

УДК 575.2:597:551

КАРІОТИПОВА МІНЛИВІСТЬ ТРИПЛОЇДНОГО КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО *CARASSIUS GIBELIO* BLOCH, 1782 У ВОДОЙМАХ УКРАЇНИ

П.П. ПУХТАЄВИЧ

Житомирський державний університет імені Івана Франка
 Україна, 10008, м. Житомир, вул. В. Бердичівська, 40
 e-mail: puhtaevich@inbox.ru

Мета. Встановлення наявності каріотипової та алозимної мінливості біотипів триплоїдних сріблястих карасів *Carassius gibelio*, Bloch, 1782 фауни України. **Методи.** Цитогенетичний аналіз клітин нирок та біохімічне генне маркування з використанням білків і ферментів крові та м'язових волокон. **Результати.** У роботі встановлено факти варіабельності карасів на хромосомному рівні, що разом з результатами електрофоретичних досліджень можуть бути доказом існування кількох клонових ліній – біотипів *C. gibelio-1* і *C. gibelio-2* з числом хромосом в соматичних клітинах 156 і 158 відповідно. **Висновок.** Отримані результати досліджень дають змогу зробити припущення про можливість поліфілетичного походження сріблястих карасів, а також про наявність суттєвої хромосомної мінливості триплоїдних біотипів цього виду.

Ключові слова: *Carassius gibelio*, каріотип, біотип, поліфілетичність, поліплоїдія, гібридизація.

Вступ. Триплоїдний гіногенетичний карась сріблястий є традиційно досить звичайним представником родини коропових в Україні і, згідно з останніми відомостями із систематики риб Європи [1–2], належить до окремого виду *Carassius gibelio* Bloch, 1782. Цитогенетичні дослідження європейських триплоїдних карасів показують досить широкі межі варіювання кількості хромосом [3–13]. Найчастіше представлені результати з показниками від 150 до 160, причому різницю між чоловічими і жіночими каріотипами не виявлено. Причиною такої значної мінливості може бути різна природа триплоїдних біотипів, адже відомо, що вони утворюються на Далекому Сході внаслідок гібридизації за участю п'яти видів роду *Carassius* між собою [14]. Невипадково, що за даними алозимного аналізу тільки в межах України було встановлено цілу низку триплоїдних біотипів карася сріблястого [15–16], які інвазували в водойми Європи ще в середині ХХ ст. при інтродукції рослиноїдних риб далекосхідного комплексу [17]. При цьому наймасовішими серед них є біотипи *C. gibelio-1* та *C. gibelio-2* [15–16]. Оскільки біотипи відрізняються за набором і характером константно гетерозиготних спектрів алозимів та структурних білків, то було зроблено висновок, що вони утворюються внаслідок гібридизації різних батьківських видів. Якщо це так, то цілком можливо, що вони і відрізняються за числом хромосом. Саме тому метою роботи була перевірка цього припущення.

© П. П. ПУХТАЄВИЧ, 2014

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень слугували 38 екземплярів карася сріблястого, вилонених протягом червня-липня 2013 року з чотирьох різних водойм Житомирської області, Україна. Пункти досліджень – це невеличкі озера і болота (басейн р. Тетерів), координати яких наведені в табл. 1.

Таблиця 1. Особини карася сріблястого *C. gibelio*, що були взяті для каріологічного аналізу в межах Житомирської області України

№	Координати водойм і найближчі населені пункти	Кількість досліджених особин	
		<i>C. gibelio</i> -1	<i>C. gibelio</i> -2
1	с. Покостівка, Житомирський район, 50.222142, 28.228567	5	5
2	с. Висока Піч, Житомирський район, 50.198173, 28.241180	6	5
3	с. Заможне, Житомирський район, 50.239239, 28.288552	6	6
4	с. Грем'яче, Житомирський район, 50.161475, 28.265902	–	5

Примітка: на підставі даних біохімічного генного маркування.

Електрофоретичний аналіз здійснено в 7,5 % поліакриламідному гелі і безперервній системі буферів [18]. Вивчені білки і ферменти, локуси яких мають у карасів видоспецифічність і дозволяють чітко встановити біотипову належність триплоїдних особин: аспаратамінотрансфераза (відповідно локуси *Aat-1*, *Aat-2*), глюкозофосфатізомераза (*Gpi-1*, *Gpi-2*), неспецифічні естерази (*Es-1*), структурні білки м'язів (*Pt-2*) і білок крові – трансферин (*Tf*), що дозволило однозначно віднести карасів до одного з двох біотипів.

У даній роботі використано модифіковану методику отримання каріологічних препаратів методом повітряного висушування, що була в деталях описана раніше [19]. При цьому як стимулятор мітотичних поділів використовували 0,1 % розчин $CoCl_2$. Забарвлювали препарати 5 % розчином азур-еозину за Романовським. Було досліджено не менше шести пластинок кожної особини. Метафазні пластинки аналізували і фотографували за допомогою мікроскопа Delta Optical Genetic Pro.

Для проведення стандартної статистичної обробки використовувалися програмні пакети Microsoft Excel v. 9.0, Statistica v. 6.0.

Результати та обговорення

Біохімічне генне маркування. У результаті досліджень виявлено дві клонові форми триплоїдних сріблястих карасів. Набір електроморф, що відповідали константним гетерозиготам, чітко розрізняли два біотиби (табл. 2), раніше описаних як *C. gibelio*-1 та *C. gibelio*-2 [15–16].

Таблиця 2. Електроморфи локусів, які діагностують біотиби сріблястих карасів

Біотип	Електроморфи
<i>C. gibelio</i> -1.1	<i>Aat-1</i> ^{abb} , <i>Aat-2</i> ^{acc} , <i>Es-1a</i> ^{b c} , <i>Gpi-1</i> ^{bbc} , <i>Gpi-2</i> ^{bc} , <i>Pt-2</i> ^{ab} , <i>Tf</i> ^{aac}
<i>C. gibelio</i> -2.1	<i>Aat-1</i> ^{bbb} , <i>Aat-2</i> ^{ccc} , <i>Es-1</i> ^{ab} , <i>Gpi-1</i> ^{aab} , <i>Gpi-2</i> ^{bc} , <i>Pt-2</i> ^{ab} , <i>Tf</i> ^{ab}

Каріологічний аналіз. Цитогенетичний аналіз карасів двох зазначених біотипів показав, що для соматичних клітин *C. gibelio*-1 характерно 156 хромосом (рисунок, а), а для *C. gibelio*-2 – 158 (рисунок, б). Модальні числа хромосом спостерігали в 79 та 74 % від вивчених клітин, що дає підстави вважати отримані результати достовірними, незважаючи на мінімальні розбіжності особин різних біотипів за кількістю хромосом. Ядра з менш ніж $3n = 156$ або $3n = 158$ хромосом виявлено в 18 і 23 % клітин відповідно, тоді як гіпертри-

Таблиця 3. Розподіл клітин за кількістю хромосом у метафазних пластинках різних біотипів *C. gibelio*

Біотип	Гіпотриплоїдні, %	Модальні, %	Гіпертриплоїдні, %	Кількість досліджених клітин
<i>C. gibelio-1</i>	18 ± 3,5	79 ± 3,7	3 ± 1,5	120
<i>C. gibelio-2</i>	23 ± 3,4	74 ± 3,6	3 ± 1,4	150

Таблиця 4. Статистичні параметри розподілу числа хромосом у метафазних пластинках різних біотипів *C. gibelio*

Біотипи	N	Mo	Min	Max	Var
<i>C. gibelio-1</i>	120	156	149	159	2,92
<i>C. gibelio-2</i>	150	158	148	163	8,62

П р и м і т к и . N – число метафазних пластинок; Mo – модальне число хромосом; Min – мінімальне число хромосом; Max – максимальне число хромосом; Var – середньоквадратичне відхилення.

Таблиця 5. Показники каріотипової мінливості триплоїдних карасів в Європі

Країна	Кількість хромосом	Формула	Літературне джерело
Чехія	3n = 156	30m + 54sm + 66sta + 6	[3]
Туреччина	3n = 156		[4]
Боснія	3n = 150		[5]
Чехія	3n = 160	46m + 82sm, st + 32a	[6]
Югославія	3n = 160	16m + 28sm + 126sta	[7]
Югославія	3n = 158	36m + 54sm, st + 68a	[8]
Польща	3n = 150	26m + 50sm + 74sta	[9]
Польща	3n = 154	24m + 54sm + 72sta + 4	[10]
	3n = 160	33m + 48sm + 75sta + 4	
	3n = 160	34m + 58sm + 62sta + 6	
Білорусь	3n = 141		[11]
Угорщина	3n = 148-156		[12]
Чехія	3n = 150-159		[13]

плоїдні набори виявлено лише в 3 % клітин (табл. 3). Слід зазначити, що між дослідженими біотипами існує вірогідна різниця у мінливості кількості хромосом у метафазній пластинці (табл. 4). Причому в більш різноманітному за кількістю клонових варіантів на рівні алозимних маркерів поліклоновому біотипі *C. gibelio-2* [15–16] вірогідна вища мінливість за кількістю хромосом. На це чітко вказує порівняння показників середньоквадратичних відхилень за допомогою критерію Фішера ($F = 2,95, p < 0,001$).

Отримані результати за числом хромосом у триплоїдних карасів з водойм України чітко вкладаються в межі мінливості, які

вказують для хромосомних наборів триплоїдних карасів інші автори (табл. 5). Однак, слід звернути увагу на ту обставину, що межі мінливості числа хромосом за даними різних авторів значно ширші, ніж отримані в даній роботі. Причиною цього можуть бути як особливості отримання

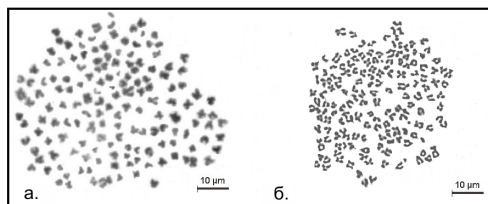


Рисунок. Мітотичні метафази досліджених біотипів *C. gibelio-1* (а); *C. gibelio-2* (б)

хромосомних препаратів різними дослідниками, так і більшою мірою різниця за числом хромосом різних біотипів. Нещодавні дослідження, що були здійснені на рівні ДНК маркерів карасів Європи [20], а також дані алозимного аналізу тільки в межах України [15–16] свідчать на присутність як мінімум 7–8 клонових біотипів, які, ймовірно за все, також відрізняються за числом хромосом.

Висновки

Використовуючи біохімічний генний аналіз та каріотипування, виявлено та описано різні триплоїдні біотиби карася сріблястого *C. gibelio*. Згідно з дослідженням, модальні числа хромосом у соматичних клітинах особин *C. gibelio*-1 і *C. gibelio*-2 становлять 156 та 158 відповідно. Отримані каріологічні дані є свідченням поліфліетичного походження одностатевого виду карася сріблястого *C. gibelio*. З огляду на каріологічні та алозимні дані, можна вважати обґрунтованим, що ці два біотиби є результатом гібридизації між *C. auratus*, з одного боку, та різних не встановлених видів карасів, умовно *C. species*-1 та *C. species*-2, які мешкають на Далекому Сході, звідки і походять триплоїдні біотиби *C. gibelio*-1 і *C. gibelio*-2.

Перелік літератури

1. Kottelat M. European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR) // *Biologia* (Bratislava). – 1997. – Vol. 52, Suppl. 5. – P. 1–271.
2. Богуцка Н.Г., Насека А.М. Каталог бесчелюстных и рыб пресных и солоноватых вод России с номенклатурными и таксономическими комментариями. – М.: Т-во науч. изданий КМК, 2004. – 389 с.
3. Knytl M., Kalous L., Symonová R. et al. Chromosome studies of European cyprinid fishes: cross-species painting reveals natural allotetraploid origin of a carassius female with 206 chromosomes // *Cytogenet Genome Res.* – 2013. – V. 139. – P. 276–283.
4. Emiroglu O., Bayramoğlu G., Öztürk D. et al. Determination of the gynogenetic reproduction character of *Carassius gibelio* in Uluabat lake // *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.* – 2011. – Vol. 6. – P. 648–653.
5. Sofradžija A., Berberović L., Hadžiselimović R. Chromosome sets of *Carassius carassius* and *Carassius auratus gibelio* // *Ichthyologia.* – 1978. – Vol. 10, Is. 1. – P. 135–148.
6. Penaz M., Rab P., Prokes M. Cytological analysis, gynogenesis and early development of *Carassius auratus gibelio* // *Acta scientiarum naturalium Academiae scientiarum bohemoslovacaе.* – 1979. – Vol. 13. – P. 1–33.
7. Vujosevich M., Zivkovic S., Rimsa D. et al. The chromosomes of 9 fish species from Dunav basin in Yugoslavia // *Ichthyologia.* – 1983. – Vol. 15, Is. 2. – P. 29–40.
8. Fister S., Soldatovic B. Karyotype analysis of a gynogenetic population of *Carassius auratus gibelio*, Bloch (Cyprinidae) from Pancevacki Rit // *Acta Veterinaria.* – 1989. – Belgrad. – Vol. 39, № 5–6. – P. 259–268.
9. Boroń A. Karyotypes of diploid and triploid silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) // *Cytobios.* – 1994. – Vol. 80. – P. 117–124.
10. Boroń A., Szlachciak J., Juchno D. et al. Karyotype, morphology, and reproduction ability of the Prussian carp, *Carassius gibelio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), from unisexual and bisexual populations in Poland // *Acta Ichthyol Piscat.* – 2011. – Vol. 41, № 1. – P. 19–28.
11. Черфас Н.Б. Естественная триплоидия у самок однополый формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* B.) // *Генетика.* – 1966. – Т. 2, № 5. – С. 16–24.
12. Tóth B., Várkonyi E., Hidas A. et al: Genetic analysis of offspring from intra- and interspecific crosses of *Carassius auratus gibelio* by chromosome and RAPD analysis // *J. Fish Biol.* – 2005. – Vol. 66. – P. 784–797.
13. Kalous L., Knytl M. Karyotype diversity of the offspring resulting from reproduction experiment between diploid male and triploid female of silver Prussian carp, *Carassius gibelio* (Cyprinidae, Actinopterygii) // *Folia Zool.* – 2011. – Vol. 60. – P. 115–121.
14. Shimuzu Y., Oshiro M., Sakaizumi O. Electrophoretic studies of diploid, triploid, and tetraploid forms of the Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii* // *Jap. J. Ichthyol.* – 1993. – Vol. 40, № 1. – P. 65–75.
15. Межжерин С.В., Кокодий С.В. Поликлоновая структура европейских серебряных карасей *Carassius auratus s. lato* в водоемах Украины // *Доповіді НАН України.* – 2008. – № 7. – С. 169–174.

16. Межжерин С.В., Кокодий С.В. Генетическая структура поселений серебряных карасей *Carassius* (superspecies *auratus*) (Linnaeus, 1758) Среднеднепровского бассейна // Генетика. – 2010. – Т. 46, № 6. – С. 817–824.
17. Демченко М.Ф. Некоторые вопросы биологии серебряного карася в кременчугском водохранилище // Рыбное хозяйство (Киев). – 1981. – Вып. 32. – С. 43–47.
18. Peacock F.C., Bunting S.L., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel patterns from normal human subjects // Science. – 1965. – Vol. 147. – P. 1451–1455.
19. Puhtayevych P.P. Modified method of metaphase plates obtaining for polyploidy fish genera *Carassius* and *Cobitis* karyotyping (Actinopterygii, Cypriniformes) // Vestnik zoologii. – 2014. – Vol. 43, № 3. – P. 371–376.
20. Takada M., Tachihara K., Kon T. et al. Biogeography and evolution of the *Carassius auratus*-complex in East Asia // BMC Evol. Biol. – 2010. – Vol. 10, № 7.

Представлено Л.Л. Лукаш
Надійшла 01.07.2014

КАРИОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ
ТРИПЛОИДНОГО СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ
CARASSIUS GIBELIO, BLOCH, 1782
В ВОДОЕМАХ УКРАИНЫ

П.П. Пухтаевич

Житомирский государственный университет
имени Ивана Франко
Украина, 10008, Житомир, ул. Б. Бердичевская, 40
e-mail: puhtaevich@inbox.ru

Цель. Определение наличия каріотипической и алозимной изменчивости биотипов триплоидных серебряных карасей *Carassius gibelio*, Bloch, 1782 фауны Украины. **Методы.** Цитогенетический анализ клеток почек, а также биохимическое генное маркирование с использованием белков и ферментов крови и мышечных волокон. **Результаты.** В работе установлены факты вариабельности карасей на хромосомном уровне, которые вместе с

результатами электрофоретических исследований могут быть доказательством существования нескольких клоновых линий – биотипов *C. gibelio*-1 и *C. gibelio*-2 с числом хромосом в соматических клетках 156 и 158 соответственно. **Вывод.** Полученные результаты исследований дают возможность сделать предположение о возможности полифилетического происхождения серебряных карасей, а также о наличии существенной хромосомной изменчивости триплоидных биотипов этого вида.

Ключевые слова: *Carassius gibelio*, каріотип, биотип, полифилетичность, полиплоидия, гибридизация.

KARYOTYPE VARIABILITY OF TRIPLOID SILVER CRUCIAN CARP *CARASSIUS GIBELIO*, BLOCH, 1782 IN WATER BODIES OF UKRAINE

P.P. Puhtayevych

Ivan Franko Zhytomyr State University
Ukraine, 10008, Zhytomyr, Velika Berdychevska, 40
e-mail: puhtaevich@inbox.ru

Aim. To study karyotypic and allozyme variation in biotypes of triploid silver crucian carp *Carassius gibelio*, Bloch, 1782 of Ukrainian fauna. **Methods.** Cytogenetic analysis of kidney cells and biochemical gene marking using proteins and enzymes of blood and muscle fibers. **Results.** Variability of silver crucian carp was revealed at the chromosome level. These data together with the results of electrophoretic studies may prove the existence of several clonal lines, namely biotypes *C. gibelio*-1 and *C. gibelio*-2 with the number of chromosomes in somatic cells 156 and 158, respectively. **Conclusions.** Obtained results allow to conclude about the possibility of polyphyletic origin of silver crucian carp, and significant chromosomal plasticity of triploid biotypes of this species.

Keywords: *Carassius gibelio*, karyotype, biotype, polyphyletic, polyploidy, hybridization.