russian]
- Nikolyukin N.I. 1972. Otдалennaya gibrizatsiya osetrovykh i kostistykh ryb [Remote hybridization of sturgeon and bony fishes]. M.: Pish. promyshlennost. 335 s. [In Russian]
- Ojima J., Hayashi M., Ucho K. 1975. Triploidy appeared in the back-cross offspring from funa-carp crossing. // Proc. Japan. Acad. Vol. 51, № 8. P. 702–711.
- Petit C., Bretagnolle F., Felber F. 1999. Evolutionary consequences of diploid-polyploid hybrid zones in wild species. // Elsevier Science. Vol. 14, № 8. P. 306–311.
- Pikaard C.S., Grummt I. 2003. Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription // Nature Reviews Molecular Cell Biology. Vol. 4 (8). P. 641–649

- Pitts C. S., Jordan D. R., Cowx I. G., Jones N. V. 1997. Controlled breeding studies to verify the identity of roach and common bream hybrids from a natural population // *Journal of Fish Biology*. Vol. 51. P. 686–696.
- Potts B.M., Reid J.B. 1988. Hybridization as a dispersal mechanism // *Evolution (USA)*. Vol. 42, № 6. P. 1245–1255.
- Robles F., de la Herra'n R, Ludwig A., Ruiz-Rejo'n C., Ruiz-Rejo'n M, Garrido-Ramos M. 2005. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon // *Genome*. Vol. 48, № 1. P. 18–28.
- Rokitsky P.F. 1978. *Vvedeniye v statisticheskuyu genetiku* [Introduction to statistical genetics]. M.: Vysshaya shkola. 448 s. [In Russian]
- Schultz R.J. 1971. Special adaptive problems associated with unisexual fish // *Amer. Zool.* 11. P. 351–360.
- Schultz R.J. 1977. Evolution and ecology of unisexual fishes // *Evolutionary Biology*. N.Y.: Plenum Press. Vol. 10. P. 277–331.
- Serov O.L. 1977. Mekhanizmy obrazovaniya gibridnykh izofermentov kak model' izucheniya vzaimodeystviya genov // *Genetika izofermentov* [Mechanisms of formation of hybrid isoenzymes as model of studying of interaction of genes // *Genetics of isoenzymes*]. M.: Vysshaya shkola. S. 187–198. [In Russian]
- Singer M., Berg P. 1998. *Geny i genomy* [Genes and genomes]. M.: Mir. S. 377–394. [In Russian]
- Skalska K., Lim K.Y., Matyasek R., Koukalova B., Leitch F.R., Kovarik A. 2003. Rapid evolution of parental rDNA in a synthetic tobacco allotetraploid line // *American Journal of Botany*. Vol. 90, № 7. P. 988–996.
- Slynko Yu.V. 1993. Raspredeleniye ryb v mashtabe krupnykh geograficheskikh oblastei // *Ekologicheskkiye faktory prostanstvennogo raspredeleniya i peremeshcheniya gidrobiontov* [Distribution of fish on the scale of large geographical areas // *Environmental factors of spatial distribution and movement of aquatic organisms* // Sankt-Peterburg: Gidrometeoizdat. S. 259–279. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1997. Geneticheskaya struktura i sostoyaniye ryb Rybinskogo vodohranilishcha // *Sovremennoye sostoyaniye zapasov Rybinskogo vodohranilishcha* [Genetic structure and status of fishes in Rybinsk reservoir // *The current state of the fish stocks of Rybinsk reservoir*. Yaroslavl: Russia: Izd-vo YGTU. S. 153–178. [In Russian]
- Smith J. M. 1981. *Evolutsiya polovogo razmnozheniya* [Evolution of sexual manifolding]. M: Mir. 271 p. [In Russian]
- Tunner H.G. 1974. Die klonale structure einer Wasserfroschpopulation // *Z. Zool. Syst. and Evolutionsforsch.* Vol. 12, № 4. P. 308–314.
- Uzzell T.M. 1970. Meiotic mechanisms of naturally occurring unisexual vertebrates // *Amer. Natur.* 104. P. 433–445.
- Vinogradov A.E., Rozanov Yu.M., Tsaune I.A., Borkin L.Y. 1988. Eliminatsiya genoma odnogo iz roditelej do premeioticheskogo sinteza DNK u gibridogennogo vida *Rana esculenta* [Elimination of a genome of one of parents before premeiotic synthesis of DNA at a hybridgene type of *Rana esculenta*] // *Tsitologiya*. T. 30, № 6. S. 691–698. [In Russian]
- Vrijenhoek R.C. 1979. Factors affecting clonal diversity and coexistence. // *Amer. Zool.* Vol. 19, № 3. P. 787–797.
- Vrijenhoek R.C. 1984. The evolution of clonal diversity in *Poeciliopsis* // *Evolutionary genetics of fishes*. N.Y. – London: Plenum Press. P. 399–430.
- Vrijenhoek R.C. 1994. Unisexual fish: Model systems for studying ecology and evolution // *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 25. P. 71–96.
- White M.J.D. 1973. *Animal cytology and evolution*. Cambridge: University Press. 961 p.
- Williams G.C. 1975. *Sex and evolution*. Princeton: Univ. Press. 201 p.
- Wood A.B., Jordan D.R. 1987. Fertility of roach x bream hybrids, *Rutilus rutilus* (L.) x *Abramis brama* (L.) and their identification // *J. Fish Biol.* № 30. P. 249–261.
- Yakovlev V.N., Slyn'ko Yu.V., Grechanov I.G., Krysanov E.Yu. Problema otdalenoj gibridizatsii u ryb [The problem of distant hybridization in fish] // *Voprosy ikhtologii*. 2000. T. 40, № 3. S. 312–326. [In Russian]
- Zardoya R., Abouheif E., Meyer A. 1996. Evolutionary analyses of hedgehog and Hoxd-10 genes in fish species closely related to the zebrafish // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. № 93. P. 1036–1041.
- Zhivotovskij L.A. 1984. Integratsiya poligennykh sistem v populyatsiyakh [Integration of polygenic systems in populations]. M.: Nauka. 183 s. [In Russian]
- Zhuchenko A.A., Korol' A.B. 1985. Rekombinatsiya v ehvolutsii i selektsii [Recombination in evolution and selection] M.: Nauka. 400 s. [In Russian]

## FEATURES OF REPRODUCTION SYSTEM DISTANT HYBRIDS OF CYPRINID FISH

**Yu. V. Slynko, E. E. Slynko**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: elena@ibiw.yaroslavl.ru, fax: (485) 472-4042*

For the first time an extensive test crossing of laboratory carried out reciprocal F1 hybrids of roach, bream and blue bream are received. The generations of backcrosses are obtained and grown. The detailed morphological, genetic and biochemical and cytogenetic analysis on a vast complex of signs F1 hybrids and BC is done. Previously unknown gene inheritance effects, germline segregation of haploid genomes and polyclonal hybrids' generation are revealed. For example, hybrids of roach, bream and blue bream are described and experimentally verified a fundamentally new system of reproduction - proapomixis. It is assumed that it is inherent in all categories of distant hybrids "from case to case."

**Keywords:** cyprinide fish, hybrids, reproduction system, crossbreeding, effects of inheritance, variability of quantitative and qualitative characteristics



УДК 597.553.2.591.392

## ВРЕМЯ АКТИВАЦИИ РОДИТЕЛЬСКИХ ГЕНОВ В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.) И ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.)

Е. Е. Слынько, Е. Н. Пакунова, Ю. В. Слынько

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: elena.slynko.76@mail.ru

Изучена экспрессия изоферментов различных биохимических классов, синтезированных под контролем материнских и отцовских генов плотвы и леща в эмбриогенезе гибридов первого поколения. Показано, что для ферментов с ранней активацией характерен асинхронный характер экспрессии, для изоферментов с поздней активацией экспрессия носила синхронный характер. Во всех случаях асинхронной экспрессии имела место связь с наличием в зародыше значительных запасов желтка. Отмечено, что синхронный (единовременный) характер экспрессии приходится на завершающие стадии эмбрионального и личиночного периодов, что указывает на достижение согласованности в работе родительских генов. Результаты исследований позволили предположить последовательную смену и согласованное взаимодействие в раннем развитии регуляторных систем двух типов – материнской и зародышевой. В итоге вылупившаяся личинка гибрида обладает значительным потенциалом для выживания и активного освоения внешней среды.

**Ключевые слова:** гибриды, эмбриогенез, выражение, материнские и отцовские аллели, изоферменты с ранней и поздней активации, лещ и плотва.

### ВВЕДЕНИЕ

Закономерности генетической регуляции, происходящие в организме развивающегося зародыша, являются консервативными и универсальными практически для всех групп животных. Эти закономерности включают в себя взаимодействие генов в развитии, организацию генных систем, контролирующих эмбриональное и постэмбриональное развитие. Понимание особенностей взаимодействия генов в ходе развития организма возможно через изучение дифференциальной экспрессии генов, которая носит сложный и многоступенчатый характер. Для исследования процессов дифференциальной экспрессии генетических локусов в раннем развитии наиболее плодотворным признан гибридологический подход [Хедрик, 2003 (Hedrik, 2003); Hewitt, 2001]. Он подразумевает создание нового генотипа, совмещающего в себе эволюционно дивергировавшие и различающиеся по некоторым проявляемым признакам, параметрам и свойствам материнские и отцовские гены. Анализ же генетических локусов потомства от внутривидовых скрещиваний не позволяет определить, чьим генотипом контролировался синтез белков (запасены белки в ходе развития ооцита или синтезированы под контролем зародышевого генома) по причине совпадений характе-

ристических исследуемых вариантов белков. В случае межродовых гибридов, появление в электрофоретическом спектре отцовских изозимов будет свидетельством начала экспрессии зародышевых генов. На первых этапах развития зародыша гибрида процессы синтеза в цитоплазме, как правило, идут на материнских матрицах [Коломбет, 1977 (Kolombet, 1977); Кирпичников, 1987 (Kirpichnikov, 1987); Wright, Subtelny, 1971; Engel, Kreutz, 1973]. Но некоторые данные показывают на наличие транскрипции с зародышевых генов уже на этапах дробления. [Hawang Sheng-Ping et al., 1997]. Кроме того, сразу после оплодотворения имеет место активация митохондриальных генов материнского происхождения [Костомарова, Ротт, 1970 (Kostomarova, Rott, 1970); Kafiani, 1971]. У костистых рыб считается, что начало экспрессии генов самого зародыша, как правило, приходится на стадию бластулы и гаструлы [Конюхов, 1980 (Konyuhov, 1980); Корочкин, 1999 (Korochkin, 1999)], вследствие чего “материнские” белки начинают постепенно заменяться зиготическими [Кирпичников, 1987 (Kirpichnikov, 1987); Neyfakh, 1971]. С этого момента контроль над синтезом белкового материала практически полностью осуществляется зародышевым геномом.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовались реципрокные гибриды первого поколения F<sub>1</sub> леща *Abramis brama* L. и плотвы *Rutilus rutilus* L. – представителей 2 родов

(*Abramis* и *Rutilus*) подсемейства Leuciscinae семейства Cyprinidae. В результате экспериментальных скрещиваний были получены реципрокные гибриды F<sub>1</sub> (ПхЛ, ЛхП) и чистые

виды (ЛхП, ЛхЛ). Производителей плотвы и леща в стадии зрелости гонад отлавливали в период нереста в районе Волжского плеса Рыбинского водохранилища. Скрещивания проводили сразу после доставки рыбы. Гонадотропная стимуляция не применялась. Оплодотворение проводили сухим способом по стандартной рыбоводной методике [Рябов, 1981 (Ryabov, 1981); Слынько, 2000 (Slynko, 2000)]. Оплодотворенную икру высевали в кристаллизаторы, подсчитывали количество икринок и инкубировали при температуре, максимально приближенной к температуре природного водоема. На всем протяжении эмбрионального развития контролировали условия водообмена, кислородного режима и pH воды. Отбор проб для генетико-биохимического анализа проводился на следующих стадиях развития: образование перивителлинового пространства и бластодиска, дробление, бластула, окончание эпиболлии, начало сегментации (3–5 сегментов), разгар сегментации тела (18–23 митомов),

установление кровообращения и окончание сегментации (43–48 митомов), вылупление, переход личинки на смешанный тип питания, этап “свободного” эмбриона, окончание рассасывания желточного мешка и полный переход на внешнее питание. Определение стадий проводили по Крыжановскому [Крыжановский, 1949 (Kryzhanovsky, 1949)]. Для исследования закономерностей наследования и процессов внутриклеточного метаболизма в раннем развитии реципрокных гибридов и чистых видов анализировали 5 ферментов различных биохимических классов: оксидоредуктазы – лактатдегидрогеназа (LDH), супероксиддисмутаза (SOD), НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа (NADF-MDH) или малик-энзим (ME); гидролазы – неспецифическая или  $\beta$ -нафтилзависимая эстераза ( $\beta$ -EST); трансферазы – аспаратаминотрансфераза (AAT) [Калинин и др., 1971 (Kalinin et al., 1971)].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В естественных популяциях для плотвы характерен полиморфизм по локусу В, представленный двухаллельной системой. У леща крайне редко встречается полиморфизм по локусу А, также представленный двухаллельной системой [Слынько, 1987, 1991, 1993, 1997 (Slynko, 1987, 1991, 1993, 1997)]. В проводимых нами скрещиваниях родительские особи леща были гомозиготны по локусам А и В. Производители по плотве также были гомозиготами по обоим локусам Ldh.

В потомстве плотвы, гомозиготной по быстрому аллелю локуса В, изоферментный спектр LDH со стадии образования перивителлинового пространства и бластодиска до стадии окончания сегментации включительно был представлен двумя полосами, соответствующими по электрофоретической подвижности изотипам В<sub>4</sub> и В<sub>3</sub>А родительских мышечных спектров плотвы. Полный пятиполосочный спектр был выявлен на стадии выхода личинки из яйцевых оболочек.

В потомстве гомозиготного по Ldh-В леща электрофоретический спектр со стадии образования перивителлинового пространства и бластодиска до стадии разгара сегментации (18–22 сегмента) был представлен одной полосой, совпадающей по электрофоретической подвижности с гомополимером В<sub>4</sub> родительского мышечного спектра. Появление второй полосы, соответствующей гетерополимеру В<sub>3</sub>А выявлено на стадии окончания сегментации и подготовки зародыша к вылуплению. На

стадии вылупления в потомстве чистого леща изоферментный спектр LDH состоял из четырех полос (В<sub>4</sub>, В<sub>3</sub>А, ВА<sub>3</sub>, А<sub>4</sub>), после массового вылупления (на этапе свободного эмбриона) нами выявлен полностью сформированный пяти 5-ти полосочный спектр, характерный для половозрелых особей чистого леща (В<sub>4</sub>, В<sub>3</sub>А, В<sub>2</sub>А<sub>2</sub>, ВА<sub>3</sub>, А<sub>4</sub>).

У гибридов ЛхП изоферментный спектр с момента после оплодотворения до стадии разгара сегментации (18–22 сегмента) был представлен одной полосой, совпадающей по электрофоретической подвижности с гомополимером В<sub>4</sub>, выявленным в мышечных пробах леща, выступавшего в скрещиваниях в качестве матери. На стадии окончания сегментации и подготовки зародыша к выходу из яйцевых оболочек у гибридов ЛхП появляется второй «лещовый» гетерополимер А1В3. На момент вылупления в гибридной группе ЛхП, совпадавшему по времени с чистым лещом, дополнительно появляются еще два белковых компонента материнского типа – А4 и А3В1. В итоге, в период массового вылупления у гибридов ЛхП формируется практически полный, за исключением гетерополимера А2В2, лещовый изоферментный спектр. После выхода личинок из яйцевых оболочек – на этапе “свободного эмбриона” наблюдается постепенное формирование гибридного двенадцатиполосочного спектра, обусловленного включением в работу отцовских аллелей Ldh.

У зародышей гибридов ПхЛ, родительская плотва, выступающая в скрещиваниях в качестве матери, была гомозиготна по медленному аллелю ( $B'$ ) локуса *Ldh-B*, а отец – лещ был гомозиготен по быстрому аллелю ( $B$ ) локуса *Ldh-B*. У зародышей гибридов ПхЛ изоферментные спектры LDH до стадии окончания сегментации включительно состояли из гомополимера  $B'_4$  и гетерополимера  $B'_3A_1$ , по электрофоретической подвижности соответствующим изотипам материнской плотвы. С момента вылупления доформировывается полный материнский “плотвиный” спектр и появляются слабовыраженные гетеромеры, свидетельствующие об активации отцовских аллелей локуса *Ldh-B*. Этап “свободного эмбриона” в гибридной группе ПхЛ характеризуется завершением формирования полного двенадцатиполосочного гетерозиготного спектра.

Генетический контроль супероксиддисмутазы осуществляется двумя неаллельными генами. Все лещи и плотвы, участвующие в скрещиваниях были мономорфны. Для леща характерен фенотип, представленный быстрой изоформой SOD – 2, для плотвы – медленной изоформой SOD – 1, поэтому родительские спектры SOD были видоспецифичны и различались по электрофоретической подвижности [Слынько, 1987, 1997 (Slynko, 1987, 1997)].

У чистых видов леща и плотвы появление однополосочных, видоспецифичных по электрофоретической подвижности спектров супероксиддисмутазы наблюдалось с первых стадий эмбриогенеза. Изменений в составе изоферментного спектра SOD леща и плотвы на всем протяжении эмбрионального и постэмбрионального развития не наблюдалось.

У гибридов ПхЛ и ЛхП со стадии образования перивителлинового пространства до этапа “свободного эмбриона” включительно спектр супероксиддисмутазы был представлен только одной, материнской по происхождению, белковой полосой. С этапа смешанного питания у личинок каждой гибридной группы появлялась вторая полоса, соответствующая гетеродимеру – ферменту, состоящему из материнских и отцовских субъединиц. Данный двухполосочный спектр SOD у гибридов ПхЛ и ЛхП, не менялся до этапа экзогенного питания включительно. На электрофореграммах по мышечным пробам сеголетков гибридов  $F_1$  присутствует ожидаемый трехполосочный спектр супероксиддисмутазы.

У зародышей леща и плотвы со стадии после оплодотворения и до стадии завершения гаструлы – начала сегментации выявлена  $\beta$ -эстераза в виде диффузноокрашенного пятна.

Затем, со стадии начала сегментации до стадии окончания сегментации включительно у эмбрионов леща и со стадии начала сегментации до стадии разгара сегментации включительно у плотвы, активность  $\beta$ -эстеразы не выявлена. Формирование видоспецифичных, характерных для леща двух полосочных спектров приходилось на стадию массового вылупления, у плотвы раньше – на стадию окончания сегментации и подготовки зародыша к вылуплению.

В ранних зародышах гибридов  $F_1$  ЛхП и ПхЛ до стадии окончания гаструлы и начала сегментации тела (стадия 3–5 сегментов) активность  $\beta$ -эстераз была представлена в виде диффузно окрашенного пятна. В спектрах гибридов ЛхП слабо различимые полосы эстераз появляются со стадии массового вылупления, в спектрах гибридов ПхЛ – на стадии окончания сегментации и подготовки зародыша к вылуплению. По завершению стадии массового выхода из яйцевых оболочек у личинок в обеих гибридных группах наблюдались полные изотипные спектры, характерные для мышечных проб половозрелых гибридов ПхЛ и ЛхП. Необходимо отметить, что временной интервал падения эстеразной активности у гибридов ЛхП совпадал с таковой у леща. Аналогичная ситуация наблюдалась у гибридов ПхЛ: по стадиям в эмбриогенезе падение активности  $\beta$ -эстеразы совпадало с группой чистой плотвы.

В проводимых нами скрещиваниях производители по лещу и плотве отличались по 1 аллелю локуса *Aat*: все родительские особи леща были гомозиготны и представлены “быстрым” аллелем *Aat-3*, все родительские особи плотвы были представлены “медленным” аллелем *Aat-1*. В раннем развитии чистых видов леща и плотвы практически на всем протяжении эмбриогенеза активность ААТ не выявлена. Начало экспрессии по аллелям *Aat* у леща приходилось на стадию массового вылупления. У плотвы несколько раньше – на стадии окончания сегментации и подготовки зародыша к вылуплению. Экспрессия по локусу *Aat* у чистых видов характеризовалась появлением видоспецифичных гомодимерных белковых полос. В раннем развитии реципрокных гибридов  $F_1$  (ЛхП и ПхЛ) так же фактически на всем протяжении эмбрионального развития экспрессия ААТ не обнаружена. Первое появление изотипов в группе ЛхП наблюдалось на стадии вылупления, в группе ПхЛ – на стадии окончания сегментации. Нами отмечена важная особенность: у всех гибридов первого поколения на тот момент обнаруживался трехполосочный гетерозиготный спектр, состоящий из двух гомодимеров (отцовский и мате-

ринский изозимы) и одного гибридного гетеродимера, что свидетельствовало о начале синхронной экспрессии материнских и отцовских аллелей. Причем, экспрессия аспартатаминотрансферазы в гибридных группах была приурочена к тем же стадиям развития, что и в группах чистых видов, выступавших в скрещиваниях в качестве матери. В последующем развитии изоферментный спектр ААТ у личинок реципрокных гибридов  $F_1$  не менялся, что подтвердили данные, полученные на сеголетках.

NADF-зависимая малатдегидрогеназа или малик-энзим кодируется двумя независимыми генетическими локусами Mod-1 и Mod-2 (нумерация от катода к аноду) [Слынько, 1987, 1993, 1992, 1997 (Slynko, 1987, 1993, 1992, 1997)]. Производители по лещу, участвующие в экспериментах, были гетерозиготны по локусу Mod-1 и гомозиготны по локусу Mod-2. Плотва была гомозиготна по обоим локусам малик-энзима – Mod-1 и Mod-2. С момента оплодотворения до этапа свободного эмбриона экспрессии малик-энзима во всех опытных вариантах скрещивания не наблюдалась. Начало экспрессии малик-энзима в группе чистых видов и гибридов  $F_1$  приходилось на этап свободного эмбриона и сопровождалось появлением гомодимера в зоне Mod-2. На следующих этапах личиночного развития: смешанного питания и полного перехода на внешнее питание, составляющая изоферментного спектра NADF-зависимой малатдегидрогеназы во всех опытных группах не менялась.

Данные по “чистой” плотве и “чистому” лещу демонстрируют полностью сформированные видоспецифичные спектры, соответствующих половозрелым производителям, на стадии сеголетка. Фенотип сеголетка леща был представлен гетерозиготой по локусу Mod-1 и гомозиготой по локусу Mod-2, сеголетка плотвы – гомозиготой по обоим локусам Mod-1 и Mod-2. В группах гибридов ЛхП и ПхЛ также на стадии сеголетка были выявлены ожидаемые гетерозиготные трехполосочные спектры по локусу Mod-1 и гомозиготный однополосочный спектр по локусу Mod-2. Нами отметить, что показатели активности экспрессии локусов Mod на стадии сеголетка во всех экспериментальных группах рыб сопоставимы с таковыми показателями активности у родительских особей.

Вследствие того, что нормальное протекание раннего развития у гибридов обеспечивается скоординированностью в работе родительских генов, данная согласованность также подчиняется закономерностям. У гибридов  $F_1$  в первой половине эмбриогенеза наблюдалась

выраженная асинхрония в экспрессии ферментов с ранней активацией, подчиняющаяся материнскому эффекту. Например, в ходе формирования изоферментных спектров LDH у реципрокных гибридов ЛхП и ПхЛ материнский эффект выражался через первоочередную последовательную активацию аллелей локусов А и В матери, и только по ее завершению включением в работу локуса В отца. Экспрессия  $\beta$ -эстеразы и SOD также подчинялась материнскому эффекту, заключающемуся для эстераз в последовательности формирования изозимного спектра и распределении ферментативной активности по материнскому типу, для супероксиддисмутазы – в структурных показателях спектра, состоящего из материнского гомодимера и гибридного гетеродимера. В ходе эмбрионального развития матроклинный характер экспрессии ферментов с ранней активацией постепенно исчезает, и в итоге родительские гены начинают работать синхронно. Дополнительным подтверждением тому являлся синхронный характер экспрессии ферментов с поздней активацией – ААТ и малик-энзима.

Синхронизация родительских генов, по нашему мнению, напрямую зависит от количества запасенных в оогенезе внутриклеточных и желточных белков в организме гибрида. По мере развития эмбриона происходит расходование этих компонентов, ферментативная активность желтка угасает, что по времени согласуется с появлением соответствующей активности в зародыше. Данный факт подразумевает существование регуляторных механизмов координации процессов деградации в желтке компонентов материнского типа и синтеза в развивающемся организме компонентов зародышевого типа [Лапушкина, 2002 (Lapushkina, 2002)].

Таким образом, комплексный подход к изучению раннего развития гибридов позволил предположить, что матроклиния на самых ранних его этапах объясняется цитоплазматической природой, в основе которой лежит асинхронная экспрессия ферментов. Отцовский же эффект, выявленный на более поздних этапах развития, обусловлен ядерной природой и имеет наследственный характер. В его основе лежит синхронная экспрессия родительских локусов.

Некоторые авторы, говоря о совмещении в гибридном организме различных по происхождению систем генов-регуляторов, предполагают в ряде случаев невозможность прогнозирования результатов их совместной работы [Корочкин, 1983, 1999 (Korochkin, 1983,

1999)]. Поэтому не исключено, что в ряде случаев асинхронность экспрессии родительских генов обусловлена неполной совместимостью механизмов генетической регуляции обоих видов, а в более общем понимании – “несоответствием сложных регуляторных процессов, регулирующих активность гена у скрещиваемых форм, и чем более отдаленным является скрещивание, тем больше вероятность таких отклонений от нормы” [Нейфах, Тимофеева, 1978 (Neyfah, Timofeeva, 1978); Корочкин, 1983 (Korochkin, 1983); Gavaia et al., 2006; Burt et al., 2008].

У гибридов первого поколения, объединяющих в себе по одному набору хромосом, полученному от каждого из родителей, соответствующий структурный ген будет подчиняться “своей” регуляторной системе. Следовательно, наличие синхронной экспрессии родительских аллелей свидетельствует о согласовании генов-модификаторов. Последнее обстоятельство предполагает определенную степень близости скрещиваемых видов, хотя некоторые активаторы раннего развития имеют невидоспецифичный характер [Нейфах, Тимофеева, 1978 (Neyfah, Timofeeva, 1978)].

Полученные нами результаты по синхронизации экспрессии ферментных локусов в развитии реципрокных гибридов  $F_1$  могут существенно дополнить имеющиеся на сегодняшний день данные о регуляторных механизмах согласования работы чужеродных генов. Это касается участия в регуляции синхронизации работы родительских генов как материнских (желток в широком смысле слова), так и зародышевых регуляторов. Так, примером регуляции экспрессии ферментов материнскими факторами в раннем развитии может служить экспрессия малик-энзима. Отсутствие активности малик-энзима в клетках зародыша не свидетельствует об отсутствии этого важного фермента в организме гибрида. Малик-энзим, поставляющий эквиваленты НАДФ-Н<sup>+</sup> для восстановительных синтезов, идущих в клетках зародыша, жизненно необходим для развивающегося организма, но его отсутствие до вылупления в клетках самого зародыша скомпенсировано наличием малик-энзима в желтке. Расходование желтка и постепенное угасание в нем активности малик-энзима совпадает по времени с синхронной экспрессией родительских локусов этого фермента в клетках зародыша. Возможно, это объясняется действием регуляторного механизма, обеспечивающего синхронность угасания активности фермента в желтке и экспрессии этого же фермента в клетках зародыша.

Первоочередное формирование у гибридов  $F_1$  материнских спектров LDH, мы полагаем, также обусловлено регуляторными механизмами материнского происхождения и полностью им подчинено до момента активации отцовского аллеля. После активации материнских по происхождению локусов В и А и формирования материнских спектров LDH у реципрокных гибридов, наступает этап повторного включения локуса В, только отцовского типа. Этот факт, не подчиняющийся логике функциональной целесообразности последовательного включения локусов Ldh у гибридов  $F_1$ , можно объяснить только исходя из действия и процессов согласования регуляторных механизмов леща и плотвы, синхронизирующих во времени работу родительских чужеродных генов. Это подтверждается аналогичным порядком включения локусов у чистых видов.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что в основе раннего развития реципрокных гибридов первого поколения лежит работа и динамика регуляторных механизмов разного характера, причем, регуляторы материнского происхождения по мере развития зародыша гибрида сменяются собственными (зародышевыми) регуляторами.

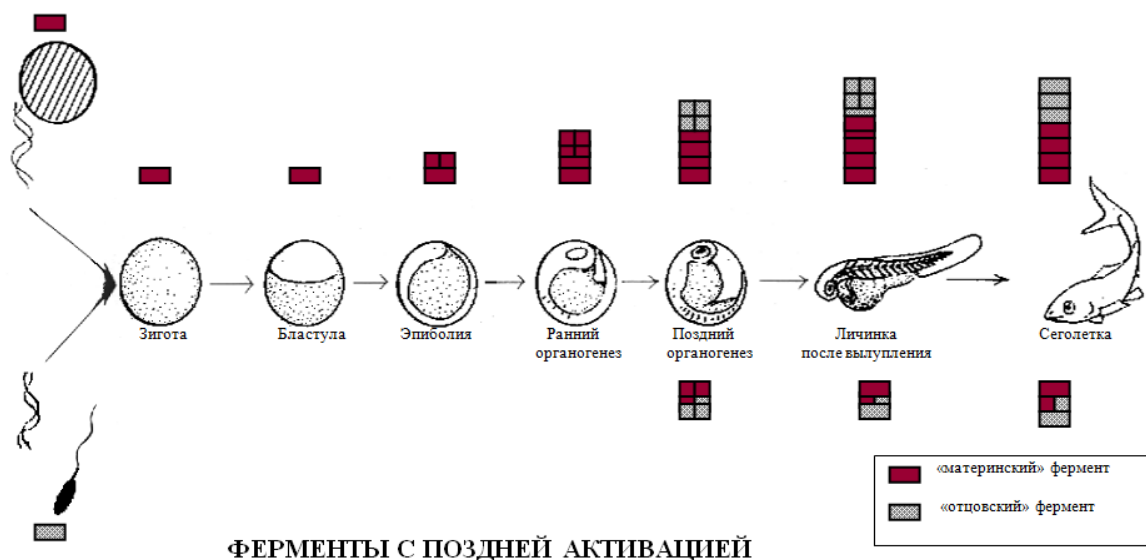
Интегрируя закономерности, выявленные при изучении экспрессии ферментных локусов, можно выделить важный рубеж в раннем развитии реципрокных гибридов первого поколения – период от подготовки зародыша к вылуплению до этапа перехода личинки на полное внешнее питание. На этом участке развития помимо адаптации эмбриона к внешней среде идут два основных процесса – деградация материнского материала и активный синтез собственных белков.

В раннем морфогенезе превалирующую роль играют цитоплазматические факторы, причем, действие цитоплазматических факторов рассматривается не только как механизм функционального насыщения развивающегося организма, но и как активатор ядерных генов направленного и селективного действия [Белусов, 1987 (Belousov, 1987); Инге-Вечтомов, 1989 (Inge-Vechtomov, 1989)].

В позднем эмбриогенезе и на последующих этапах личиночного развития с одной стороны резко возрастает деградация оогенетического материала (резорбция желточного мешка), с другой стороны резко возрастает количество белковых компонентов, синтезированных на матрицах самого организма. Таким образом, развитие гибридов приобретает по ходу времени устойчивость и по морфобиологическим показателям: скорость морфогенеза,

выживаемость на отдельных его этапах, жизнеспособность при воздействиях внешних факторов, имеющей в своей основе постепенную синхронизацию работы чужеродных родительских генов. Полная согласованность в работе родительских генов и как следствие устойчивый характер морфогенеза должна быть достигнута к этапу экзогенного питания.

В результате личинка гибрида будет обладать реальным потенциалом для выживания и активного освоения окружающего пространства на последующих этапах развития. Все установленные закономерности наследования для ферментов с ранней и поздней активацией подтверждены на гибридах  $F_1$  плотвы и леща (см. рисунок).



**Рис.** Схема включения материнского и отцовского геномов для ферментов с ранней и поздней активацией у гибридов  $F_1$ .

**Fig.** The scheme of inclusion of maternal and paternal genomes for enzymes with early and late activation in  $F_1$  hybrids.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ полученных данных на реципрокных гибридах  $F_1$  по всем исследованным локусам позволил сформулировать следующие закономерности:

1) установлен асинхронный характер экспрессии ферментов с ранней активацией и синхронный характер экспрессии ферментов с поздней активацией.

2) асинхронный характер экспрессии ферментов с ранней активацией подчиняется материнскому эффекту и сохраняется до выхода личинки из яйцевых оболочек. После чего, асинхронность (материнский эффект) исчезает, и экспрессия ферментов приобретает синхронный характер. Синхронный (единовременный) характер экспрессии ферментов с поздней активацией приурочен к завершающим этапам эмбрионального и личиночного периодов, что указывает на достижение согласованности в работе родительских генов.

3) во всех случаях асинхронной экспрессии имела место связь с наличием в зародыше значительных запасов желтка. Синхронный характер экспрессии ферментов имел место на

стадиях развития либо с меньшим количеством желтка, либо с полным его исчерпанием.

Результаты исследований позволили предположить последовательную смену и согласованное взаимодействие в раннем развитии регуляторных систем двух типов – материнской и зародышевой. Нормальное функционирование таких генетических регуляторных механизмов обеспечило полную согласованность работы структурных генов, что определило достижение устойчивости по метаболическим и морфогенетическим показателям к вылуплению. Вылупившаяся личинка гибрида первого поколения обладает значительным потенциалом для выживания и активного освоения внешней среды, поскольку этот потенциал – не что иное, как эндогенные материнские ресурсы и синхронизированная к моменту вылупления работа родительских генов. В совокупности эти два фактора обеспечивают гибридный организм собственными белками как на данный момент развития, так и на последующих его этапы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. М.: Изд-во МГУ, 1987. 239 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989. 591 с.
- Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жидков В.А. Справочник по биохимии. Киев: Наукова Думка, 1971. 1013 с.
- Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. 520 с.
- Коломбет Л.В. Последовательность включения локусов лактатдегидрогеназы в раннем эмбриональном развитии мыши // Онтогенез. Т. 8, № 3. 1977. С. 269–275.
- Конюхов Б.В. Генетика развития позвоночных. М.: Наука, 1980. 291 с.
- Корочкин Л.И. Некоторые молекулярные аспекты регуляции экспрессии генов у рыб и других эукариот // Биологические основы рыбоводства: генетика и селекция. Л.: Наука, 1983. С. 34–51.
- Корочкин Л. И. Введение в генетику развития. М.: Наука, 1999. 253 с.
- Костомарова А.А., Ротт Н.Н. Авторадиографическое исследование синтеза ядерных РНК у диплоидных и гаплоидных зародышей выюна // Клеточное ядро и его ультраструктуры. М.: Наука, 1970. С. 258–262.
- Крыжановский С.Г. Эколого-морфологические закономерности развития карповых, выюновых и сомовых рыб // Тр. Ин-та морфол. живот. АН СССР. 1949. Т. 1. С. 3–332.
- Лапушкина Е. Е. Эколого-генетический анализ раннего развития отдаленных гибридов F1 леща (*Abramis brama* L.), плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.) // Дисс. ... канд. биол. наук. Борок. 2002. 145 с.
- Нейфак А.А., Тимофеева М.Я. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. М.: Наука, 1978. 307 с.
- Рябов И. Н. Методы гибридизации рыб на примере семейства карповых // Исследование размножения и развития рыб. М.: Наука, 1981. С. 195–215.
- Слынько Ю.В. Коэффициенты инбридинга и структура вида *Abramis brama* L. // Информ. Бюл. Биол. внутр. вод. Л.: Наука. № 75. 1987. С. 39–43.
- Слынько Ю.В. Полиморфизм мышечных изоферментов карповых рыб СССР. I. Лактатдегидрогеназа // Информ. Бюл. Биологии внутренних вод. С.-Пб.: Наука, 1991. № 90. С. 75–84.
- Слынько Ю.В. Полиморфизм мышечных изоферментов карповых рыб. III. Малик-энзим // Информ. Бюл. Биол. внутр. вод. С.-Пб.: Наука, 1992. № 95. С. 64–72.
- Слынько Ю.В. Распределение рыб в масштабе крупных географических областей // Экологические факторы пространственного распределения и перемещения гидробионтов. С.-Пб.: Гидрометеоиздат, 1993. С. 259–279.
- Слынько Ю.В. Генетическая структура и состояние рыб Рыбинского водохранилища // Современное состояние рыбных запасов Рыбинского водохранилища. Ярославль: Изд-во ЯрГУ, 1997. С. 153–178.
- Слынько Ю.В. Система размножения межродовых гибридов плотвы (*Rutilus rutilus* L.), леща (*Abramis brama* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.) (LEUCISCINAE: CYPRINIDAE) // Дисс. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург. 2000. 186 с.
- Хедрик Ф. Генетика популяций. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
- Burt A., Trivers R. 2008. Genes in conflict // The Biology of Selfish Genetic Elements. Harvard University Press: Cambridge. MA. USA. 536 p.
- Engel S., Kreutz J. 1973. LDH isoenzymes in the mammalian egg: investigations by micro disc electrophoresis in 15 species of the orders Rodentia, Lagomorpha, Carnivora, Artiodactyla and in man // Humangenetik. Bd. 19, № 3/4. P. 253–260.
- Gavaia P. J., Simes D. C., Ortiz-Delgado J. B., Viegas C. S. B., Pinto J. P., Kelsh R. N., Sarasquete M.C., Cancela M.L. 2006. Osteocalcin and matrix Gla protein in zebrafish (*Danio rerio*) and Senegal sole (*Solea senegalensis*): comparative gene and protein expression during larval development through adulthood // Gene Expression Patterns. Vol. 6, № 6. P. 637–652.
- Hewitt M.G. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography or seeing in space and time // Molec. Ecol. Vol. 10. P. 537–549.
- Hwang S.P., Tsou M.F., Lin Y.C., Liu C.H. 1997. The zebrafish BMP4 gene: sequence analysis and expression pattern during embryonic development // DNA Cell Biol. Vol. 16, № 8. P. 1003–1011.
- Kafiani C. 1970. Genome transcription in fish development // Adv. Morphogenesis. Vol. 8. P. 209–284.
- Neyfakh A.A. 1971. Steps of realization of genetic information in early development // Curr. Top. Develop. Biol. Vol. 6. P. 45–77.
- Wright D.A., Subtelny S. 1971. Nuclear and cytoplasmic contributions to dehydrogenase phenotypes in hybrid frog embryos // Develop. Biol. Vol. 24. P. 119–140.

## REFERENCES

- Belousov L.V. 1987. Biologicheskii morfogenez [Belousov L.V. Biological morphogenesis]. M.: Izd-vo MGU. 239 s. [In Russian]
- Inge-Vechtomov S.G. 1989. Genetika s osnovami selektsii [Genetics with the basics of breeding]. M.: Vysshaya shkola. 591 s. [In Russian]
- Kirpichnikov V.S. 1987. Genetika i selektsiya ryb [Genetics and fish breeding]. L.: Nauka. 520 s. [In Russian]
- Kolombet L.V. 1977. Posledovatel'nost' vkl'yucheniya lokusov laktatdegidrogenazy v rannem embrional'nom razvitii myshi [Lactate dehydrogenase loci sequencing in early fetal mouse development] // Ontogenez. T. 8, № 3. S. 269–275. [In Russian]

- Konyukhov B.V. 1980. Genetika razvitiya pozvonochnyh [Genetics of vertebrate development]. M.: Nauka. 291 s. [In Russian]
- Korochkin L.I. 1983. Nekotorye molekulyarnyye aspekty regulyatsii ekspressii genov u ryb i drugih eukariot [Some molecular aspects of regulation of gene expression in fish and other eukaryotes] // Biologicheskiye osnovy rybolovstva: genetika i selektsiya. L.: Nauka. S. 34–51. [In Russian]
- Korochkin L.I. 1999. Vvedeniye v genetiku razvitiya [Introduction to genetics of development]. M.: Nauka. 253 s. [In Russian]
- Kostomarov A.A., Rott N. N. 1970. Avtoradiograficheskoe issledovaniye sinteza yadernykh RNK u diploidnykh i gaploidnykh zarodyshei v'yuna // Kletochnoye yadro i ego ul'trastruktury [Autoradiography study of nuclear RNA synthesis in diploid and haploid embryos of loach // The cell nucleus and its infrastructure]. M.: Nauka. 1970. S. 258–262. [In Russian]
- Kryzhanovskiy S.G. 1949. Ekologo-morfologicheskiye zakonomernosti razvitiya karpovykh, b'yunovykh i somovykh ryb [Ecological and morphological patterns of carp, catfish and loaches fish] // Trudy Instituta morfologii zhivotnykh. AN SSSR. T. 1. S. 3–332. [In Russian]
- Lapushkina E.E. 2002. Ekologo-geneticheskii analiz rannego razvitiya otdalennykh gibridov F1 leshcha (*Abramis brama* L.), plotvy (*Rutilus rutilus* L.) i sintsa (*Abramis ballerus* L.) // Dissertatsiya na soiskanie uch. st. kandidata biologicheskikh nauk. Borok. 145 p. [Ecological and genetic analysis of the early development of remote F1 hybrids of bream (*Abramis brama* L.), roach (*Rutilus rutilus* L.) and blue bream (*Abramis ballerus* L.) // Thesis for the degree of Ph. D. Borok. 145 p. [In Russian]
- Neyfakh A.A., Timofeeva M.Y. 1978. Problemy regulyatsii v molekulyarnoi biologii razvitiya [Regulation Problems in molecular biology of development]. M.: Nauka. 307 s. [In Russian]
- Ryabov I.N. 1981. Metody gibrizatsii ryb na primeresemeistva karpovykh // Issledovaniye razmnzheniya i razviriya ryb [The methods of fish hybridization by the example of the Cyprinidae family // Study of reproduction and development in fish]. M.: Nauka. S. 195–215. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1987. Koefitsenty inbridinga i struktura vida *Abramis brama* L. [The coefficients of inbreeding and the structure of the type *Abramis brama* L.] // Inform. Byul. Biol. vnutr. vod. L: Nauka. № 75. S. 39–43. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1991. Polimorfizm myshechnykh izofermentov karpovykh ryb USSR. I. Laktatdegidrogenaza. [Polymorphism of muscle enzymes in carp fish of USSR. I. Lactate dehydrogenases] // Inform. Bil. Biologiya vnutrennih vod. Sankt-Peterburg: Nauka. № 90. S. 75–84. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1992. Polimorfizm myshechnykh izofermentov karpovykh ryb. III. Malik–enzim [Polymorphism of muscle enzymes in carp fish. Malik–enzyme] // Inform. Byul. Biol. vnutr. vod. Sankt-Peterburg: Nauka. № 95. S. 64–72. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1993. Raspredeleniye ryb v mashtabe krupnykh geograficheskikh oblastei // Ekologicheskiye factory prostranstvennogo raspredeleniya i peremeshcheniya gidrobiontov [Distribution of fish on the scale of large geographical areas // Environmental factors of spatial distribution and movement of aquatic organisms // Sankt-Peterburg: Gidrometeoizdat. S. 259–279. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 1997. Geneticheskaya struktura i sostoyaniye ryb Rybinskogo vodohranilishcha // Sovremennoye sostoyaniye zapasov Rybinskogo vodohranilishcha [Genetic structure and status of fishes in Rybinsk reservoir // The current state of the fish stocks of Rybinsk reservoir. Yaroslavl: Russia: Izd-vo YGTU. S. 153–178. [In Russian]
- Slynko Yu.V. 2000. Dissertatsiya na soiskaniye uch. st. kandidata biologicheskikh nauk. [Slynko Yu.V. The system of breeding i intergeneric hybrids of roach (*Rutilus rutilus* L.), bream (*Abramis brama* L.) and blue bream (*Abramis ballerus* L.) (LEUCISCINAE: CYPRINIDAE). Sankt–Peterburg. 186 s. [In Russian]
- Hedrik F. 2003. Genetika populyatsii [Genetics of populations]. M.: Tehnosfera. 592 s. [In Russian]
- Burt A., Trivers R. 2008. Genes in conflict // The Biology of Selfish Genetic Elements. Harvard University Press: Cambridge. MA. USA. 536 p.
- Engel S., Kreutz J. 1973. LDH isoenzymes in the mammalian egg: investigations by micro diselectrophoresis in 15 species of the orders Rodentia, Lagomorpha, Carnivora, Artiodactyla and in man // Humangenetik. Bd. Vol. 19, № 3/4. P. 253–260.
- Gavaia P.J., Simes D.C., Ortiz-Delgado J.B., Viegas C.S.B., Pinto J.P., Kelsh R.N., Sarasquete M.C., Cancela M.L. 2006. Osteocalcin and matrix Gla protein in zebrafish (*Danio rerio*) and Senegal sole (*Solea senegalensis*): comparative gene and protein expression during larval development through adulthood // Gene Expression Patterns. Vol. 6, № 6. P. 637–652.
- Hewitt M.G. 2001. Speciation, hybrid zones and phylogeography or seeing in space and time // Molec. Ecol. Vol. 10. P. 537 – 549.
- Hwang S.P., Tsou M.F., Lin Y.C., Liu C.H. 1997. The zebrafish BMP4 gene: sequence analysis and expression pattern during embryonic development // DNA Cell Biol. Vol. 16, № 8. P. 1003–1011.
- Kafiani C. 1970. Genome transcription in fish development // Adv. Morphogenesis. Vol. 8. P. 209–284.
- Neyfakh A.A. 1971. Steps of realization of genetic information in early development // Curr. Top. Develop. Biol. Vol. 6. P. 45–77.
- Wright D.A., Subtelny S. 1971. Nuclear and cytoplasmic contributions to dehydrogenase phenotypes in hybrid frog embryos // Develop. Biol. Vol. 24. P. 119–140.



**THE TIME OF ACTIVATE OF PARENTAL GENES IN EARLY EMBRYOGENESIS  
RECIPROCLY HYBRIDS OF FIRST GENERATION FROM BREAM (*ABRAMIS BRAMA* L.)  
AND ROACH (*RUTILUS RUTILUS* L.)**

**E. E. Slynko, E. N. Pakunova, Yu. V. Slynko**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: elena.slynko.76@mail.ru, fax: (485) 472-4042*

The expression of isoenzymes different biochemical classes, synthesized under the control of maternal and paternal genes roach and bream in the embryogenesis of the first generation hybrids is investigated. It has been shown that the enzyme with an early activation of the asynchronous nature of the typical expression for the isoenzymes with late activation of the expression was of the nature of synchronous. In all cases, the expression of an asynchronous communication took place with the presence of significant reserves in the embryo yolk. It is noted that a synchronous (one time) necessary for the expression pattern of the final stages of embryonic and larval period, indicating consistency in achievement of the parental genes. The researched results allowed to suggest a consistent shift and coordinated interaction in the early development of regulatory systems of two types – the maternal and embryonic. As a result, the hybrid hatched larva has a significant potential for survival and the active development of the external environment.

*Keywords:* hybrids, embryogenesis, expression, maternal and paternal alleles, isoenzymes with early and late activation, bream and roach

УДК 591.128:591.175:597.2.5

## ЦИТОХРОМНАЯ СИСТЕМА И УРОВЕНЬ МИОГЛОБИНА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КЕФАЛИ-СИНГИЛЯ (*LIZA AURATA* RISSO) В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ

А. А. Солдатов<sup>1,2</sup>, И. А. Парфенова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН  
292011 г. Севастополь, просп. Нахимова 2, e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Севастопольский госуниверситет, 299053 г. Севастополь, ул. Университетская 33

Исследовали в условиях эксперимента влияние гипотермии на содержание миоглобина и цитохромов в скелетных мышцах кефали-сингиля (*Liza aurata* Risso). Контрольная группа рыб содержалась при  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ . Температуру воды в аквариумах понижали со скоростью  $0.2^\circ\text{C час}^{-1}$  до  $10 \pm 1$ ,  $5 \pm 1$  и  $1-2^\circ\text{C}$  и исследовали процесс адаптации к данным условиям на протяжении 46 суток. При температурах близких к  $5^\circ\text{C}$  отмечен рост содержания миоглобина и цитохромов в мышечной ткани на 62–67% ( $p < 0.001$ ). Процесс развивался преимущественно в красных мышцах. При этом организация дыхательной цепи митохондрий приобретала несокомпенсированный характер, свойственный организмам, находящимся в условиях гипоксии. Отношение  $b/aa_3$  было меньше единицы и составляло 0.80–0.85, против 1.5–1.65 у контрольной группы рыб. Близкие изменения происходили и при  $1-2^\circ\text{C}$ , но они были менее выражены. Обсуждаются причины, лежащие в основе выявленных изменений.

**Ключевые слова:** гипотермия, гипоксия, скелетные мышцы, миоглобин, цитохромы, стехиометрия цитохромов, морские рыбы.

### ВВЕДЕНИЕ

Дыхательная цепь митохондрий низших позвоночных способна активно перестраиваться, адаптируя окислительный метаболизм тканей к меняющимся условиям среды. Впервые на это обратила внимание М.В. Савина [Савина и др., 1981 (Savina et al., 1981)]. В экспериментах на круглоротых (миноги) она отметила рост содержания терминальной группы цитохромов ( $aa_3$ ) в мышцах при внешнем дефиците кислорода и гипоксических состояниях [Савина, 1992 (Savina et al., 1992)]. Позже эта реакция была выявлена и в условиях экспериментальной гипоксии у костистых морских рыб [Солдатов, Парфенова, 2014 (Soldatov, Parfenova, 2014); Soldatov, Savina, 2008].

Гипотермия также способна угнетать окислительные процессы и переключать метаболизм тканей на использование анаэробных источников энергии. Эти состояния чаще всего возникают у теплолюбивых видов рыб при температурах близких к  $5^\circ\text{C}$  и ниже [Шекк и др., 1990 (Shekk et al., 1990); Шекк, 2012 (Shekk et al., 2012)]. В данных условиях отмечается увеличение числа гипоксических (аноксических) зон в скелетных мышцах [Солдатов,

Парфенова, 2009 (Soldatov, Parfenova, 2009)], рост содержания лактата, уменьшение уровня аденилатов и энергетического заряда тканей [Арсан, 1986 а, б (Arsan, 1986 a, b); Гулевский и др., 2007 (Gulevsky et al., 2007)]. Допускается, что это, в определенной степени, связано с аномальной вазоконстрикцией сосудов микроциркуляторного русла [Солдатов, 2010 (Soldatov, 2010)].

Косвенным свидетельством гипоксического эффекта гипотермии является индукция синтеза HIF-1 у рыб (hypoxia inducible factor) [Heise et al., 2006], который ранее был идентифицирован в крови форелей [Soitamo et al., 2001]. Показано, что это происходит исключительно в тканях, испытывающих недостаток кислорода.

Учитывая выше сказанное можно допустить, что при гипотермии и развитии состояния гипоксии у рыб может происходить адаптивная перестройка дыхательной цепи митохондрий на несокомпенсированный тип организации. Проверке данного предположения и посвящена настоящая работа.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Характеристика материала.** В качестве модельного объекта была выбрана кефаль-сингиль. Предварительные наблюдения показали, что у данного вида при температурах близких к  $5^\circ\text{C}$  отмечаются явные признаки асфиксии. В работе использовали особей обоего

пола в возрасте 3–4 лет. Масса тела – 140–250 г, длина тела – 22–27 см.

**Моделирование гипотермии.** Эксперименты были выполнены в аквариумах емкостью  $1.5 \text{ м}^3$ . Контрольную группу рыб содержали при температуре воды  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ . В ходе опыта температуру снижали со скоростью

0.2°C час<sup>-1</sup> от 15 до 1°C, оставляя в процессе снижения группы особей при 10±1, 5±1 и 1–2°C. После этого изучали процесс адаптации к указанным температурам в течение 46-ти суток. Отбор проб крови и тканей производили на 1–5, 14–15 и 36–40-е сутки содержания. Эксперимент был выполнен в парном варианте, то есть на каждую опытную группу рыб приходилась своя контрольная.

**Отбор проб.** Образцы мышечной ткани получали из большой белой боковой (*m. lateralis magnus*) и поверхностной красной боковой (*m. lateralis superficialis*) мышц, расположенных позади спинного плавника. Кусочки красных и белых мышц, полученных для биохимических исследований, взвешивали на торсионных весах и замораживали в жидком азоте.

**Лабораторная обработка проб.** Количественное определение содержания цитохромов (*aa<sub>3</sub>*, *b*, *c*, *c<sub>1</sub>*) проводили по методу Чанса в модификации [Евдо́тиенко, Мохова, 1967 (Evdo-

tienko, Mohova, 1967)]. Измерения выполняли на гомогенатах тканей, так как при выделении митохондрий происходит частичная потеря цитохромов группы *c* [Van Handel et al., 1977], что важно при расчете стехиометрических отношений. Гомогенаты готовили на среде, содержащей 120 mM KCl и 20 mM трис-HCl буфера (pH 7.4). Измерения выполняли на спектрофотометре ДСФ-2. Уровень миоглобина в мышцах оценивали спектрофотометрически по методике [Reynafarie, 1963].

**Статистическая обработка** и графическое оформление полученных результатов проведены с применением стандартного пакета Grapher (версия 7). Результаты представлены в виде  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ . Достоверность различий оценивали при помощи *t*-критерия Стьюдента. О нормальности распределения выборочных совокупностей судили по значениям критерия Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Температура 15°C.** При данной температуре содержалась контрольная группа рыб. Максимальный уровень миоглобина и цитохромов отмечали в красных мышцах (табл. 1). В белых мышцах он был в 11–20 раз ниже. Эти различия отвечают особенностям структурно-функциональной организации данных типов скелетной мускулатуры. Дыхательная цепь митохондрий красных мышц соответствовала

скомпенсированному типу организации. В составе цитохромов явно преобладал цитохром *b* (рис. 1). Отношение *b/aa<sub>3</sub>* было существенно выше единицы – 1.58±0.04 (табл. 2). В белых мышцах цитохромная цепь, напротив, была организована по нескомпенсированному типу. Уровень терминальной группы цитохромов (*aa<sub>3</sub>*) был выше, а отношение *b/aa<sub>3</sub>* ниже единицы – 0.74±0.06.

**Таблица 1.** Содержание миоглобина и цитохромов в скелетных мышцах кефали-сингиля в условиях экспериментальной гипотермии

**Table 1.** The content of myoglobin and cytochromes in the skeletal muscle of mullets in experimental hypothermia

Условия эксперимента Experimental conditions	n	Миоглобин, мг г <sup>-1</sup> Myoglobin, mg g <sup>-1</sup>		Цитохромы, нмоль г <sup>-1</sup> Cytochroms, nmol g <sup>-1</sup>	
		г	w	г	w
<u>15°C</u> (контроль) (control)	8	5.08±0.25	0.22±0.04	65.3±5.6	5.96±1.10
<u>10°C</u> 1-5 суток (days)	5	5.02±0.28	0.22±0.04	70.9±6.6	6.20±1.00
14-16 суток (days)	6	4.93±0.18	0.20±0.04	86.4±3.5	8.65±0.49
41-46 суток (days)	5	5.20±0.34	0.21±0.03	88.9±6.9	8.22±0.83
<u>5°C</u> 1-5 суток (days)	6	5.13±0.26	0.21±0.04	67.7±2.5	6.22±0.75
14-16 суток (days)	7	8.26±0.41	0.18±0.03	111.3±3.9	9.89±0.49
41-46 суток (days)	5	8.46±0.32	0.18±0.04	114.6±6.4	9.80±0.71
<u>1-2°C</u> 1-5 суток (days)	5	5.44±0.29	0.24±0.04	65.3±4.7	6.14±0.69
14-16 суток (days)	5	6.10±0.26	0.19±0.03	80.2±3.6	6.36±0.63

Примечание: n – число особей (fish number); г – красные мышцы (red muscle); w – белые мышцы (white muscle).

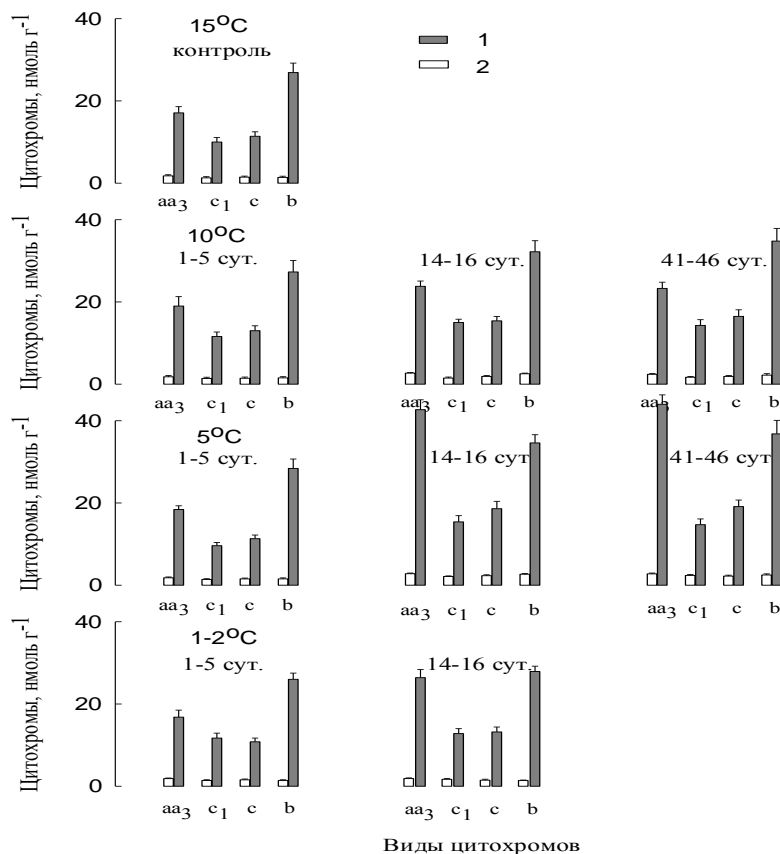
**Температура 10°C.** Снижение температуры воды до 10°C не вызывало заметного изменения содержания миоглобина в скелетных мышцах кефалей. Имеющиеся различия не были статистически значимы (табл. 1). Уровень

же цитохромов в красных и белых мышцах на 14–16 сутки эксперимента, напротив, повышался на 36 и 45% соответственно (*p* < 0.05). Рост затрагивал в равной степени все группы цитохромов (рис. 1). Поэтому существенных

изменений стехиометрических отношений не наблюдали. Их величины совпадали с контрольными значениями (табл. 2).

**Температура 5°C.** В первые 5 суток содержания особей кефали при 5°C не наблюдали существенных отличий между контрольной и опытной группами рыб. Однако к концу экс-

перимента (36–41 сутки) отмечали увеличение концентрации миоглобина и суммарного содержания цитохромов в красных мышцах на 62–67% ( $p < 0.001$ ) (табл. 1). Рост содержания цитохромов происходил и в белых мышцах кефали, тогда как концентрация миоглобина оставалась на уровне контрольных значений.



**Рис.** Содержание цитохромов в скелетных мышцах кефали-сингиля в условиях экспериментальной гипотермии (1 – красные мышцы; 2 – белые мышцы).

**Fig.** The content of cytochromes in skeletal muscle of mullets in experimental hypothermia (1 – red muscle; 2 – white muscle).

**Таблица 2.** Стехиометрические отношения цитохромов в скелетных мышцах кефали-сингиля в условиях экспериментальной гипотермии

**Table 2.** The stoichiometric ratio of cytochromes in skeletal muscle of mullets in experimental hypothermia

Условия эксперимента Experimental conditions	n	b/aa <sub>3</sub>	
		г	w
15°C (контроль) (control)	8	1.58±0.04	0.74±0.06
10°C			
1–5 суток (days)	5	1.50±0.22	0.88±0.12
14–16 суток (days)	6	1.36±0.11	0.95±0.05
41–46 суток (days)	5	1.49±0.06	0.91±0.08
5°C			
1–5 суток (days)	6	1.57±0.15	0.84±0.06
14–16 суток (days)	7	0.81±0.04	0.95±0.03
41–46 суток (days)	5	0.83±0.06	0.90±0.06
1–2°C			
1–5 суток (days)	5	1.59±0.14	0.72±0.07
14–16 суток (days)	5	1.08±0.10	0.74±0.07

Примечание: n – число особей (fish number); г – красные мышцы (red muscle); w – белые мышцы (white muscle).

Из рисунка видно, что наибольшие изменения в красных мышцах претерпела кон-

центрация цитохрома aa<sub>3</sub> – маркерного компонента дыхательной цепи митохондрий. Содерж-

жание его увеличилось в 2.6 раза ( $p < 0.001$ ). Рост концентрации цитохромов:  $c$ ,  $c_1$ ,  $b$ , был менее выражен и составил соответственно: 68% ( $p < 0.01$ ), 48% ( $p < 0.05$ ) и 37% ( $p < 0.05$ ). В белых мышцах кефали, несмотря на общее увеличение содержания переносчиков в ткани, соотношение отдельных компонентов в цитохромной системе оставалось прежним.

О стехиометрии переносчиков дыхательных ансамблей мышечных митохондрий можно судить по сопоставлению отношений цитохромов:  $b/aa_3$ ,  $c/aa_3$ ,  $c_1/aa_3$ ,  $c+c_1/aa_3$  (табл. 2). Из этого следует, что митохондрии красных мышц кефали на 36–41 сутки содержания рыб при 5°C были качественно иные, чем в начальный момент адаптации к данной температуре (1–5 сутки эксперимента) или при 15°C (контрольная группа). Дыхательные цепочки по отношению к цитохрому  $aa_3$  были на 47% ( $p < 0.001$ ) меньше насыщены цитохромом  $b$ , на 36% ( $p < 0.001$ ) цитохромом  $c$  и на 41% ( $p < 0.001$ ) цитохромом  $c_1$ . Отношение  $c_1+c/aa_3$  также было на 38% ( $p < 0.001$ ) ниже контрольного уровня. При этом стехиометрия цитохромов в белых мышцах кефали не претерпевала статистически значимых изменений.

*Температура 1–2°C.* При данной температуре суммарное содержание цитохромов в белых и красных мышцах сохранялось на уровне контрольных значений. Отсутствовало изменение и концентрации миоглобина в мышечной ткани (табл. 1). Необходимо отметить, что эксперимент был прерван на 14–16 сутки ввиду гибели посадочного материала.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

*Миоглобин.* Миоглобин образован одной полипептидной цепью и содержит гемовую группу, основу которой составляет протопорфирин IX [Takano, 1977]. Он обладает высоким сродством к кислороду. Величина полунасыщения для данного белка составляет 0.7–0.8 гПа и сопоставима с таковой для цитохромоксидазы [Takano, 1977]. Кривая диссоциации оксимиоглобина имеет вид гиперболы [Takano, 1977]. Эти свойства миоглобина, с одной стороны, позволяют красным мышцам кефали резервировать дополнительный объем кислорода, а, с другой стороны, поддерживать высокий  $PO_2$  на уровне гематопаренхиматозного барьера, что способствует диффузионным процессам.

Значительна роль миоглобина и в обеспечении облегченной диффузии кислорода в рамках мышечной ткани. Молекулы данного белка способны диффундировать в клетке в

Анализ компонентов цитохромной системы кефали при 1–2°C показал увеличение содержания цитохрома  $aa_3$  в красных мышцах на 54% ( $p < 0.01$ ) (14–16 сутки эксперимента) (рис. 1). Концентрация других переносчиков в ткани не претерпевала существенных изменений. Состояние цитохромной системы белых мышц при 1–2°C также совпадало с отмеченным у контрольной группы рыб (15°C).

Рост концентрации цитохрома  $aa_3$  в красных мышцах приводил к изменению организации цитохромной системы в данной ткани в целом. Наиболее лабильным являлось соотношение  $b/aa_3$  (табл. 2). Его значения уменьшались на 32 % ( $p < 0.001$ ). Отношение  $c_1+c/aa_3$  понижалось на 20% ( $p < 0.01$ ). Следует отметить, что изменение стехиометрии цитохромов при 1–2°C было менее выражено, чем при температуре 5°C.

Резюмируя рассмотренные выше данные можно заключить, что при понижении температуры, начиная с 5°C, в скелетных мышцах кефали-сингиля происходил ряд характерных изменений:

- повышалось содержание миоглобина и цитохромов;
- стехиометрия дыхательной цепи митохондрий приобретала нескомпесированный характер, о чем свидетельствовал значительный рост содержания цитохрома  $aa_3$  в мышцах.

Данные изменения затрагивали преимущественно красные мышцы. Эффективность этих процессов понижалась при температурах близких к 0°C.

соответствии с концентрационными градиентами кислорода и тем самым поддерживать уровень окислительных процессов в мышечном волокне [Schechter, 2008].

Все выше перечисленное позволяет констатировать, что рост содержания миоглобина в красных мышцах кефали-сингиля при температурах близких к 5°C представляет собой компенсационную реакцию. Она направлена на поддержание кислородного режима в мышечной ткани в условиях внешней гипотермии.

*Цитохромная система.* Гипотермия вызывала и ряд адаптивных сдвигов на уровне цитохромной системы скелетных мышц кефалей. Это выражалось в увеличении содержания суммарных цитохромов. Данные изменения затрагивали, как красные, так и белые мышцы. Сходные результаты в условиях низких температур были получены ранее для представителей пресноводной ихтиофауны [Демин и др.,

1989 (Demin et al., 1989); Клячко и др., 1992; (Klyachko et al., 1992) Озернюк и др., 1993 (Ozernyuk et al., 1993)]. В печени карпа при понижении температуры воды до 5°C был зарегистрирован рост активности цитохромоксидазы [Романенко, 1991 (Romanenko, 1991)]. Повышение содержания дыхательных переносчиков должно облегчать процесс утилизации молекулярного кислорода в условиях пониженного тканевого  $PO_2$ .

Наряду с ростом общего содержания цитохромов в мышцах при гипотермии, наблюдали также изменение их соотношения (стехиометрии). Оно затрагивало исключительно красные мышцы. Так, если при 15°C отношение  $b/aa_3$  было выше единицы (1.36–1.58), то при 5°C оно существенно понижалось до уровня 0.81–0.83. Такой тип организации отражает процесс адаптации дыхательной цепи митохондрий к функционированию в среде с низким напряжением кислорода [Wodtke, 1981; Johnston, Bernard, 1982]. В ряде работ оно получило название “гипоксическая некомпенсированная стехиометрия” [Савина, 1992 (Savina, 1992)].

Следует отметить, что в белых мышцах перестройка цитохромной цепи не была выражена. По-видимому, это связано с тем, что она изначально была организована по некомпенсированному типу. Ранее было показано, что напряжение кислорода в белых мышцах рыб в условиях нормоксии значительно ниже, чем в

красных. Доля гипоксических и аноксических зон (менее 8 гПа) в них может достигать 50%, против 8% для красных мышц, что требует адекватной организации цепи переноса электронов в митохондриях [Солдатов, Парфенова, 2009; 2014 (Soldatov, Parfenova, 2009, 2014)].

Из представленной выше информации следует, что процессы, происходящих в мышечной ткани кефалей, носят явно адаптивный характер и направлены на компенсацию гипоксического эффекта гипотермии. Механизмы, лежащие в основе развития данного функционального состояния, обсуждались нами ранее. Высказано предположение, что это связано с чрезмерной вазоконстрикцией сосудов периферического русла и высоким тепловым эффектом реакции оксигенации гемоглобина при низких температурах [Солдатов, 2010 (Soldatov, 2010)].

Таким образом, при адаптации особей кефали-сингиля к температурам близким к 5°C в течение 41–46 суток в скелетных мышцах происходило увеличение содержания миоглобина и цитохромов. Процесс развивался преимущественно на уровне красных мышц. При этом организация дыхательной цепи митохондрий приобретала некомпенсированный характер, свойственный организмам, находящимся в условиях гипоксии. Отношение  $b/aa_3$  становилось меньше единицы. Близкие изменения происходили при 1–2°C, но они были менее выражены.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арсан О.М. Роль температуры водной среды в регуляции процессов гликолиза и трикарбонового цикла в организме рыб // Гидробиол. ж. 1986. Т. 22. С. 57–62.
- Арсан О.М. Участие  $Ca^{2+}$  в регуляции процессов гликолиза и трикарбонового цикла в тканях карпа при различном температурном режиме водной среды // Гидробиол. ж. 1986. Т. 22. С. 71–74.
- Гулевский А.К., Релина Л.И., Жегунова Е.Г. и др. Роль гликолиза при холодовой адаптации карася серебряного *Carassius auratus gibelio* // Пробл. криобиологии. 2007. Т. 17. С. 64–70.
- Демин В.И., Андросова И.М., Озернюк Н.Д. Адаптации энергетического обмена у рыб: влияние скорости плавания и температуры на цитохромную систему скелетных мышц // Докл. АН СССР. 1989. Т. 308, № 1. С. 241–246.
- Евдотиенко Ю.В., Мохова Е.Н. Механизмы дыхания, фотосинтеза и фиксации азота. М.: Наука, 1967. 154 с.
- Клячко О.С., Полосухина Е.С., Озернюк Н.Д. Функциональные различия мышечной лактатдегидрогеназы у рыб, адаптированных к различным температурам среды // Докл. АН СССР. 1992. Т. 325. С. 1246–1251.
- Озернюк Н.Д., Булгакова Ю.В., Демин В.И., Андросова И.М., Стельмашук Е.В. Механизмы эволюционных и онтогенетических температурных адаптаций метаболизма у пойкилотермов // Изв. АН СССР (серия биология). 1993. Т. 5. С. 703–705.
- Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Механизмы температурной акклимации рыб. К.: Наук. думка, 1991. 192 с.
- Савина М.В. Механизмы адаптации тканевого дыхания в эволюции позвоночных. С.-Петербург: Наука, 1992. 200 с.
- Савина М.В., Маслова Г.М., Демин В.И., Бакланова С.М. Исследование цитохромов в соматической и сердечной мышцах миноги *Lampetra fluviatilis* L. // Ж. эволюц. биохим. физиол. 1981. Т. 17, № 3. С. 246–253.
- Солдатов А.А. Влияние экспериментальной гипотермии на состояние капиллярной сети скелетных мышц морских рыб // Совр. пробл. физиол. биохим. водных организмов. Сб. научных статей. Т. 1. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2010. С. 278–282.

- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Напряжение кислорода в крови, скелетных мышцах и особенности тканевого метаболизма кефали-сингиля в условиях экспериментальной гипотермии // Проблемы криобиологии. 2009. Т. 19. С. 290–300.
- Солдатов А.А., Парфенова И.А. Стехиометрия цитохромов и напряжение кислорода в скелетных мышцах морских рыб // Укр. биохим. журн. 2014. Т. 96, № 2. С. 60–67.
- Шекк П.В. Биолого-технологические основы культивирования кефалевых и камбаловых. Херсон: ЧП Гринь, 2012. 306 с.
- Шекк П.В., Куликова Н.И., Руденко В.И. Возрастные изменения реакции черноморского сингиля *Liza aurata* на низкую температуру // Вопросы ихтиологии. 1990. Т. 30. С. 94–106.
- Heise K., Puntarulo S., Nikinmaa M. et al. Oxidative stress and HIF-1 DNA binding during stressful cold exposure and recovery in the North Sea eelpout (*Zoarces viviparus*) // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 2006. Vol. 143. P. 494–503.
- Johnston I. A., Bernard L. M. Ultrastructure and metabolism of skeletal muscle fibres in the tench: effect of long-term acclimation to hypoxia // Cell Tiss. Res. 1982. Vol. 227. P.179–199.
- Reynafarie B. Simplified method for the determination of myoglobin // J. Lab. Clin. Med. 1963. Vol.61, N1. P.138–145.
- Schechter A. N. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine // Blood. 2008. Vol. 112. No 10. P. 3927–3938.
- Soitamo A.J., Raabergh C.M.I., Gassmann M. et al. Characterization of a Hypoxia-inducible Factor (HIF-1) from Rainbow Trout: Accumulation of protein occurs at normal venous oxygen tension // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. P. 19699–19705.
- Soldatov A.A., Savina M.V. Effect of hypoxia on the content and stoichiometry of cytochromes in muscle of the gray mullet *Liza aurata* // J. Evolut. Biochem. Physiol. 2008. Vol. 44, No 5. P. 599–604.
- Takano T. Structure of myoglobin refined at 2.0 Å resolution. II. Structure of deoxymyoglobin from sperm whale // J. Mol. Biol. 1977. Vol. 110, No 3. P. 569–584.
- Van Handel P.J., Sandell W.R., Mole P.A. Effects of exogenous cytochrome c on respiratory capacity of head and skeletal muscle // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1977. Vol. 27. P. 1213–1219.
- Wodtke E. Temperature adaptation of biological membranes. Compensation of the molar activity of cytochrome C oxidase in the mitochondrial energy-transducing membrane during thermal acclimation of the carp (*Cyprinus carpio* L.) // Biochim. biophys. acta. 1981. Vol. 640. No 3. P. 710–720.

## REFERENCES

- Arsan O.M. 1986. Rol temperaturi vodnoi sredi v regulatsii protsesov glikoliza i trikarbonovogo tsikla v organizme ryb [The role of the temperature of the water environment in the regulation of glycolysis and tricarboxylic cycle in fish body] // Hidrobiologicheskii Zurnal. T. 22. S. 57–62. [In Russian]
- Arsan O.M. 1986. Uchastie  $\text{Ca}^{2+}$  v regulatsii protsesov glikoliza i trikarbonovogo tsikla v tkanyah karpa pri razlihnom temperaturnom regime vodnoi sredi [The involvement of  $\text{Ca}^{2+}$  in the regulation of glycolysis and tricarboxylic cycle in the tissues of common carp at different temperatures of the water environment] // Hidrobiologicheskii Zurnal. T. 22. S. 71–74. [In Russian]
- Demin V.I., Androsova I.M., Ozernyuk N.D. 1989. Adaptatsii energeticheskogo obmena u rib: vliyanie skorosti plavaniya i temperature na tsitochromnyu sistemu skeletnih mishts [Adaptation of energy metabolism in fish: the influence of swimming speed and temperature on the cytochrome system of skeletal muscle] // Dokl. AN SSSR. T. 308, № 1. S. 241–246. [In Russian]
- Evdotienko Yu.V., Mohova E.N. 1967. Mehanizmi dihaniya, fotosinteza i fiksatsii azota [The mechanisms of respiration, photosynthesis and nitrogen fixation] M.: Nauka. 154 s. [In Russian]
- Gulevskii A.K., Relina L.I., Gegunova E.G. 2007. Rol glikoliza pri holodovoi adaptatsii karacya serebryanogo *Carassius auratus gibelio* [The Role of glycolysis in cold adaptation of silver crucian carp *Carassius auratus gibelio*] // Problemi kriobiologii. T. 17. S. 64–70. [In Russian]
- Heise K., Puntarulo S., Nikinmaa M. 2006. Oxidative stress and HIF-1 DNA binding during stressful cold exposure and recovery in the North Sea eelpout (*Zoarces viviparus*) // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. Vol. 143. P. 494–503.
- Johnston I.A., Bernard L.M. 1982. Ultrastructure and metabolism of skeletal muscle fibres in the tench: effect of long-term acclimation to hypoxia // Cell Tiss. Res. Vol. 227. P. 179–199.
- Klyachko O.S., Polosuhina E.S., Ozernyuk N.D. 1992. Funktsionalnie razlichiya mishechnoi laktatdegidrogenazy u rib, adaptirovannih k razlichim temperaturam sredi [Functional differences in muscle lactate dehydrogenase in fish adapted to different temperatures of the environmental] // Dokl. AN SSSR. T. 325. S. 1246–1251. [In Russian]
- Ozernyuk N.D., Bulgakova Yu.V., Demin V.I., Androsova I.M., Stelmaschuk E.V. 1993. Mehanizmi evoliutsionnih i ontogeneticheskikh temperaturnih adaptatsii metabolizma u poikilothermov [Mechanisms of evolutionary and ontogenetic temperature adaptations of metabolism in poikilotherms] // Izv. AN SSSR (seriya biologicheskaya). T. 5. S. 703–705. [In Russian]
- Reynafarie B. 1963. Simplified method for the determination of myoglobin // J. Lab. Clin. Med. Vol. 61, No1. P. 138–145.
- Romanenko, Arsan O.M., Solomatina V.D. 1991. Mehanizmi temperaturnoi akklimatsii rib [Mechanisms of temperature acclimation in fish]. K.: Naukova dumka. 192 s. [In Russian]

- Savina M.V. 1992. Mehanizmi adaptatsii tkanevogo dihaniya v evolyutsii pozvonochnih. [Adaptation mechanisms of tissue respiration in evolution of vertebrates] S.-Peterburg: Nauka. 200 s. [In Russian]
- Savina M.V., Maslova G.M., Demin V.I., Baklanova S.M. 1981. Issledovanie tsitohromov v somaticheskoi i serdechnoi mishtsah minogi *Lampetra fluviatilis* L. [Study of cytochromes in somatic and heart muscles of the lamprey *Lampetra fluviatilis* L.] // Z. Evolyuts. Biohim. Fiziol. T. 17 № 3. S. 246–253. [In Russian]
- Schechter A. N. 2008. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine // Blood. Vol. 112, No 10. P. 3927–3938.
- Shekk P.V. 2012. Biologo-tehnologicheskie osnovi kultivirovaniya kefalevikh i kambalovikh. [Biotechnological basis of the cultivation of mullet and flatfish] Herson: CHP Grin, 2012. 306 s. [In Russian]
- Shekk P.V., Kulikova N.I., Rudenko B.I. 1990. Vozrastnie izmeneniya reaktsii chernomorskogo singilya na nizkuyu temperature [Age-related changes in the response of the black sea mullet *Liza aurata* at low temperature] // Voprosi ihtologii. T. 30. S. 94–106. [In Russian]
- Soitamo A.J., Raaberg C.M.I., Gassmann M. 2001. Characterization of a Hypoxia-inducible Factor (HIF-1) from Rainbow Trout: Accumulation of protein occurs at normal venous oxygen tension // J. Biol. Chem. Vol. 276. P. 19699–19705.
- Soldatov A.A. 2010. Vliyanie eksperimentalnoi gipotermii na sostoyanie kapillyarnoi seti skeletnih mishtsah morskikh ryb // Sovremennye problem fiziologii i biokhimii vodnykh organizmov. [Influence of hypothermia on experimental condition of the capillary network in skeletal muscles of marine fish] Sbornik nauchnykh statei. T. 1. Petrozavodsk: KarNTS RAN. S. 278–282. [In Russian]
- Soldatov A.A., Parfyonova I.A. 2009. Napryazhenie kisloroda v krovi, skeletnykh mishtsakh i osobennosti tkanevogo metabolizma kefali-sigilya v usloviyakh eksperimentalnoi gipotermii [Oxygen tension in the blood, skeletal muscle and tissue features of metabolism mullet in experimental hypothermia] // Problemy kriobiologii. T. 19. S. 290–300. [In Russian]
- Soldatov A.A., Parfyonova I.A. 2014. Stehiometriya tsitohromov i napryazhenie kisloroda v skeletnykh mishtsakh morskikh ryb [The stoichiometry of cytochromes and oxygen tension in skeletal muscles saltwater fish] // Ukr. Biohim. Zurn. T. 96, № 2. S. 60–67. [In Russian]
- Soldatov A.A., Savina M.V. 2008. Effect of hypoxia on the content and stoichiometry of cytochromes in muscle of the gray mullet *Liza aurata* // J. Evolut. Biochem. Physiol. Vol. 44, No 5. P. 599–604.
- Takano T. 1977. Structure of myoglobin refined at 2.0 Å resolution. II. Structure of deoxymyoglobin from sperm whale // J. Mol. Biol. Vol. 110, No 3. P. 569–584.
- Van Handel P.J., Sandell W.R., Mole P.A. 1977. Effects of exogenous cytochrome c on respiratory capacity of head and skeletal muscle // Biochem. Biophys. Res. Commun. Vol. 27. P. 1213–1219.
- Wodtke E. 1981. Temperature adaptation of biological membranes. Compensation of the molar activity of cytochrome C oxidase in the mitochondrial energy-transducing membrane during thermal acclimation of the carp (*Cyprinus carpio* L.) // Biochim. biophys. acta. Vol. 640, No 3. P. 710–720.

## THE CYTOCHROME SYSTEM AND THE LEVEL OF MYOGLOBIN IN SKELETAL MUSCLE OF GOLDEN MULLET (*LIZA AURATA* RISSO) UNDER EXPERIMENTAL HYPOTHERMIA

A. A. Soldatov, I. A. Parfenova

A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Studies RAS  
29011 Sevastopol, Ave Nakhimov 2. e-mail: alekssoldatov@yandex.ru

The effect of hypothermia on the content of myoglobin and cytochromes in the skeletal muscle of golden mullet (*Liza aurata* Risso) were investigation under the experimental conditions. Control group fish were kept at  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ . The water temperature in the tanks was lowered at a speed of  $0.2^\circ\text{C h}^{-1}$  to  $10 \pm 1.5 \pm 1$  and  $1-2^\circ\text{C}$  and examined the process of adaptation to these conditions for 46 days. The concentration of myoglobin and cytochromes in muscle tissue marked increase to 62–67% ( $p < 0.001$ ) at temperatures close to  $5^\circ\text{C}$ . The process developed mainly in red muscles. The organization of mitochondria respiratory chain was acquired uncompensated nature, characteristic of the organisms under hypoxia. The ratio of  $b/aa_3$  was less than unity and accounted for 0.80–0.85, versus 1.5–1.65 in the control group of fish. Similar changes occurred at  $1-2^\circ\text{C}$ , but they were less pronounced.

**Keywords:** hypothermia, hypoxia, skeletal muscle, myoglobin, cytochromes, the stoichiometry of cytochromes, marine fish



УДК 597.554.3.575.2

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППИРОВКИ СЕГОЛЕТОК ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus* (L.) (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПРУДОВЫХ ВЫБОРКАХ

Ю. В. Чеботарева, Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: pisces68@mail.ru

Исследованы морфологические признаки сеголеток плотвы, в разное время подходящих к водоспуску при сбросе воды из рыбоводных прудов. У молоди, в течение большего времени находящейся на течении, обнаружено меньшее число позвонков в хвостовом отделе позвоночника и меньшее количество аномалий позвоночника. Отмечена связь межгрупповых различий в выборках с разнообразием условий обитания рыб в пруду, их происхождением и особенностями эмбрионального развития.

**Ключевые слова:** плотва, изменчивость, морфология, поведение.

### ВВЕДЕНИЕ

Плотва *Rutilus rutilus* (L.) – полиморфный вид, образующий на своем ареале группировки, различающиеся по темпу роста, пластическим и меристическим признакам, питанию, скорости созревания и т.д. [Касьянов, 1990 (Kas'yanov, 1990); Рыбы Рыбинского водохранилища..., 2015 (Fishes of the Rybinsk reservoir..., 2015)]. Различия между популяциями плотвы связывают как с естественными (температура, соленость, кормовая база) [Мироновский, 1986 (Mironovsky, 1986); Касьянов и др., 1997 (Kas'yanov et al., 1997)], так и с антропогенными [Яковлев, 1992 (Yakovlev, 1992); Izumov et al., 1998] факторами.

Морфологическая дивергенция плотвы начинается уже на первом году жизни. У личинок были выявлены две фенотипические группировки – мигрантов и резидентов [Костин, Лупандин, 2001 (Kostin, Lupandin, 2001); Pavlov et al., 2001]. У сеголеток обнаружены два морфотипа, один из которых обитает в открытой литорали, другой – в защищенном прибрежье [Столбунов, 2005 (Stolbunov, 2005); Stolbunov, Gerasimov, 2008].

В наших экспериментах воздействие различных факторов (токсикантов, магнитного поля, повышенной температуры) на эмбрионы плотвы приводило к изменению ряда морфологических признаков молоди относительно контрольной группы рыб [Kas'yanov et al., 2001; Izumov et al., 2002; Крылов и др., 2010 (Krylov et al., 2010); Chebotareva et al., 2009 a, b, 2016]. В частности, возрастала доля рыб с нарушениями в строении позвоночника, а также количество и серьезность таких нарушений [Chebotareva et al., 2009 a, 2016]. Аномалии развития осевого скелета рыб могут отражаться на размерах рыб, их пластических признаках, выживаемости [Катасонов, Гомельский, 1991 (Katasonov, Gomel'skiy, 1991); Hansen et al., 2010]. Анализируя эффекты раздельного и

совместного воздействия магнитного поля (с частотой 500 Гц и индукцией 1.4–1.6 мкТл) и постоянной температуры 23°C на эмбрионы у сеголеток плотвы, мы разделили контрольную и экспериментальные выборки на 3 группы – рыбы без аномалий (“нормальные”), рыбы с аномалиями в строении позвоночника, но без сращений позвонков (“аномальные”) и рыбы со сращениями позвонков [Chebotareva et al., 2016]. В выборке молоди после совместного воздействия двух факторов “аномальные” рыбы превосходили две другие группы и по длине, и по массе. Результатом подобного расхождения (учитывая крайне низкую эмбриональную выживаемость – 0.5%), вероятно, стал жесткий отбор особей по комплексу признаков, связанных с темпом роста. Группу “аномальных” могли составить сеголетки с более высоким темпом роста и относительно устойчивым морфогенезом, а “нормальных” – рыбы со сниженным темпом роста, что препятствовало накоплению ошибок при развитии позвоночника [Chebotareva et al., 2016].

В любой экспериментальной группе молодь плотвы неоднородна, что касается не только размеров и морфологии. Облавливая экспериментальные пруды, мы обратили внимание на различия в поведении сеголеток. При сбросе воды из прудов первыми по течению спускаются одиночные особи, они совершают резкие броски в сторону водоспуска и так же быстро возвращаются в верхнюю часть пруда. Часть рыб держится в русле стекающей воды, постепенно с течением подходя к водоспуску. Некоторое количество сеголеток плотвы вообще не уходит с током воды. Эти рыбы могут оставаться среди водной растительности или в лужах в понижениях водосборной канавы.

Цель настоящей работы – оценить возможные морфологические различия между рыбами, отличающимися по поведению.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован материал двух прудовых сезонов – 2008 и 2011 гг. Сеголетки 2008 г. получены от скрещивания 10 самок и 6 самцов плотвы из Рыбинского водохранилища (в возрасте 4–8 лет). Молодь 2011 г. получена от 7 самок и 2 самцов (7-годовики) морожковой плотвы (3 поколение рыб, привезенных на прудовую базу “Сунога” в 1995 г. из оз. Морожское в Дарвинском заповеднике). Икру осеменяли сухим способом. Инкубацию проводили в кристаллизаторах с речной водой. В эксперименте 2008 г. первые 38 ч. развития эмбрионов прошли при постоянной температуре 23°C (зародыши достигли начала органогенеза), после чего развитие шло при естественном ходе температур (вариант 8-1). В 2011 г. зародыши плотвы развивались при естественном температурном режиме (суточные колебания 16–19°C). При этом вариант 11-2 не подвергался каким-либо воздействиям в эмбриогенезе (контроль), а вариант 11-3 испытал воздействие типичной сильной магнитной бури, записанной на широте эксперимента, в течение 3-их суток развития (48–72 ч. после оплодотворения; этапы развития эмбриона – сегментация, начало движения и пульсации сердца).

Вылупление предличинок началось в 2008 г. через 6 сут., массовое вылупление – через 6.5 сут. после оплодотворения; в 2011 г. – соответственно через 6.5 и 8 сут. Выживаемость эмбрионов к началу вылупления: 8-1 – 28.4%, 11-2 – 69.0% и 11-3 – 65.1%.

После заполнения плавательного пузыря воздухом (10 сут. – 2008 г. и 13 сут. – 2011 г.) личинок выпустили в пруды с естественной кормовой базой, где сеголетки находились около 4 месяцев. Глубина всех трех прудов 1.3–1.5 м. Размеры 40x10 м<sup>2</sup> (варианты 8-1 и 11-2) и 30x12 (11-3). В больших прудах хорошо развита погруженная растительность (нитчатые водоросли, водяной мох, рдесты), есть небольшие участки, занятые тростником. В меньшем пруду дно покрыто залитой луговой растительностью. Центральная водосборная канава лучше всего была выражена в меньшем из трех прудов, сброс воды из него проходил быстро и равномерно. В пруду варианта 8-1 вода при спуске задерживалась в небольшом понижении дна центральной части пруда. В пруду варианта 11-2 русло основного стока воды проходило вдоль края пруда. После сброса воды в верхней части пруда осталась большая лужа площадью около 10 м<sup>2</sup> и глубиной до 10 см.

При спуске прудов рыбу отлавливали сачком на подходе к рыбной яме. По времени подхода рыб собирали отдельно, примерно по 30 (2008 г.) или 20 (2011 г.) штук. В выборке 2008 г. есть группа из 15 рыб – это последние особи, спустившиеся по руслу к водоспуску, остальных собирали в верховьях пруда. В группе 11-3 вследствие быстрого сброса воды из пруда последних рыб (60 шт.) не удалось разделить на группы.

У сеголеток определяли длину до конца чешуйного покрова (*SL*), массу тела (*Q*), число чешуй в боковой линии (*ll*), число мягких лучей в спинном (*D*), анальном (*A*), а также грудных (*P*) и брюшных (*V*) плавниках слева и справа. Осевого скелет препарировали по методике В. Н. Яковлева с соавторами (1981) (Yakovlev et al., 1981). Подсчитывали число позвонков в туловищном (*vert.a.*), переходном (*vert.i.*) и хвостовом (*vert.c.*) отделах, а также их сумму (*vert.*), включая веберовы и преуральные. К позвонкам переходного отдела относили последние позвонки туловищного отдела, отличающиеся от типичных туловищных наличием развитых парапофизов, срастающихся с их телами. Позвонки переходного отдела отличаются от хвостовых отсутствием нижнего остистого отростка.

У рыб определяли число позвонков с нарушениями развития – общее (*an.Vt*) и по отделам (*an.Va*, *an.Vi*, *an.Vc* – соответственно для туловищного, переходного и хвостового отделов). Таковыми считали деформации тел и дуг позвонков; сращения позвонков; сращения невральных и гемальных дуг соседних позвонков; незамкнутые невральные или гемальные дуги; несращение дуги с телом позвонка; перемещение основания невральной или гемальной дуги на соседний позвонок; отсутствие ветвей невральных или гемальных дуг; наличие дополнительных ветвей невральной или гемальной дуги [Chebotareva, 2009]. Помимо этого, у каждой рыбы провели отдельный подсчет количества сращений позвонков (*N.sr.*) и количества позвонков в составе сращений (*N.v.sr.*). Средние значения числа аномалий определяли в каждой группе рыб на всех особей и отдельно на рыб с аномалиями позвоночника (*an.Vt*, *an.Va*, *an.Vi*, *an.Vc*) и сращениями позвонков (*N.sr.*, *N.v.sr.*).

При статистической обработке материала использовали дисперсионный анализ с последующей оценкой различий между группами с помощью LSD-теста.

# РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При спуске прудов молодь плотвы начинает появляться вблизи рыбной ямы, когда уровень воды в ней около 20 см. К водоспуску сначала подходят одиночные рыбы, они совершают резкие броски к сетке, перегораживающей водоспуск, и так же быстро возвращаются в верхнюю часть пруда. По мере понижения уровня воды часть молоди постепен-

но сплавляется по водосборной канаве, держась группами против течения. Эти группы постепенно сносятся к водоспуску. Рыбы, находящиеся ниже по течению, время от времени перемещаются в переднюю часть стайки, и вся стая периодически поднимается вверх по течению.

**Таблица 1.** Морфологические признаки сеголеток плотвы в варианте 8-1 (примечания: здесь и в следующих таблицах признаки обозначены, как в главе "Материалы и методы"; различающиеся значения выделены жирным шрифтом; <sup>1,2,3,4,5</sup> – значение в группе достоверно ( $p < 0.05$ ) отличается от соответствующего варианта)

**Table 1.** Morphological indices of roach fingerlings in the embodiment 8-1 (Note: here and in the following tables indices are marked as in the "Materials and Methods"; different values are in bold; <sup>1,2,3,4,5</sup> – value in the group significantly ( $p < 0.05$ ) different from the corresponding variant)

Признак Index	Группы рыб Fish groups				
	1 (n=30)	2 (n=33)	3 (n=41)	4 (n=15)	5 (n=34)
<i>SL</i> , мм	62.60±0.493	61.89±0.552	61.30±0.599	61.27±0.740	62.37±0.577
<i>SL</i> , mm					
<i>Q</i> , г	4.63±0.114	4.41±0.120	4.40±0.142	4.25±0.176	4.49±0.140
<i>Q</i> , g					
<i>ll</i>	43.24±0.292	<b>43.03±0.271</b> <sup>3</sup>	<b>43.95±0.222</b> <sup>2,4</sup>	<b>43.08±0.348</b> <sup>3</sup>	43.45±0.220
<i>D</i>	9.90±0.056	10.00±0.044	10.00±0.035	9.93±0.067	9.91±0.078
<i>A</i>	<b>9.93±0.046</b> <sup>5</sup>	<b>9.91±0.051</b> <sup>5</sup>	10.00±0.070	<b>9.87±0.133</b> <sup>5</sup>	<b>10.15±0.075</b> <sup>1,2,4</sup>
<i>P</i> лев.	15.86±0.108	16.03±0.138	16.15±0.122	16.07±0.182	15.91±0.115
<i>P</i> left					
<i>P</i> пр.	15.97±0.112	16.06±0.142	16.02±0.133	16.00±0.137	16.03±0.137
<i>P</i> right					
<i>V</i> лев.	7.97±0.033	8.00±0.044	8.02±0.043	8,07±0,067	8,06±0,059
<i>V</i> left					
<i>V</i> пр.	7.97±0.033	<b>7.91±0.051</b> <sup>4</sup>	<b>7.90±0.058</b> <sup>4</sup>	<b>8.13±0.133</b> <sup>2,3</sup>	8.06±0.072
<i>V</i> right					
<i>vert.a.</i>	16.97±0.169	16.85±0.175	16.88±0.168	16.80±0.145	17.09±0.176
<i>vert.i.</i>	3.27±0.135	3.36±0.122	3.49±0.131	3.53±0.256	3.24±0.127
<i>vert.c.</i>	15.37±0.162	<b>15.42±0.169</b> <sup>5</sup>	15.37±0.134	14.93±0.182	<b>14.97±0.155</b> <sup>2</sup>
<i>vert.</i>	42.60±0.201	42.64±0.212	42.73±0.237	42.27±0.267	42.29±0.229
Аномалии позвоночника Abnormalities of axial skeleton					
все рыбы all fishes					
<i>an.Va</i>	6.07±1.090	4.88±0.922	6.44±0.956	<b>7.73±1.278</b> <sup>5</sup>	<b>4.18±0.889</b> <sup>4</sup>
<i>an.Vi</i>	1.47±0.298	<b>1.00±0.238</b> <sup>4</sup>	1.37±0.231	<b>2.07±0.371</b> <sup>2,5</sup>	<b>1.03±0.262</b> <sup>4</sup>
<i>an.Vc</i>	4.53±0.838	<b>5.91±0.665</b> <sup>5</sup>	4.78±0.701	4.80±1.096	<b>3.53±0.706</b> <sup>2</sup>
<i>an.Vt</i>	12.07±1.898	11.79±1.362	12.59±1.495	<b>14.60±2.221</b> <sup>5</sup>	<b>8.74±1.400</b> <sup>4</sup>
<i>N.sr.</i>	1.90±0.353	1.67±0.225	1.80±0.288	1.80±0.296	1.15±0.239
<i>N.v.sr.</i>	4.70±0.858	3.91±0.555	4.41±0.746	4.27±0.740	2.88±0.572
Рыбы с аномалиями позвоночника Fishes with skeleton abnormalities					
<i>n</i> , (%)	26 (86.67%)	<b>32 (97.97%)</b> <sup>5</sup>	37 (90.24%)	14 (93.33%)	<b>26 (76.47%)</b> <sup>2</sup>
<i>an.Va</i>	7.00±1.153	5.03±0.938	7.14±0.994	8.29±1.238	5.46±1.041
<i>an.Vi</i>	1.69±0.322	<b>1.03±0.244</b> <sup>4</sup>	1.51±0.244	<b>2.21±0.366</b> <sup>2</sup>	1.35±0.318
<i>an.Vc</i>	5.23±0.892	6.09±0.659	5.30±0.728	5.14±1.119	4.62±0.812
<i>an.Vt</i>	13.92±1.946	12.16±1.353	13.95±1.491	15.64±2.106	11.42±1.469
Рыбы со сращениями позвонков Fishes with vertebral fusion					
<i>n</i> , (%)	21 (70.00%)	<b>27 (81.82%)</b> <sup>5</sup>	31 (75.61%)	<b>13 (86.67%)</b> <sup>5</sup>	<b>19 (55.88%)</b> <sup>2,4</sup>
<i>N.sr.</i>	2.71±0.385	2.04±0.217	2.39±0.317	2.08±0.265	2.05±0.291
<i>N.v.sr.</i>	6.71±0.921	4.78±0.550	5.84±0.839	4.92±0.684	5.16±0.650

**Таблица 2.** Морфологические признаки сеголеток плотвы в варианте 11-2

**Table 2.** Morphological indices of roach fingerlings in the embodiment 11-2

Признак Index	Группы рыб Fish groups			
	1 (n=20)	2 (n=24)	3 (n=25)	4 (n=68)
<i>SL</i> , мм	<b>76.89±0.658<sup>4</sup></b>	78.23±0.513	77.81±0.735	<b>78.68±0.335<sup>1</sup></b>
<i>SL</i> , mm				
<i>Q</i> , г	8.90±0.176	9.37±0.153	9.26±0.235	9.34±0.125
<i>Q</i> , g				
<i>ll</i>	43.00±0.280	43.00±0.281	42.92±0.282	42.79±0.123
<i>D</i>	9.70±0.128	9.83±0.078	9.76±0.087	9.84±0.045
<i>A</i>	9.55±0.114	9.58±0.119	9.56±0.101	9.75±0.053
<i>P</i> лев.	14.90±0.143	15.25±0.150	15.08±0.140	15.07±0.061
<i>P</i> left				
<i>P</i> пр.	15.05±0.135	15.04±0.141	15.16±0.111	15.07±0.065
<i>P</i> right				
<i>V</i> лев.	7.85±0.082	7.79±0.085	7.92±0.080	7.75±0.053
<i>V</i> left				
<i>V</i> пр.	7.70±0.105	7.71±0.095	7.80±0.082	7.69±0.056
<i>V</i> right				
<i>vert.a.</i>	16.60±0.134	16.57±0.123	16.52±0.131	16.55±0.075
<i>vert.i.</i>	2.90±0.100	<b>2.74±0.129<sup>3</sup></b>	<b>3.16±0.095<sup>2</sup></b>	2.95±0.076
<i>vert.c.</i>	15.25±0.143	<b>15.52±0.152<sup>3</sup></b>	<b>15.00±0.141<sup>2,4</sup></b>	<b>15.38±0.094<sup>3</sup></b>
<i>vert.</i>	41.75±0.176	41.83±0.195	41.68±0.160	41.88±0.102

Аномалии позвоночника  
Abnormalities of axial skeleton

все рыбы  
all fishes

<i>an.Va</i>	2.70±0.957	2.67±0.922	3.48±1.090	1.97±0.431
<i>an.Vi</i>	0.55±0.235	<b>0.21±0.170<sup>3</sup></b>	<b>1.04±0.297<sup>2,4</sup></b>	<b>0.40±0.111<sup>3</sup></b>
<i>an.Vc</i>	2.80±0.787	2.96±0.797	2.48±0.679	2.85±0.475
<i>an.Vt</i>	6.05±1.679	5.83±1.495	7.00±1.680	5.22±0.869
<i>N.sr.</i>	0.75±0.260	0.58±0.199	0.88±0.267	0.57±0.121
<i>N.v.sr.</i>	1.75±0.624	1.50±0.538	2.28±0.696	1.22±0.254

Рыбы с аномалиями позвоночника  
Fishes with skeleton abnormalities

n (%)	13 (65%)	14 (58.33%)	18 (72%)	46 (67.65%)
<i>an.Va</i>	4.15±1.315	4.57±1.382	4.83±1.394	2.91±0.5904
<i>an.Vi</i>	0.85±0.337	<b>0.36±0.289<sup>3</sup></b>	<b>1.44±0.372<sup>2,4</sup></b>	<b>0.59±0.157<sup>3</sup></b>
<i>an.Vc</i>	4.31±0.983	5.07±1.051	3.44±0.841	4.22±0.607
<i>an.Vt</i>	9.31±2.083	10.00±1.890	9.72±1.995	7.72±1.111

Рыбы со сращениями позвонков  
Fishes with vertebral fusion

n (%)	8 (40%)	9 (37.5%)	9 (36%)	22 (32.35%)
<i>N.sr.</i>	1.88±0.398	1.56±0.338	2.44±0.338	1.77±0.207
<i>N.v.sr.</i>	4.38±0.999	4.00±0.986	<b>6.33±0.913<sup>4</sup></b>	<b>3.77±0.421<sup>3</sup></b>

Некоторое количество сеголеток держится в верховьях водосборных канав, они подходят к водоспуску, когда почти вся вода из пруда уже сброшена. Часть рыб не сплавляется по течению, а остается после спуска пруда среди водной растительности или в лужах в понижениях дна пруда.

В варианте 8-1 нам удалось отобрать 5 групп сеголеток, из них 4 были отловлены по времени подхода к водоспуску, а последняя группа собрана в луже, оставшейся в верховьях пруда. У 1-й группы достоверных отличий от остальных почти не было, только число лу-

чей в анальном плавнике было меньше, чем в группе 5 (табл. 1).

Но от 5-й группы по этому признаку отличались также 2-я и 4-я. 3-я группа отличалась от 2-й и 4-й большим числом чешуй в боковой линии. У молоди из 4-й группы больше лучей в правом брюшном плавнике, чем у сеголеток из 2-й и 3-й групп. Число позвонков в хвостовом отделе позвоночника, близкое у групп 1–3, оказалось больше, чем у групп 4–5, однако достоверные различия есть только между 2-й и 5-й группами. Рыбы из 5-й группы отличаются меньшим числом нарушений в

**Таблица 3.** Морфологические признаки сеголеток плотвы в варианте 11-3

**Table 3.** Morphological indices of roach fingerlings in the embodiment 11-3

Признак Index	Группы рыб Fish groups		
	1 (n=20)	2 (n=19)	3 (n=60)
<i>SL</i> , мм	89.64±0.963	91.60±2.134	89.15±0.610
<i>SL</i> , mm			
<i>Q</i> , г	14.50±0.387	14.98±0.707	14.55±0.223
<i>Q</i> , g			
<i>ll</i>	43.00±0.459	43.42±0.336	42.84±0.199
<i>D</i>	9.90±0.069	9.84±0.086	9.97±0.033
<i>A</i>	9.50±0.115	9.42±0.139	9.53±0.069
<i>P</i> лев.	15.05±0.170	15.05±0.179	14.86±0.078
<i>P</i> left			
<i>P</i> пр.	14.95±0.114	15.21±0.123	14.92±0.081
<i>P</i> right			
<i>V</i> лев.	7.65±0.109	7.74±0.104	7.63±0.064
<i>V</i> left			
<i>V</i> пр.	7.85±0.196	7.53±0.118	7.61±0.065
<i>V</i> right			
<i>vert.a.</i>	16.70±0.128	16.47±0.177	16.75±0.089
<i>vert.i.</i>	3.15±0.131	3.21±0.123	3.17±0.081
<i>vert.c.</i>	15.10±0.204	15.53±0.234	15.05±0.124
<i>vert.</i>	41.95±0.276	42.21±0.211	41.97±0.128
Аномалии позвоночника Abnormalities of axial skeleton			
все рыбы all fishes			
<i>an.Va</i>	4.60±1.274	<b>1.89±0.760<sup>3</sup></b>	<b>4.78±0.672<sup>2</sup></b>
<i>an.Vi</i>	0.70±0.272	<b>0.32±0.154<sup>3</sup></b>	<b>1.22±0.195<sup>2</sup></b>
<i>an.Vc</i>	5.90±0.879	<b>4.37±1.004<sup>3</sup></b>	<b>7.40±0.715<sup>2</sup></b>
<i>an.Vt</i>	11.20±1.999	<b>6.47±1.339<sup>3</sup></b>	<b>13.40±1.334<sup>2</sup></b>
<i>N.sr.</i>	1.70±0.356	<b>0.95±0.281<sup>3</sup></b>	<b>1.90±0.228<sup>2</sup></b>
<i>N.v.sr.</i>	4.20±0.961	<b>2.05±0.614<sup>3</sup></b>	<b>4.70±0.577<sup>2</sup></b>
Рыбы с аномалиями позвоночника Fishes with skeleton abnormalities			
n (%)	19 (95.00%)	16 (84.21%)	52 (86.67%)
<i>an.Va</i>	4.84±1.318	<b>2.25±0.878<sup>3</sup></b>	<b>5.52±0.723<sup>2</sup></b>
<i>an.Vi</i>	0.74±0.285	<b>0.38±0.180<sup>3</sup></b>	<b>1.40±0.213<sup>2</sup></b>
<i>an.Vc</i>	6.21±0.867	<b>5.19±1.073<sup>3</sup></b>	<b>8.54±0.701<sup>2</sup></b>
<i>an.Vt</i>	11.79±2.014	<b>7.69±1.390<sup>3</sup></b>	<b>15.46±1.323<sup>2</sup></b>
Рыбы со сращениями позвонков Fishes with vertebral fusion			
n (%)	15 (75.00%)	9 (47.37%)	41 (68.33%)
<i>N.sr.</i>	2.27±0.371	2.00±0.333	2.78±0.225
<i>N.v.sr.</i>	5.60±1.055	4.33±0.745	6.88±0.587

строении позвонков (табл. 1): в составе этой группы меньше рыб со сращениями позвонков и с аномалиями в целом. Однако число позвонков с аномалиями развития достоверно меньше в группе 5 только при сравнении этих показателей у всех рыб. По числу позвонков с различными нарушениями достоверные различия отмечались только по признаку *an.Vi* между группами 2 и 4 (табл. 1).

В варианте 11-1 первая группа рыб отличалась меньшей длиной, хотя различия были достоверны только с группой 4. 3-я группа отличалась от 2-й и 4-й меньшим числом по-

звонков в хвостовом отделе позвоночника и от 2-й – большим числом позвонков в переходном отделе. В переходном отделе позвоночника у группы 3 также было больше позвонков аномального строения, чем в группах 2 и 4, как при расчете на всех рыб в выборках, так и только на рыб с аномалиями. Кроме того, у рыб со сращениями позвонков в 3-й группе было больше позвонков в составе сращений, чем в 4-й (табл. 2).

Различия в морфологии между группами сеголеток в варианте 11-3 были обнаружены только по числу позвонков с нарушениями

развития. Показатели количества аномалий (*an.Va*, *an.Vi*, *an.Vc*, *an.Vt*, *N.sr.*, *N.v.sr.*), рассчитанные как на каждую рыбу в выборке, так и на рыб с аномалиями, в группе 3 превышают соответствующие значения признаков 2-й группы в 1.5–2.5 раза (табл. 3). При этом доля рыб с аномалиями позвоночника в этих группах почти одна и та же. Если рассматривать

только рыб с нарушениями в развитии осевого скелета, то в этом случае достоверные различия не обнаружены только при сравнении показателей, относящихся к сращениям позвонков (табл. 3). Сеголетки из 1-й группы достоверно не отличались от двух других ни по одному из рассматриваемых признаков.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на то, что группы рыб (кроме 5-й в варианте 8-1 и 4-й в варианте 11-2) были отобраны нами достаточно условно, в пределах каждой выборки были выявлены межгрупповые различия по ряду морфологических признаков.

Разновременное появление сеголеток в районе водоспуска при сбросе воды из пруда может быть вызвано двумя причинами: распределением молоди по акватории пруда и разной возможностью особей сопротивляться течению. По нашим наблюдениям, молодь плотвы в пруду держится стайками в течение первого месяца жизни, в дальнейшем рассредоточиваясь по всему водоему. В этом случае первую группу подошедших к водоспуску особей могут составлять рыбы, обитавшие вблизи него.

В случае, если распределение молоди по руслу водотока связано в большей степени с ее плавательной способностью, первыми в рыбной яме могут оказаться две группы рыб: “разведчики”, активно исследующие изменения условий обитания, и рыбы, которых сносит течением. В этом случае значения признаков 1-й группы должны быть промежуточными по отношению к соответствующим значениям в других группах. Это предположение находит подтверждение в том, что во всех исследованных нами выборках отличия 1-й по времени группы от других минимальны.

Значения исследуемых показателей в остальных группах молоди из рассматриваемых нами прудов варьируют разнонаправленно, что, скорее всего, связано с особенностями водоемов – рельефом дна и водной растительностью. Условия в пруду, где развивался вариант 11-3, были наиболее однородными. В этом водоеме хорошо выражена водосборная канава, дно имеет равномерный наклон в ее сторону; здесь нет высокой растительности, которая задерживает воду и в которой могут прятаться рыбы. Сброс воды из этого пруда прошел в относительно короткие сроки, в связи с чем все сеголетки достаточно быстро оказались в водосборной канаве и рыбной яме. Мы смогли

отобрать здесь только две отдельные группы. При этом вторая группа достоверно отличалась от оставшейся молоди только по числу аномалий позвоночника, причем как при расчете на всех рыб, так и отдельно на рыб с аномалиями. Это свидетельствует о том, что во второй группе не только меньше рыб с нарушениями развития позвоночника, но и сами эти нарушения выражены в меньшей степени. Лучшее состояние опорно-двигательной системы у таких рыб, возможно, свидетельствует об их лучшей плавательной способности. Вероятно, именно во второй группе большую часть составляли рыбы, отличающиеся активным исследовательским поведением.

Условия обитания молоди в двух других прудах более разнообразны, и сток воды проходит более сложным путем. Этим, по-видимому, и обусловлены более выраженные морфологические различия между группами рыб. Вместе с тем, сравнение групп молоди в вариантах 8-1 и 11-2 выявило только одну общую тенденцию – последняя по времени сбора группа отличалась меньшим количеством аномалий в позвоночнике (эта тенденция в выборке 8-1 проявилась более отчетливо). В варианте 11-2 молодь из последней группы крупнее сеголеток из других групп, что также говорит о лучшем состоянии тех рыб, которые дольше задерживаются в пруду.

Второй признак, по которому обнаружены достоверные межгрупповые различия в обеих выборках – число позвонков в хвостовом отделе позвоночника. У рыб из варианта 8-1 это число минимально в двух последних группах, а у сеголеток из варианта 11-2 – только в предпоследней. Меньшее число хвостовых позвонков может встречаться у рыб с более коротким хвостовым стеблем, которые отличаются лучшими плавательными способностями на течении от рыб с более длинным хвостовым стеблем [Nikolsky, 1963].

Сеголетки из последней группы варианта 8-1 отличались большим числом лучей в анальном плавнике. Это также может говорить

**Таблица 4.** Средние значения морфологических признаков в разных прудах

**Table 4.** Average values of morphological indices in different ponds

Признак Index	Вариант Embodiment		
	8-1	11-2	11-3
<i>N</i>	153	137	99
<i>SL</i> , мм	<b>61.92±0.267</b> <sup>2,3</sup>	<b>78.18±0.254</b> <sup>1,3</sup>	<b>89.72±0.584</b> <sup>1,2</sup>
<i>SL</i> , mm			
<i>Q</i> , г	<b>4.45±0.062</b> <sup>2,3</sup>	<b>9.27±0.084</b> <sup>1,3</sup>	<b>14.63±0.205</b> <sup>1,2</sup>
<i>Q</i> , g			
<i>ll</i>	<b>43.42±0.120</b> <sup>2,3</sup>	<b>42.88±0.101</b> <sup>1</sup>	<b>42.99±0.166</b> <sup>1</sup>
<i>D</i>	<b>9.95±0.025</b> <sup>2</sup>	<b>9.80±0.036</b> <sup>1,3</sup>	<b>9.93±0.030</b> <sup>2</sup>
<i>A</i>	<b>9.99±0.032</b> <sup>2,3</sup>	<b>9.66±0.042</b> <sup>1,3</sup>	<b>9.51±0.054</b> <sup>1,2</sup>
<i>P</i> лев.	<b>16.01±0.058</b> <sup>2,3</sup>	<b>15.08±0.052</b> <sup>1</sup>	<b>14.94±0.068</b> <sup>1</sup>
<i>P</i> left			
<i>P</i> пр.	<b>16.02±0.061</b> <sup>2,3</sup>	<b>15.08±0.049</b> <sup>1</sup>	<b>14.98±0.060</b> <sup>1</sup>
<i>P</i> right			
<i>V</i> лев.	<b>8.02±0.022</b> <sup>2,3</sup>	<b>7.80±0.036</b> <sup>1,3</sup>	<b>7.66±0.049</b> <sup>1,2</sup>
<i>V</i> left			
<i>V</i> пр.	<b>7.97±0.029</b> <sup>2,3</sup>	<b>7.72±0.039</b> <sup>1</sup>	<b>7.61±0.050</b> <sup>1</sup>
<i>V</i> right			
<i>vert.a.</i>	<b>16.93±0.079</b> <sup>2,3</sup>	<b>16.55±0.053</b> <sup>1</sup>	<b>16.68±0.069</b> <sup>1</sup>
<i>vert.i.</i>	<b>3.37±0.063</b> <sup>2,3</sup>	<b>2.95±0.050</b> <sup>1,3</sup>	<b>3.17±0.060</b> <sup>1,2</sup>
<i>vert.c.</i>	15.25±0.073	15.31±0.064	15.15±0.098
<i>vert.</i>	<b>42.54±0.105</b> <sup>2,3</sup>	<b>41.81±0.072</b> <sup>1</sup>	<b>42.01±0.103</b> <sup>1</sup>
Аномалии позвоночника Abnormalities of axial skeleton			
все рыбы all fishes			
<i>an.Va</i>	<b>5.65±0.457</b> <sup>2,3</sup>	<b>2.47±0.361</b> <sup>1,3</sup>	<b>4.19±0.511</b> <sup>1,2</sup>
<i>an.Vi</i>	<b>1.30±0.122</b> <sup>2,3</sup>	<b>0.50±0.092</b> <sup>1,3</sup>	<b>0.94±0.138</b> <sup>1,2</sup>
<i>an.Vc</i>	<b>4.70±0.347</b> <sup>2,3</sup>	<b>2.80±0.319</b> <sup>1,3</sup>	<b>6.52±0.517</b> <sup>1,2</sup>
<i>an.Vt</i>	<b>11.65±0.732</b> <sup>2</sup>	<b>5.77±0.634</b> <sup>1,3</sup>	<b>11.63±0.970</b> <sup>2</sup>
<i>N.sr.</i>	<b>1.65±0.130</b> <sup>2</sup>	<b>0.66±0.092</b> <sup>1,3</sup>	<b>1.68±0.167</b> <sup>2</sup>
<i>N.v.sr.</i>	<b>4.01±0.323</b> <sup>2</sup>	<b>1.54±0.221</b> <sup>1,3</sup>	<b>4.09±0.426</b> <sup>2</sup>
Рыбы с аномалиями позвоночника Fishes with skeleton abnormalities			
<i>n</i> (%)	<b>135 (88.24%)</b> <sup>2</sup>	<b>91 (66.42%)</b> <sup>1,3</sup>	<b>87 (87.88%)</b> <sup>2</sup>
<i>an.Va</i>	<b>6.41±0.482</b> <sup>2,3</sup>	<b>3.73±0.494</b> <sup>1</sup>	<b>4.77±0.554</b> <sup>1</sup>
<i>an.Vi</i>	<b>1.47±0.131</b> <sup>2,3</sup>	<b>0.76±0.130</b> <sup>1</sup>	<b>1.07±0.151</b> <sup>1</sup>
<i>an.Vc</i>	<b>5.33±0.360</b> <sup>3</sup>	<b>4.21±0.406</b> <sup>3</sup>	<b>7.41±0.518</b> <sup>1,2</sup>
<i>an.Vt</i>	<b>13.21±0.732</b> <sup>2</sup>	<b>8.69±0.796</b> <sup>1,3</sup>	<b>13.23±0.987</b> <sup>2</sup>
Рыбы со сращениями позвонков Fishes with vertebral fusion			
<i>n</i> (%)	<b>111 (72.55%)</b> <sup>2</sup>	<b>48 (35.04%)</b> <sup>1,3</sup>	<b>65 (65.66%)</b> <sup>2</sup>
<i>N.sr.</i>	2.27±0.139	<b>1.88±0.148</b> <sup>3</sup>	<b>2.55±0.174</b> <sup>2</sup>
<i>N.v.sr.</i>	5.52±0.350	<b>4.40±0.372</b> <sup>3</sup>	<b>6.23±0.463</b> <sup>2</sup>

о лучшей способности к плаванию у рыб этой группы. По мнению Ю. Г. Алеева (1963) (Aleev, 1963), растягивание основания анального плавника усиливает его функции как руля и стабилизатора.

Особенности распределения молоди по группам при спуске прудов могут быть связаны не только с разнообразием условий в каждом пруду, но и с уровнем морфологической изменчивости рыб в каждом варианте. Во-первых, для получения сеголеток в 2008 и 2011 гг. были использованы производители

разного происхождения (рыбинские – в 2008 г. и мороцкие – в 2011 г.). Как было показано ранее, плотва из оз. Мороцкое отличается от плотвы Рыбинского водохранилища не только по биологическим и морфологическим показателям, но и по реакции развивающихся эмбрионов на токсические воздействия [Kas'yanov et al., 2001]. Кроме того, исследованная нами молодь в вариантах 8-1 и 11-3 в эмбриональный период подвергалась различным воздействиям (термическому и магнитному, соответственно), что могло сказаться на

изменчивости исследованных нами признаков и привести к межгрупповым различиям. Известно, что инкубация икры в стрессовых условиях может вызывать изменение, как морфологических признаков у развивающейся молоди, так и ее поведенческих реакций [Von Westernhagen, 1988]. По нашим данным [Chebotareva et al., 2016], рыбы из выборки 8-1 отличались повышенным разнообразием позвоночных фенотипов. Заметны различия между средними значениями исследованных признаков в трех исследованных выборках (табл. 4).

При этом по большинству меристических признаков молодь 2008 г. отличается от

молоди 2011 г., а по числу аномалий позвоночника рыбы из варианта 11-2 (контроль) отличаются от двух экспериментальных выборок 8-1 и 11-3, испытанных в эмбриональный период воздействие повышенной температуры или магнитного поля, соответственно.

Исходя из полученных результатов, можно сделать заключение о том, что молодь плотвы, полученная от общих производителей, может образовывать группировки, различающиеся по морфологии и поведению даже в пределах небольших водоемов, таких, как выростной пруд.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алеев Ю.Г. Функциональные основы внешнего строения рыбы. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 247 с.
- Касьянов А.Н. Популяционная структура и некоторые вопросы микрофилогенеза плотвы (*Rutilus rutilus* L.) // "Микроэволюция пресноводных организмов". Труды ИБВВ. 1990. Вып. 59 (62). С. 64–86.
- Касьянов А.Н., Изюмов Ю.Г., Касьянова Н.В. Динамика морфологической изменчивости и биологических показателей плотвы (*Rutilus rutilus* L.) Рыбинского водохранилища // 1 конгресс ихтиологов России. 1997. С. 42–43.
- Катасонов В.Я., Гомельский Б.И. Селекция рыб с основами генетики. М.: ВО "Агропромиздат", 1991. 208 с.
- Костин В.В., Лупандин А.И. Две группировки личинок плотвы (*Rutilus rutilus*) в реке на ранних стадиях онтогенеза // Вопр. рыболовства. Приложение 1. 2001. С. 132–134.
- Крылов В.В., Чеботарева Ю.В., Изюмов Ю.Г., Осипова Е.А. Влияние магнитного поля и ионов  $\text{Cu}^{2+}$  на раннее развитие плотвы *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae, Cypriniformes) // Журн. Сиб. ГУ. Сер. Биол. 2010. Т. 3. № 2. С. 199–210.
- Мироновский А.Н. Изменчивость и популяционная структура карповых рыб Волго-Каспийского района. Автореф. дисс. к.б.н. 1986. М. 22 с.
- Рыбы Рыбинского водохранилища: популяционная динамика и экология. Ред. Ю.В.Герасимов. Ярославль: Филлигрань, 2015. 418 с.
- Столбунов И.А. Внутрипопуляционный полиморфизм плотвы *Rutilus rutilus* (L.) Рыбинского водохранилища // Биол. внутр. вод. 2005. № 4. С. 67–71.
- Яковлев В.Н. Индустриальная раса плотвы // Зоол. журн. 1992. Т. 71. Вып. 6. С. 72–78.
- Яковлев В.Н., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н. Фенетический метод исследований популяций карповых рыб // Биол. науки. 1981. № 2. С. 98–101.
- Chebotareva, Yu. V. Anomalies in the backbone structure in roach (*Rutilus rutilus*) (Cyprinidae, Cypriniformes) underyearlings following toxic impacts during early developmental stages // Journal of Ichthyology. 2009. Vol. 49. № 1. P. 96–104. DOI: 10.1134/S0032945209010123
- Chebotareva Yu.V., Izumov Yu.G., Talikina M.G. Some morphological features of roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) fry after exposure to toxicants in the early stages of ontogenesis (vertebral phenotypes, plastic features, and fluctuating asymmetry) // Journal of Ichthyology. 2009a. Vol. 49. № 2. P. 200–207. DOI: 10.1134/S0032945209020076
- Chebotareva Yu.V., Izumov Yu.G., Krylov V.V. The effect of an alternating electromagnetic field upon early development in roach *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae, Cypriniformes) // Journal of Ichthyology. 2009b. Vol. 49. № 5. P. 409–415. DOI: 10.1134/S0032945209050075
- Chebotareva Yu.V., Izumov Yu.G., Krylov V.V. Some morphological features of fry of roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Cypriniformes) after separate and combined exposure of embryos to magnetic and elevated temperature // Journal of Ichthyology. 2016. Vol. 56. № 3. P. 445–455. DOI: 10.7868/S0042875216030036
- Hansen T., Fjellidal P.G., Yurtzeva A., Berg A. A possible relation between growth and number of deformed vertebrae in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Journal of Applied Ichthyology. 2010. 26. P. 355–359.
- Izumov Yu. G., Talikina M. G., Kas'yanov A. N., Kas'yanova N. V., Papchenkova G. A. Anthropogenous Microevolution of the Roach *Rutilus rutilus* in the Sheksna Bay of the Rybinsk Reservoir // Journal of Ichthyology. 1998. Vol. 38. № 8. P. 680–684.
- Izumov Yu. G., Kas'yanov A. N., Talikina M. G., Papchenkova G. A., Kas'yanova N. V. Variability of Vertebra Number and Anomalies of Axial Skeleton in Experimental Fingerlings of Roach *Rutilus rutilus* after Exposure Parent Sperm to Toxicants // Journal of Ichthyology. 2002. Vol. 42. № 1. P. 104–108.
- Kas'yanov A. N., Talikina M. G., Izumov Yu. G., Kas'yanova N. V., Papchenkova G. A. Variability of Axial Skeleton Characters in Fingerlings of the Roach *Rutilus rutilus* after Toxicant Action during Early Individual Development // Journal of Ichthyology. 2001. Vol. 41. № 6. P. 425–434.
- Nikolsky G.V. The ecology of fishes. London & NY: Academic Press, 1963. 352 p.



- Pavlov D.S., Lupandin A.I., Kostin V.V., Nechaev I.V., Kirillov P.I., Sadkovskii R.V. Downstream Migration and Behavior of Juvenile Roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) from Two Phenotypic Groups // Journal of Ichthyology. 2001. Vol. 41. Suppl. 2. P. 133–179.
- Stolbunov I.A., Gerasimov Yu.V. Morphological and behavioral variation in juvenile roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Cypriniformes) from different biotopes of the Rybinskoe Water Reservoir // Journal of Ichthyology. 2008. Vol. 48. № 2. P. 177–187. DOI: 10.1134/S0032945208020045
- Von Westernhagen H. Sublethal Effects of Pollutant On Fish Eggs And Larvae // Fish physiology. Ed. by W.S.Haar, D.J.Randall. Vol. XI. The Physiology of Developing Fish. Part A. Eggs and Larvae. Acad. Press. INC. San Diego, NewYork, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, 1988. P. 253–346.

## REFERENCES

- Aleev Yu.G. 1963. Funktsional'nye osnovy vneshnego stroeniya ryby [Functional fundamentals of fish external constitution]. M.: Izd-vo AN SSSR, 1963. 247 s. [In Russian]
- Chebotareva, Yu. V. 2009. Anomalies in the backbone structure in roach (*Rutilus rutilus*) (Cyprinidae, Cypriniformes) underyearlings following toxic impacts during early developmental stages // Journal of Ichthyology. Vol. 49. № 1. P. 96–104. DOI: 10.1134/S0032945209010123
- Chebotareva Yu.V., Izumov Yu.G., Talikina M.G. 2009a. Some morphological features of roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) fry after exposure to toxicants in the early stages of ontogenesis (vertebral phenotypes, plastic features, and fluctuating asymmetry) // Journal of Ichthyology. Vol. 49. № 2. P. 200–207. DOI: 10.1134/S0032945209020076
- Chebotareva Yu.V., Izyumov Yu.G., Krylov V.V. 2009b. The effect of an alternating electromagnetic field upon early development in roach *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae, Cypriniformes) // Journal of Ichthyology. Vol. 49. № 5. P. 409–415. DOI: 10.1134/S0032945209050075
- Chebotareva Yu.V., Izyumov Yu.G., Krylov V.V. 2016. Some morphological features of fry of roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Cypriniformes) after separate and combined exposure of embryos to magnetic and elevated temperature // Journal of Ichthyology. V. 56. № 3. P. 445–455. DOI: 10.7868/S0042875216030036
- Hansen T., Fjellidal P.G., Yurtzeva A., Berg A. 2010. A possible relation between growth and number of deformed vertebrae in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // Journal of Applied Ichthyology. 26. P. 355–359.
- Izyumov Yu. G., Talikina M. G., Kas'yanov A. N., Kas'yanova N. V., Papchenkova G. A. 1998. Anthropogenous Microevolution of the Roach *Rutilus rutilus* in the Sheksna Bay of the Rybinsk Reservoir // Journal of Ichthyology. Vol. 38. № 8. P. 680–684.
- Izyumov Yu. G., Kas'yanov A. N., Talikina M. G., Papchenkova G. A., Kas'yanova N. V. 2002. Variability of Vertebra Number and Anomalies of Axial Skeleton in Experimental Fingerlings of Roach *Rutilus rutilus* after Exposure Parent Spermii to Toxicants // Journal of Ichthyology. Vol. 42. № 1. P. 104–108.
- Kas'yanov A. N. 1990. Populatsionnaya struktura i nekotorye voprosy mikrofilogeneza plotvy (*Rutilus rutilus* L.) [The population structure and some questions of roach (*Rutilus rutilus* L.) microphylogenesis] // “Mikroevolyutsiya presnovodnykh organizmov”. Trudy IBVV. Vyp. 59 (62). S. 64–86. [In Russian]
- Kas'yanov A. N., Izumov Yu. G., Kas'yanova N.V. 1997. Dinamika morfologicheskoy izmenchivosti i biologicheskikh pokazateley plotvy (*Rutilus rutilus* L.) [The dynamics of the morphological variability and biological indices of roach (*Rutilus rutilus* L.) from Rybinsk reservoir] // Pervyj kongress ihtologov Rossii: sb. tez. dokl. AzNIIRH. Astrahan'. S. 42–43. [In Russian]
- Kas'yanov A. N., Talikina M. G., Izyumov Yu. G., Kas'yanova N. V., Papchenkova G. A. 2001. Variability of Axial Skeleton Characters in Fingerlings of the Roach *Rutilus rutilus* after Toxicant Action during Early Individual Development // Journal of Ichthyology. Vol. 41. № 6. P. 425–434.
- Katasonov V.Ya., Gomel'skiy B.I. 1991. Seleksiya ryb s osnovami genetiki [Selection of fish with the basics of genetics]. M.: VO “Agropromizdat”, 208 s. [In Russian]
- Kostin V.V., Lupandin A.I. 2001. Dve gruppirovki lichinok plotvy (*Rutilus rutilus*) v reke na rannikh stadiyakh ontogeneza [Two groups of young roach observed (*Rutilus rutilus*) in a river during their early ontogenetic development] // Vopr. pybolovstva. Prilozhenie 1. S. 132–134. [In Russian]
- Krylov V.V., Chebotareva Yu.V., Izyumov Yu.G., Osipova E.A. 2010. Vliyanie magnitnogo polya i ionov Cu<sup>2+</sup> na rannee razvitie plotvy *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae, Cypriniformes) [Influence of Magnetic Field and Cu<sup>2+</sup> Ions on the Early Development in Roach *Rutilus rutilus* (L.) (Cyprinidae, Cypriniformes)] // Zhurn. Sib. GU. Ser. Biol. T. 3. № 2. C. 199–210. [In Russian]
- Mironovsky A.N. 1986. Izmenchivost' i populatsionnaya struktura karpovykh ryb Volgo-Kaspiyskogo raiona [The variability and population structure of cyprinid fishes in Volga-Caspian region]. Avtoref. diss. k.b.n. M. 22 s. [In Russian]
- Nikolsky G.V. 1963. The ecology of fishes. London & NY: Academic Press. 352 p.
- Pavlov D.S., Lupandin A.I., Kostin V.V., Nechaev I.V., Kirillov P.I., Sadkovskii R.V. 2001. Downstream Migration and Behavior of Juvenile Roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) from Two Phenotypic Groups // Journal of Ichthyology. Vol. 41. Suppl. 2. P. 133–179.
- Ryby Rybinskogo vodokhranilisha: populyatsionnaya dinamika i ekologiya [Fishes of the Rybinsk reservoir: population dynamics and ecology]. 2015. Red. Yu.V. Gerasimov. Yaroslavl': Filigran'. 418 s. [In Russian]

- Stolbunov I.A. 2005. Vnutripopulatsionnyy polimorfizm plotvy *Rutilus rutilus* (L.) Rybinskogo vodokhranilisha [Morphological variability of juvenile roach *Rutilus rutilus* (L.) in Rybinsk reservoir] // Biol. vnut. vod. № 4. S. 67–71. [In Russian]
- Stolbunov I.A., Gerasimov Yu.V. 2008. Morphological and behavioral variation in juvenile roach *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Cypriniformes) from different biotopes of the Rybinskoe Water Reservoir // Journal of Ichthyology. Vol. 48. № 2. P. 177–187. DOI: 10.1134/S0032945208020045
- Von Westernhagen H. 1988. Sublethal Effects of Pollutant On Fish Eggs And Larvae // Fish physiology. Ed. by W.S.Haar, D.J.Randall. Vol. XI. The Physiology of Developing Fish. Part A. Eggs and Larvae. Acad. Press. INC. San Diego, NewYork, Berkeley, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto. P. 253–346.
- Yakovlev V.N. 1992. Industrial'naya rasa plotvy [The industrial race of roach] // Zool. zhurn. T. 71. Vyp. 6. S. 72–78 [In Russian]
- Yakovlev V.N., Izumov Yu.G., Kas'yanov A.N. 1981. Feneticheskiy metod issledovaniy populatsiy karpovykh ryb [The phenetical research method of the cyprinid fish populations] // Biol. nauki. № 2. S. 98–101. [In Russian]

## **MORPHOLOGICAL UNITS OF ROACH *RUTILUS RUTILUS* (L.) (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES) FINGERLINGS IN EXPERIMENTAL POND SAMPLES**

**Yu. V. Chebotareva, Yu. G. Izyumov, V. V. Krylov**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: pisces68@mail.ru*

Morphological characteristics of roach juveniles units at different times coming to the floodgate during the water discharge from fish ponds were investigated. Less vertebral number in the caudal region and fewer abnormalities of the backbone were found in the fingerling groups over a longer time being on the stream. The connection of inter-group differences in the samples with a variety of habitat conditions of the fish in the pond, their origin and features of embryonic development were discovered.

*Keywords:* roach, variability, morphology, behavior

УДК 597.15.574.2

**ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ СКОРОСТЬ РОСТА ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ СНЕТКА *OSMERUS EPERLANUS* (L.) В УСЛОВИЯХ КУЙБЫШЕВСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА****В. Г. Терещенко, Л. И. Терещенко***Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН,  
152742 пос. Борок, Ярославская обл., Некоузский р-н, e-mail: tervlad@ibiw.yaroslavl.ru*

Оценена потенциальная скорость роста численности популяции снетка в условиях Куйбышевского водохранилища, расположенного далеко на юге от его материнского ареала. Установлено, данный популяционный показатель у снетка, холодолюбивого вида, оказался ниже в условиях Куйбышевского водохранилища ( $3.7 \text{ год}^{-1}$ ), чем в условиях Рыбинского водохранилища ( $4.2 \text{ год}^{-1}$ ), т.е. при удалении от нативного ареала он снижается.

*Ключевые слова:* вселенец, популяция, обилие, корюшка, удельная скорость изменения численности, потенциальная скорость роста, Куйбышевское водохранилище.

**ВВЕДЕНИЕ**

Успешность процесса натурализации и дальнейшая роль вида в экосистеме определяются таким динамическим параметром как удельная скорость изменения численности популяции. Максимальное его значение, наблюдаемое при экспоненциальном росте численности популяций, называют “потенциальной скоростью роста”. Она характеризует наследственно обусловленную потенциальную способность вида к увеличению численности в данной среде обитания [Odum, 1971; Pianka, 1978; Solbrig, Solbrig, 1979]. Этот популяционный параметр еще называют “биотический потенциал” или “репродуктивный потенциал” вида в данных условиях. Информация о нем требуется для решения ряда теоретических и практических задач экологии. Например, разность между репродуктивным потенциалом и удельной скоростью изменения численности в конкретной ситуации можно рассматривать как показатель ограничивающего влияния среды на вид.

Экспоненциальный рост численности популяции наблюдается в условиях, когда среда не оказывает ограничивающего влияния [Odum, 1971; Pianka, 1978; Solbrig, Solbrig, 1979]. В природе такую ситуацию можно встретить в процессе расширения ареала вида в первые годы формирования популяции в новом месте или ее восстановления после катастрофического снижения численности. Гидростроительство в XX веке на р. Волга вызвало кардинальные подвижки и расселение гидробионтов по каскаду создаваемых водохрани-

лищ за пределы их исходных ареалов и климатических зон. Основной поток рыб-мигрантов по Волжскому каскаду был направлен с юга вверх по течению и представлен теплолюбивыми понтокаспийскими видами [Шаронов, 1971; Слынько, Терещенко, 2014 (Sharonov, 1971; Slynko, Tereshchenko, 2014)]. Для них на примере водохранилищ Волги и Днепра установлено, что потенциальная скорость роста численности популяций из более южных водохранилищ оказалась выше по сравнению с северными водоемами [Слынько, Терещенко, 2014; Терещенко и др., 2015; Tereshchenko et al., 2016 (Slynko, Tereshchenko, 2014; Tereshchenko et al., 2015; Tereshchenko et al., 2016)].

Только два холодолюбивых вида рыб, представителя арктического пресноводного фаунистического комплекса (корюшка в ее снетковой форме и ряпушка), расселялись с севера вниз по течению. Для более глубокого понимания процесса адаптации рыб к экстремальным условиям обитания представляет интерес оценка популяционных параметров холодолюбивого вида в водоемах, расположенных южнее его нативного ареала. Куйбышевское водохранилище расположено на южной границе вновь приобретенного ареала снетка (табл. 1)

Цель работы – оценка потенциальной скорости роста численности популяции снетка Куйбышевского водохранилища и ее сравнение с данным популяционным параметром снетка Рыбинского водохранилища.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Работа основана на литературных данных [Поддубный, 1959; Шаронов, 1971 (Poddubny, 1959; Sharonov, 1971)] и архивных материалах (табл. 1) Института биологии Волжского бассейна РАН уловов исследова-

тельским пелагическим тралом (размер  $10 \times 1.5 \text{ м}$ , ячей в кутке 6 мм) в Куйбышевском водохранилище за период 1957–1983 гг., которые были любезно переданы ранее авторам с.н.с., к.б.н. С.В. Козловским. Количество тра-

лений по годам колебалось от 28 до 353. Информацию из разных источников стандартизировали, приводя улов на 15 мин. траления.

Удельную скорость изменения численности популяции, которая характеризует прирост численности на особь в единицу времени, вычисляли по формуле [Воронов, 2005; Birch, 1948; Pianka, 1978; Odum, 1971 (Voronov, 2005; Birch, 1948; Odum, 1971; Pianka, 1981)]:

$$r_N = (\ln N_{t_2} - \ln N_{t_1}) / (t_2 - t_1),$$

где  $N_{t_1}$  и  $N_{t_2}$  – численность (плотность) популяции в моменты времени  $t_1$  и  $t_2$  (годы). Поскольку удельная скорость изменения численности в процессе натурализации вселенца изменяется [Слынько, Терешченко, 2014; Терешченко и др., 2015; Tereshchenko et al., 2016 (Slynko, Tereshchenko, 2014; Tereshchenko et al., 2015; Tereshchenko et al., 2016)], то интервал времени при расчетах  $(t_2 - t_1)$ , как правило, брали не более 2 лет. Отсутствие данных уловов рыб за 1962–1964 гг. вынудило взять при расчетах разность  $(t_2 - t_1)$ , равную 4 годам.

**Таблица 1.** Характеристика Куйбышевского водохранилища и условий вселения снетка

**Table 1.** The features of Kuibyshev Reservoir and conditions for the invasion of sparling

Параметр Features	Значение Dimentions
Географическая широта, °N Latitude, ° N	53° 20'–55° 52'
Географические координаты, среднее Geographic location, mean values	55° 20' N 49° 57' E
*Годы заполнения *Years of origin	осень 1955–1957 autumne 1955–1957
Тип водохранилища Type of reservoir	равнинный, озерно-речной plained, lake-channel
*Площадь, км <sup>2</sup> *Area, km <sup>2</sup>	6250
*Площадь мелководий до 2 м, км <sup>2</sup> /‰ *Area of shallows up to 2 m, km <sup>2</sup> /‰	1035/17
*Длина, км *Length, km	650
*Максимальная ширина, км *Maximum width, km	48
*Максимальная глубина, м *Maximum depth, m	32
*Амплитуда колебаний уровня, м *Ampitude of water level variation, m	7.5
**Степень водообмена **Degree of water exchange	4.7
**Биомасса фитопланктона в летне-осенний период, г/м <sup>3</sup> **Biomass of phytoplankton in summer-autumn period, g/m <sup>3</sup>	13.0
**Биомасса зоопланктона в летне-осенний период, г/м <sup>3</sup> **Biomass of zooplankton in summer-autumn period, g/m <sup>3</sup>	4.3
Фаза натурализации снетка при заполнении водохранилища Phase of naturalization smelt during the filling of the reservoir	II–III

Примечание. \* При НПУ; \*\* – по: Исаев, Карпова, 1989.

Note. \*At a normal water level; \*\* based on: Isaev, Karpova, 1989.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Попав в новые условия обитания, любой вид проходит следующие последовательные фазы натурализации [Карпевич, 1975; Cadotte et al., 2005 (Karpevich, 1975; Cadotte et al., 2005)]: вселения или проникновения (фаза I), размножения (фаза II), освоения территории и роста численности (фаза III), функционирования в режиме флуктуации численности (фаза IV). Поскольку снеток – короткоцикловая форма корюшки, в массе созревающая на первом-втором году жизни [Иванова, 1987 (Ivano-

va, 1987)], то длительность II фазы его натурализации может составлять 1–3 года. Продолжительность фаз и конечная численность популяции вселенца зависит от конкретных климатических, гидрологических и экологических условий водоема-реципиента.

Исходная форма для популяции снетка в Куйбышевском водохранилище – снеток Рыбинского, который в свою очередь происходит от снетка оз. Белое [Васильев, 1951; Кузнецов, 1951; Чиркова, 1960; Шаронов, 1960б; Кузнецо-

ва, 1966; Кудерский, 1967 (Vasil'ev, 1951; Kuznetsov, 1951; Chirkova, 1960; Sharonov, 1969b; Kuznetsova, 1966; Kuderskiy, 1967)]. Его натурализация в Куйбышевском водохранилище началась со II–III фазы одновременно с началом заполнения водоема осенью 1955 г. (табл. 1).

Подробное описание процесса освоения сетком Куйбышевского водохранилища содержится в работах [Шаронов 1960б, 1972 (Sharonov, 1960b, 1972)]. В период заполнения водоема (1956–1957 гг.) он встречался только в верховье водоема – Волжском плесе. Хотя материал собирали по всей акватории водоема на 90 станциях, из которых 20 расположены в Волжском плесе [Поддубный, 1959 (Poddubny, 1959)]. К 1959 г. сеток расселился почти по всей правобережной русловой части водохранилища. В наибольшем количестве он встречался в нижнем плесе. В уловах мальковым тралом сеток попадался здесь так же часто, как плотва и уклейка, уступая по частоте встречаемости только чехони [Шаронов, 1960б (Sharonov, 1960b)]. В Волго-Камском плесе и Черемшанском заливе вид в этот период не обнаружен. В 1961 г. вселенец вылавливался в правобережных заливах, а в 1962 г. он стал скапливаться в нижний бьеф. После постройки в 1961–1964 гг. на р. Каме (левобережный приток р. Волги) Воткинской ГЭС сеток продвинулся на восток водохранилища. Так, в 1967 г. он впервые обнаружен на левобережной пойме Тетюшинского плеса у Булгар, а в Камском плесе поднялся до г. Чистополя [Шаронов, 1972 (Sharonov, 1972)].

Это описание дает основание для двух выводов. Во-первых, при освоении новых акваторий у сетка преобладал пассивный пере-

нос по направлению основного стока. Дополнительно наблюдалось активное перемещение по прилегающим к основному руслу участкам озерного типа (заливам и плесам с развитой пелагиалью и резко замедленным течением). Продвижение особей против течения было не характерно. Во-вторых, в речной период на участке р. Волги ниже Рыбинской ГЭС снос сетка в ощутимых размерах не достигал основной зоны Куйбышевского водохранилища. Освоение акватории из-за большой длины водоема и существенной разнокачественности условий обитания в разных плесах было растянутым во времени, что должно было продлить III фазу натурализации.

В начале 1970-х гг. сеток в Куйбышевском водохранилище стал обычным видом в составе ихтиофауны водоема [Лукин, 1975 (Lukin, 1975)]. Он встречался сравнительно часто, но плотность популяции была невысока [Шаронов, 1972 (Sharonov, 1972)]. Отмечено наличие весной в заливах половозрелых особей и молоди [Шаронов, 1971 (Sharonov, 1971)]. Это позволяет предполагать существование нереста сетка в Куйбышевском водохранилище в рассматриваемый период.

На основании всего вышесказанного и средних уловов в разные годы (табл. 2), можно заключить, что в 1957 г. популяция сетка находилась на стадии перехода от II-ой фазы натурализации к III-ей, а в период 1958–1965 гг. в зоне экспоненциального роста численности. На III-ей фазе натурализации вселенца максимальное значение удельной скорости роста численности сетка равнялось  $r_{max} N = 3.7 \text{ год}^{-1}$  при уловах соответственно 0.02 и 1.0 экз./15 мин траления (табл. 2).

**Таблица 2.** Обилие сетка в уловах пелагическим тралом в Куйбышевском водохранилище

**Table 2.** The abundance dynamics of smelt *Osmerus eperlanus* in pelagic trawl catches in the Kuibyshev Reservoir

Год Year	Средний улов, экз./15 мин Mean catch, ind/15 min	$r_N, \text{год}^{-1}$ $r_N, \text{year}^{-1}$			Число тралений, шт. The number of trawls	Источник данных по уловам Reference of catch data
		$t_2 - t_1 = 1$	$t_2 - t_1 = 2$	$t_2 - t_1 = 4$		
1957	0.02	—	—	—	150	С.В.Козловский, архив
1958	0.024	0.18	—	—	126	Там же
1959	1.00	<b>3.73</b>	1.96	—	52	Там же
1961	0.03	—	-1.75	—	37	Там же
1965	48.8	—	—	2.7	28	Шаронов, 1971
1969	1.10	—	—	—	28	С.В.Козловский, архив
1970	0.58	-0.64	—	—	28	Там же
1971	1.9	1.19	0.27	—	28	Там же
1976	0.46	—	—	—	28	Там же
1977	0.92	0.69	—	—	353	Там же
1978	1.14	0.21	0.18	—	83	Там же
1980	0.52	—	-0.39	—	66	Там же
1981	0.77	0.39	—	—	69	Там же
1983	0.11	—	-0.97	—	55	Там же

Отсутствие данных за 1962–1968 гг. не позволило точно определить продолжительность III фазы натурализации. Максимальный улов сетка отмечен в 1965 г. в верховье водохранилища (устье р. Цивиль), который составлял 335 экз./15 мин траления [Шаронов, 1971 (Sharonov, 1971)]. Эта станция расположена у правого берега между г. Новочебоксарском и Мариинским Посадом (56° с.ш. 48° в.д.). Улов 58 экз./15 мин траления отмечен у правого берега ниже Казани (55° с.ш. 49° в.д.). Плотность сетка от 44 до 48 экз./15 мин траления была в заливах Старомайском (54° с.ш. 48° в.д.), Сусканском (54° с.ш. 49° в.д.), Черемшанском

(54–55° с.ш. 50° в.д.) и Сидельниковском затоне. Однако в левобережной части водохранилища сеток впервые обнаружен только в 1967 г. [Шаронов, 1972 (Sharonov, 1972)]. Поэтому ориентировочно мы ограничили третью фазу натурализации сетка в Куйбышевском водохранилище временным отрезком с 1958 по 1967 гг. На IV фазе в режиме флуктуации численности уловы сетка оставались на постоянно низком уровне (табл. 2). В 1971–72 и 1978–79 гг. средние уловы в заливах составляли 3–12 экз. за 15-минутное траление [Иванова и др., 1984 (Ivanova et al., 1984)].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Установлено, что потенциальная скорость роста численности сетка в Куйбышевском водохранилище составляет **3.7 год<sup>-1</sup>**. Однако многочисленной популяции в этом водоеме он не сформировал.

Возможные факторы, которые могли ограничивать реализацию потенциальной скорости роста численности сетка в Куйбышевском водохранилище, следующие.

1) Регулярные заморы рыбы зимой, отмеченные в Камском плесе, Черемшанском и Сусканском заливах [Шаронов, 1960a (Sharonov, 1960a)].

2) Сильный прогрев воды в летний период. Анализ динамики уловов корюшки оз. Пейпси показал, что критическим фактором для данного вида является продолжительность периода превышения температуры воды выше 20°C в летнее время [Kangur et al., 2007]. В большинстве крупных водоемов Северо-Европейской части СССР аномально жаркое лето 1973–1974 гг. сказалось на эффективности размножения, смертности и привело к снижению запасов сетка [Кудерский, Федорова, 1977 (Kuderskiy, Fedorova, 1977)]. В связи с этим необходимо отметить, что в Куйбышевском водохранилище в верхних горизонтах температура воды может достигать 24–26°C, а у дна в районах с максимальными глубинами – 17–18°C [Лукин, Баранов, 1958 (Lukin, Baranov, 1958)].

3) Летнее массовое цветение синезеленых водорослей, которое в частности наблюдалось в Куйбышевском водохранилище в июле – августе в 1957 и 1958 гг. [Стройкина, 1961 (Strojkina, 1961)].

4) Сильная сработка уровня воды. Амплитуда колебаний уровня в Куйбышевском водохранилище составляет 7.5 м (табл. 1).

5) Высокая проточность. Степень водообмена водохранилища равна 4.7 (табл. 1).

6) Недостаток нерестилищ. По данным ряда авторов, в озерах и водохранилищах сеток откладывает икру в прибойной зоне на глубинах от 10–15 см до 0.7–4 м [Лапин, 1955; Морозова, 1955; Абросов, Агапов, 1957 (Lapin, 1955; Morozova, 1955; Abrosov, Agapov, 1957)]. В Куйбышевском водохранилище весенняя сработка уровня воды создает неблагоприятные условия для инкубации икры, отложенной на мелководьях [Лукин, 1975 (Lukin, 1975)].

Особенность корюшки – образование форм (“корюшковая” и “сетковая”) в зависимости от условий обитания особи в первые два года жизни. Прежде всего, имеет большое значение термический режим [Иванова, 1987 (Ivanova, 1987)]. Так количество созревших на 1-ом году особей определяется температурой воды в период развития личинок. В связи этим необходимо отметить, что среднемесячная температура воды в мае в Белом озере и Рыбинском водохранилище обычно на 2–5°C ниже, чем в Куйбышевском. Это приводит к тому, что доля созревающих сеголетков в более южных водоемах выше, чем в северных. Так, в поколении 1971 г. доля созревших сеголетков составила в Белом озере 0.2%, в Рыбинском водохранилище 17%, а в Куйбышевском водохранилище 65% [Иванова и др., 1984 (Ivanova et al., 1984)].

В удельной скорости роста численности популяции обобщаются такие частные показатели, как рождаемость, смертность и возрастная структура [Odum, 1971]. У короткоциклового вида основной вклад вносят рождаемость и смертность. Влияние факторов окружающей среды, включая и биотические, на любую из этих составляющих определяет и величину удельной скорости роста популяции рыб. Таким образом, оптимальность условий существования вселенца определяют следующие факторы: условия нереста и раннего развития;

обилие и доступность пищи; влияние конкурентов и хищников.

В условиях водохранилищ (при прочих равных условиях) биомасса зоопланктона выше в водоемах южных [Иванова и др., 1978 (Ivanova et. al., 1978)]. Кроме того, анализ эффективности размножения другого вселенца (тюльки) Куйбышевского водохранилища показал ее зависимость от температуры воды, длительности вегетационного периода и концентрации кормового зоопланктона [Кузнецов, 1973 (Kuznetsov, 1973)]. В обобщенном виде влияние температурного фактора на эффективность размножения рыб и развитие их кормовой базы может быть отражено интегральным параметром – географической широтой водоема.

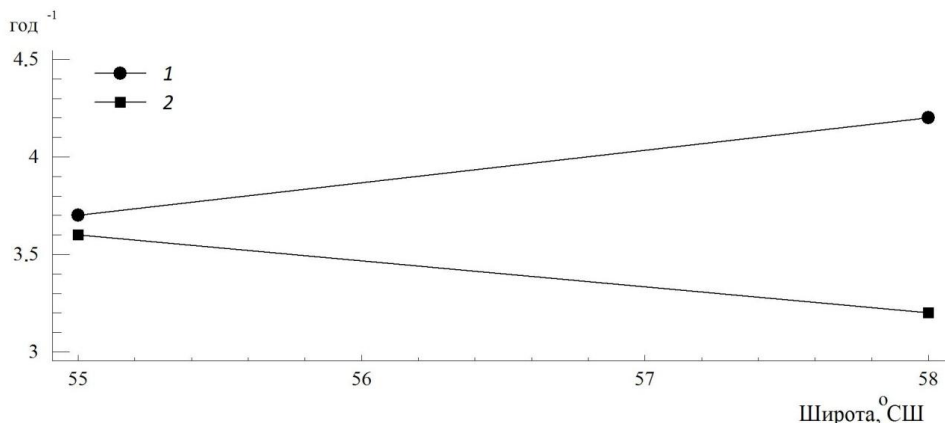
Рассмотрим изменение потенциальной скорости роста численности снетка в зависимости от географической широты водохранилища. Ранее для популяции снетка Рыбинского водохранилища было приведено значение потенциальной скорости роста численности равное  $1.0 \text{ год}^{-1}$  [Slynko, Kiyashko, 2012]. И оно соответствовало максимальному значению удельной скорости изменения численности популяции на третьей фазе натурализации вселенца.

Однако максимальный рост численности популяции наблюдается в условиях, когда среда не оказывает ограничивающего влияния. Для короткоциклового вида, которым и является снеток, такие условия создаются не только в первые годы формирования популяции в новом месте, но и в период восстановления популяции после катастрофического снижения ее численности.

В 1973–1974 гг. уловы снетка в Рыбинском водохранилище снизились на два порядка [Пермитин, Половков, 1978 (Permitin, Polovkov, 1978)]. Это было обусловлено влия-

нием на термический режим водоемов Северо-Европейской части СССР аномально жаркого лета в 1972–1974 гг., что сказалось на эффективности размножения, смертности и привело к снижению запасов снетка [Кудерский, Федорова, 1977 (Kuderskiy, Fedorova, 1977)]. Далее до 1983 г. шло увеличение уловов снетка до 1000 экз./15 мин. траления, а затем последовало резкое их снижение. С 1985 по 1990 год уловы снетка опять возрастали до 5000 экз./15 мин. траления. Следовательно, на IV фазе его натурализации в Рыбинском водохранилище так же создавались условия для реализации потенциальной скорости роста численности популяции. Максимальное значение удельной скорости увеличения численности в этот период составило  $4.2 \text{ год}^{-1}$  [Слынько, Терещенко, 2014 (Slynko, Tereshchenko, 2014)]. Поэтому следует принять значение потенциальной скорости роста численности популяции снетка Рыбинского водохранилища равным  $4.2 \text{ год}^{-1}$ .

Для сравнения рассмотрим зависимость от географической широты потенциальной скорости роста численности теплолюбивого вида – тюльки. Предварительные значения этого популяционного параметра для тюльки в Куйбышевском ( $3.6 \text{ год}^{-1}$ ) и Рыбинском ( $2.1 \text{ год}^{-1}$ ) водохранилищах приведено было ранее [Слынько, Терещенко, 2014 (Slynko, Tereshchenko, 2014)]. Однако, как для снетка, для тюльки так же создавались благоприятные условия для реализации потенциальной скорости роста численности популяции на IV фазе ее натурализации в Рыбинском водохранилище. Максимальное значение удельной скорости увеличения численности популяции тюльки Рыбинского водохранилища, отмеченное на IV фазе натурализации, составило  $3.2 \text{ год}^{-1}$ , что и есть потенциальная скорость роста численности этого вселенца.



**Рис.** Зависимость потенциальной скорости роста численности популяции снетка (1) и тюльки (2) от географической широты.

**Fig.** The abundance specific rate of smelt *Osmerus eperlanus* (1) and tulka *Clupeonella cultriventris* (2) populations dependence from geographic latitude.

Таким образом, как для теплолюбивого, так и для холодолюбивого видов при удалении от нативного ареала обитания вида значение потенциальной скорости роста численности популяции снижается (см. рисунок). Это со-

гласуется с общими экологическими представлениями о том, что максимальное значение многих популяционных параметров отмечается в зоне экологического оптимума, т.е. в нативном ареале [Odum, 1971; Ricklefs, 1976].

## ВЫВОДЫ

1. Имеющиеся данные позволяют оценить потенциальную скорость роста численности снетка в климатической зоне Куйбышевского водохранилища равной  $3.7 \text{ год}^{-1}$ .

2. У снетка при продвижении к югу, т.е. при удалении от нативного ареала, значение потенциальной скорости роста численности популяции снижается.

Авторы выражают глубокую благодарность бывшему старшему научному сотруднику Института биологии Волжского бассейна РАН, кандидату биологических наук С.В. Козловскому за архивные материалы по уловам малькового трала за период 1957–1983 гг., что позволило оценить потенциальную скорость роста численности снетка Куйбышевского водохранилища.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абросов В.Н., Агапов И.Д. О саморегуляции численности снетка в Жижикском озере // Вопросы ихтиологии. 1957. Вып. 8. С. 160–178.
- Васильев Л.И. О снетке Рыбинского водохранилища // Зоол. журн. 1951. Т. XXX. Вып. 6. С. 590–592.
- Воронов Д.А. Расчет удельной скорости роста популяции: сопоставление определения и модели // Журн. общей биологии. 2005. Т. 66. № 5. С. 425–430.
- Иванова М.Н. Популяционная изменчивость пресноводных корюшек. Рыбинск, 1982. 144 с.
- Иванова М.Н. К вопросу о продолжительности жизни пресноводной корюшки *Osmerus eperlanus* // Вопросы ихтиологии. 1987. Т. 27. Вып. 6. С. 1019–1022.
- Иванова М.Н., Козловский С.В., Лопатко А.Н., Стрельникова А.П. О биологии корюшки средневожских водохранилищ // Биол. продуктивность и качество воды Волги и ее водохранилищ. М.: Наука, 1984. С. 211–214.
- Иванова М.Н., Половкова С.Н., Кияшко В.И., Баканов А.И. Питание и пищевые взаимоотношения рыб в водохранилищах Волжского каскада // Теоретические аспекты рыбохозяйственных исследований водохранилищ. Л.: Наука, 1978. С. 55–77.
- Исаев А.И., Карпова Е.И. Рыбное хозяйство водохранилищ. М.: Пищев. пром., 1989. 255 с.
- Карпевич А.Ф. Теория и практика акклиматизации водных организмов. М.: Пищев. пром., 1975. 432 с.
- Кожеников Г.П. Снеток в Горьковском водохранилище // Науч.-техн. Бюллетень ВНИОРХ. 1958. № 6–7. С. 111–112.
- Кудерский Л.А. Случаи саморасселения и аутоакклиматизации корюшки // Сырьевые ресурсы внутренних водоемов Северо-Запада. Тр. Карел. отд. Гос. НИИ оз. и речн. хоз-ва. 1967. Т. V. Вып. 1. С. 311–314.
- Кудерский Л.А., Федорова Г.В. Снижение запасов снетка в больших водоемах в Северо-Европейской части СССР в 1973–1975 гг. // Рыбохозяйственное изучение внутренних водоемов. Л.: ГосНИИ оз. и реч. рыб. хоз-ва. 1977. Вып. 20. С. 3–8.
- Кузнецов Н.В. О нахождении корюшки (*Osmerus eperlanus eperlanus*) в реке Волге в районе города Горького // Тр. Карело-финского отд. ВНИОРХ. Петрозаводск, 1951. С. 413–416.
- Кузнецов В.А. Особенности размножения и роста тюльки – нового компонента ихтиофауны Куйбышевского водохранилища // Научн. Докл. Высш. Школы. Биол. Науки. 1973. № 6. С. 23–25.
- Кузнецова И.А. Скат и питание снетка *Osmerus eperlanus eperlanus morpha spirinchus* Pallas в р. Волге // Вопр. ихтиологии. 1966. Т. 6. Вып. 4(41). С. 744–749.
- Лапин Ю.Е. Снеток Рыбинского водохранилища. Автореферат канд. дисс. Москва, 1955. 15 с.
- Лукин А.В. Куйбышевское водохранилище // Водохранилища Волжско-Камского каскада и их рыбохозяйственное значение. Изв. ГосНИОРХ. 1975. Т. 102. С. 105–117.
- Лукин А.В., Баранов И.В. Рыбохозяйственное исследование Куйбышевского водохранилища в 1956 г. // Науч.-техн. бюллетень ВНИОРХ. 1958. № 6–7. С. 19–22.
- Морозова П.Н. Рыбы Белого озера и их промысловое использование // Рыболовство на Белом и Кубенском озерах. Вологда, 1955. С. 1–141.
- Пермитин И.Е., Половков В.В. Особенности образования и динамика структуры скоплений пелагических рыб // Теоретические аспекты рыбохозяйственных исследований водохранилищ. Тр. ИБВВ АН СССР. Вып. 32(35). Л.: Наука, 1978. С. 78–105.
- Поддубный А.Г. Состояние ихтиофауны Куйбышевского водохранилища в начальный период его существования // Тр. Инст. биол. водохр. АН СССР. 1959. Вып. 1(4). С. 269–297.
- Слынько Ю.В., Терещенко В.Г. Рыбы пресных вод Понто-Каспийского бассейна (Разнообразие, фауногенез, динамика численности, механизмы адаптации) М.: ПОЛИГРАФ-ПЛЮС, 2014. 328 с.
- Стройкина В.Г. Численность и биомасса синезеленых водорослей в поверхностном горизонте воды Куйбышевского водохранилища в период цветения 1957 и 1958 гг. // Бюлл. ИБВ АН СССР. 1960. № 8–9. С. 9–13.



- Терещенко В.Г., Бузевич И.Ю., Христенко Д.С., Терещенко Л.И. Удельная скорость роста численности тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) в Днепродзержинском и Кременчугском водохранилищах на разных фазах ее натурализации // Биология внутренних вод. 2015. № 3. С. 72–79. DOI: 10.1134/S1995082915030141.
- Чиркова З.Н. Снеток в Горьковском и Куйбышевском водохранилищах // Бюлл. ИБВ АН СССР. 1960. № 8–9. С. 42–43.
- Шаронов И.В. Некоторые черты формирования ихтиофауны Куйбышевского водохранилища // Бюлл. ИБВ АН СССР. 1960а. № 8–9. С. 38–41.
- Шаронов И.В. О распределении снетка в Куйбышевском водохранилище // Бюлл. ИБВ АН СССР. 1960б. № 8–9. С. 44–45.
- Шаронов И.В. Расширение ареала некоторых рыб в связи зарегулированием Волги // Волга-I: Проблемы изучения и рационального использования биол. ресурсов водоемов. Материалы Первой конф. по изучению водоемов бассейна Волги. Куйбышев: Куйб. кн. изд-во, 1971. С. 226–232.
- Шаронов И.В. Проникновение северных и южных форм рыб в Куйбышевское водохранилище // Распределение и численность промысловых рыб Куйбышевского водохранилища и обуславливающие их факторы. Казань: Татарское книжн. изд-во, 1972. С. 178–179.
- Birch L.C. The intrinsic rate of natural increase of an insect population // J. Anim. Ecol. 1948. Vol. 17. P. 15–26.
- Cadotte M. W., Colautti R. I. The ecology of biological invasions: past, present and future // Invasive plant: Ecological and Agricultural Aspects. Ed. Inderjit. Basel: Birkhäuser Verlag. Switzerland. 2005. P. 19–43.
- Kangur A., Kangur P., Kangur K., Möls T. The role of temperature in the population dynamics of smelt *Osmerus eperlanus eperlanus* m. *spirinchus* Pallas in Lake Peipsi., Möls Tõnu // Hydrobiologia [КЭ]. 2007. Vol. 584. № 1. P. 433–441.
- Odum E.P. Fundamentals of Ecology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1971. 574 p.
- Pianka, E.R., Evolutionary Ecology, New York: Harper and Row, 1978. 397 p.
- Ricklefs R.E. The economy of Nature. A textbook in basic ecology. Portland, Oregon: Chiron Press. Inc., 1976.
- Slynko Yu.V., Kiyashko V.I. 2012. The analysis of effectiveness invasions of pelagic species of fishes in Volga river reservoirs // Russian Journal Biological Invasion. Vol. 3. № 2. P. 129–138.
- Solbrig O.T., Solbrig D.J. Introduction to Population and Evolution. Reading, Massachusetts, Menlo Park: Addison-Wesley Publishing Company, 1979. 468 p.
- Tereshchenko V.G., Khrystenko D.S., Kotovska G.O., Tereshchenko L.I. The Specific Rate of the Population Dynamics of the Black-Striped Pipefish *Sygnathus nigrolineatus* Eichwald, 1831 in the Kremenchug and Dneprodzerzhinsk Reservoirs at Different Phases of the Naturalization of the Species // Inland Wat. Biol. 2016. Vol. 9. № 1. P. 79–86. DOI: 10.1134/S1995082911601017X

#### REFERENCES

- Abrosov V.N., Agapov I.D. 1957. O samoregulyatsii chislennosti snetka v Zhyzhytskom ozere [On self-regulation of sparring quantity in Zhyzhytskoe Lake] // Voprosy ikhtiologii. 8. S. 160–178. [In Russian]
- Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population // J. Anim. Ecol. Vol. 17. P. 15–26.
- Cadotte M. W., Colautti R. I. 2005. The ecology of biological invasions: past, present and future // Invasive plant: Ecological and Agricultural Aspects. Ed. Inderjit. Basel: Birkhäuser Verlag. Switzerland. P. 19–43.
- Chirkova Z.N. 1960. Snetok v Gor'kovskom i Kujbyshevskom vodokhranilishhakh [*Osmerus eperlanus* morpha *spirinchus* in Gorki and Kuibyshev water reservoirs] // Byull. IBV AN SSSR. № 8–9. S. 42–43. [In Russian]
- Isaev A.I., Karpova E.I. 1989. Pybnoe khozyaistvo vodokhranilish. [Fishing-culture for reservoirs]. M.: Pishchevaya promyshlennost'. 255 s. [In Russian]
- Ivanova M.N. 1982. Populyatsionnaya izmenchivost' presnovodnykh koryushek. Rybinsk. 144 s. [Ivanova M.N. Population variability of freshwater smelts]. Rybinsk. 144 s. [In Russian]
- Ivanova M.N. 1987. K voprosu o prodolzhitel'nosti zhizni presnovodnoj koryushki *Osmerus eperlanus* [On the live span of the freshwater smelt, *Osmerus eperlanus*] // Voprosy ikhtiologii [Journal of ichthyology, USSR]. Vol. 27. 6. S. 1019–1022. [In Russian]
- Ivanova M.N., Kozlovsky S.V., Lopatko A.N., Strel'nikova A.P. 1984. O biologii koryushki srednevolzhskikh vodokhranilish [On biology of sparring in Middle-Volga reservoirs] // Biologicheskaya produktivnost' i kachestvo vody Volgi i ee vodokhranilish. M.: Nauka, S. 211–214. [In Russian]
- Ivanova M.N., Polovkova S.N., Kiyashko V.I., Bakanov A.I. 1978. Pitanie i pishchevye vzaimootnosheniya ryb v vodokhranilishakh Volzhskogo kaskada [The feeding and feeding relations of fishes in Volga Cascade reservoirs] // Teoreticheskie aspekty rybokhozyastvennykh issledovaniy vodokhranilish. L.: Nauka. S. 55–77. [In Russian]
- Kangur A., Kangur P., Kangur K., Möls T. 2007. The role of temperature in the population dynamics of smelt *Osmerus eperlanus eperlanus* m. *spirinchus* Pallas in Lake Peipsi., Möls Tõnu // Hydrobiologia [КЭ]. Vol. 584. № 1. P. 433–441.
- Karpevich A.F. 1975. Teoriya i praktika akklimatizatsii vodnykh organizmov [Karpevich A.F. Theory and Practice for Acclimatization of Aquatic Animals]. M.: Pishchevaya promyshlennost'. 432 s. [In Russian]
- Kozhevnikov G.P. 1958. Snetok v Gor'kovskom vodokhranilishche [Sparring in Gorky Reservoir] // Nauchno-tehnicheskii Byulleten' VNIORCh. № 6–7. S. 111–112 [In Russian]

- Kuderskiy L.A. 1967. Sluchai samorasseleniya i autoakklimizatsii koryushki [Instances the self-occupation and auto acclimatization of sparring] // Syr'evye resursy vnutrennikh vodoemov Severo-Zapada. Tr. Karelo-Finskogo otd. Gos. NII oz. i rechn. khoz-va. Vol. V. 1. S. 311–314. [In Russian]
- Kuderskiy L.A., Fedorova G.V. 1977. Snizhenie zapasov snetka v bol'shikh vodoemakh v Severo-Evropejskoj chasti SSSR v 1973–1975 gg. [Decrease of sparring stock in large water bodies of the North-European USSR in 1973–1975] // Rybokhozyajstvennoe izuchenie vnutrennikh vodoemov. Leningrad: GosNII ozer. i rech. ryb. khoz-va. 20. S. 3–8. [In Russian]
- Kuznetsov N.V. 1951. O nakhozhenii koryushki (*Osmerus eperlanus eperlanus*) v reke Volge v rajone goroda Gor'kogo [On smelt (*Osmerus eperlanus eperlanus*) find in Volga River near Gorky-City] // Tr. Karelo-finskogo otd. VNIORKH. Petrozavodsk. S. 413–416. [In Russian]
- Kuznetsov V.A. 1973. Osobennosti razmnozheniya i rosta tyul'ki – novogo komponenta ikhtiofauny Kujbyshevskogo vodokhranilishha [Reproduction and growth peculiarities of the tulka – new component of ichthyofauna in Kuibyshev reservoir] // Nauchn. Dokl. Vyssh. Skoly. Biol. Nauki. № 6. S. 23–25. [In Russian]
- Kuznetsova I.A. 1966. Skat i pitanie snetka *Osmerus eperlanus eperlanus* morpha *spirinchus* Pallas v r. Volge [Descent and feeding of *Osmerus eperlanus eperlanus* morpha *spirinchus* Pallas in the Volga] // Voprosy. Ikhtologii [Problems of ichthyology]. Vol. 6. 4(41). S. 744–749. [In Russian]
- Lapin Yu.E. 1955. Snetok Rybinskogo vodokhranilishha. Avtoreferat kand. diss. Moskva. 15 s. [Sparring of Rybinsk Reservoir. Extended Abstract of DPh. (Biol.) Dissertation. Moscow]. 15 s. [In Russian]
- Lukin A.V. 1975. Kujbyshevskoe vodokhranilishhe [Kuibyshev Reservoir] // Vodokhranilishha Volzhsko-Kamskogo kaskada i ikh rybokhozyajstvennoe znachenie. Izv. GosNIORKh. Vol. 102. S. 105–117. [In Russian]
- Lukin A.V., Baranov I.V. 1958. Rybokhozyajstvennoe issledovanie Kujbyshevskogo vodokhranilishha v 1956 g. [Fishing-culture Research the Kuibyshev Reservoir in 1956 year] // Nauch.-tekhn. byulleten' VNIORKH. № 6–7. S. 19–22. [In Russian]
- Morozova P.N. 1955. Ryby Belogo ozera i ikh promyslovoe ispol'zovanie [Fishes in Beloye Lake and their catch] // Rybolovstvo na Belom i Kubenskom ozerakh. Vologda. S. 1–141. [In Russian]
- Odum E.P. 1971. Fundamentals of Ecology. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 574 p.
- Permitin I.E., Polovkov V.V. 1978. Osobennosti obrazovaniya i dinamika struktury skoplenij pelagicheskikh ryb [Formation peculiarity and structure dynamic of pelagic fishes accumulations] // Teoreticheskie aspekty rybokhozyajstvennykh issledovanij vodokhranilishch. Tr. IBVV AN SSSR. 32(35). L.: Nauka. S. 78–105. [In Russian]
- Pianka, E.R. 1978. Evolutionary Ecology, New York: Harper and Row. 397 p.
- Poddubny A.G. 1959. Sostoyaniye ikhtiofauny Kujbyshevskogo vodokhranilishha v nachal'nyj period ego sushhestvovaniya [Ichthyofauna of Kuibyshev Reservoir on first period of its existence] // Tr. Inst. biol. vodokhr. AN SSSR. 1(4). S. 269–297. [In Russian]
- Ricklefs R.E. 1976. The economy of Nature. A textbook in basic ecology. Portland, Oregon: Chiron Press. Inc.
- Sharonov I.V. 1960a. Nekotorye cherty formirovaniya ikhtiofauny Kujbyshevskogo vodokhranilishha [Certain features of the ichthyofauna formation in the Kuibyshev water reservoir] // Byull. IBV AN SSSR. № 8–9. S. 38–41. [In Russian]
- Sharonov I.V. 1960b. O raspredelenii snetka v Kujbyshevskom vodokhranilishhe [On *O. eperlanus* morpha *spirinchus* distribution in the Kuibyshev water reservoir] // Bull. IBV AN SSSR. № 8–9. [In Russian]
- Sharonov I.V. 1971. Rasshirenie areala nekotorykh ryb v svyazi zaregulirovaniem Volgi [The expansion of the area of some fishes with changes of the Volga regulation] // Volga-I: Problemy izucheniya i ratsional'nogo ispol'zovaniya biol. resursov vodoemov. Materialy Pervoj konf. po izucheniyu vodoemov bassejna Volgi. [Volga – I. Problems of studying and rational use of biological resources of water bodies. The materials of the First conference on studying water bodies of the Volga basin]. Kujbyshev: Kujb. kn. izd-vo [Kuibyshev Publishing House]. S. 226–232. [In Russian]
- Sharonov I.V. 1972. Proniknovenie severnykh i yuzhnykh form ryb v Kujbyshevskoe vodokhranilishhe [The move of northern and southern forms of fishes to Kuibyshevskoye reservoir] // Raspredelenie i chislennost' promyslovykh ryb Kujbyshevskogo vodokhranilishha i obuslovlivayushhie ikh faktory. Kazan': Tatarskoe knizhn. izd-vo. S. 178–179. // [In Russian]
- Slynko Yu.V., Kiyashko V.I. 2012. The analysis of effectiveness invasions of pelagic species of fishes in Volga river reservoirs // Russian Journal Biological Invasion. Vol. 3, № 2. P. 129–138.
- Slynko Y.V., Tereshchenko V.G. 2014. Ryby presnykh vod Ponto-Kaspijskogo bassejna (raznoobrazie, faunogenez, dinamika chislennosti, mekhanizmy adaptatsii) [Freshwater fishes of the Ponto-Caspian Basin (diversity, faunogenesis, population dynamics, adaptation mechanisms)]. M.: POLIGRAF-PLYUS, 328 s. [In Russian]
- Solbrig O.T., Solbrig, D.J. 1979. Introduction to Population and Evolution. Reading, Massachusetts, Menlo Park: Addison-Wesley Publishing Company. 468 p.
- Strojkina V.G. 1960. CHislennost' i biomassa sinezelenykh vodoroslej v poverkhnostnom gorizonte vody Kujbyshevskogo vodokhranilishha v period tsveteniya 1957 i 1958 gg. [The quantity and biomass of bluegreen algae in the surface horizon of the Kuibyshev water reservoir in the period of algal bloom (1957 and 1958)] // Byull. IBV AN SSSR. № 8–9. S. 9–13. [In Russian]
- Tereschenko V.G., Buzevich I.Yu., Khrystenko D.S., Tereshchenko L.I. 2015. Specific Growth Rate of Kilka *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) Populations in Dneprodzerzhinsk and Kremenchug Reservoirs at Different Phases of Its Naturalization // Inland Water Biology. Vol. 8. № 3. P. 301–308.

Tereshchenko V.G., Khrystenko D.S., Kotovska G.O., Tereshchenko L.I. 2016. The Specific Rate of the Population Dynamics of the Black-Striped Pipefish *Syngnathus nigrolineatus* Eichwald, 1831 in the Kremenchug and Dneprodzerzhinsk Reservoirs at Different Phases of the Naturalization of the Species // *Inland Wat. Biol.* Vol. 9. № 1. P. 79–86. DOI: 10.1134/S1995082911601017X

Vasil'ev L.I. 1951. O snetke Rybinskogo vodokhranilishcha [On sparling of Rybinsk Reservoir] // *Zoologicheskyy zhurnal*. Vol. XXX. 6. S. 590–592. [In Russian]

Voronov D.A. 2005. Raschet udel'noj skorosti rosta populyatsii: sopostavlenie opredeleniya i modeli [Calculation of the specific growth rate of a population: comparison definition and model] // *Zhurn. obshchey biologii* [Jornal of General biology]. Vol. 66. № 5. S. 425–430. [In Russian]

## **SPECIFIC GROWTH RATE OF SMELT *OSMERUS EPERLANUS* (L.) POPULATION IN KUIBYSHEV RESERVOIR**

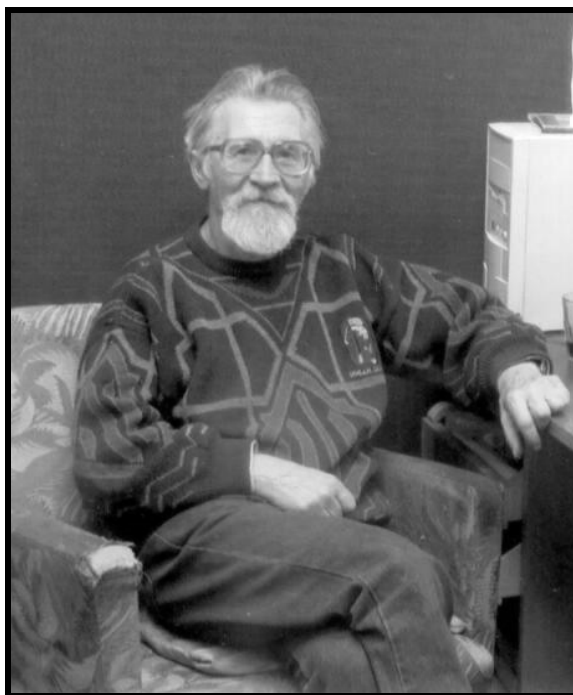
**V. G. Tereshchenko, L. I. Tereshchenko**

*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences,  
152742 Borok, Russia, e-mail: tervlad@ibiw.yaroslavl.ru*

The potential rate of the increase of the smelt *Osmerus eperlanus* (L) number is estimated in water body located far south from this species native areal by retrospective analysis its abundance long-term (1957–1983) dynamics in research catches with pelagic trawl (with a size of 10 x 1.5 m with a mesh of 6 mm in the cod-end).

It is established, this index is below the smelt in the Kuibyshev Reservoir abiotic conditions (3.7 year<sup>-1</sup>) in comparison with the smelt in the more northern Rybinsk Reservoir (4.2 year<sup>-1</sup>), i.e. a tendency for a decrease of this parameter far away native areal of invader is revealed.

**Keywords:** invader, population, abundance, *Osmerus eperlanus* (L), the specific rate of change in the population, the potential growth rate, Kuibyshev reservoir

**Памяти ВЛАДИМИРА НИКОЛАЕВИЧА ЯКОВЛЕВА**

Владимир Николаевич Яковлев родился в Москве 26 декабря 1932 г. В 1956 г. окончил биолого-почвенный факультет МГУ им. М.В. Ломоносова по кафедре ихтиологии. С 1956 по 1975 гг. занимался исследованиями в области палеосистематики и эволюции водных организмов (рыбы, конодонты). Последовательно работал в Палеонтологическом институте АН СССР, Лимнологическом институте СО АН СССР и в Геологическом институте АН СССР. В 1961 г. защитил в МГУ кандидатскую диссертацию "Пресноводная ихтиофауна неогена Голарктики и некоторые проблемы зоогеографии", под руководством проф. В.Д. Лебедева. В 1974 г. защитил докторскую диссертацию "Пресноводная ихтиофауна лучеперых мезозоя Азии".

В 1975 г. Владимир Николаевич был приглашен на работу в Институт Биологии Внутренних вод, в Борок и с тех пор вся его творческая и научная жизнь была связана с нашим институтом и с Борком. С 1975 по 1986 гг. он заведующий лаборатории экологии водных беспозвоночных Института биологии внутренних вод АН СССР, в 1986–1989 гг. – зав. лаб. экологии Института водных проблем АН СССР. С 1996 по 2006 гг. он был заведующим лабораторией Экологии Рыб ИБВВ РАН. С 1989 г. и практически до своей кончины

Владимир Николаевич занимал должность главного научного сотрудника ИБВВ РАН.

Вся его жизнь знаменовалась значительными вехами не только научной, но и организационной деятельности. В 1974–1975 гг. Яковлев В.Н. – начальник отряда Советско-Монгольской Палеонтологической экспедиции. В 1978–1985 гг. – ответственный исполнитель и координатор исследований по теме ГКНТ "Прогноз экологических изменений при переброске Северных и Сибирских рек". В 1989–1990 гг. – куратор академической межинститутской программы "Токсические загрязнения поверхностных вод суши и их экологические эффекты". В 1993–1997 гг. он ответственный исполнитель и координатор работ в ИБВВ РАН по грантам академической программы "Биоразнообразие". Со времени прихода в ИБВВ Владимир Николаевич непременный член Ученого Совета Института, а с момента образования диссертационного совета входил и в его состав.

Владимир Николаевич по праву считается и широко признан, как автор научной концепции неогенового формирования бореальной пресноводной ихтиофауны Евразии. Значительное место в его научной жизни уделено созданию и развитию такого научного направления, как популяционная морфология пре-

сноводных рыб. Им была сформулирована и развита идея о скачкообразном фазовом переходе популяций из одного состояния морфо-биологического стасиса в другое, основанная на нетривиальных генетических процессах. Собран обширный и доказательный материал, позволивший наглядно подтвердить связь эволюционных параксизмов с периодами экологических кризисов, в том числе, и с современными, в результате антропогенного воздействия. Разработана концепция неогенеза ихтиофауны бассейна Волги, основой которого явилась антропогенная реконструкция волжского русла и усиление техногенного пресса.

Владимир Николаевич по уровню своей эрудиции, объему научных знаний, высокой и продуктивной работоспособности являлся одним из ведущих на сегодняшний день специалистов не только в нашей стране, но и в мире в области фаунистики, зоогеографии и эволюции. Разработанные им концепции и направления не только стали общеизвестными и общепотребимыми, в частности концепция фауногенеза пресноводной ихтиофауны Евразии стала классической концепцией современной мировой ихтиологии и зоогеографии, но и привели к появлению многочисленных учеников и последователей во многих странах. В последние годы научные интересы Владимира Николаевича были сосредоточены на экспериментальных проверках ряда эволюционных положений и закономерностей. Исследовались процессы отдаленной гибридизации у позвоночных животных. Закономерным итогом этих работ и отражением самой личности

Владимира Николаевича, как выдающегося ученого-энциклопедиста стало открытие эффекта полной сегрегации целостных геномов при отдаленной гибридизации у позвоночных животных и формулирование закона гологеномного наследования, являющегося существенным дополнением и развитием базовых законов Г. Менделя. Подобного рода достижение не имеет аналога в мировой биологии на протяжении последних 160 лет.

Владимир Николаевич был автором свыше ста научных работ, многие из которых имели эпохальное звучание. Он являлся научным руководителем, ведущим оппонентом и куратором свыше 50 кандидатских и докторских диссертаций, всегда достойно и на высоком уровне представлял отечественную науку за рубежом, неоднократно участвуя в работе различных международных конгрессов, симпозиумов и совещаний по проблемам палеонтологии, ихтиологии, зоогеографии, эволюции и экологии. В 1993 г. его имя было внесено в Международный справочник Оксфордского интернационального научного комитета "Кто есть кто" в области биологии.

Как человек и ученый, Владимир Николаевич – был и навсегда останется в "золотом фонде" Борка. Его отзывчивость, широчайшая эрудиция, интеллектуальность, высочайшей пробы этичность и глубочайшая мудрость были и останутся ориентиром и примером для многих поколений ученых Борка.

*К.б.н. Ю.В. Слынько*

**Памяти ГЕОРГИЯ ЕВГЕНЬЕВИЧА ШУЛЬМАНА**

Г.Е. Шульман родился в Киеве 19 августа 1929 года. После окончания с отличием в 1953 году биологического факультета Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина он начал трудовую деятельность в лаборатории ихтиологии Азово-черноморского научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии (АзчерНИРО, г. Керчь) в качестве младшего научного сотрудника. В 1959 году он успешно защитил кандидатскую диссертацию, посвященную экологии азовского анчуса. Здесь же в 1962 году им была организована первая в Азово-Черноморском бассейне лаборатория физиологии рыб, которая определила новое направление исследований ихтиофауны региона. За сравнительно короткий срок им были обобщены материалы, посвященные жизненным циклам азово-черноморских рыб, которые нашли отражение вначале в виде докторской диссертации (г. Москва, 1970 год), а затем монографии: “Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб” (1974 г.). Последняя была переведена в США и принесла Г.Е. Шульману широкую известность.

С 1965 года свои исследования Г.Е. Шульман продолжил в рамках отдела фи-

зиологии животных ИнБЮМ НАН Украины (г. Севастополь) (с 2000 года отдел физиологии животных и биохимии), который он возглавлял на протяжении 36 лет и главным научным сотрудником, которого являлся в последнее время. Фактически при участии Г.Е. Шульмана здесь была сформирована научная школа по экологической биоэнергетике гидробионтов, основы которой ранее были заложены профессором, доктором биологических наук В.С. Ивлевым. Под его руководством здесь было подготовлено 3 докторских и 25 кандидатских диссертаций, написано 11 монографий и опубликованы сотни статей. За значительный вклад в развитие современной гидробиологии в 1995 году Г.Е. Шульман был избран членом-корреспондентом Национальной Академии Наук Украины по специальности «гидробиология». В 2006 году ему присвоено звание заслуженного деятеля науки и техники Украины, а в 2007 году он с группой сотрудников института получил государственную премию Украины в области науки и техники за цикл работ “Продуктивность, биоразнообразие и экологическая безопасность экосистем Черного моря и перспективных для Украины районов Мирового океана”. В октябре 2008 году на Международной конференции

в Софии (Болгария) Г.Е. Шульману была вручена премия Международной комиссии по защите экосистемы Черного моря от загрязнений – “За выдающиеся достижения и огромный вклад в изучение экосистемы Черного моря”. Г.Е. Шульману принадлежит фундаментальный цикл работ по изучению метаболических основ жизненных циклов морских рыб, баланса и трансформации вещества и энергии в пелагической и прибрежной экосистемах Черного моря, воздействия на эти экосистемы глобальных климатических и региональных антропогенных факторов, индикации и мониторинга функционального состояния гидробионтов и их сообществ. Применение интегральных методов оценки интенсивности энергетического и пластического обмена позволило группе руководимой Г.Е. Шульманом установить факт использования белков в качестве энергетических субстратов в условиях анаэробного у различных систематических групп гидробионтов (рыб, моллюсков, ракообразных). Обнаружена универсальная роль полиненасыщенной (“омега-3”) жирной докозагексаеновой кислоты в функциональных адаптациях морских животных с высокой подвижностью. Показана доминирующая роль обеспеченности пищей в формировании энергетических (жировых) запасов и в динамике численности популяций мелких пелагических рыб (анчоуса, шпрота), составляющих основу промыслового потенциала азово-черноморского региона. На основании многолетних исследований Г.Е. Шульманом была разработана теория альтернативных метаболических стратегий, лежащих в основе биоразнообразия и биологического прогресса, регулирующих конкурентные отношения в экосистемах и имеющих благодаря этому общебиологическое значение.

Исследования Г.Е. Шульмана нашли отражение более чем в 300 печатных работах, в том числе 11 монографиях, 3 из которых изданы за рубежом. Совместная работа с шотландским ученым М. Лавом (впоследствии иностранным членом Национальной Академии Наук Украины) позволила Г.Е. Шульману подготовить к печати монографию G.E. Shulman & R.M. Love “The Biochemical Ecology of Marine Fishes”, которая была издана в 1999 году в Великобритании в одной из наиболее престижных серий по морской биологии “Advances in Marine Biology” (Academic Press, London). Эта

книга получила широкий отклик у Мировой научной общественности. Результатом плодотворного сотрудничества с испанским коллегой Дж. Ллоретом недавно стала монография J. Lloret, G. Shulman, R. M. Love “Condition and Health Indicators of Exploited Marine Fishes” (Wiley Blackwell, 2014).

Г.Е. Шульман – участник и организатор более 40 научных экспедиций в бассейны Азовского, Черного, Средиземного морей, Атлантического и Индийского океанов. Являлся руководителем многих национальных и международных программ и проектов. В качестве профессора неоднократно читал лекции в университетах и научно-исследовательских институтах Великобритании, Франции, Италии, Турции, Польши, Израиля. Являлся представителем в Европейском Морском Биологическом Обществе, членом Международного Совета по Экоэтике. Многие годы был заместителем председателя Научно-консультативного Совета по экологической физиологии и биохимии рыб при Ихтиологической комиссии Министерства Рыбного хозяйства (Москва), членом Бюро и Пленума этой комиссии, членом Научного Совета по программе “Гидробиология, ихтиология и использование водных ресурсов” РАН. Был организатором и руководителем многих научных конференций, симпозиумов и школ. В последнее время Г.Е. Шульман являлся заместителем главного редактора “Морского биологического журнала”. Активно занимался популяризаторской деятельностью. Широкую известность получили его очерки, посвященные морской тематике: “На траверзе – Дакар” (1964), “Путешествие в синюю страну” (1979), “Пылинки на звездном пороге” (1999), “Зыбкими дорогами планеты” (2003), а также вольные переводы из англоязычной поэзии: “Миндаль зацвел” (2006), “Борись за счастье” (2009), “Прощальная песнь любви” (2014). Буквально за месяц до кончины Георгия Евгеньевича вышла его книга “Здравствуй, Кара-Даг – Великий памятник природы!” (2016) – о его самом любимом месте на нашей планете.

Со смертью Г.Е. Шульмана современная гидробиология понесла невосполнимую утрату. Светлая память о Георгии Евгеньевиче Шульмане, как о человеке, ученом, учителе навсегда останется в сердцах всех, кто его знал.

*Д.б.н., проф. А.А. Солдатов*





Научное издание

*А. М. Андреева, В. В. Большаков, Ю. Г. Изюмов, В. В. Крылов, А. Д. Куликова, Е. Е. Слынько,  
А. А. Солдатов, Е. Н. Пакунова, И. А. Парфенова, В. Г. Терещенко, Л. И. Терещенко,  
Ю. В. Чеботарева, Н. А. Шобанов, Ю. В. Слынько*

# ГЕНЕТИКА И БИОХИМИЯ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Труды ИБВВ РАН, 2017, вып. 80 (83)

Подписано в печать 03.08.2017. Формат 60×90 1/8.  
Усл. печ. л. 12,5. Заказ № 17139. Тираж 100 экз.

Отпечатано в типографии ООО «Филигрань»  
150049, г. Ярославль, ул. Свободы, 91, [pechataet@bk.ru](mailto:pechataet@bk.ru)