

ПРОВ 2010

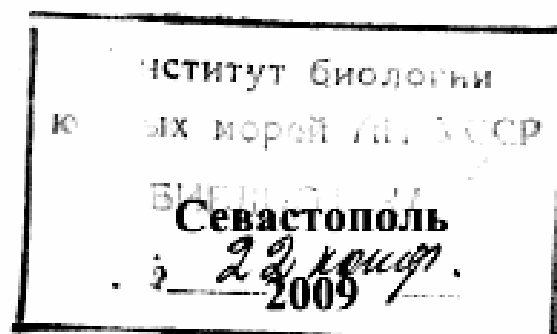
**Національна академія наук України
Інститут біології південних морів ім. О. О. Ковалевського**

СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ТЕОРЕТИЧНОЇ І ПРАКТИЧНОЇ ІХТІОЛОГІЇ

ТЕЗИ

**II Міжнародної іхтіологічної
науково-практичної конференції**

16 - 19 вересня 2009 року



**ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ КЛАСТЕРА РИБОСОМ-
НЫХ ГЕНОВ У ГИБРИДОВ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.)
И ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.)**

*Институт биологии внутренних вод Российской Академии Наук,
пос. Борок, Ярославская обл., Россия, vvsto@mail.ru*

Мультигенное семейство ядерной рибосомной ДНК (рДНК) - классический пример генной дупликации. Прямым результатом многокopianности тандемных повторов кодирующих единиц является способность гомогенизировать свои последовательности между собой в пределах генома и с другими повторами в пределах популяций и видов, определяя тренды согласованной эволюции ДНК. Вследствие этого, ITS1 регион, считается весьма эффективным для уточнения таксономического статуса и филогенетических отношений и рассматривается, как маркер при идентификации гибридов F1 и определении их статуса относительно родительских видов. Межвидовая гибридизация нередко определяется, как наиболее существенный и реальный фактор эволюции рДНК, наряду с воздействием мутаций, гомогенизации и отбора.

Среди всех позвоночных животных естественная отдаленная гибридизация чаще обнаруживается в крупнейшем семействе рыб – карповые (Cyprinidae), несомненными лидерами в котором по массовости гибридизации в естественных условиях являются плотва и лещ. Неоднократно доказано экспериментально, что гибриды первого поколения способны давать потомство при возвратных и межгибридных скрещиваниях. При этом, виды сохраняют свою аутентичность и четко дифференцированы по морфологическим признакам, изоферментному составу, RAPD- маркерам, и при одинаковом количестве хромосом, различаются по размеру генома (у плотвы размер генома составляет 2.0 пг/2С, а у леща 2.6 пг/2С). Особенности наследования ITS1 региона у гибридов и закономерности его проявления в раннем развитии не изучались, что и явилось целью нашего исследования.

В работе изучены экспериментальные реципрокные скрещивания между плотвой *Rutilus rutilus* L. и лещем *Abramis brama* L., используя генетический анализ, по ядерным (ITS1 и микросателлиты) и митохондриальным (цитохром *b*) маркерам. Для ITS1 региона и локуса цитохром *b* применяли праймеры разработанные Вияттом (Wyatt et al., 2006). Результаты оценивали по наличию ПЦР-продукта определенной длины в реакции с использованием трех праймеров одновременно, поскольку ПЦР-продукты, содержащие *cit b* и ITS1 леща и плотвы, существенно различаются по длине (672 п.н. у леща и 450 п.н. у плотвы; 147-152 п.н. у леща и 385-386 п.н. у плотвы, соответственно). Для кон-

троля гибридной природы потомства были использованы три микросателлитных локуса тотальной ядерной ДНК - Ca5, Gyp24, Gyp48.

По результатам аллель-специфического ПЦР анализа всех использованных в скрещиваниях производителей леща и плотвы их видовой статус полностью подтвердился, как по локусам *cit b* мтДНК, так и вариантам ITS1. По трем изученным микросателлитным локусам производители были гетерозиготами, причем аллели микросателлитных локусов у всех особей, задействованных в каждом индивидуальном скрещивании не совпадали. У гибридов во всех повторностях локус *cit b* был представлен исключительно материнским вариантом – леща в скрещиваниях ЛП и плотвы в скрещиваниях ПЛ. Анализ икриночных и эмбриональных стадий в скрещивании ЛП показал, что на всех проанализированных стадиях раннего развития локус *cit b* наследовался только по матери, т.е. по лещу.

Обнаружено, что у межвидовых гибридов первого поколения у части особей происходит полная элиминация одного из родительских вариантов ITS1. У сеголеток гибридов первого поколения в скрещивании ♀ плотва × ♂ лещ - в сериях ПЛ-1 и ПЛ-2 было обнаружено по две особи с одним материнским ITS1 фрагментом, у всех остальных был ожидаемый для первого поколения гибридный вариант, содержащий, как материнский, так и отцовский фрагменты. Аналогичная картина наблюдалась у сеголеток в скрещивании ♀ лещ × ♂ плотва. В сериях ЛП-1 и ЛП-2 были выявлены по две особи, в ЛП-3 восемь особей, у которых ITS1 регион был представлен только материнским вариантом.

Анализ проявления вариантов ITS1 у гибридов серии ЛП-3 по стадиям развития показал, что все образцы ДНК неоплодотворенной икры имели материнский ITS1 фрагмент. На стадиях дробления и морулы все потомки имели оба родительских ITS1 фрагмента. После бластуляции, начиная с гастролы и на всех последующих стадиях, в потомстве наблюдалось расщепление: часть эмбрионов и личинок утрачивали один из родительских вариантов ITS1. Как правило, элиминировался отцовский вариант, однако на стадии «эмбрион перед вылуплением» у одной особи была отмечена элиминация материнского варианта. Несмотря на элиминацию одного из родительских вариантов ITS1 все потомки по трем микросателлитным локусам были гетерозиготами, содержащими один материнский и один отцовский аллели. Таким образом, по данному участку генома у межвидовых гибридов плотвы и леща выявлено отклонение от первого закона Менделя. Анализ по стадиям развития показал, что начиная с гастролы и на всех последующих стадиях, в потомстве наблюдалось расщепление: часть эмбрионов и личинок утрачивали один из родительских вариантов ITS1. Как правило, элиминировался отцовский вариант, однако в одном случае была отмечена элиминация материнского варианта. Несмотря на элиминацию одного из родительских вариантов ITS1 все потомки по трем мик-

росателитным локусам были гетерозиготами, содержащими один материнский и один отцовский аллели. Таким образом, особи с одним родительским ITS1 фрагментом оказались гибридами с нетипичным наследованием ядерных рибосомных генов.

Вероятно, наблюдаемый нами эффект является прямым следствием гомогенизации структуры «родственных», но существенно различающихся пар генов ДНК при согласовании работы разновидовых геномов. Не исключено, что имеется причинная связь между размером генома, а у леща он в 1.5 раза больше плотвиного, и обилием копий; известно, что псевдогены у организмов с небольшим геномом удаляются быстрее относительно накопления мутаций (Челомина и др., 2008). Гомогенизация может обуславливаться несколькими альтернативными процессами, такими как неравный кроссинговер, делеции в генах и генная конверсия. Поскольку значительная часть повторов локализована в гетерохроматине, где мейотический кроссинговер в норме не происходит, считается, что неравные обмены могут выполнять корректирующие функции только при митотических делениях зародышевой линии клеток. Не исключено, что поддержание однородности различных копий системы тандемных повторов обеспечивается конверсионным взаимодействием генов внутри одной и той же хромосомы. Конверсия может происходить и между генами негомологичных хромосом, что, видимо, обеспечивает гомогенизацию элементов мультигенных семейств, разбросанных по геному.

У межвидовых гибридов в первом поколении наблюдаются весьма существенные отклонения от закономерного менделеевского наследования последовательностей рДНК и ITS-1 региона, в частности. Однако, эти отклонения выражаются прежде всего в появлении геномных элементов *de novo*, отсутствующих у родительских видов, и связываются большинством авторов с нарушением механизмов согласованной эволюции (Rodland, Russell, 1982). У гибридов табака были также отмечены эффекты элиминации одного из родительских вариантов рДНК, однако у этих особей обязательно формировались новые геномные элементы (Skalska et al., 2003). Ранее подобный феномен не обнаружен ни у растительных, ни у животных гибридов первого поколения. Предполагается, что наблюдаемый эффект отражает процессы согласованной эволюции ядерного генома при отдаленной гибридизации.

Литература

- Челомина Г.Н., Рожкован К.В., Рачек Е.И. и др. // ДАН. - 2008. - Т.421, №6. - С. 845-849.
- Rodland K.D., Russell P.J.// Biochim. Biophys. Acta. - 1982.- 697.-P.162-169.
- Skalska K., Lim K.Y., Matyasek R., Koukalova B., Leitch F.R., Kovarik A. // American Journal of Botany. - 2003. - V. 90(7). - P. 988-996.
- Wyatt P.M.W, Pitts C.S, Butlin R.K. // Journal of Fish Biology. - 2006. - V. 69. - P. 52-71.