

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАРИОТИПА КАРАСЯ СЕРЕБРЯНОГО РЫБХОЗА «ВОЛМА»

А.С. Полетаев, Е.С. Гайдученко

ГНПО «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам», Минск, Беларусь
e-mail: viroxylan@gmail.com

Введение

Карась серебряный (*Carassius auratus s. lato*; далее в тексте статьи название «карась серебряный» используется для обозначения принадлежности рыбы к данному видовому комплексу без уточнения видовой принадлежности) широко используется в рыбном хозяйстве Беларуси [1]. Начиная с 1954 г. и по сей день, его массово разводят и/или выращивают во всех крупных рыбных хозяйствах страны, а также используют для зарыбления естественных и искусственных водных объектов [1]. Вместе с тем, для территории Беларуси карась серебряный (по крайней мере отдельные виды и формы, относящиеся к данному видовому комплексу) является чужеродным компонентом ихтиофауны [1]. Во многих регионах Европы, включая Беларусь, а также Азии и Северной Америки, отмечено существенное негативное влияние карася серебряного на аборигенные экосистемы при его попадании в последние [1-6]. В частности, появление в ихтиофауне водного объекта чужеродного карася серебряного нередко приводит к значительному её изменению, в частности, к вытеснению близких аборигенных видов рыб, в первую очередь карася золотого (*C. carassius*) [1]. Эти явления обусловлены комплексом причин, в частности, большими, чем у аборигенных карповых, конкурентоспособностью и экологической пластичностью карася серебряного, а также существованием гиногенетических форм последнего [2]. В силу особенностей их репродуктивной биологии, а именно необходимости инициации развития икры гиногенетического карася серебряного сперматозоидами самцов других видов карповых, половые продукты последних расходуются на воспроизводство не собственного вида, а чужеродного серебряного карася [2].

Как правило, гиногенетические формы отличаются от менее опасных в экологическом отношении амфимиктических по различным критериям, одним из которых является организация кариотипа. Популяции амфимиктических форм карася серебряного в большинстве случаев представлены диплоидными особями, а гиногенетических – три- или тетраплоидными [2, 7]. Кроме того, общее число хромосом, а также количество хромосом различных типов у разных форм также варьируют. Значения вышеупомянутых признаков и показатели их внутривидового разнообразия могут служить одним из критериев при определении инвазионного потенциала популяции, что необходимо учитывать при планировании и проведении рыбохозяйственных мероприятий.

Целью данного исследования являлось установление кариотипа, свойственного особям карася серебряного из популяции рыбхоза «Волма» и оценка инвазионного потенциала данной популяции. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: (1) собрать материал для проведения исследования; (2) приготовить препараты хромосом карася серебряного; (3) определить кариотип, свойственный представителям данной популяции, и составить кариограмму; (4) сравнить по кариологическим критериям популяцию карася серебряного рыбхоза «Волма» с описанными в литературе; (5) оценить потенциальные экологические риски, связанные с карасём серебряным рыбхоза «Волма».

Методы исследования

Пруды рыбхоза «Волма» Червенского района Минской области были выбраны в качестве модельного водного объекта, исходя из факта обитания в данном рыбхозе большой популяции карася серебряного, который активно используется для зарыбления других водных объектов. Кроме того, карась серебряный из прудов рыбхоза «Волма» реализуется в

магазинах, на рынках и рыбных ярмарках, а молодые особи продаются в качестве наживки для ловли хищной рыбы. Такое широкое использование данной популяции карася серебряного предполагает возможность попадания её представителей в естественные водоёмы и водотоки, что может иметь негативный эффект на популяции живущих там карповых рыб.

Для приготовления препаратов хромосом использовали стандартные методики кариотипирования рыб, адаптированные к работе с молодыми особями карася серебряного [8]. Рыбам при помощи инсулинового шприца вводили 0,5% водный раствор колхицина из расчёта 0,1 мл на 10 г массы тела и выдерживали в течение 4 часов в контейнерах с холодной водой, после чего рыб умерщвляли, извлекали предпочку, жабры и селезенку, измельчали перечисленные органы в 0,56М растворе хлорида калия и выдерживали полученную суспензию при температуре 37°C в течение 40 минут. После этого препараты центрифугировали в течение 10 минут при 2000 об./мин, сливали надосадочную жидкость и фиксировали осадок охлаждённой до 0°C смесью этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1, дважды сменяя вышеупомянутую смесь в течение фиксации. После фиксации осадок разбивали, полученную суспензию клеток наносили каплями на предметное стекло, после чего препараты высушивали и окрашивали 5% раствором красителя Гимзы-Романовского в фосфатном буфере. Приготовленные препараты просматривали, фотографируя обнаруженные метафазные пластинки, на световом микроскопе Leica DM4000B со встроенной фотокамерой Leica DFC480. На полученных фотографиях подсчитывали количество метацентрических, субметацентрических, субтелоцентрических и акроцентрических (в соответствии с классификацией Левана [9]) хромосом.

Для сравнения популяции карася серебряного рыбхоза «Волма» с другими описанными в литературе популяциями был использован метод кластерного анализа, который проводили в программе Statistica 7.0. В качестве меры дистанции между выборками использовали манхэттенское расстояние, объединение проводили по методу полной связи. Для сравнения использовали следующие критерии: наличие/отсутствие в популяции самцов и самок с данным кариотипом; плоидность особей; общее количество хромосом; количество мета-, субмета- и вместе взятых субтело- и акроцентрических хромосом и доля каждой из названных групп хромосом в кариотипе.

Результаты и обсуждение

Для определения кариотипа было использовано 9 препаратов, приготовленных из клеток 9 экземпляров карася серебряного, среди которых присутствовали как самки, так и самцы. На препаратах в общей сложности было обнаружено 193 метафазные пластинки различного качества, из которых в общей сложности 34 были неполными и не были использованы для подсчёта хромосом. Для построения кариограммы была использована метафазная пластинка из клеток предпочки (рисунок 1).

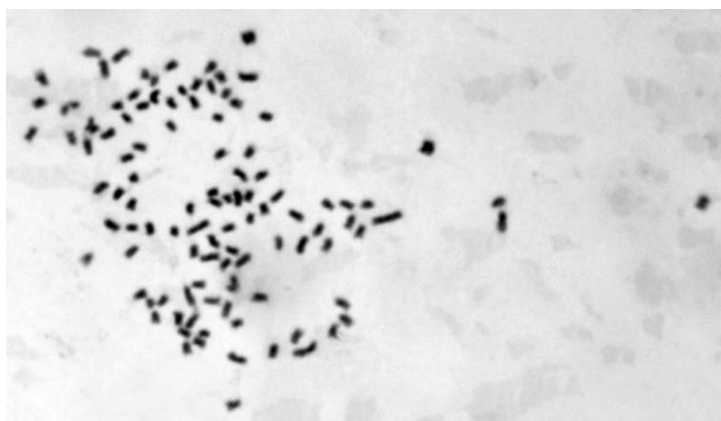


Рисунок 1 – Метафазная пластинка из клеток предпочки карася серебряного рыбхоза «Волма»

Во всех остальных 159 метафазных пластинках число хромосом было равно 100. Число метацентрических (m) хромосом во всех случаях было равно 22, субметацентрических (sm) – 40, общее число субтелоцентрических и акроцентрических (st-a) хромосом было равно 38. Таким образом, в ходе исследования хромосомного полиморфизма и хромосомного мозаицизма в данной популяции обнаружено не было.

Количество хромосом, равное 100, характерно для большинства диплоидных форм всех видов рода *Carassius*. Это, а также наличие в исследованной популяции как самок, так и самцов, позволило предположить, что в прудах рыбхоза «Волма» обитает диплоидная амфимиктически размножающаяся форма серебряного карася. Данное предположение было подтверждено построением кариограммы (рисунок 2), отражающей характерный для особей данной популяции кариотип.

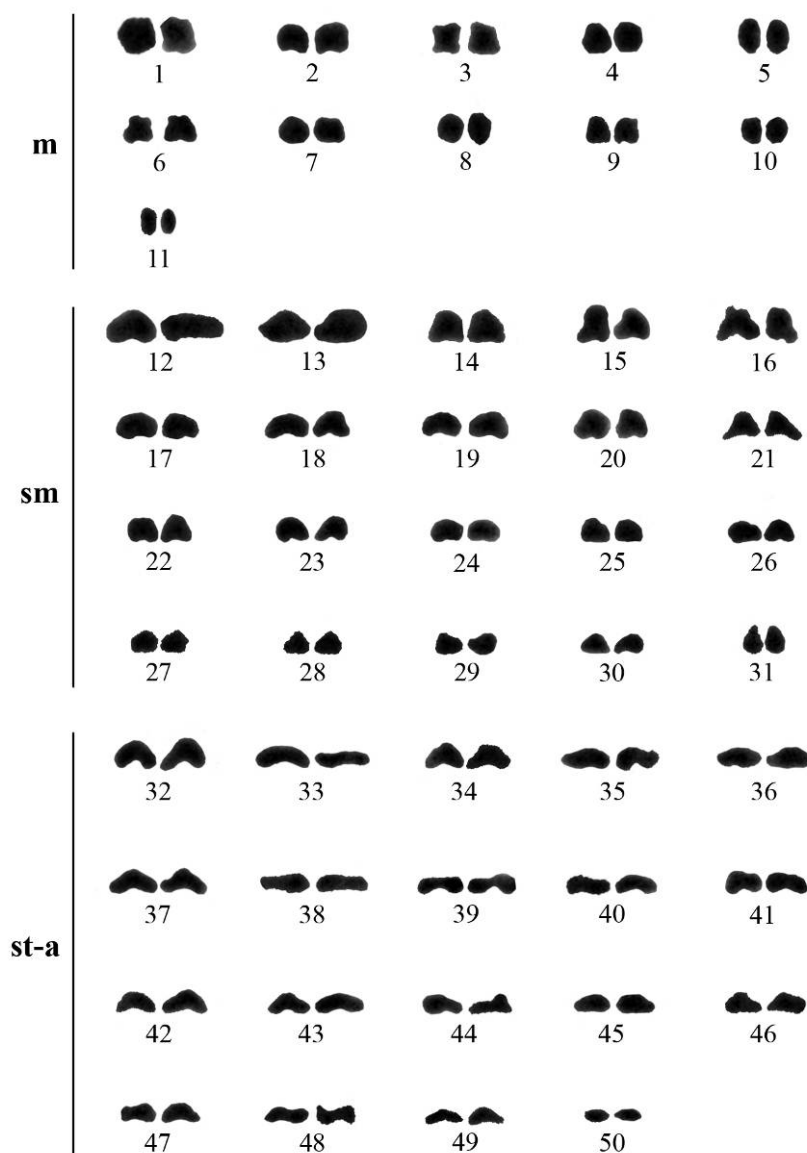


Рисунок 2 – Кариотип карася серебряного рыбхоза «Волма»

Полученный кариотип мы сравнили с описанными в литературе кариотипами различных видов и форм серебряных карасей из разных частей ареала данного видового комплекса методом кластерного анализа. Кариотипы вышеуказанных форм приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Кариотипы различных форм *C. auratus*, *C. gibelio* и *C. langsdorfii*

№	Точка сбора материала	Пол особей	Плоидность особей	Число хромосом	Кариотип					Автор
					m	sm	st	a	mchr	
<i>Carassius auratus</i>										
1	оз. Пензэ, Китай	♀ и ♂	3n	156	36	54	36	24	6	[10]
2		♀ и ♂	3n	156	42	36	39	33	6	[11]
3		♀ и ♂	3n	162	36	45	33	36	12	
4		♀ и ♂	3n	166	32	40	18	76	0	[12]
5	р. Чин, Китай	♀	3n	156	42	36	39	33	6	[13]
6	Водная система Донтин, Китай	♀ и ♂	2n	100	Нет данных					[14]
7		♀ и ♂	3n	150						
8		♀	4n	200						
9	р. Кызылырмак, Турция	♀ и ♂	2n	104	24	34	46	0	[8]	
<i>Carassius gibelio</i>										
1	р. Эльба, Чехия	♀	3n	156	30	54	66	6	[15]	
2	р. Висла, Польша	♀ и ♂	2n	100	14	24	10	52	0	[16]
3		♀	3n	150	26	50	20	54	0	
4	р. Амур, Россия	♀ и ♂	2n	100	20	40	40	0	[16]	
5		♀	3n	156	34	62	60	0		
6	вдхр. Шуанфэн, Китай	♀	3n	156	36	54	36	24	6	[17]
7	кан. Охиота, Румыния	♀ и ♂	2n	98	48			50	0	[16]
8	р. Дие, Чехия	♀	3n	160	46	82	32	0	[16]	
9	Днепровский лиман, Украина	♀ и ♂	2n	100	16	46	38	0	[16]	
10	Водоёмы региона Панчевачки-Рит, Сербия	♀	3n	158	36	64	58	0	[16]	
11	Водоёмы северного Китая	♀	3n	156	36	54	36	24	6	[8]
12		♀	3n	162	42	54	36	24	6	
13	вдхр. Семяновка, Польша	♀ и ♂	2n	100	26	36	38	0	[18]	
14		♂	3n	160	34	58	62	6		
15	оз. Тальты, Польша	♀	3n	160	33	48	75	4	[19]	
16	оз. Памвотис, Греция	♀	3n	156	21	42	45	42		6
17		♂	3n	158	21	42	45	42		8
18		♂	4n	204	40	64	56	36		8
<i>Carassius langsdorfii</i>										
1	р. Хрудимка, Чехия	♀	3n	156	Не указано					[20]
2	Водоёмы района Миядзаки, Япония	♀ и ♂	2n	100	20	40	40	0	[21]	
3		♀	3n	156	34	62	60	0		
4	Япония	♀	4n	206	44	82	80	0		

В результате анализа была получена дендрограмма, отражающая сходство кариотипов серебряных карасей (рисунок 3). В дендрограмме буквой А обозначены популяции *C. auratus*, G – *C. gibelio*, L – *C. langsdorfii*; числа совпадают с номерами, под которыми данные популяции указаны в таблице 1.

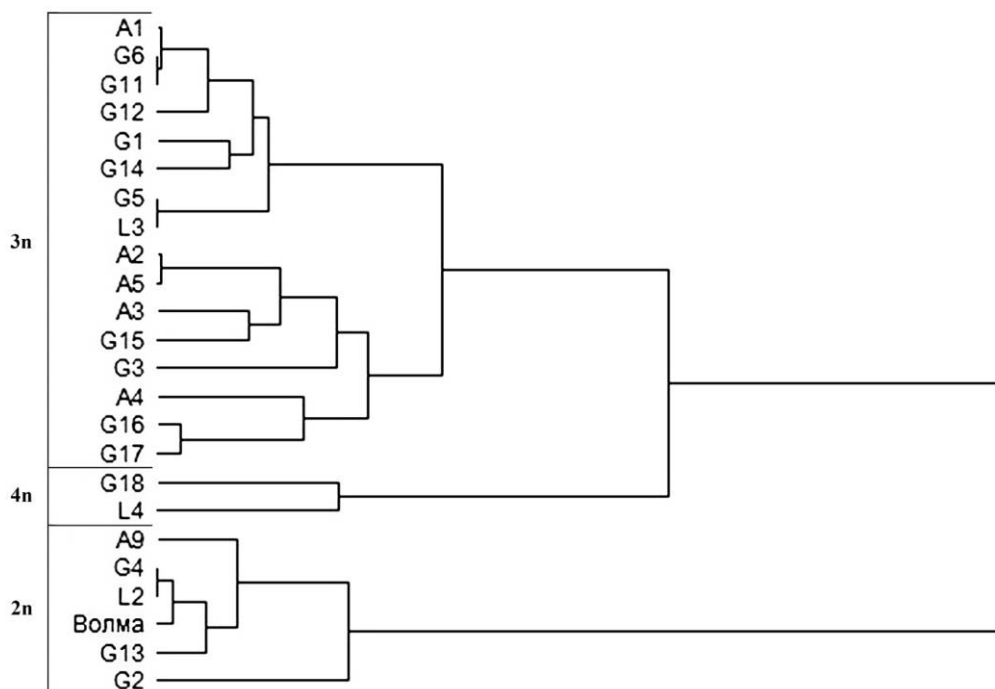


Рисунок 3 – Дендрограмма сходства различных популяций видов комплекса *C. auratus s. lato*

Как видно из приведенной дендрограммы, популяция серебряного карася рыбхоза «Волма» схожа по совокупности всех учитывавшихся факторов с другими диплоидными популяциями рыб этого комплекса значительно сильнее, чем с три- и тетраплоидными. Внутри кластера диплоидных популяций наибольшее сходство она имеет с одной из форм *C. gibelio* (G4) из р. Амур (Россия) и *C. langsdorfii* (L2) из водоёмов района Миядзаки (Япония), имеющими одинаковый кариотип из 20 мета-, 40 субмета- и 40 субтело- и акроцентрических хромосом. Также сильное, но меньшее, сходство наблюдается и с популяцией *C. gibelio* (G13) из вдхр. Семяновка (Польша), кариотип которой включает 26 мета-, 36 субмета- и 38 субтело- и акроцентрических хромосом. Наименьшее сходство по сравнению с другими диплоидными формами популяция серебряного карася рыбхоза «Волма» демонстрирует с популяцией *C. auratus* (A9) из р. Кызылырмак (Турция), для представителей которой характерно наличие в кариотипе 4 микрохромосом в дополнение к обычному для серебряных карасей диплоидному набору из 100 хромосом, а также с популяцией *C. gibelio* (G2) из р. Висла (Польша), для рыб из которой характерен кариотип с относительно малым числом мета-, субмета- и субтелоцентрических хромосом (14, 24 и 10 соответственно) и относительно большим – акроцентрических (52). По всей видимости, эти результаты не означают (хотя и не исключают) филогенетического родства данных популяций и свидетельствуют только о сходстве кариотипов их представителей.

На основании кариологических данных можно предположить, что при использовании серебряного карася рыбхоза «Волма» для зарыбления водных объектов Беларуси его опасность для популяций аборигенных карповых, вероятно, будет невелика. Эта популяция представлена диплоидными особями, среди которых присутствуют как самки, так и самцы, что свидетельствует о том, что её представителям свойственен амфимиктический тип размножения. Следовательно, при их попадании в естественные экосистемы половой материал аборигенных видов карповых рыб не будет расходоваться на воспроизводство карася серебряного, что уменьшает вероятность вытеснения первых. Это позволяет обозначить популяцию карася серебряного рыбхоза «Волма» как потенциально пригодную для использования в качестве источника посадочного материала при зарыблении других водных объектов.

Несмотря на это, исключать возможное негативное влияние карася серебряного рыбхоза «Волма» на естественные популяции аборигенных видов рыб нельзя из-за существования других причин [2], по которым карась серебряный может оказывать такое влияние. В связи с этим необходимо рассматривать возможные последствия зарыбления карасём серебряным для каждого водного объекта в отдельности. В особенности следует обращать внимание на наличие или отсутствие в планируемом к зарыблению водном объекте карася золотого и не допускать зарыбления водных объектов, для которых установлено его обитание, карасём серебряным. Отдельно следует отметить, что, поскольку карась серебряный является чужеродным компонентом в ихтиофауне Беларуси, зарыбление им естественных водных объектов нежелательно и при наличии альтернативы предпочтительнее использовать для их зарыбления аборигенными видами рыб, экологическим требованиям которых соответствует данный водный объект.

Выводы

Популяция карася серебряного рыбхоза «Волма» представлена диплоидными амфимиктически размножающимися особями, кариотип которых состоит из 100 хромосом, из которых 22 являются метацентрическими, 40 – субметацентрическими и 38 – субтелоцентрическими и акроцентрическими. Таким образом, экологическая опасность данной популяции представляется невысокой, что делает её потенциально пригодной для использования в качестве источника посадочного материала при зарыблении других водных объектов.

Список литературы

1. Оценка состояния популяций карася серебряного, интродуцированного в водоемы различных природно-климатических зон, и пути устойчивого использования его промысловых запасов / ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»; рук. темы В.К. Ризевский. – Минск, 2013. – 50 с. – № Б11АРМ-011.
2. Подушка, С.Б. О причинах вспышки численности серебряного карася / С.Б. Подушка // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭКА.С. – 2004. – № 8. – С. 5–15.
3. Smartt, J. A possible genetic basis for species replacement: preliminary results of interspecific hybridisation between native crucian carp *Carassius carassius* (L.) and introduced goldfish *Carassius auratus* (L.) / J. Smartt // Aquatic Invasions. – 2007. – Vol. 2, № 1. – P. 59-62.
4. Invasive *Carassius* Carp in Georgia: Current state of knowledge and future perspectives / B. Japoshvili [et al.] // Current Zoology. – 2013. – Vol. 59, № 6. – P. 732–739.
5. Elgin, E. First confirmed records of Prussian carp, *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) in open waters of North America / E. Elgin, H. Tunna, L. Jackson // BioInvasions Records. – 2014. – Vol. 3, № 4. – P. 275-282.
6. Are introduced gibel carp *Carassius gibelio* in Turkey more invasive in artificial than in natural waters? / A.S. Tarkan [et al.] // Fisheries Management and Ecology. – 2012. – Vol. 19, № 2. – P. 178-187.
7. Жуков, П.И. Справочник по экологии пресноводных рыб / П.И. Жуков. – Минск : Наука и техника, 1988. – 310 с. – С. 208–215.
8. Ölmez Aydın, D. Karyotype of the *Carassius auratus* (L., 1758) Live in Kızılırmak (Kayseri – Turkey) / D. Ölmez Aydın, M. Kuru // Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi. – 2001. – Vol. 21, № 3. – P. 33-37.
9. Levan, A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes / A. Levan, K. Fredga, A.A. Sandberg // Hereditas. – 1964. – Vol. 52, № 2. – P. 201–220.
10. Zhou, L. Karyotypic diversity in polyploid gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch / L. Zhou, J.F. Gui // Genetica. – 2002. – Vol. 115, № 2. – P. 223–232.
11. Karyotypic analysis from two clones of gynogenetic Pengze crucian carp (*Carassius auratus* of pengze) / L.-G. Liu [et al.] // Acta Genetica Sinica. – 2004. – Vol. 31, № 8. – P. 780–786.

12. Karyotype studies of the bisexual natural gynogenetic crucian carp (*Carassius auratus*) of pengze / C. Minrong [et al.] // *Acta Hydrobiologica Sinica*. – 1996. – Vol. 20, № 1. – P. 25-31.
13. Karyotypic analysis of the multiple tetraploid allogynogenetic pengze crucian carp and its parents / J. Zhao [et al.] // *Aquaculture*. – 2004. – Vol. 237, № 1-4. – P. 117-129.
14. Coexistence of diploid, triploid and tetraploid crucian carp (*Carassius auratus*) in natural waters / J. Xiao [et al.] // *BMC genetics*. – 2011. – Vol. 12, № 1. – P. 12–20.
15. Chromosome Studies of European Cyprinid Fishes: Cross-Species Painting Reveals Natural Allotetraploid Origin of a *Carassius* Female with 206 Chromosomes / M. Knytl [et al.] // *Cytogenetic and Genome Research*. – 2013. – Vol. 139, № 4. – P. 276-283.
16. Boron, A. Karyotypes of diploid and triploid silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) / A. Boron // *Cytobios*. – 1994. – Vol. 80. – P. 117–117.
17. Molecular cytogenetic detection of paternal chromosome fragments in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch / M.S. Yi [et al.] // *Chromosome Research*. – 2003. – Vol. 11, № 7. – P. 665–671.
18. Karyotype, morphology, and reproduction ability of the Prussian carp, *Carassius auratus gibelio* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae). from unisexual and bisexual populations in Poland / A. Boron [и др.] // *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. – 2011. – Vol. 41, № 1. – P. 19-28.
19. Biological traits of rare males in the population of *Carassius gibelio* (Actinopterygii: Cyprinidae) from Lake Pamvotis (north-west Greece) / R. Liasko [et al.] // *Journal of Fish Biology*. – 2010. – P. 570-584.
20. First European record of *Carassius langsdorfii* from the Elbe basin / L. Kalous [et al.] // *Journal of Fish Biology*. – 2007. – Vol. 70, № Sup. A. – P. 132-138.
21. Kobayasi, H. Comparative chromosome studies in the genus *Carassius*, especially with a finding of polyploidy in the ginbuna (*C. auratus langsdorfii*) / H. Kobayasi, Y. Kawashima, N. Takeuchi // *Japanese Journal of Ichthyology*. – 1970. – Vol. 17, № 4. – P. 153–160.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE VOLMA FISHERY GOLDFISH KARYOTYPE

A.S. Poletaev, H.S. Gajduchenko

Scientific and Practical Center for Bioresources of NAS of Belarus, Minsk, Belarus

e-mail: viroxylan@gmail.com

The study shown that the Volma fishery goldfish population is represented by diploid amphimictic individuals possessing the karyotype composed of 100 chromosomes, 22 of which are metacentrics, 40 are submetacentrics и 38 are subtelocentrics and acrocentrics together. Such characteristics of this population allow to determine it as the potentially applicable for the use as the source of stocking material for the stocking of other water objects, because the risk of negative influence of its representatives on the native ecosystems appears to be low.