

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.05.075>

УДК 575:597.551.2(477.5)

**С.В. Межжерин, Т.В. Салий,
И.С. Межжерин, А.А. Лосев, А.А. Циба**

Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины, Киев
E-mail: smezhhzherin@gmail.com

Массовые изменения аллозимных спектров у клоновых щиповок рода *Cobitis*, вызванные антропогенным загрязнением среды обитания

Представлено членом-корреспондентом НАН Украины С.С. Малютой

*Уникальная ситуация массовых аномалий аллозимных спектров обнаружена в р. Ирпень у особей клоновых гибридных биотипов щиповок рода *Cobitis*. Явное преобладание генетически аномальных полиплоидных щиповок наблюдается на нижнем и среднем течении реки, тогда как в верхней ее части они крайне немногочисленны. Причиной наследственных нарушений, вероятнее всего, стало воздействие на генетический аппарат токсичных веществ, накопившихся в нижнем течении этой зарегулированной реки. Такую трактовку подтверждают результаты биоиндикации, показавшие угнетенное состояние биоты нижней части бассейна р. Ирпень, о чем свидетельствует полное отсутствие на этом участке реки моллюсков-фильтраторов семейства *Unionidae*, являющихся надежными индикаторами химического загрязнения. В верхней части р. Ирпень, где у щиповок практически отсутствуют генетические аномалии, присутствует полный набор речных видов перловицевых, включая *Unio tumidus*, *Pseudoanadonta complanata* и даже *U. crassus*, в той или иной степени исчезнувших в реках современной Украины, а также наблюдается более высокий уровень заражения кровяным паразитом *Tyranosoma cobitis*, переносчиком которого являются речные пиявки.*

Ключевые слова: полиплоидные щиповки, клонирование, аллозимы, генетические аномалии, биоиндикация, кровяные паразиты, *Unionidae*.

К вопросам, находящимся на переднем крае развития современной биологии, относится явление мгновенных эволюционных преобразований. Подобного рода генетические эффекты обычно встречаются у клоновых организмов, размножение которых не связано с мейозом, оплодотворением и генетической рекомбинацией. В таких ситуациях любые изменения генотипа или генетического аппарата, за исключением тех, что сопровождаются резким снижением жизнеспособности, строго наследуются и приводят к появлению новых форм, однозначно отличных от исходных. Мгновенные наследственные преобразования легко получить в лабораторных условиях, воздействуя на организмы сильными физическими или химическими агентами. Однако случаи скачкообразных генетических изменений в естест-

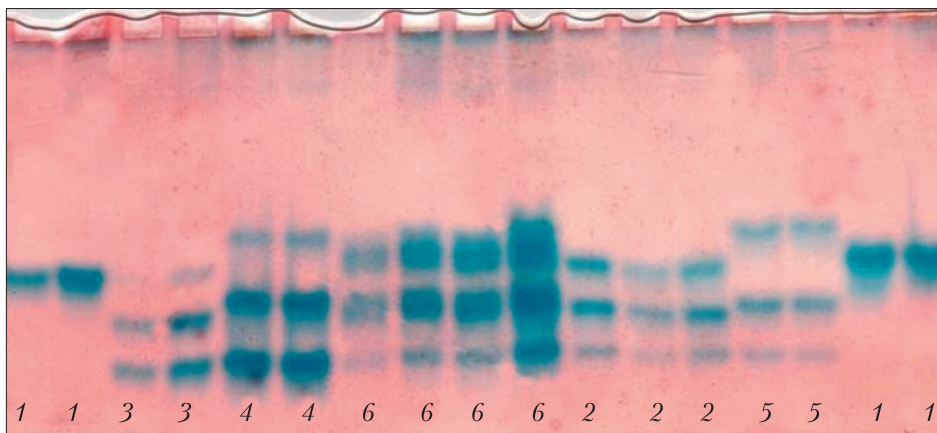


Рис. 1. Спектры аспаратаминотрансферазы (*Aat-1*) полиплоидных щиповок р. Ирпень. Биотипы: 1 – ТТ; 2 – ЕТТ; 3 – ЕЕТ; 4 – ЕЕТ⁹⁵; 5 – ЕТТ⁹⁵; 6 – ЕЕТТ⁹⁵

венной среде обитания, особенно у позвоночных, крайне немногочисленны и неизбежно ставят вопрос о причинах их возникновения и возможности интерпретации как эволюционных преобразований.

Чрезвычайно удачным объектом исследований сальтационных генетических изменений, происходящих в естественных условиях, оказались щиповки рода *Cobitis*, особенностью которых является обширная межвидовая гибридизация, приводящая к образованию триплоидно-тетраплоидных биотипов, размножающихся путем гиногенеза [1–3]. Исследования генетической структуры поселения щиповок р. Ирпень (правого притока Среднего Днепра) показали [4], что в течение 2001–2004 гг. здесь буквально за одно поколение произошли устойчивые изменения аллозимных спектров. Речь идет о модификации гибридного электрофоретического спектра локуса *Aat-1*^{100/110-100} биотипа *C. 2 elongatoides – tanaitica* на электроморфу *Aat-1*^{95/110-110}. Эти изменения связаны с уменьшением электрофоретической подвижности белкового продукта аллеля *Aat-1*¹⁰⁰, характерного для *C. tanai-*

Таблица 1. Биотипы щиповок бассейна р. Ирпень и набор электроморф, позволяющий их идентифицировать

Виды и биотипы		Локусы		n
		<i>Aat-1</i>	<i>Mdh-1</i>	
ТТ	<i>C. taenia</i>	100-100	100-100	63
ЕТТ(Т)	<i>C. elongatoides – taenia – tanaitica</i> , <i>C. elongatoides – 2 taenia</i> , <i>C. elongatoides – taenia – tanaitica</i> , <i>C. elongatoides – taenia – tanaitica</i> , <i>C. elongatoides – taenia – tanaitica</i>	100-100/110	100-100/110	79
ЕЕТ	<i>C. 2 elongatoides – tanaitica</i>	100/110-110	100/110-110	24
ЕЕТ ⁹⁵	<i>C. 2 elongatoides – tanaitica</i> ⁹⁵	95/110-110	100/110-110	135
ЕТ ⁹⁵ Т ⁹⁵	<i>C. elongatoides – taenia</i> ⁹⁵ – <i>tanaitica</i> ⁹⁵	95-95/110	100-100/110	2
ЕЕТТ ⁹⁵	<i>C. 2 elongatoides – taenia – tanaitica</i> ⁹⁵	95-100/110-110	100-100/110*	53

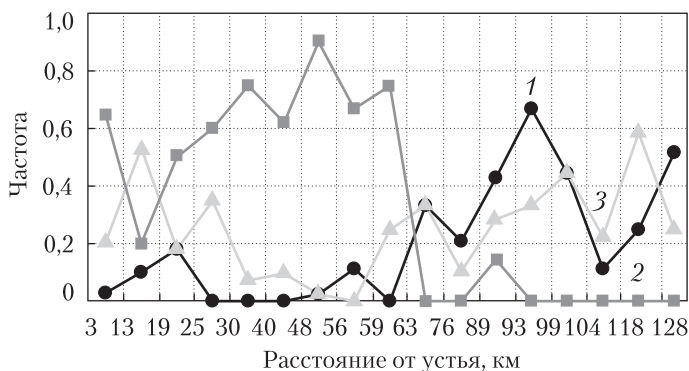


Рис. 2. Изменение частот биотипов в поселениях щиповок на разном расстоянии от устья р. Ирпень: 1 — диплоидные особи *C. taenia* (ТТ); 2 — полиплоиды с нормальными спектрами (ЕТТ, ЕЕТ); 3 — полиплоиды с аномальными спектрами (ЕЕТ⁹⁵, ЕТТ⁹⁵, ЕЕТТ⁹⁵)

tica. Причем это событие имело место у всех особей данного биотипа без исключения. Особо следует подчеркнуть, что этот биотип, обозначенный как *C. 2 elongatoides — tanaitica*⁹⁵, не характерен для бассейна Среднего Днепра, но в силу невыясненных причин оказался массово представленным в р. Ирпень. Отслеживание ситуации показало [5], что особи указанного биотипа устойчиво сохраняют изменения аллозимных спектров на протяжении 4–5 поколений. Это означает, что выявленные аномалии имеют генетическую природу. К тому же к 2013 г. они увеличили свою представленность. В 2005/06 гг. здесь были обнаружены еще и тетраплоидные гибриды *C. 2 elongatoides — tanaitica*⁹⁵ × *C. taenia*, являющиеся результатом беккроссирования гиногенетических самок аномального биотипа *C. 2 elongatoides — tanaitica*⁹⁵ с местными самцами *C. taenia*. Этот тетраплоидный биотип нигде больше не отмечался. В качестве гипотезы, объясняющей феномен появления и экспансии щиповок с аномальными аллозимными спектрами, было выдвинуто предположение [4, 5], что причиной массовых модификаций спектров вполне могло стать загрязнение реки генотоксичными химическими веществами. Поскольку предыдущие исследования затрагивали нижнее течение реки, то возникла идея расширить их на все русло. При этом следует учесть то обстоятельство, что русло р. Ирпень перегорожено серией дамб, что способствует накоплению поллютантов именно в нижнем течении и ограничивает миграции рыб в пределах реки.

С целью установления биотипической структуры поселений щиповок р. Ирпень в октябре 2016 и в июне–октябре 2017 г. на протяжении 123 км от устья реки было собрано 17 выборок. По методикам, описанным ранее [4–6], путем аллозимного анализа и цитометрии была проведена идентификация биотипов щиповок и установлено наличие шести биотипов (табл. 1), каждый из которых характеризуется особым электрофоретическим типом аспаргатаминотрансферазы (рис. 1). На диплоидный вид *C. taenia* пришлось 17,7 % исследованных щиповок. Два полиплоидных биотипа с нормальными электрофоретическими спектрами (ЕЕТ и ЕТТ) вместе составили около 30 %, а особи с аномальными спектрами локуса *Aat-1* (биотипы ЕЕТ⁹⁵, ЕЕТТ⁹⁵, ЕТ⁹⁵Т⁹⁵) представили 54 % проанализированного материала.

При этом распределение биотипов щиповок по течению реки, будучи неравномерным, имеет четко выраженный направленный характер (табл. 2). На участке ниже 59 км резко снижена доля диплоидных особей, а также полиплоидов с нормальными спектрами, тогда как выше по течению представленность диплоидов резко возрастает, а полиплоиды с нормальными аллозимными спектрами резко преобладают над особями с аномальными (рис. 2).

Тенденция проверяется статистически. Достоверные разнонаправленные корреляции установлены между расстоянием выборки от устья реки, с одной стороны, и долей в ней диплоидов ($r = -0,59$; $n = 17$, $p < 0,05$) или полиплоидов с аномальными спектрами ($r = 0,69$; $n = 17$, $p < 0,01$), с другой. Что касается изменения доли полиплоидов с нормальными спектрами, то их распределение неравномерно, но носит нелинейный характер — меньше всего особей с нормальными гибридными спектрами в срединной части реки. Примечательным также является и то обстоятельство, что резко меняется частота особей самого распространенного биотипа *C. 2 elongatoides – tanaitica*⁹⁵, который в 2004 г. на нижнем течении р. Ирпень заменил нормальный биотип *C. 2 elongatoides – tanaitica*. Если на нижнем течении средняя частота особей этого аномального биотипа сейчас составляет 0,63, то в популяциях выше 59 км от устья — только 0,02. И наоборот, если на нижнем течении особи нормального биотипа *C. 2 elongatoides – tanaitica* попадаются единично (частота 0,003), то на верхнем течении он встречается в 40 раз чаще (0,12), хотя и не повсеместно.

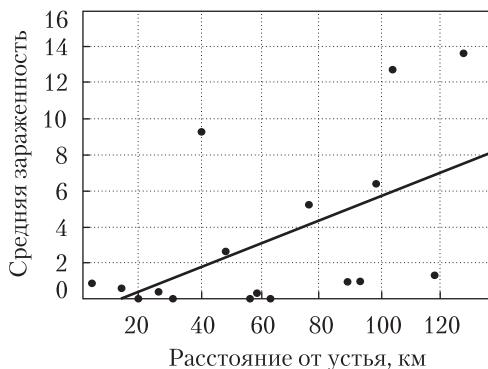
Косвенным доказательством того, что причиной массовых модификаций аллозимных спектров у полиплоидных щиповок является загрязнение р. Ирпень, следует считать уникальность этого явления, которое больше нигде не отмечалось. Однако более убедительными должны стать результаты биоиндикации. Речь идет об использовании двустворчатых моллюсков семейства перловицевых (Unionidae), которые являются фильтраторами, а потому очень чувствительны к загрязнению воды. Видовое богатство и численность популяций этих моллюсков являются надежными критериями состояния рек и лежат в основе системы государственного экологического мониторинга речных систем ряда стран Европейского Союза [7, 8].

Таблица 2. Распределение биотипов щиповок по течению р. Ирпень

Нас. пункт	Расстояние от устья, км	ТТ	ЕТТ(Т)	ЕЕТ	ЕТ ⁹⁵ Т ⁹⁵	ЕЕТ ⁹⁵	ЕЕТТ ⁹⁵	N
Демидов	3	0,03	0,21	0,03		0,65	0,09	34
Червоное	13	0,10	0,53			0,2	0,17	30
Мощун	19	0,18	0,18			0,5	0,14	22
Гостомель	25		0,35			0,6	0,05	20
Ирпень	30		0,07			0,75	0,18	28
Стоянка	40		0,10			0,62	0,29	21
Белгородка	48	0,025	0,025			0,9	0,05	40
Лука	56	0,11				0,67	0,22	9
Княжичи	59		0,25			0,75		8
Новоселки	63	0,33	0,33	0,33				3
Леоновка	76	0,21	0,10	0,66			0,03	29
Лубское	89	0,43	0,29		0,14	0,14		14
Томашовка	93	0,67	0,33					3
Пришивальня	99	0,44	0,44				0,11	9
Дедовщина	104	0,11	0,22				0,67	18
Суцанка	118	0,25	0,58				0,17	12
Корнин	129	0,52	0,25	0,05			0,18	56

Примечание. N — объем выборки. Расшифровка биотипов в табл. 1.

Рис. 3. Изменение средней зараженности кровяными паразитами *Tyranosoma cobitis* в выборках щиповок из р. Ирпень в зависимости от расстояния от устья



В нижнем течении р. Ирпень, где массово представлены случаи аномалии спектров и, соответственно, предполагается максимальное загрязнение воды, двустворчатые моллюски не были обнаружены вообще. Более того, здесь отсутствовали даже створки мертвых раковин, что свидетельствует об их вымирании в достаточно отдаленном прошлом.

Многочисленные находки перловиц начались только на расстоянии свыше 70 км от устья реки (табл. 3). Вначале (пункт Дзвонковое-1) были обнаружены три самых распространенных вида перловицевых, а пустые створки раковин преобладали над живыми особями в соотношении не менее чем 10 : 1. Немногоим выше по течению (пункт Дзвонковое-2) численность моллюсков увеличилась. Здесь уже обнаружено четыре вида, при соотношении раковин мертвых моллюсков и живых особей 2 : 1. Пять видов, включая крайне редкий в равнинных реках современной Украины *U. crassus*, были обнаружены в 76 км от устья на участке с. Леоновка. Соотношение умерших и живых моллюсков здесь примерно одинаковое, а плотность поселений выше в два—три раза, чем ниже по течению. Еще выше, возле с. Черногородка, также выявлены пять видов при похожем уровне плотности поселений, причем пустые створки здесь не отмечены. Далее река сильно мелеет, по сути, превращаясь в ручей, что приводит к падению численности популяций перловицевых и сокращению числа видов перловицевых уже по естественным причинам. Ситуации, когда на ограниченном участке реки присутствуют сразу пять видов перловицевых, редкость даже для Украинского Полесья [9], поскольку такая представленность моллюсков-фильтраторов свойст-

Таблица 3. Число особей и видов двустворчатых моллюсков семейства перловицевых, собранных на разных участках р. Ирпень при одинаковых поисковых усилиях

Населенный пункт	Расстояние от устья, км	Вид моллюска				
		<i>Unio</i>			<i>Anadonta anatina</i>	<i>Pseudoanadonta complanata</i>
		<i>pictorum</i>	<i>tumidus</i>	<i>crassus</i>		
Лука	56	—	—	—	—	—
Княжичи	60	—	—	—	—	—
Жорновский заказник	64	—	—	—	—	—
Дзвонковое-1	70	10	1	—	5	—
Дзвонковое-2	73	13	2	—	10	5
Леоновка	76	66	5	5	8	25
Черногородка	81	93	6	4	1	11
Лубское	89	—	—	—	—	—
Томашовка	93	14	—	—	--	9

венна только водным системам с более чем удовлетворительными показателями качества воды. Интерес вызывает и то обстоятельство, что на переходном участке от пункта Княжичи (59 км), где преобладают аномальные щиповки *C. 2 elongatoides – tanaitica*⁹⁵, до Леоновки (76 км), где они замещаются особями нормального биотипа *C. 2 elongatoides – tanaitica*, щиповки становятся крайне немногочисленными. Здесь за несколько дней поисков удалось поймать только 3 экз., тогда как на других участках реки за 1–2 часа при гораздо меньших усилиях ловились десятки особей.

Еще одним доказательством того, что аномальные спектры наблюдаются у щиповок в той части реки, где вследствие загрязнения сильно пострадала биота, можно рассматривать зараженность щиповок кровяным паразитом *Tyranosoma cobitis*, переносчиком которого являются различные виды пиявок [10], которые также достаточно чувствительны к наличию поллютантов. Регрессионный анализ показывает (рис. 3), что по мере удаления от устья среднее число паразитов на особь в популяциях щиповок монотонно возрастает ($r = 0,54 \pm \pm 0,217$; $p = 0,024$), что, очевидно, связано с уменьшением загрязнения в верхнем течении и достаточно высокой численностью на этом участке реки речных пиявок.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. Москва: Наука, 1985. 299 с.
2. Bohlen J., Rab P. Species and hybrid richness in spined loaches of the genus *Cobitis* (Teleostei: Cobitidae), with a checklist of European forms and suggestions for conservation. *J. Fish. Biol.* 2001. **59**. P. 75–89.
3. Межжерин С.В., Павленко Л.И. Генетическое разнообразие, происхождение и закономерности распространения полиплоидных щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*) в пределах Украины. *Цитология и генетика*. 2010. **44**, № 5. P. 65–77.
4. Межжерин С. В., Павленко Л. И. Случай гибридизации у щиповок (Osteichthyies: Cobitidae: *Cobitis*), обусловивший генетическую нестабильность и экспансию. *Цитология и генетика*. 2007. **41**, № 4. С. 26–35.
5. Межжерин С.В., Циба А.А., Межжерина Д.С., Пухтаевич П.П. Ситуация нарастающего пресса генетических аномалий в диплоидно-полиплоидной популяции щиповок (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*). *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2014. № 6. С. 140–145. doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2014.06.140>
6. Межжерин С.В., Чудагорова Т.Ю. Генетическая структура диплоидно-полиплоидного комплекса щиповок *Cobitis taenia* (Cypriniformes: Cobitidae) бассейна Среднего Днепра. *Генетика*. 2002. **38**, № 1. С. 86–92.
7. Mcivor A.I., Aldridge D.C. The reproductive biology of depressed river mussel, *Pseudoanadonta complanata* (Bivalvia, Unionidae) with implications for its conservation. *J. Moll. Stud.* 2007. **73**, Iss. 3. P. 259–266.
8. Zettler M.I. The situation of the freshwater mussel *Unio crassus* (Philipsson, 1788) in north-east Germany and its monitoring in terms of the EC Habitats directive. *Mollusca*. 2007. **25**, Iss. 2. P. 165–174.
9. Васильева Л. А., Янович Л. М., Вінченко Я. В., Білоус О. В., Троценко К. Л. Перлівницеві (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) водойм і водотоків Житомирської області (видове різноманіття, стан поселень, біоценетичні зв'язки). *Біологічні дослідження – 2017: Збірник наукових праць VIII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю (Житомир, 14–16 березня 2017)*. Житомир: ПП “Рута”, 2017. С. 59–60.
10. Лосев А.А. Использование щиповки *Cobitis taenia* (Osteichthies: Cobitidae) для определения наличия кровяных паразитов рыб в водоеме. *Рибне господарство*. 2004. Вип. 63. С. 139–142.

Поступило в редакцию 24.01.2018

REFERENCES

1. Vasil'ev, V. P. (1985). Evolutionary caryology of fishes. Moscow: Nauka (in Russian).
2. Bohlen, J. & Rab, P. (2001). Species and hybrid richness in spined loaches of the genus *Cobitis* (Teleostei: Cobitidae), with a checklist of European forms and suggestions for conservation. *J. Fish. Biol.*, 59, Iss. 1, pp. 75-89.

3. Mezhzherin, S. V. & Pavlenko, L. I. (2010). Genetic diversity, origin and geographic distribution tendencies of polyploidy spined loaches in Ukraine body. *Cytology and Genetics*, 44, No. 5, pp. 65-77 (in Russian).
4. Mezhzherin, S. V. & Pavlenko, L. I. (2007). A case of hybridization in loaches (Osteichthies, Cobitidae: *Cobitis*) determining genetic instability and expansion. *Cytology and Genetics*, 41, No. 4, pp. 26-35 (in Russian).
5. Mezhzherin, S. V., Tsyba, A. A., Mezhzherina, D. S. & Pukhtaevitch, P. P. (2014). Situation of increscent press of genetic abnormalities in diploid-polyploid population of spined loaches (Cypriniformes, Cobitidae, *Cobitis*). *Dopov. Nac. acad. nauk Ukr.*, No. 6, pp. 140-145 (in Russian). doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi.2014.06.140>
6. Mezhzherin, S. V. & Chudakorova, T. Yu. (2002). Genetic structure of diploid-polyploid spined loaches complex *Cobitis taenia* (Cypriniformes: Cobitidae) of the Middle Dnieper basin. *Rus. J. Genet.*, 38, No. 1, pp. 86-92.
7. Mcivor, A. I. & Aldridge, D. C. (2007). The reproductive biology of depressed river mussel, *Pseudoanadonta complanata* (Bivalvia, Unionidae) with implications for its conservation. *J. Moll. Stud.*, 73, Iss.3, pp. 259-266.
8. Zettler, M. I. (2007). The situation of the freshwater mussel *Unio crassus* (Philipsson, 1788) in north-east Germany and its monitoring in terms of the EC Habitats directive. *Mollusca*, 25, Iss. 2, pp. 165-174.
9. Vasil'eva, L. A., Yanovitch, L. M., Vinichenko, Y. V., Bilous, O. V. & Trotsenko, K. L. (2017). River mussels (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) of water bodies and streams of Zhytomyr region (species diversity, state of population, biocenotic connections). Proceedings of the 8th International Scientific Conference Biological investigations–2017 (pp. 59-60). Zhytomyr: Ruta (in Russian).
10. Losev, A. A. (2004). Using of spined loach *Cobitis taenia* (Osteichthies: Cobitidae) for determination of fishes blood parasites in pond. *Rybne hospodarstvo*, Iss. 63, pp. 139-142 (in Russian).

Received 24.01.2018

S.V. Mezhzherin, T.V. Saliy, I.S. Mezhzherin, O.O. Losev, A.A. Tsyba

Інститут зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України, Київ

E-mail: smezhzherin@gmail.com

МАСОВІ ЗМІНИ АЛЛОЗИМНИХ СПЕКТРІВ У КЛОНОВИХ ЩИПІВОК РОДУ *COBITIS*, ЩО СПРИЧИНЕНІ АНТРОПОГЕННИМ ЗАБРУДНЕННЯМ СЕРЕДОВИЩА ІСНУВАННЯ

Унікальну ситуацію масових порушень структури алозимних спектрів виявлено в р. Ірпінь у особин клонових біотипів щипівок роду *Cobitis*. Чітке переважаання генетично аномальних поліплоїдів щипівок спостерігається на нижній і середній течії річки, тоді як у верхній частині вони вкрай нечисленні. Причиною спадкових відхилень, найімовірніше, став вплив на генетичний апарат токсичних речовин, що накопичилися в нижній течії цієї зарегульованої річки. Таке трактування підтверджують результати біоіндикації, що показали пригнічений стан біоти нижньої частини басейну р. Ірпінь, про що свідчить повна відсутність на цій ділянці річки молюсків-фільтраторів родини Unionidae, що є надійними індикаторами хімічного забруднення. У верхній частині р. Ірпінь, де у щипівок майже відсутні генетичні аномалії, виявлено повний набір річкових видів цієї родини, включаючи *Unio tumidus*, *Pseudoanadonta complanata* і навіть *U. crassus*, які тією чи іншою мірою зникли в багатьох річках сучасної України, а також спостерігається більш високий рівень зараження кров'яним паразитом *Tyranosoma cobitis*, переносником якого є річкові п'явки.

Ключові слова: поліплоїдні щипівки, клонування, алозими, генетичні аномалії, біоіндикація, кров'яні паразити, Unionidae.

S.V. Mezhzherin, T.V. Saliy, I.S. Mezhzherin, A.A. Losev, A.A. Tsyba

Schmalhausen Institute of Zoology of the NAS of Ukraine, Kiev

E-mail: smezhzherin@gmail.com

MASS OCCURRENCE OF THE ALLOZYME SPECTRA CHANGES IN CLONAL SPINED LOACHES OF THE GENUS *COBITIS* CAUSED BY THE ANTHROPOGENIC POLLUTION OF THE HABITAT

The unique record of mass anomalies of allozyme spectra has been found in the Irpin river in some cloning biotypes of spined loaches of the genus *Cobitis*. Evident predominance of genetically abnormal polyploidy loaches

was occurred in the lower and middle streams of the river. While, in the upper part of this river, such individuals were extremely few in number. The reason for such genetic disorder is more likely an influence of toxic substances on the genetic apparatus, which have been accumulated in the low stream of this regulated river. Such an interpretation was confirmed by the results of bioindication. It shows an oppressed state of biota in the low part of the Irpen river basin. This is evident from the total absence of filter feeders-mollusks (family Unionidae) in this part of the river. Such mollusks are reliable indicators of a chemical pollution. Compared with the upper part of the Irpen river, there is a full range of species belonging to the family Unionidae, including even *Unio crassus*, *U. tumidus*, and *Pseudoanadonta complanata*, which almost extinct from the other rivers of modern Ukraine. In upper part of the river, a significantly higher degree of infection of the blood parasites *Trypanosoma cobitis*, carriers of which are freshwater leeches, is observed.

Keywords: *polyploidy spined loaches, cloning, allozymes, genetic anomalies, bioindication, blood parasites, Unionidae.*