

УДК 597.554.3-13

НАСЛЕДОВАНИЕ ITS рДНК У РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ ПЛОТВЫ *Rutilus rutilus* (L.) И ЛЕЩА *Abramis brama* (L.) В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2021 г. В. В. Столбунова¹, *, Ю. В. Кодухова¹

¹Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Ярославская обл., Россия

*e-mail: vvsto@mail.ru

Поступила в редакцию 04.05.2020 г.

После доработки 04.08.2020 г.

Принята к публикации 10.08.2020 г.

В первом поколении межродовых гибридов плотвы *Rutilus rutilus* L. и леща *Abramis brama* L. ранее установлено нарушение кодоминантного наследования ядерного маркера ITS1 рибосомной ДНК (рДНК) с фиксацией одного родительского варианта. При сравнении реципрокных скрещиваний показано, что гомозиготы регистрируются со стадии гаструлы и на всех последующих стадиях эмбрионального развития только в скрещивании самка лещ × самец плотва, что указывает на нереципрочный характер потери фрагмента ITS1 и на влияние ядерно-цитоплазматических взаимодействий. При этом изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную как от самца, так и от самки. На стадии сеголетка отмечается снижение числа гомозигот лещ × плотва с доминированием варианта ITS1 самки леща, что может свидетельствовать о низкой жизнеспособности данных особей. В случае фиксации ITS1 плотвы, что установлено у гибридной самки ♀AR (*A. brama* × *R. rutilus*), можно отметить жизнеспособность, фертильность и доминирование ряда морфологических признаков плотвы у особи данного генотипа. Генотип ♀AR подтвержден, по анализу расщепления, в потомстве возвратных скрещиваний с самцами плотвы и леща. Предполагается, что отсутствие амплификации одного из родительских фрагментов ITS1 связано с высоким уровнем полиморфизма ITS1-региона у леща и у гибридов лещ × плотва, что установлено ранее, и с различием регуляторных механизмов родительских геномов. Обсуждаются возможные причины различной изменчивости ITS1 рДНК у гибридов в реципрокных скрещиваниях.

Ключевые слова: Cyprinidae, отдаленная гибридизация, гибриды первого поколения, доминирование рибосомных генов

DOI: 10.31857/S0042132421010233

ВВЕДЕНИЕ

Мультигенное семейство ядерной рДНК наиболее часто используется при изучении последних межвидовой гибридизации (Buckler et al., 1997), которая в свою очередь нередко определяется как наиболее существенный фактор эволюции рДНК (Skalická et al., 2003; Robles et al., 2005), поскольку потенциально может вызывать более значимые перестройки генома и быструю его реорганизацию, чем дубликации генов или всего генома (Song et al., 1995; Mable, 2013). Гены рРНК сгруппированы в длинные tandemные повторы. Общее число повторов и уровень транскрипции рибосомных генов видоспецифичны, что контролируется РНК-полимеразой I (Kobayashi et al., 1998). Каждая транскрипционная единица рДНК состоит из трех генов (18S, 5.8S, 28S), разделенных двумя внутренними транскрибируемыми спейсерами (ITS1 и ITS2). Считается, что гибридизация и полиплоидия способствуют неполной реализации механизмов согласованного развития

tandemных повторов рДНК (Campbell et al., 1997), которые обеспечивают гомогенизацию (идентичность) нуклеотидной последовательности всех транскрипционных единиц рДНК внутри генома, популяции, вида (Hillis, Dixon, 1991). Вследствие этого в первом поколении межвидовых гибридов (F1) животных и растений наблюдаются существенные отклонения в наследовании рДНК, а также такие перестройки генетического материала, когда строение геномов не занимает промежуточного положения и отличается от обоих родительских видов (Владыченская, Кедрова, 1982; Челомина и др., 2008). У гибридов отмечают повышение нуклеотидного полиморфизма как консервативного компонента 18S рРНК (Челомина и др., 2008; Krieger, Fuerst, 2004), так и более варибельного внутреннего транскрибируемого спейсера ITS (Луданный, 2008; Campbell et al., 1997; Pereira et al., 2014) даже при отсутствии изменчивости у родительских видов (Arnheim et al., 1982). На функциональном уровне взаимодей-

стве между родительскими локусами рДНК в гибридах приводит к сайленсингу (дифференциальной транскрипции генов), известному как ядерное доминирование (Navashin, 1934; Volkov et al., 2007).

Из-за тандемного характера строения кластер рибосомных генов в большей степени подвержен рекомбинации (Kobayashi, 2006). Результатом рекомбинации могут быть точечные мутации, вставки/делеции, перестройки и обмен повторами, что изменяет размер генома, длину спейсерных участков и оказывает влияние на длительность клеточного цикла, скорость развития и дифференциальную активность генов (Беннетт, 1986; Navashin, 1934; Cluster et al., 1987). При этом из-за важной роли рДНК в биогенезе рибосом геномная стабильность массива тандемных повторов строго контролируется (Gangloff et al., 1996), если происходят удаления или вставки повторов, в большинстве случаев организм способен восстанавливать их число к уровню дикого типа (Rodland, Russell, 1982; Kobayashi, 2006). В случае фиксации мутации менделевский способ наследования, характерный для мультигенных семейств, способствует ее распространению в пределах генома, популяции и вида (Доувер и др., 1986), что свидетельствует о возможности быстрой геномной эволюции при интрогрессивной гибридизации (Pereira et al., 2014).

Межродовые гибриды плотвы *Rutilus rutilus* L. (Cyprinidae) и леща *Abramis brama* L. (Cyprinidae) жизнеспособны как в первом, так и в последующих поколениях и представляют собой удобную модель для изучения процессов реорганизации генома на уровне рДНК в связи с высоким уровнем дивергенции геномов родительских видов (Bianco et al., 2004; Ocalewicz et al., 2004). Размер генома леща, который у эукариот положительно коррелирует с количеством копий рДНК (Prokhorowich et al., 2003) и генетической изменчивостью (Pierce, Milton, 1980), превышает геном плотвы в 1.3 раза (Гинатулин, 1984; Gregory, 2013). При одинаковом количестве хромосом эта разница указывает на то, что для регуляторной функции у леща доступны большие количества повторяющейся ДНК, чем у плотвы, что может способствовать большему разнообразию повторов как регуляторных элементов (Olmo, 2006).

Действительно, последовательности ITS1 рДНК плотвы и леща демонстрируют генетическую неоднородность индивидуальных копий, при этом изменчивость в большей степени выражена у леща и гибридов лещ × плотва, чем у плотвы и гибридов плотва × лещ (Луданный, 2008; Wyatt et al., 2006). В дополнение к двум (А и В) типам ITS1-последовательности леща из Англии (Wyatt et al., 2006) в геноме волжского леща найдено несколько уникальных, значительно дивер-

гировавших копий ITS1, что позволяет предполагать существование третьей линии (Луданный, 2008). Высокий уровень разнообразия гаплотипов в ITS-участке может быть связан с наличием у диплоидного леща скрытых разрывов в 10% эволюционно-консервативного компонента 28S рРНК. Считается, что разрывы способствуют ранней деградации рРНК, снижая тем самым синтез белка и противодействуя вредным последствиям увеличения количества ядерной ДНК в ходе эволюции. Разрывы в компонентах 28S и 18S рРНК при разрушении вторичной структуры приводят к появлению строго определенных фрагментов РНК. Опыты по конкурентной гибридизации немеченых фрагментов РНК и меченых ¹²⁵I 28S и 18S рРНК с общей ДНК показали, что рРНК и минорные компоненты РНК закодированы в одном и том же участке ДНК (Лейпольдт, Шмидтке, 1986). С учетом того, что вторичная структура образующейся РНК определяет случайный характер мутационного процесса в ITS-участке (Аксенов, Спиридонов, 2013), наличие разрывов может иметь к этому процессу непосредственное отношение.

Для идентификации природных гибридов плотвы и леща с учетом известных гаплотипов ранее разработаны видоспецифические праймеры (Wyatt et al., 2006). При использовании данного набора праймеров в потомстве экспериментальных гибридов лещ × плотва нами установлено отсутствие амплификации одного из родительских ITS1 рДНК в раннем развитии (Слынько, Столбунова, 2010). В настоящей работе проведен сравнительный анализ наследования ITS1 рДНК в потомствах реципрокных экспериментальных скрещиваний (лещ × плотва, плотва × лещ) на стадиях раннего онтогенеза и сеголетка (0+), чтобы оценить вклад цитоплазматической наследственности, а также у гибридов возвратных скрещиваний, которые получены от гибридной соматогонной самки лещ × плотва. На данном этапе нам не известна причина подавления синтеза одного из родительских фрагментов в первом поколении гибридов плотвы и леща, но использование методов гибридологического и морфологического анализов, несомненно, предоставляет больше информации о данном явлении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гибриды первого поколения (F1) получены в реципрокных межвидовых скрещиваниях: лещ × плотва (AR – ♀*A. brama* × ♂*R. rutilus*, ♀A1 × ♂R1, ♀A2 × ♂R2, ♀A3 × ♂R3) и плотва × лещ (RA – ♀*R. rutilus* × ♂*A. brama*, ♀R1 × ♂A1, ♀R2 × ♂A2). Для проведения скрещиваний использовали половые продукты самок и самцов *R. rutilus* и *A. brama* (возраст 4+) V стадии зрелости, выловленных в начале мая во время нереста в Рыбинском вдхр.

(Ярославская обл., Россия). Два потомства бэк-кроссов (Fb) получены в скрещиваниях ♀AR с ♂R и ♂A. Гибридная самка получена в эксперименте и выращена до половозрелого состояния. Половые продукты самки были разделены на две части; одну часть смешивали со спермой самца плотвы, другую часть со спермой самца леща. Оплодотворение проведено сухим способом по стандартной рыбоводной методике (Рябов, 1981). После отбора половых продуктов производителей нумеровали и замораживали, а оплодотворенную икру помещали в отдельные кристаллизаторы (диаметр 50 см, высота 15 см) с водой из водохранилища, по 2500–3000 икринок в каждом, где выдерживали до полного рассасывания желточного мешка. Инкубация икры осуществлялась в условиях постоянного водообмена (смена воды 3 раза в сутки), контроля концентрации кислорода, кислотности и температуры. Средняя температура воды во время инкубации эмбрионов была приближена к природным условиям и составляла $17.5 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ($M \pm m$). Выживаемость контролировали на стадиях личинки (после выклева и поздней бластулы) и сеголетка 0+, что опубликовано ранее (Слынько, Слынько, 2010). Успех оплодотворения определялся главным образом качеством половых продуктов. Со стадии смешанного типа питания личинок подкармливали диким планктоном, затем помещали в открытые выростные пруды ($n = 600$ на площадь 600 м^2) с предварительной акклимацией. Потомство каждого скрещивания содержалось в отдельном пруду с мая по октябрь. После спуска воды не менее 200 сеголетков (0+) каждого скрещивания получено и заморожено.

ДНК выделяли из скелетных мышц методом фенол-хлороформной экстракции (Mathew, 1984) у производителей плотвы и леща ($n = 14$), у половозрелых гибридных самок и самцов F1 (лещ \times плотва, $n = 8$ и плотва \times лещ, $n = 6$), у сеголетков реципрокных гибридов F1 ($n = 81$) и Fb ($n = 86$), а также из икры ($n = 10$), эмбрионов ($n = 59$) и личинок ($n = 90$). В скрещиваниях ♀A \times ♂R (33 шт.) и ♀R \times ♂A (34 шт.) отбор проб производили по стадиям раннего развития: неоплодотворенной икры (НИ), дробления – 40 мин после оплодотворения (ДР), морулы (М), гастролы (Г), эмбрион перед выклевом (ЭПВ), эмбрион с желточным мешком (ЭСЖМ), эмбрион без желточного мешка (ЭБЖМ). Гибридов на стадии сеголетка предварительно анализировали по трем микросателлитным локусам (СурG53, СурG48, СурG24), чтобы подтвердить родство и исключить занос случайного генетического материала, поскольку гибриды содержались в открытых прудах, что подробно описано в отдельной работе (Столбунова, 2017). В настоящем исследовании генотипирование особей проводили по генам ядерного (ITS1 рДНК) и митохондриального (цитохром *b* мтДНК) гено-

мов. Амплификацию видоспецифических фрагментов ITS1 рДНК леща (147–152 пн), плотвы (385–386 пн) и видоспецифических фрагментов цитохрома *b* (сyt *b*) леща (672 пн) и плотвы (450 пн) проводили методом локус-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР), согласно методике с использованием двух прямых праймеров и одного обратного, универсального для обоих видов (Wyatt et al., 2006). Разная длина фрагментов позволяла визуализировать их в геле. Гены рДНК плотвы и леща расположены в районе ядрышкового организатора на концах одной хромосомной пары (Bianco et al., 2004). В связи с разобщением гаплоидных геномов у межродовых гибридов (Беннетт, 1986) видоспецифический ITS1 рДНК является маркером ядерного генома родительского вида и имеет кодоминантный тип наследования. Соответственно, у гибридов F1 после объединения гаплоидных геномов плотвы и леща регистрируются оба родительских фрагмента ITS1 рДНК, что позволяет использовать разработанные праймеры для идентификации природных гибридов (Wyatt et al., 2006). В потомстве возвратного скрещивания ожидаемое соотношение гомо- и гетерозигот составляет 1 : 1. Статистическая оценка достоверности различий между теоретическим и эмпирическим распределением генотипов в выборках бэккроссов производилась при помощи критерия χ^2 (Животовский, 1991). Для ПЦР использовали смесь в объеме 25 мкл, которая содержала готовый 10X буфер “Fermentas”, Литва; 2.0 mM MgCl₂; 200 мкМ dNTP; по 3.2 пмоль праймеров; 0.9 ед. Taq-полимеразы “Бионем”, Москва; 50 нг ДНК. Денатурацию ДНК выполняли при 94°C в течение 5 мин, с последующими 30 циклами синтеза фрагмента для ITS1 рДНК и 35 циклами для сyt *b* мтДНК: денатурация – 94°C – 45 с, отжиг – 64°C (сyt *b*) и 67°C (ITS1 рДНК) – 80 с, элонгация – 72°C – 60 с, конечная элонгация – 72°C – 5 мин. ПЦР продукты сyt *b* и ITS1 фракционировали с помощью гель-электрофореза в 1.5%-ном агарозном геле, содержащем бромистый этидий (0.25 мкг/мл). Электрофорез проводили в буфере TBE в течение 40 мин при напряжении 100 В.

Морфологический анализ проведен по ключевым диагностическим признакам у родительских особей (♀A3, ♂R3, ♀AR, ♂A, ♂R) и у сеголетков гибридов F1 из потомства A3 \times R3 ($n = 48$). Для сравнения приведены морфологические данные сеголетков, полученных в межвидовом (A \times R, $n = 50$) и внутривидовых (A \times A, $n = 40$, R \times R, $n = 40$) скрещиваниях. Измерялись следующие меристические признаки: число лучей в спинном (*D*b) и анальном (*A*b) плавниках, число глоточных зубов (*d.ph.*), число позвонков в туловищном (*V*a) и хвостовом (*V*c) отделах, общее число позвонков (*V*ert), число чешуй в боковой линии (*l.l.*), число рядов чешуй над (*S*_D) и под (*S*_A) боковой линией

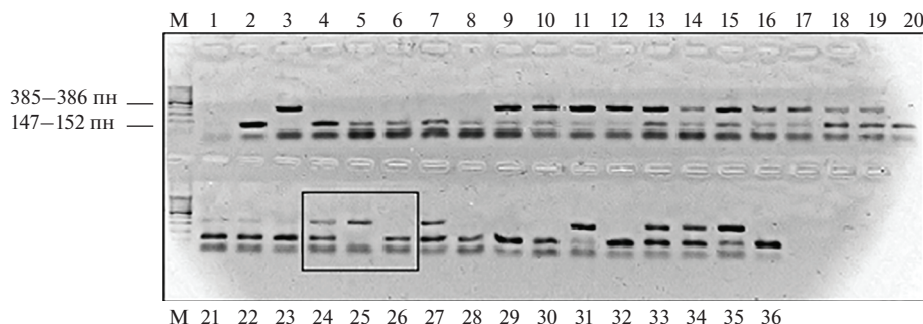


Рис. 1. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК гибридов потомства ♀А × ♂R по стадиям раннего развития. Дорожки: 2 – самка леща, 3 – самец плотвы; 4–8 – неоплодотворенная икра; 9–12 – 40 мин после оплодотворения; 13–17 – морула; 18–22 – гастрюла; 23–26 – эмбрион перед выклевом; 27–31 – эмбрион с желточным мешком; 32–36 – эмбрион без желточного мешка. В рамке показаны все возможные варианты гибридного ITS1, включая редкий – ITS1 плотвы. Здесь и на рис. 2 и 3: М – маркер молекулярных масс (100 пн). Слева указана длина фрагментов ITS1 леща (147–152 пн) и плотвы (385–386 пн).

(Дислер, 1960). Проведен анализ соотношения количества позвонков между туловищным и хвостовым отделами: $V_a \geq V_c$ определен как плотвинный тип; $V_a < V_c$ – как лещовый тип. При описании признаков определяли средние значения (M), стандартную ошибку (m) и размах изменчивости (lim).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Видовой статус всех производителей, использованных в экспериментальных скрещиваниях, установлен путем морфологического анализа и генотипирования по локусам ядерного генома ITS1 рДНК и *cyt b* мтДНК.

Анализ наследования ITS1 рДНК в первом поколении гибридов

Проведенный анализ показал, что в реципрокных скрещиваниях лещ × плотва и плотва × лещ происходит нарушение закона Менделя о единообразии гибридов первого поколения. В потомстве от скрещивания ♀А × ♂R, $n = 28$ начиная со стадии гастрюлы (Г) и на всех последующих стадиях раннего развития, наблюдается расщепление, часть гибридов утрачивает один из родительских фрагментов ITS1 (рис. 1, табл. 1, скрещивание 1). При этом, в подавляющем большинстве случаев у гибридов лещ × плотва отсутствует амплификация отцовского фрагмента ITS1 рДНК плотвы (Г – 20%, ЭПВ – 25%, ЭСЖМ – 60% и ЭБЖМ – 40%), что указывает на изменения в рДНК гибрида, переданной от самца. Фиксация фрагмента ITS1 плотвы установлена только у одной особи на стадии ЭПВ, где присутствуют все три возможных варианта ITS1 (ЭПВ – 25%, рис. 1, трек 25), а также у одной половозрелой гибридной самки лещ × плотва (рис. 3). На стадии Л вы-

явлено два гибрида с фиксацией ITS1 леща (скрещивание ♀A1 × ♂R1, $n = 11$).

Для исключения специфических особенностей раннего развития рыб тестирование гибридов проведено на стадии сеголетка (рис. 2). В скрещиваниях ♀A3 × ♂R3, $n = 48$ и ♀A2 × ♂R2, $n = 12$ выявлено по одной особи с доминированием варианта ITS1 леща, что указывает на значительное сокращение частоты нарушений наследования ядерного маркера с эмбриональных стадий развития до стадии сеголетка и свидетельствует о снижении жизнеспособности гибридов данного генотипа.

В потомстве скрещивания ♀R × ♂A, $n = 34$ на стадии Г у четырех из семи эмбрионов показана слабая амплификация ITS1 плотвы (самки), а у одной особи фрагмент ITS1 плотвы отсутствовал, что составило 14%. На всех остальных стадиях эмбрионального развития гибриды плотва × лещ имели оба родительских варианта ITS1. При этом на стадиях ЭСЖМ и ЭБЖМ различий между интенсивностью родительских полос в спектрах гибридов не наблюдалось. Электрофореграмма по стадиям развития гибридов плотва × лещ дана ранее (Столбунова, 2012). В скрещивании ♀R1 × ♂A1, $n = 22$ у двух особей на стадии Л показана слабая амплификация ITS1 плотвы, а у двух сеголетков в скрещивании ♀R2 × ♂A2, $n = 22$ – ITS1 леща.

Соответственно, кроме отсутствия амплификации одного варианта ITS1, у части гетерозигот в реципрокных скрещиваниях отмечена дифференциальная амплификация фрагментов с доминированием варианта плотвы (на стадии М у гибридов лещ × плотва и стадии ЭПВ у гибридов плотва × лещ) и варианта леща (на стадии Г у гибридов лещ × плотва, плотва × лещ и у части сеголетков лещ × плотва) (рис. 1, 2). При сравнении реципрокных скрещиваний ♀А × ♂R (Г – 20%, ЭПВ – 50%, ЭСЖМ – 60% и ЭБЖМ – 40%) и

Таблица 1. Характеристика экспериментальных скрещиваний и наблюдаемые варианты ITS1 рДНК в потомстве гибридов F1 и бэкроссов

№/год	Скрещивание	Стадия	Наблюдаемые варианты ITS1, шт.		
			AR	RR	AA
1/2007	♀A × ♂R	Эмбрионы	20	1	7
2/2008	♀A1 × ♂R1	Личинки	11	—	2
3/2008	♀A2 × ♂R2	Сеголетки	10	—	1
4/2009	♀A3 × ♂R3	Сеголетки	47	—	1
5/2008	♀R × ♂A	Эмбрионы	33	—	1
6/2008	♀R1 × ♂A1	Личинки	22	—	—
7/2008	♀R2 × ♂A2	Сеголетки	22	—	—
8/2009	♀AR × ♂A*	Личинки	10	—	13
		Сеголетки	23	—	20
9/2009	♀AR × ♂R	Личинки	—	34	—
		Сеголетки	—	43	—

Примечание: * — уровень значимости $p > 0.05$.

♀R × ♂A (Г — 14%) отмечены значительные различия по частоте потери амплификации фрагмента ITS1 на ранних стадиях развития. Поскольку условия ПЦР и концентрации всех образцов ДНК были одинаковыми, мы предполагаем, что нересипрокный эффект может быть связан с особенностями формирования гибридного генома и влиянием ядерно-цитоплазматических взаимодействий.

Проверка генотипа гибридной самки AR с помощью анализирующих скрещиваний

При генотипировании половозрелых гибридов было обнаружено, что у одной из гибридных самок лещ × плотва подавлена (отсутствует) амплификация ITS1 леща. При изменении условий ПЦР, концентраций матрицы и состава амплификационной смеси результат не менялся — в зо-

не ITS1 леща наблюдалось едва заметное свечение (рис. 3). Для установления генотипа гибридной самки F1 были проведены анализирующие скрещивания с гомозиготными самцами родительских видов. Анализ результатов показал, что экспериментально полученное расщепление классов потомков (AA и AR) совпало с теоретически ожидаемым (соотношение гомо- и гетерозигот 1 : 1) только в скрещивании ♀AR × ♂A на стадиях личинки и сеголетка (табл. 1, $p > 0.05$). В скрещивании ♀AR × ♂R все предполагаемые гетерозиготы AR на обеих стадиях исследования имели только ITS1 плотвы (табл. 1, рис. 4). Полученные результаты подтверждают гомозиготность гибридной самки ♀AR и свидетельствуют о том, что потеря амплификации фрагмента у гибрида F1, которая происходит в соматической ткани (со стадии гастролы), характерна и для клеток генеративного пути.

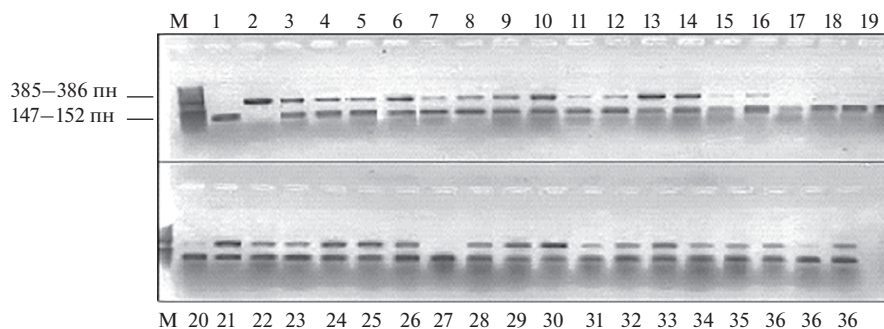


Рис. 2. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК гибридов потомства ♀A3 × ♂R3 на стадии сеголетка. Дорожка 27 соответствует гибриду AR27.

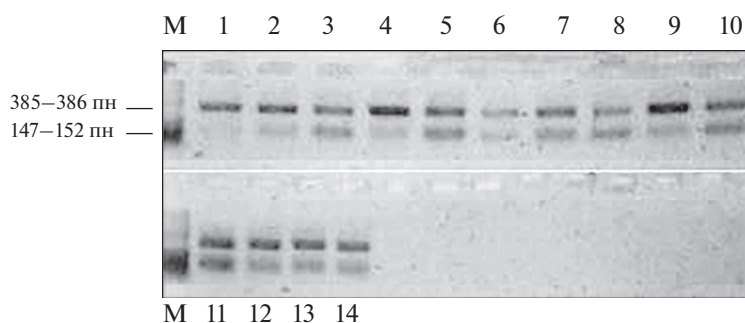


Рис. 3. Электрофоретические паттерны ITS1 рДНК на смеси master mix: 1 – гибридная самка AR, 2–11 – личинки AR, 12–14 – смесь образцов ДНК плотвы и леща в равной пропорции, выделенных из взрослых особей.

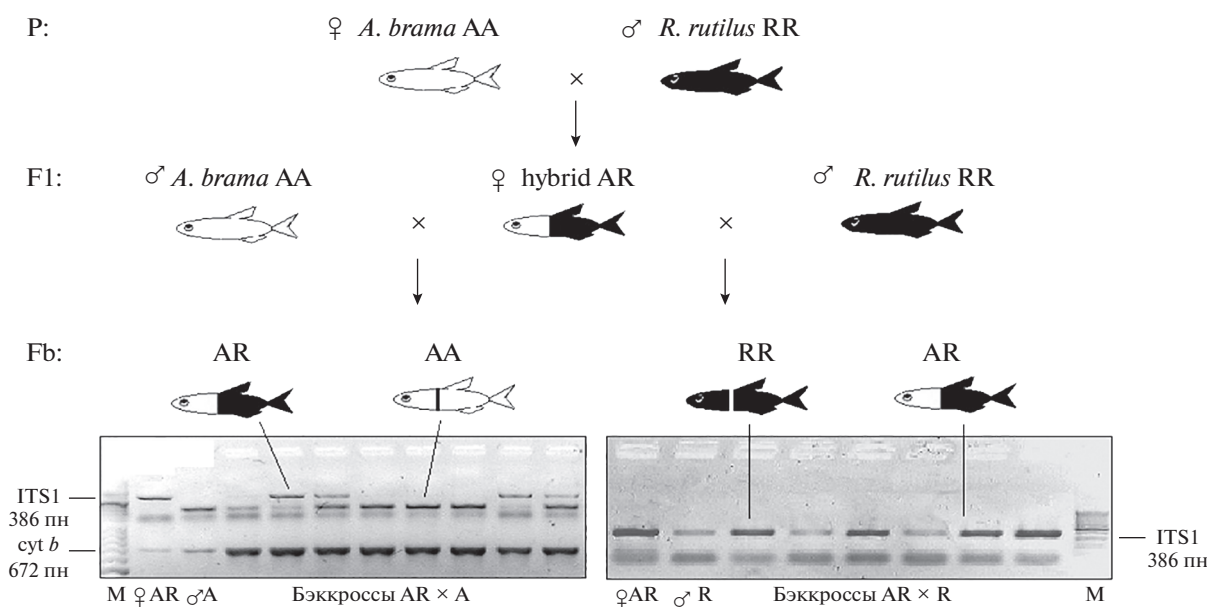


Рис. 4. Наследование ITS1 рДНК в потомстве возвратных скрещиваний ♀AR × ♂R и ♀AR × ♂A. Показаны гомозиготы RR, AA и гетерозиготы AR. Слева длина фрагментов ITS1 плотвы (385–386 пн) и cut b леща (672 пн) не соответствует шкале маркера (100 пн) в связи с последовательным нанесением продуктов ПЦП на один гель.

Морфометрический анализ гибридов с нарушением наследования маркера ITS1

Исторически исследователи фокусировались на фенотипических эффектах, связанных с делециями или инактивацией порогового числа копий генов рДНК. Поскольку причина потери фрагмента ITS1 неизвестна, у гибридов проведен контроль количественных признаков. Гибриды F1 плотвы и леща имеют промежуточные между родительскими видами характеристики с доминированием лещового типа осевого скелета ($Va < Vc$) (Кодухова, Слынько, 2007). Средние значения основных диагностических признаков в потомстве скрещивания ♀A3 × ♂R3 не имеют отличий с выборками экспериментальных гибридов F1 и находятся в пределах изменчивости родительских

видов (табл. 2). Анализ отдельных особей показал, что в случае фиксации фрагмента ITS1 леща у гибрида AR27, отклонения от промежуточного наследования признаков не происходит. В то время как у двух особей AR28 и AR46, которые имеют оба родительских фрагмента ITS1, установлены характеристики плотвы по основным диагностическим признакам ($Ab, l.l., S_D, S_A$) и осевой скелет лещового типа ($Va < Vc$). У гибридной самки AR с фиксацией ITS1 плотвы регистрируются не только диагностические признаки плотвы – $Ab, l.l., S_D, S_A, d.ph.$, но и осевой скелет плотвиного типа ($Va \geq Vc$), что идентифицирует данную особь как гибрид Fb. Таким образом, признаки плотвы проявляются у гибридов F1 как с кодоминантным наследованием рибосомных генов (гибридный

Таблица 2. Сравнение диагностических характеристик у гибридов гомо- и гетерозиготных по ITS1-маркеру

	<i>l.l.</i>	<i>S_D</i>	<i>S_A</i>	<i>Ab</i>	<i>Db</i>	<i>d.ph.</i> [†]	<i>Va</i>	<i>Vc</i>	<i>Vert</i>
Родительские особи									
♀AR	45	8	4	13	9	6–5	16	15	42
♂A	56	12	6	26	9	5–5	14	18	44
♂R	42	8	4	10	9	6–5	16	14	40
♀A3	54	13	6	25	9	5–5	15	18	44
♂R3	43	8	4	11	10	6–5	16	14	40
Гибриды потомства A3×R3									
AR27	47	10	6	16	10	5–5	15	16	42
AR28	44	9	4	10	9	5–5	15	16	42
AR46	43	8	4	11	9	5–5	15	16	41
Гибриды F1, <i>A. brama</i> и <i>R. rutilus</i> (<i>M</i> ± <i>m</i> , <i>lim</i>)									
A3 × R3	48.21 ± 0.29, 43–52	9.73 ± 0.09, 8–11	4.93 ± 0.05, 4–5	15.42 ± 0.12, 10–18	9.81 ± 0.07, 9–10	6–5 (83%) 5–5 (17%)	14.08 ± 0.07, 13–16	16.24 ± 0.09, 15–17	42.00 ± 0.11, 40–43
A × R	46.51 ± 0.23, 44–52	9.93 ± 0.04, 9–10	4.93 ± 0.04, 4–5	14.82 ± 0.12, 13–17	9.01 ± 0.02, 9–10	6–5 (94%) 5–5 (6%)	14.71 ± 0.07, 14–16	16.34 ± 0.09, 15–18	41.33 ± 0.11, 40–43
A × A	55.60 ± 0.21, 50–56	11.74 ± 0.08, 10–13	6.12 ± 0.06, 5–7	25.83 ± 0.14, 21–28	9.00 ± 0, 8–10	5–5 (100%)	14.44 ± 0.07, 14–15	18.81 ± 0.09, 18–20	43.51 ± 0.08, 43–45
R × R	42.92 ± 0.11, 39–44	8.12 ± 0.04, 7–9	4.14 ± 0.04, 3–5	10.32 ± 0.08, 9–11	10.11 ± 0.05, 9–11	6–5 (90.9%) 5–5 (9.1%)	16.52 ± 0.11, 15–18	14.64 ± 0.12, 14–16	41.31 ± 0.13, 39–42

Примечание: [†] – процентное соотношение фенотипов глоточных зубов в потомстве; *M* – среднее значение признака, *m* – ошибка среднего, *lim* – размах изменчивости.

ITS1), так и с фиксацией ITS1 плотвы и обнаружены у 4% гибридов в потомстве.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературы позволил интерпретировать наблюдаемую в потомстве гибридов F1 плотвы и леща потерю амплификации одного из родительских фрагментов ITS1 рДНК как доминирование рибосомных генов одного из участвующих в скрещивании родителей, впервые описанное (Navashin, 1934) у растения рода *Crepis*. Позднее аналогичное явление обнаружено в гибридах лягушек *Xenopus*, дрозофилл *Drosophila* и у природных аллотетраплоидных видов растений (Reeder, 1985; Volkov et al., 1999; Pikaard, 2000; Skalická et al., 2003). Предполагается, что доминирование одной из родительских рДНК у гибридов устанавливается в ходе согласованной эволюции повторов за счет внутри- и межлокусной конверсии генов как следствие конкуренции между рибосомными генами родительских видов, которые обладают неравным количеством регуляторных элементов (Reeder, 1985).

Показано, что гомогенизация последовательностей рДНК плотвы и леща может иметь место в гибридных геномах, но для полного удаления одной родительской рДНК необходимо более двух поколений, что делает ITS1-маркер надежным инструментом для идентификации гибридов F1 (Wyatt et al., 2006). Однако некоторые авторы допускают или возможность частичной гомогенизации

последовательности рДНК уже в первом поколении гибридов, когда новые варианты вносятся быстрее, чем они могут быть гомогенизированы внутри генома, или формирование промежуточной последовательности, инициируемой межродовой гибридизацией (Челомина и др., 2008). В данном случае эти варианты могут быть более вероятны в связи с тем, что ITS-регион рассматривается как дестабилизирующий элемент в хромосомах (Bouffler, 1998). Слабая амплификация или полное отсутствие амплификации фрагмента ITS1 у гибридов F1 плотвы и леща, что показано в настоящей работе, может быть, согласно объяснению авторов (Wyatt et al., 2006), следствием различного соотношения родительской рДНК в ПЦР-продукте. Если это так, то необходимо отметить, что состояние гибридной рДНК в случае потери амплификации одного фрагмента ITS1 не является случайным, поскольку наследуется бэкрессами AR × R от гибридной самки ♀AR (табл. 1, рис. 4), следовательно, характерно не только для соматической ткани, но и для клеток генеративного пути. В исследовании выявлены некоторые закономерности, которые указывают на нереципрочный характер потери амплификации ITS1 у гибридов F1. В частности, гомозиготы массово регистрируются только в раннем эмбриогенезе со стадии гаструлы в потомстве самка лещ × самец плотва, и в подавляющем большинстве случаев отсутствует амплификация ITS1 плотвы, то есть изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную от самца.

Мы предполагаем, что отсутствие амплификации фрагмента ITS1 у гибридов лещ × плотва в раннем эмбриогенезе может быть связано с высоким уровнем полиморфизма последовательности рДНК, что показано ранее для леща и гибридов лещ × плотва (Луданный, 2008; Wyatt et al., 2006). Накопление мутаций в кластере рДНК могло препятствовать отжигу праймеров, делая невозможным дальнейшую амплификацию. Различия, наблюдаемые между реципрокными скрещиваниями, как правило, являются следствием матроклинии, наиболее ярко проявляются в раннем онтогенезе и часто имеют адаптивное значение (Камышев и др., 2007). При этом выбор направления скрещивания – важный фактор регуляции изменчивости потомства, поскольку от взаимодействия ядра и цитоплазмы зависят рекомбинационные показатели (Жученко, Король, 1985). При разработке видоспецифических праймеров были установлены (Wyatt et al., 2006) признаки внутри- и межвидовой рекомбинации, когда у небольшого числа особей плотвы и леща одновременно присутствовали копии двух типов (А и В). При сравнении пяти копий ITS1 волжского леща оказалось, что ни одна из них не имеет полной идентичности с известными гаплотипами А и В из Англии, а копии ITS1 волжской плотвы идентичны гаплотипу А или отличаются одной нуклеотидной заменой (Луданный, 2008). Результаты данного исследования свидетельствуют о большем разнообразии некодирующего спейсера ITS1 рДНК леща и гибридной рДНК в тех скрещиваниях, где самкой является лещ, что может быть связано с особенностями регулирования генома.

У леща как вида с большим размером генома, чем у плотвы (Гинатулин, 1984; Gregory, 2013), для регуляторной функции доступны большие количества повторяющейся ДНК, что минимизирует рекомбинацию в кодирующих участках генома, допускает большее количество макромутаций и способствует разнообразию повторов как регуляторных элементов (Pierce, Milton, 1980; Flavell, 1982). Скрытые разрывы в 10% 28S рРНК у леща, которые в 90% 28S рРНК встречаются у тетраплоидных карповых и способствуют ранней дегградации рРНК, влияя тем самым на синтез белка (Лейпольдт, Шмидтке, 1986), возможно, имеют отношение к неслучайному характеру мутационного процесса в ITS-участке. У плотвы, в отличие от леща, отбор благоприятствует вариантам в структурных локусах, что подтверждается при анализе полиморфизма белков и митохондриальных генов (*cyt b*, COXI, COXII, COXIII, D-loop) (Луданный, 2008; Столбунова, 2012; Semenova et al., 2005; Hayden et al., 2011). Соответственно, у данных видов наблюдается корреляция между количеством ДНК и генетической изменчивостью, что свидетельствует о разных эволюционных тактиках геномов плотвы и леща. Большой запас и

нуклеотидное разнообразие неинформативной ДНК у леща сочетается с низкой скоростью накопления замен в мтДНК и ядерных генах, а высокий полиморфизм структурных генов у плотвы сочетается с низким разнообразием повторов. Эти данные свидетельствуют о неравенстве регуляторных элементов и различиях механизмов регулирования геномов, что может быть важнейшим барьером, препятствующим развитию гибридов (Wilson et al., 1974). В подобных обстоятельствах изменение состояния системы повторов способствует появлению альтернативных форм генной активности (Корочкин, 2002), что, как полагают, ведет к сглаживанию регуляторной несовместимости между родительскими геномами при гибридизации (Adams, Wendel, 2004). Существенным аргументом в пользу того, что отсутствие амплификации ITS1 у гибридов плотвы и леща имеет отношение к регуляторной функции и коадаптации родительских геномов, является тот факт, что потеря фрагмента регистрируется только со стадии гастротрофы и на всех последующих стадиях раннего развития (рис. 1), то есть после активации ядерного генома гибридного зародыша и запуска морфогенеза, что происходит у рыб в поздней бластуле (Корочкин, 2002).

Генетическая регуляция развития гибридов лещ × плотва и плотва × лещ осуществляется в соответствии с программой индивидуального развития материнского вида, что показано по экспрессии ферментов, скоростям и срокам прохождения стадий морфогенеза (Крыжановский, 1968; Лапушкина, 2000). Эти данные указывают на существование различий между реципрокными гибридами F1 и на сохранение количества ДНК материнского типа в гибридном геноме, поскольку масса ДНК пропорционально связана с продолжительностью митоза и временем генерации (Беннетт, 1986). Как показывают исследования растений, обеспечение механизмов генетического контроля в гибридном зародыше происходит благодаря подгонке длительности митотических циклов путем добавления или делеции повторов (Рис и др., 1986). Так, селекция на снижение содержания ДНК в клетках ржи у *Triticale* при различии между диплоидными геномами ржи и пшеницы на 33% приводит к значительному повышению как стабильности ядра в развивающемся эндосперме гибридов, так и количества, и качества зрелых семян (Беннетт, 1986).

При образовании гибридного генома лещ × плотва донорный геном самца меньше по количеству ДНК, поэтому можно предположить, что при выравнивании числа повторов между родительскими рДНК для поддержания оптимальной длительности митоза в соответствии с программой материнского вида им необходимо увеличить, а гибридам плотва × лещ – сократить количество

ДНК в донорном гаплоидном геноме. В противном случае программы индивидуального развития реципрокных гибридов будут отличаться по времени от материнского вида. Вполне возможно, что эти манипуляции с избыточной частью генома могли вызывать изменения в соотношении родительской рДНК у гибридов F1, а различия регуляторных механизмов у самок плотвы и леща могли стать причиной нереципрочного эффекта потери амплификации фрагмента ITS1. Сходство реципрокных гибридов AR и RA с материнским видом обеспечивается благодаря тому, что репликация и репарация избыточной ДНК в клетке скоординирована с функцией митохондрий, чтобы обеспечивать средства в ответ на изменение энергетических потребностей во время митоза (Coelho et al., 2002). Соответственно, различия между реципрокными гибридами AR и RA по скорости морфогенеза и уровню полиморфизма ITS1-региона являются следствием ядерно-цитоплазматического конфликта, связанного с разным объемом избыточной ДНК у родительских видов. Поэтому дивергенция по размеру геномов при отдаленной гибридизации, по-видимому, может рассматриваться как эндогенный фактор для развития ядерно-цитоплазматической несовместимости. Подобно тому, как различия по скорости эволюции мтДНК плотвы и леща способствуют асимметричной жизнеспособности аллоплазматических бэкриссов и развитию репродуктивного барьера (Столбунова, 2017).

Преодоление негомологичности ядерных геномов родительских видов может решаться за счет эктопической рекомбинации в повторяющихся последовательностях ДНК соматических клеток, которая осуществляется путем генной конверсии (или неравного обмена) при репарации несовершенных гетеродуплексов, приводящей к образованию гомодуплексов (Доувер и др., 1986; Gangloff et al., 1996). Как известно, большая часть рекомбинационного ремонта (репарации) не приводит к перестройке повторяющихся структур (Zou, Rothstein, 1997), в этом случае, по-видимому, гибриды F1 плотвы и леща имеют оба родительских фрагмента ITS1. Направление репарации может сдвигаться в сторону последовательности одной из цепей, что наблюдается во многих исследованиях, включая настоящее, когда в большинстве случаев изменения затрагивают рДНК гибрида, переданную от самца (Song et al., 1995; Gangloff et al., 1996; Fujiwara et al., 1997; Skalická et al., 2003).

Отбор и фиксация вариантов в геноме и популяции путем направленной генной конверсии может сопровождаться уменьшением общего количества потомков (Dover, 1982). При сравнении стадий раннего развития и сеголетка показано, что гибриды лещ × плотва с фиксацией ITS1 самки имеют низкую жизнеспособность (рис. 1, 2), в

то время как вариант ITS1 самца плотвы имеет жизнеспособную и фертильную особь женского пола (рис. 4). Поскольку доминирование рДНК у гибридов может зависеть от специфических особенностей генотипа и комбинации аллелей (Matyóšek et al., 2007), мы не исключаем, что фиксация материнского или отцовского фрагмента ITS1, а также жизнеспособность этих гибридов, могут быть связаны с полом особей. Так, у *Drosophila* рДНК расположена на половых хромосомах, а внутрилуксная делеция *bobbed* сопровождается снижением жизнеспособности особей (Корочкин, 2002).

Интересной особенностью является тот факт, что гибридная самка AR наследует от самца плотвы не только ITS1, но и ряд диагностических морфологических признаков (*l.l.*, *S_D*, *S_A*, *Ab*, *d.ph.*, *Va* ≥ *Vc*), включая тип осевого скелета, что не характерно для гибридов F1 (табл. 2). При этом фиксация ITS1 самки леща не влияет на морфотип гибрида AR27 (рис. 2). В связи с тем, что гетерозис у межродовых гибридов F1 отсутствует, доминирование признаков плотвы может рассматриваться как результат инактивации одного из пары генов (аллельное исключение), как следствие гемизиготности, делеций или гетерохроматизации участка хромосомы (Корочкин, 2002).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при анализе экспериментальных гибридов плотвы и леща с помощью видоспецифических праймеров, предложенных как быстрая тест-система для идентификации гибридов F1 плотвы и леща из естественной среды (Wyatt et al., 2006), нарушения наследования сут *b*-маркера мтДНК не наблюдалось. В отношении ядерного маркера ITS1 рДНК обнаружено нарушение кодоминантного наследования с фиксацией одного родительского варианта, что указывает на возможность ошибочных выводов при тестировании природных популяций. Данные показывают, что отсутствие амплификации фрагмента ITS1 рДНК является характерной особенностью раннего развития гибридов направления самка лещ × самец плотва, поскольку на стадии сеголетка процент нарушений амплификации значительно снижен. Поэтому для использования данного набора праймеров при идентификации гибридов нет никаких препятствий. Предположительно, отсутствие амплификации фрагмента ITS1 рДНК у гибридов F1 со стадии гастролы происходит вследствие неспецифической посадки праймеров как результат изменения родительской последовательности кластера рибосомных генов на этапе создания нового варианта интегрированности генома. Больше разнообразие гаплотипов ITS1-региона у гибридов лещ × плотва по сравнению с гибридами плотва × лещ (Лудан-

ный, 2008) подтверждает предположение о формировании промежуточной последовательности. В качестве основного эндогенного фактора различной изменчивости ITS1 рДНК у реципрокных гибридов, регуляция развития которых происходит в соответствии с программой материнского вида, в работе рассматривается разница размеров геномов плотвы и леща. Большая доля избыточной ДНК, высокий уровень полиморфизма повторов и консервативность структурных ядерных генов и мтДНК у леща, по сравнению с плотвой, указывают на неравное количество регуляторных элементов и различия механизмов регулирования геномов родительских видов. Поэтому доминирование ITS1 рДНК у гибридов F1 леща и плотвы в раннем развитии, как в случае с другими организмами (Reeder, 1985), может быть результатом конкуренции между рибосомными генами родительских видов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы высоко ценят вклад Ю.В. Слынько, который организовал работу по разведению и изучению гибридов. Авторы выражают благодарность С.К. Семеновой, Р.И. Луданному, Г.Н. Хрисанфовой за обучение, сотрудничество и консультации по вопросам изучения гибридов, а также Н.В. Овчинниковой, Е.Н. Пакуновой и Е.И. Лавровой за помощь на исследовательской станции рыбного хозяйства ИБВВ, п. Борок.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данная рукопись является частью диссертационной работы “Особенности наследования локусов ядерного генома и мтДНК при отдаленной гибридизации плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и леща (*Abramis brama* L.)” (Столбунова, 2012). Выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН “Биоразнообразие”, подпрограммы “Генофонды и генетическое разнообразие”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В ходе эксперимента соблюдались все стандарты работы и гуманное отношение к животным. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Аксенов А.П., Спиридонов С.Э. Разнообразие гаплотипов ITS рДНК у нематод *Haemonchus contortus* (Tricho-

strongyloidea, Rhabditida) от одного хозяина // Изв. РАН. Серия биол. 2013. № 1. С. 43–52.

Беннетт М.Д. Нуклеотипическая основа пространственной упорядоченности хромосом эукариот и ее значение для эволюции генома и фенотипической изменчивости // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 234–255.

Владыченская Н.С., Кедрова О.С. Строение геномов гибридных форм рыб, полученных при межвидовом скрещивании // Генетика. 1982. Т. 18. № 10. С. 1721–1727.

Гинатулин А.А. Структура, организация и эволюция генома позвоночных. М.: Наука, 1984. 293 с.

Дислер Н.Н. Органы чувств системы боковой линии и их значение в поведении рыб. М.: АН СССР, 1960. 310 с.

Доувер Г., Браун С., Коэн Э. и др. Динамика эволюции генома и дифференцировки видов // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 329–353.

Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.

Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука, 1985. 400 с.

Камышев Н.Г., Брагина Ю.В., Беседина Н.Г. и др. Материнское наследование поведенческих признаков: возможные механизмы // Экол. генет. 2007. Т. 5. № 4. С. 44–54.

Кодухова Ю.В., Слынько Ю.В. Закономерности наследования морфологических признаков у гибридов первого поколения леща *Abramis brama* L. и плотвы *Rutilus rutilus* L. (Cyprinidae) // Биол. внутр. вод. 2007. № 4. С. 70–75.

Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: МГУ, 2002. 264 с.

Крыжановский С.Г. Закономерности развития гибридов рыб различных систематических категорий. М.: Наука, 1968. 220 с.

Лапушкина Е.Е. Эколого-генетический анализ раннего развития отдаленных гибридов F1 леща (*Abramis brama* L.), плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.): Дис. ... канд. биол. наук. Борок: ИБВВ РАН, 2002. 144 с.

Лейпольдт М., Шмидтке И. Экспрессия генов у филогенетически полиплоидных организмов // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 217–232.

Луданный Р.И. Генетическая идентификация и дифференциация представителей семейства Карповых (Cyprinidae): Дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т. биол. гена РАН, 2008. 140 с.

Рис Г., Дженкинс Д., Сил А.Д. и др. О фенотипических эффектах изменений количества ДНК // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 281–290.

Рябов И.Н. Методы гибридизации рыб на примере семейства карповых // Исследование размножения и развития рыб / Ред. Б.В. Кошелев, М.В. Гулидов. М.: Наука, 1981. С. 195–215.

Слынько Ю.В., Столбунова В.В. Элиминация родительского ITS1 фрагмента рДНК в первом поколении межвидовых гибридов леща *Abramis brama* (L.) и плотвы *Rutilus rutilus* (L.) // Докл. РАН. 2010. Т. 430. № 1. С. 139–141.

- Слынько Е.Е., Слынько Ю.В. Жизнеспособность гибридов первого поколения плотвы (*Rutilus rutilus* L.), леща (*Abramis brama* L.) и синца (*Abramis ballerus* L.) на ранних стадиях развития // Биол. внутр. вод. 2010. № 2. С. 57–61.
- Столбунова В.В. Особенности наследования локусов ядерного генома и мтДНК при отдаленной гибридизации плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и леща (*Abramis brama* L.): Дис. ... канд. биол. наук. М.: ИОГен РАН, 2012. 136 с.
- Столбунова В.В. Межгеномный конфликт при отдаленной гибридизации леща (*Abramis brama* L.) и плотвы (*Rutilus rutilus* L.) // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 4. С. 361–372.
- Челомина Г.Н., Рожкован К.В., Рачек Е.И., Журавлев Ю.Н. Повышенное генетическое разнообразие 18S рДНК в геномах F1 гибридов (*Acipenser shrenckii* × *A. vaeri* и *A. schrenckii* × *Huso dauricus*) осетровых рыб // ДАН. 2008. Т. 421. № 6. С. 845–849.
- Adams K.L., Wendel J.F. Exploring the genomic mysteries of polyploidy in cotton // Biol. J. Linn. Soc. 2004. V. 82. P. 573–581.
- Arnheim N., Treco D., Taylor B., Eicher E.M. Distribution of ribosomal gene length variants among mouse chromosomes // PNAS USA. 1982. V. 79 (15). P. 4677–4680.
- Bianco P.G., Aprea G., Balleto E. et al. The karyology of the cyprinid genera *Scardinius* and *Rutilus* in southern Europe // Ichthyol. Res. 2004. V. 51. P. 274–278.
- Bouffler S.D. Involvement of telomeric sequences in chromosomal aberrations // Mutat. Res. 1998. V. 404. P. 199–204.
- Buckler E.S., Ippolito A., Holtsford T.P. The evolution of ribosomal DNA: divergent paralogues and phylogenetic implications // Genetics. 1997. V. 145. P. 821–832.
- Campbell C.S., Wojciechowski M.F., Baldwin B.G. et al. Persistent nuclear ribosomal DNA sequence polymorphism in the *Amelanchier agamic* complex (Rosaceae) // Mol. Biol. Evol. 1997. V. 14. P. 81–90.
- Cluster P.D., Marinković D., Allard R.W., Ayala F.J. Correlations between development rates, enzyme activities, ribosomal DNA spacer-length phenotypes and adaptation in *Drosophila melanogaster* // PNAS USA. 1987. V. 84. P. 610–614.
- Coelho P.S.R., Bryan A.C., Kumar A. et al. A novel mitochondrial protein, Tar1p, is encoded on the antisense strand of the nuclear 25S rDNA // Gen. Dev. 2002. V. 16. P. 2755–2760.
- Dover G. Molecular drive: a cohesive mode of species evolution // Nature. 1982. V. 299. P. 111–117.
- Flavell R.B. Sequence amplification, deletion and rearrangement: major sources of variation during species divergence // Genome Evolution / Eds G.A. Dover, R.B. Flavell. L.: Academic Press, 1982. P. 301–324.
- Fujiwara A., Abe S., Yamaha E. et al. Uniparental chromosome elimination in the early embryogenesis of the inviable salmonid hybrids between masu salmon female and rainbow trout male // Chromosoma. 1997. V. 106. P. 44–52.
- Gangloff S., Zou H., Rothstein R. Gene conversion plays the major role in controlling the stability of large tandem repeats in yeast // EMBO J. 1996. V. 15. P. 1715–1725.
- Gregory T.R. Animal genome size database. 2013. <http://www.genomesize.com>.
- Hayden B., Coscia I., Mariani S. Low cytochrome *b* variation in bream *Abramis brama* // J. Fish Biol. 2011. V. 78. P. 1579–1587.
- Hillis D.M., Dixon M.T. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference // Quart. Rev. Biol. 1991. V. 66. P. 411–453.
- Kobayashi T., Heck D.J., Nomura M., Horiuchi T. Expansion and contraction of ribosomal DNA repeats in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement of replication fork blocking (Fob1) protein and the role of RNA polymerase I // Genes Dev. 1998. V. 12. P. 3821–3830.
- Kobayashi T. Strategies to maintain the stability of the ribosomal RNA gene repeats – collaboration of recombination, cohesion, and condensation // Gen. Genet. Syst. 2006. V. 81. P. 155–161.
- Krieger J., Fuerst P.A. Characterization of nuclear 18S rRNA gene sequence diversity and expression in an individual lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) // J. App. Ichthyol. 2004. V. 20. P. 433–439.
- Mable B.K. Polyploids and hybrids in changing environments: winners or losers in the struggle for adaptation? // Heredity. 2013. V. 110. P. 95–96.
- Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // Meth. Mol. Biol. 1984. V. 2. P. 31–34.
- Matyášek R., Tate J.A., Lim Y.K. et al. Concerted evolution of rDNA in recently formed *Tragopogon* allotetraploids is typically associated with an inverse correlation between gene copy number and expression // Genetics. 2007. V. 176. P. 2509–2519.
- Navashin M. Chromosome alterations caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems // Cytologia. 1934. V. 5. P. 169–203.
- Ocalewicz K., Jankun M., Boroń A. Karyotypic characterization of bream, *Abramis brama* (Pisces, Cyprinidae) // Folia Zool. 2004. V. 53. P. 329–334.
- Olmo E. Genome size and evolutionary diversification in vertebrates // It. J. Zool. 2006. V. 73 (2). P. 167–171.
- Pereira C.S., Aboim M.A., Ráb P., Collares-Pereira M.J. Introgressive hybridization as a promoter of genome reshuffling in natural homoploid fish hybrids (Cyprinidae, Leuciscinae) // Heredity. 2014. V. 112 (3). P. 343–350.
- Reeder R.H. Mechanisms of nucleolar dominance in animals and plants // J. Cell Biol. 1985. V. 101. P. 2013–2016.
- Pierce B.A., Mitton J.B. The relationship between genome size and genetic variation // Am. Nat. 1980. V. 116. P. 850–861.
- Pikaard C.S. Nucleolar dominance: uniparental gene silencing on a multi-megabase scale in genitic hybrids // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. P. 163–177.
- Prokopowich C.D., Gregory T.R., Crease T.J. The correlation between rDNA copy number and genome size in eukaryotes // Genome. 2003. V. 46. P. 48–50.
- Robles F., La Herran R., Ludwig A. et al. Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in the ancient fish sturgeon // Genome. 2005. V. 48. P. 18–28.
- Rodland K.D., Russell P.J. Regulation of ribosomal RNA cistron number in a strain of *Neurospora crassa* with a

- duplication of the nucleolus organizer region // Biochim. Biophys. Acta. 1982. V. 697. P. 162–169.
- Semenova S.K., Ludanny R.I., Chisanfova G.G. et al. Genome variability of common bream (*Abramis brama*), roach (*Rutilus rutilus*) and their F1 hybrids // Book of abstract symposium “Hybridization in animals – extent, processes and evolutionary impact” (Frankfurt-an-Main, October 12–15, 2005). Frankfurt-an-Main: 2005. P. 38.
- Skalická K., Lim K.Y., Matyásek R. et al. Rapid evolution of parental rDNA in a synthetic tobacco allotetraploid line // Am. J. Bot. 2003. V. 90 (7). P. 988–996.
- Song K.M., Lu P., Tang K.L., Osborn T.C. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution // PNAS USA. 1995. V. 92. P. 7719–7723.
- Volkov R.A., Borisjuk N.V., Panchuk I.I. et al. Elimination and rearrangement of parental rDNA in the allotetraploid *Nicotiana tabacum* // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 311–320.
- Volkov R.A., Komarova N.Y., Hemleben V. Ribosomal DNA in plant hybrids: inheritance, rearrangement, expression // Mol. Ecol. 2007. V. 5 (6). P. 261–276.
- Wilson A.C., Maxson L.R., Sarich V.M. Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization // PNAS USA. 1974. V. 71 (7). P. 2843–2847.
- Wyatt P.M.W., Pitts C.S., Butlin R.K. A molecular approach to detect hybridization between bream *Abramis brama*, roach *Rutilus rutilus* and rudd *Scardinius erythrophthalmus* // J. Fish Biol. 2006. V. 69. P. 52–71.
- Zou H., Rothstein R. Holliday junctions accumulate in replication mutants via a RecA homolog-independent mechanism // Cell. 1997. V. 90 (1). P. 87–96.

Inheritance of ITS DNA in Reciprocal Hybrids *Rutilus rutilus* (L.) and *Abramis brama* (L.) in Early Ontogenesis

V. V. Stolbunova^{a,*} and Y. V. Koduhova^a

^a*Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavl oblast, Russia*

*e-mail: vvsto@mail.ru

In the first generation of intergeneric hybrids of roach (*Rutilus rutilus* L.) and bream (*Abramis brama* L.), a violation of the codominant inheritance of the nuclear marker ITS1 ribosomal DNA (rDNA) with fixation of one parental variant was previously found. Comparing reciprocal crosses, it was shown that homozygotes are recorded from the gastrula stage and at all subsequent stages of embryonic development, only in crosses female bream male roach, which indicates the influence of nuclear-cytoplasmic interactions. In this case, the changes affect the rDNA of the hybrid transmitted both from the male and from the female. At the stage of underyearlings, the number of bream × roach homozygotes with the dominance of the ITS1 variant of the female bream decreases, which may indicate a low viability of these individuals. In the case of ITS1 fixation of roach, which was found in the hybrid female ♀AR (*A. brama* × *R. rutilus*), one can note the viability, fertility and dominance of a number of morphological traits of roach in an individual of a given genotype. Analysis of ITS1 rDNA segregation in the offspring of hybrid female mating with roach and bream males confirmed the hybrid female genotype. It is assumed that the absence of ITS1 amplification in bream × roach hybrids can be associated with a high level of ITS1 region polymorphism of the bream and bream × roach hybrids, which was established earlier, and the difference in the regulatory mechanisms of parental genomes. Possible causes of differences in the variability of ITS1 rDNA in hybrids in reciprocal crosses are discussed.

Keywords: Cyprinidae, remote hybridization, first-generation hybrids, ribosomal gene dominance