



Биол. журн. Армении, 4 (65), 2013

**КАРИОТИП БЫСТРЯНКИ *ALBURNOIDES BIPUNCTATUS EICHWALDII*
(FILIPPI, 1863) (CYPRINIFORMES, LEUCISCINAE)
ИЗ РЕКИ РАЗДАН**

И.Э. СТЕПАНИАН*, Д.З. ВАСИЛЯН, С.Х. ПИПОЯН*****

* Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА, Армения
stepanyanil@yahoo.com.

** Институт Геологических наук, Университет Тюбингена, Германия.

*** Армянский государственный педагогический университет им. Х. Абовяна, Армения

Изучен кариотип быстрянки *Alburnoides bipunctatus eichwaldii* (Filippi, 1863) из реки Раздан в пределах города Ереван ($2n=50$, $14M+26SM+10ST/A$). У самок обнаружена пара гетероморфных хромосом, которые могут являться половыми (ZW), а у самцов - пара гомоморфных хромосом (ZZ). В кариотипе у 6 % исследованных особей обнаружена непарная метацентрическая хромосома (B-хромосома). При сравнительном анализе хромосомных наборов *A. bipunctatus* из различных регионов (Европа, Малая Азия и Закавказье) выявлен внутривидовой хромосомный полиморфизм, заключающийся в варьировании числа двуплечих (мета-/субметацентрических), и одноплечих (субтело-/acroцентрических) хромосом, при стабильном числе $2n$, равным 50.

Cyprinidae – Alburnoides bipunctatus – р.Раздан – кариотип – B-хромосомы

Ուսումնասիրվել է արևելյան տառեխիկի *Alburnoides bipunctatus eichwaldii* (Filippi, 1863) կարիոտիպը Հրազդան գետից՝ որսված Երևան քաղաքի շրջակայքից ($2n=50$, $14M+26SM+10ST/A$): Էգերի կարիոտիպում առկա է ենթադրաբար սեռական համարվող հետերոմորֆ քրոմոսոմների մեկ զույգ (ZW), իսկ արուների մոտ՝ հոմոմորֆ քրոմոսոմների զույգ (ZZ): Ուսումնասիրված առանձնյակների 6 %-ի կարիոտիպերում հայտնաբերվել է կենտ մետացենտրիկ քրոմոսոմ (B-քրոմոսոմ): Տարբեր տարածաշրջանների (Եվրոպա, Փոքր Ասիա, Անդրկովկաս) ջրակալներում տարածված տառեխիկների հետ համեմատական վերլուծության արդյունքում բացահայտվել է ներպոպուլյացիոն քրոմոսոմների պոլիմորֆիզմ, որն արտահայտվում է երկթև (մետա-/սուբմետացենտրիկ) և միաթև (սուբ-թելո-/ակրոցենտրիկ) քրոմոսոմների քանակի փոփոխությամբ՝ բոլոր առանձնյակների մոտ $2n=50$ դիպլոիդ քրոմոսոմների հավաքակազմի կայուն առկայության դեպքում:

Cyprinidae – Alburnoides bipunctatus – գետ Հրազդան – կարիոտիպ – B-քրոմոսոմներ

The karyotype of riffle minnow *Alburnoides bipunctatus eichwaldii* (Filippi, 1863) from the Hrazdan river within the bounds of Yerevan was studied ($2n=50$, $14M+26SM+10ST/A$). The chromosome set of females contains the pair of the heteromorphic chromosomes (ZW), which we assume to be sex chromosome. The karyotype of the males includes homomorphic (ZZ) the same homolog pair of the chromosomes. The metacentric B-chromosome in the karyotypes of the 6 % of the riffle minnow from the Hrazdan river within Yerevan city was recorded. The intraspecific chromosome polymorphism of *Alburnoides bipunctatus* from Europe, Asia Minor and Transcaucasia populations was revealed. The number of biarmed (meta-/submetacentric) and uniarmed (subtelo-/acrocentric) chromosomes of the riffle minnow from the mentioned localities varied, whereas the diploid number of the chromosomes is constant $2n=50$.

Быстрянка *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782) широко распространенный вид, ареал которого охватывает бассейны Северного, Балтийского, Черного, Каспийского и Аральского морей, речной системы Тигр-Евфрат, а также некоторые водоёмы Ирана [7]. С учетом морфометрических признаков и географического распространения выделяют около 9 подвидов быстренок [9]. В водоемах Армении, согласно Дадибяну [2, 3], распространена армянская быстрянка *A. bipunctatus armeniensis*. При дальнейшем изучении данного таксона было показано, что отсутствуют статистически достоверные морфологические различия между *A. bipunctatus eichwaldii* и *A. bipunctatus armeniensis*, вследствие чего *A. bipunctatus armeniensis* считается синонимом *A. bipunctatus eichwaldii* [5]. В настоящее время *A. bipunctatus eichwaldii* принимается некоторыми авторами [8, 18] как вид *A. eichwaldii*.

Несмотря на широкое географическое распространение, до настоящего времени известны лишь некоторые данные цитогенетических исследований быстренок, обитающих в водоемах Чехии, Хорватии и Словакии [26, 22, 24], Турции [14] Грузии [4], Ирана [19]. Также установлены NOR и DAPI позитивные локусы в хромосомах рыб из некоторых изученных популяций [19, 24].

Целью настоящей работы является изучение кариотипа быстрянки р. Раздан и выявление возможных причин возникновения внутривидового хромосомного полиморфизма в результате сравнительного анализа известных хромосомных наборов вида.

Материал и методика. Половозрелые особи быстрянки (21 самка и 30 самцов) были отловлены из р. Раздан в пределах города Ереван за период с 2003 по 2006 год. Пол определяли визуально при вскрытии рыб.

Хромосомные препараты изготавливали из тканей предпочки, жаберного эпителия и семенников воздушно-сухим методом согласно Нанда с соавторами [17], с некоторыми модификациями. С-окраску хромосом осуществляли в соответствии с модифицированным протоколом Возника [27]. Анализ препаратов и фотосъемку хромосом проводили при помощи микроскопа "NU-2E" (K. Zeiss, Germany) при увеличении 1125 (об. 90 х, ок. 12,5 х). Гомологичные хромосомы классифицировали согласно систематике, предложенной Леваном и др. [16]. По каждой особи быстрянки было проанализировано до 140 метафазных пластинок.

Результаты и обсуждение. Диплоидный набор хромосом у восточной быстрянки реки Раздан равен 50. Кариотип представлен 7-ю парами метацентрических (M), 13-ю парами субметацентрических (SM), 5-ю парами субтелоцентрических (ST) / акроцентрических (A) хромосом (14M+26SM+10(ST/A)). Число хромосомных плеч равно 98. При С-окраске хромосом выявлены блоки конститутивного гетерохроматина, расположенные в теломерных, а также в прицентромерных участках некоторых хромосом (рис. 1Б).

В кариотипе самок одна из пар хромосом гетероморфна (20-я). Она представлена двумя субметацентрическими хромосомами, одна из которых является наибольшей хромосомой набора, а другая – наименьшей (рис. 1А, 2А). Большая хромосома 20-й пары у самок примерно в 2.12 раз длиннее, чем его гомолог; примерно в 1.17 раз длиннее хромосом 8-й субметацентрической пары и примерно в 1.27 раз длиннее хромосом 1-й метацентрической пары. В кариотипе самцов морфологически дифференцированной пары хромосом не обнаружено, а 20-ю пару составляют субметацентрические хромосомы одинакового размера (рис. 2Б).

Обнаруженные морфологические различия хромосом 20-й пары в кариотипе самок и самцов восточной быстрянки дают основание предполагать наличие половых хромосом, которые, согласно классификации Чена с соавторами [10], можно отнести к ZW/ZZ хромосомной системе определения пола (гетерогаметным полом являются самки). При этом меньшую субметацентрическую хромосому 20-й пары самок мы

идентифицируем как Z-половую хромосому, а большую субметацентрическую – как W. У самцов обе гомоморфные субметацентрические хромосомы являются Z-половыми хромосомами. У быстрянок, обитающих в водоемах Чехии, Хорватии и Словакии [26, 22, 24], Грузии [4], Турции [14] и Ирана [19], половые хромосомы не обнаружены.

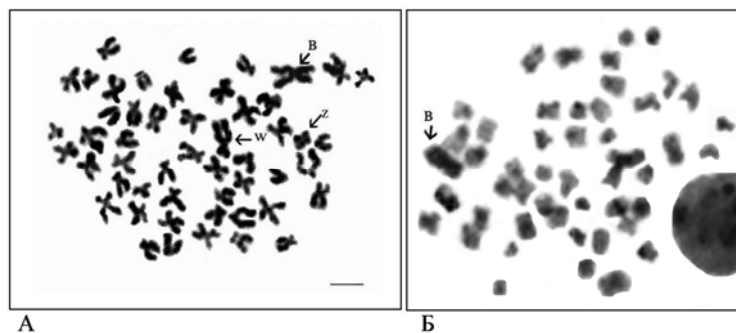


Рис. 1. Кариотип *Alburnoides bipunctatus* из р. Раздан. (А) Метафазная пластинка самки. Стрелки указывают на половые хромосомы и добавочную, (Б) С-окрашивание. Стрелка указывает на добавочную хромосому. Масштаб – 10 мкм. Увеличение: об. 90 х, ок. 12.5 х.

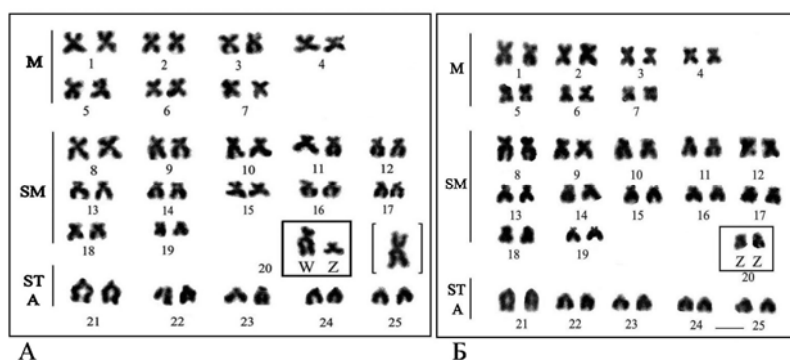


Рис. 2. Кариограммы *Alburnoides bipunctatus* из р. Раздан. (А) Самка, в рамках указаны половые и добавочная хромосомы, (Б) Самец, в рамках указаны половые хромосомы. Масштаб – 10 мкм. Увеличение: об. 90 х, ок. 12.5 х.

Известно, что у подавляющего большинства видов рыб морфологически различимые половые хромосомы не идентифицируются. По-видимому, наиболее часто пол у рыб определяется несколькими генами, расположенными в разных хромосомах или, возможно, одним геном, локализованным в одной из пар хромосом [1, 15]. Однако у некоторых карповых рыб описаны половые хромосомы систем XX/XY, ZW/ZZ и ZW/ZW/ZZ [11, 12, 15, 21, 23]. Так, половые хромосомы системы XX/XY обнаружены у *Carassius auratus gibelio* [1, 21], у *Vimba vimba* – Y хромосома большая субметацентрическая, а X – меньшая субтелоцентрическая или акроцентрическая хромосома [11, 12]. У видов *Alburnus alburnus*, *Blicca bjoerkna*, *Leuciscus caroli-tertii*, *L. pyrenaicus* и *Tinca tinca* (подсемейство Leuciscinae), обитающих на территории Европы, выявлены половые хромосомы системы ZW/ZZ, у них W-хромосома крупная субметацентрическая, а Z – меньшая по размеру субтелоцентрическая или акроцентрическая [11, 12, 23].

У трех экземпляров (1 самка и 2 самца) из 51 исследованной особи (встречаемость 6%) быстрянки из р. Раздан в кариотипе обнаружена непарная метацентрическая хромосома ($2n=51$, $NF=100$). Она является самой крупной в кариотипе, и в среднем в 1.4 раза длиннее, чем наибольшая пара хромосом аутосомного набора. При С-окрашивании хромосом видно, что эта хромосома полностью гетерохроматинизирована (рис. 1Б).

Присутствие непарной хромосомы в кариотипах особей *A. bipunctatus* из водоемов Грузии [4], Турции [14], Ирана [19], Чехии, Хорватии и Словакии [22, 24, 26] не выявлено. Это явление можно объяснить или малочисленностью изученных особей из указанных выборок, или отсутствием такой хромосомы в кариотипах особей, обитающих в водоемах вышеперечисленных стран. В пользу последнего предположения говорит тот факт, что добавочные хромосомы описаны лишь у некоторых видов рыб, близких роду *Alburnoides* – *Alburnus alburnus*, *Rutilus rutilus* [13, 28]. Так, у *R. rutilus* В-хромосома представлена непарной гигантской метацентрической хромосомой ($2n=51$, частота выявления – 40%). Частота выявления большой метацентрической В-хромосомы у *A. alburnus* в среднем равна 11%, а частота появления другой, сравнительно меньшей, метацентрической В-хромосомы равна 4 % [28].

Обнаруженная нами непарная гигантская хромосома у быстрянки из р. Раздан является В-хромосомой, так как присутствует в кариотипах некоторых особей и гетерохроматинизирована (С-band позитивна).

Анализ литературных данных [1, 13, 25, 28] позволяет заключить, что у карповых рыб подсемейства Leuciscinae добавочные хромосомы в основном представлены крупными метацентриками, которые выявляются только в некоторых популяциях в пределах ареала данного вида. Считается, что появление добавочных хромосом может быть связано с экологическими условиями обитания вида [6, 20]. В случае с быстрянкой необходимо дальнейшее изучение других выборок особей, и, в частности, из водоемов с различной высотностью над уровнем моря, для выяснения возможной модели эволюции В-хромосомы у этого вида.

При сравнении кариотипов быстрянок из водоемов Армении (р. Раздан), Грузии (р. Кура) [4], Турции (р. Тигр) [14], Ирана (р. Сиахдарвишан) [19], Чехии, Хорватии и Словакии (рр. Рокитна, Врбанье, Попрад, Лаборек) [22, 24, 26] видно, что основные структурные различия кариотипов быстрянок из различных рек затрагивают число двуплечих (метацентрических и субметацентрических) и одноплечих (субтелоцентрических и акроцентрических) хромосом (табл. 1).

Таблица 1. Кариотипы *Alburnoides bipunctatus* из различных водоёмов

Вид	Места отлова, реки	Число исследованных особей	2n	Число мета-субметацентрических хромосом	Число субтелоцентрических хромосом	Авторы
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Кура	30	50	28	22	Нгуен Тхи Нга 1989
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Тигр	12 (5♂, 7♀)	50	38	12	Kilic-Demirok, Ünü 2004
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Сиахдарвишан	(5♀, 9♂)	50	34	16	Nazari et al., 2009
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Рокитна	11 (8♂, 3♀)	50	38	12	Sofradzija, Berberović, 1979
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Лаборек	1♀	50	38	12	Ráb et al., 2008
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Врбанье, Попрад	12 (6♂, 6♀)	50	42	8	Ráb, 1981
<i>Alburnoides bipunctatus</i>	Раздан	51 (30♂, 21♀)	50	40	10	Наши данные

Причиной такого хромосомного полиморфизма у быстрянки могут быть как спирализация хромосом, так и, возможно, хромосомные перестройки типа инверсий или транслокаций.

Таким образом, при исследовании кариотипов быстрянок из р. Раздан в черте г. Ереван впервые была выявлена крупная непарная метацентрическая В-хромосома (у 6% исследованных особей) и, возможно, присутствие половых хромосом (ZZ/ZW система определения пола). У *A. bipunctatus* обнаружен также внутривидовой хромосомный полиморфизм, заключающийся в варьировании числа двуплечих и одноплечих хромосом при стабильном диплоидном числе $2n=50$ у совокупности особей из различных водоемов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М., Наука. 300 с., 1985.
2. Дадикян М.Г. Материалы по биологии армянской быстрянки. Биолог. журн. Армении, 25 3, 15-19, 1972.
3. Дадикян М.Г. Рыбы Армении. Изд. АН АССР. Ереван. 245с., 1986.
4. Нгуен Тху Нга. Сравнительная кариология некоторых групп карповых рыб. Автореферат дисс. на соиск. уч. степени канд. биол. наук. АН СССР, Инст. эволюц. морф. и экол. животных им. А.Н. Северцова. М., 1989.
5. Пипоян С.Х. О таксономическом положении армянской быстрянки *Alburnoides bipunctatus armeniensis* Dadikyan, 1972 (Cyprinidae, Pisces). Биолог. журн. Армении, 60, 1-2, 66-71, 2008.
6. Чубарева Л.А., Петрова Н.А. Полиморфизм по В-хромосомам у мошек (Diptera, Simuliidae) северо-западного региона России. Цитология, 48, 3, 253-63, 2006.
7. Bogutskaya N.G. Contribution to the knowledge of leuciscine fishes of Asia Minor. Part 2. An annotated checklist of leuciscine fishes (Leuciscinae, Cyprinidae) of Turkey with description of a new subspecies. Mitt. Hamb. Zool. Mus. Inst. 94, 161-186, 1997.
8. Bogutskaya, N.G., Coad B.W. A review of vertebral and fin-ray counts in the genus *Alburnoides* (Teleostei: Cyprinidae) with a description of six new species. Zoosystematica Rossica, 18, 1, 126-173, 2009.
9. Breitenstein M., Kirchhofer A. Biologie, Gefährdungs und Schutz der Schneiders (*Alburnoides bipunctatus*) in der Schweiz. Mitteilungen zur Fischerei. 62p., 1999.
10. Chen T.R., Ebeling A.W. Karyological evidence of female heterogamety in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. Copeia, 1, 70-75, 1968.
11. Collares-Pereira M.J., Prospero M.I., Bileu R.I., Rodrigues E.M. *Leuciscus* (Pisces, Cyprinidae) karyotypes: Transect of Portuguese populations. Genetics and Molecular Biology, 21, 1, 219-230, 1998.
12. Cucchi C. Criotipo di *Tinca tinca* (probabile eterogametia femminile) [Karyotype of tench (Probable female heterogamety)]. Rend. Ist. Lombardo Acad. Sci. E Lett. B, 111, 101-114, 1977.
13. Hafez R., Labat D., Quiller R. Aneuploidie observee chez les populations de gardons (*Rutilus rutilus* L.) et d'ablettes (*Alburnus alburnus* L.) de la region Midi-Pyrenees. Bull. Soc. Nat. Toulouse. 114, 1-2, 85-92, 1987.
14. Kilic-Demirok N., Ünlü E. Karyotype of the Cyprinid Fish *Alburnoides bipunctatus* (Cyprinidae) from the Tigris River, Folia biologica (Kraków), 52, 1-2, 1-3, 2004.
15. Koehler M.R., Neuhaus D., Engel W., Scharlt M., Schmid M. Evidence for an unusual ZW/ZW'/ZZ sex-chromosome system in *Scardinius erythrophthalmus* (Pisces, Cyprinidae), as detected by cytogenetic and H-Y antigen analyses. Cytogenet. Cell Genet., 71, 4, 356-362, 1995.
16. Levan A., Fredga K., Sandberg A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52, 201-222, 1964.
17. Nanda I., Scharlt M., Feichtinger W., Schlupp I., Parzefall J., Schmid M. Chromosomal evidence for laboratory synthesis of a triploid hybrid between the gynogenetic teleost *Poecilia formosa* and its host species. Journal Fish Biology, 47, 619-623, 1995.

И.Э. СТЕПАНИН, Д.З. ВАСИЛЯН, С.Х. ПИПОЯН

-
18. *Naseka A.M.* Zoogeographical freshwater divisions of the Caucasus as a part of the West Asian Transitional Region. *Proceedings of the Zoological Institute RAS*, 314, 4, 469-492, 2010.
 19. *Nazari S., Pourkazemi M. and Rebelo Porto J.I.* Comparative karyotype analysis of two Iranian cyprinids, *Alburnoides bipunctatus* and *Alburnus filippii* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Iran. J. of Animal Biosystematics*, 5, 2, 23-32, 2009.
 20. *Néo D. M., Filho O.M., Camacho M. J.P.* Altitudinal variation for B chromosome frequency in the characid fish *Astyanax scabripinnis*. *Heredity*, 85, 136-141, 2000.
 21. *Ojima Y., Ueda T., Narikawa T.* A cytogenetic assessment on the origin of the gold-fish. *Proc. Jap. Acad. Ser. B.*, 55, 2, 58-63, 1979.
 22. *Ráb P.* Karyotypes of some cyprinid species. In: *Reproduction, Genetics and Hybridation of Fishes*. *Vodnany*, 181-183, 1981.
 23. *Ráb P., Collares-Pereira M.J.* Chromosomes of European cyprinid fishes (Cyprinidae, Cypriniformes): A review. *Folia Zoologica*, 44, 3, 193-214, 1995.
 24. *Ráb P., Rábova M., Pereira C.S., Collares-Pereira M.J. and Pelikánova S.* Chromosome studies of European cyprinid fishes: interspecific homology of leuciscine cytotoxic marker- the largest subtelocentric chromosome pair as revealed by cross-species Painting. *Chromosome Research*, 16, 863-873, 2008.
 25. *Schmid M., Ziegler C., Steinlein C., Nanda I., Scharl M.* Cytogenetics of the bleak (*Alburnus alburnus*), with special emphasis on the B chromosomes. *Chromosome Research*, 14, 231-242, 2006.
 26. *Sofradzija A., Berberović L., Hadziselimović R.* Chromosome complements of *Alburnus alburnus* (L. 1758) and *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782), Cyprinidae, Pisces. *Acta Biol. Jug. Ichthyologia*, 11, 33-41, 1979.
 27. *Woznicki P., Jankun M., Kucharczyk D., Boron A., Luczynski M.* Cytogenetic characterization of sea trout (*Salmo trutta*) from Poland. *Copeia*, 2, 501-505, 1999.
 28. *Zeigler C.G., Lamatsch D.K., Steinlein C., Engel W., Scharl M., Schmid M.* The giant B chromosome of the cyprinid fish *Alburnus alburnus* harbours a retrotransposon-derived repetitive DNA sequence. *Chromosome Research*, 11, 23-35, 2003.

Поступила 12.02.2013