

ФИЛОГЕОГРАФИЯ ПЛОИДНОСТИ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* В ПОПУЛЯЦИЯХ ЕВРАЗИИ**О. В. Апаликова**

*Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Пальчевского, 17,
Владивосток, 690041, Россия. E-mail: olga_apalikova@mail.ru*

Изучено распределение диплоидной и триплоидной форм и соответствие пloidности и филогенетических линий мтДНК серебряного карася в водоемах Дальнего Востока, Средней Азии и европейской части России. Показано, что в крупных речных системах (бассейны Волги, Амура, Раздольной, Туманной и Сырдарьи) присутствуют как диплоидная, так и триплоидная формы. В популяциях озер на о-ве Большой Пелис (зал. Петра Великого), о-ве Сахалин и басс. р. Камчатка (п-ов Камчатка) выявлена только диплоидная форма. Распределение двух филогрупп мтДНК у серебряного карася на исследованном ареале дает основания полагать, что дивергенция форм произошла около 1 млн лет назад в водоемах Дальнего Востока. При этом гиногенетическая форма распространялась на запад, а на северо-восток – преимущественно диплоидная, гонохорическая. Полученные данные подтверждают возможность генетического, хотя и асимметричного, обмена между формами, что объясняет высокое морфологическое и, вероятно, генетическое сходство между формами.

PHYLOGEOGRAPHY OF PLOIDY AND MTDNA OF THE SILVER CRUCIAN CARP *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* IN EURASIAN POPULATIONS**O.V. Apalikova**

*A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,
Palchevsky Str. 17. Vladivostok, 690041, Russia. E-mail: olga_apalikova@mail.ru*

Distribution of diploid and triploid forms of *Carassius auratus gibelio* and accordance of ploidy and phylogenetic lines of mtDNA have been observed in the waters of Far East, Middle Asia and European territory of Russia. Both diploids and triploids have been demonstrated to be distributed in the large river systems (Volga, Amur, Suifun, Tumangan and Sirdarya river basins). Only diploid form has been found in ponds of island Bolshoy Pelis (Petra Velikogo Bay), Sakhalin and river Kamchatka (peninsula Kamchatka). Distribution of two phylogroups of mtDNA supposes the form to diverge about 1 mya in the Far East waters. Gynogenetic form distributed in the western direction and bisexual form distributed to the north-east. Our data supports a probability of asymmetric genetic exchange between the forms, explaining their high morphological and possibly genetic similarity.

Результаты цитогенетических исследований карповых рыб (сем. Cyprinidae) указывают на то, что в эволюции этой группы неоднократно происходили события полиплоидизации. Число хромосом у большинства видов в этой группе составляет около 50, в то же время встречаются виды с числом хромосом около 100 (тетраплоиды) и с числом хромосом около 150 (гексаплоиды) (Klinkhard et al., 1995; Allendorf, Thoorgard, 1984). В роде *Carassius* встречаются формы с числом хромосом, соответствующим гексаплоидам,

при этом в действительности являющиеся триплоидами, происходящими от диплоидных или тетраплоидных видов. Один из таких видов – серебряный карась, *Carassius auratus gibelio* (Bloch). В естественных популяциях существуют генетически отличающиеся формы серебряного карася: диплоидная, размножающаяся обычным бисексуальным способом ($2n=100$), и триплоидная, размножающаяся гиногенетическим способом ($3n=150$) (Головинская и др., 1965; Кирпичников, 1987). В восточных популяциях Евразии (Японские острова, Северный Китай, Дальний Восток России) обнаруживаются обе формы в разных соотношениях, а в Сибири, на Урале, в Средней Азии и в европейской части ареала вида встречается главным образом триплоидная форма (Головинская и др., 1965; Кирпичников, 1987; Никольский, 1974). Это дает основание полагать, что регион Дальнего Востока является местом происхождения этих форм. До сих пор остаются неясными филогенетические отношения форм серебряного карася с различающимися типами репродукции. Их высокое морфологическое сходство (Васильева, Васильев, 2000) свидетельствует либо о недавней дивергенции, либо о постоянно идущем процессе генетического обмена между ними. Существует много гипотез происхождения триплоидной гиногенетической формы, чаще всего основанных на предположении о гибридизации гонохорической формы с другим, неустановленным пока видом (Hänfling et al., 2005; Liu et al., 2007; Murakami, Fujitani, 1997; Murakami et al., 2001, 2002; Shimizu, et al., 1993).

Целью настоящей работы было определение плоидности особей в выборках серебряного карася из водоемов Дальнего Востока, Средней Азии и европейской части России и сопоставление с данными по филогеографии этого вида, полученными на основе анализа изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК). Сравнение нуклеотидных последовательностей мтДНК является удобным методом для дифференциации генетически различающихся внутривидовых форм и филогеографии видов как следствие материнской наследуемости, отсутствия процессов рекомбинации и высокой скорости эволюции (Avisе, 2000).

Материалы и методы

Материал был собран в период экспедиционных работ с 2001 по 2007 г. Места взятия выборки приведены в табл. 1 и указаны на рис. 1.

Определение плоидности особей

Измерения площади ядер проводили на мазках крови из хвостовой артерии рыб. Мазки фиксировали в 96%-ном этаноле в течение 10 мин и окрашивали Азокармином G (ООО «Биовитрум», Санкт-Петербург).

Т а б л и ц а 1

Места вылова серебряного карася *Carassius auratus gibelio* Bloch

№ п/п	Место сбора материала	Год
1	Р. Раздольная	2001, 2003, 2006
2	Р. Карасик	2004, 2007
3	р. Лебединка	2002
4	Озеро о-ва Большой Пелис	2000
5	Р. Амур	2005
6	Оз. Ханка	2007
7	О-в Сахалин	2004, 2006
8	П-ов Камчатка, р. Камчатка	2003, 2004
9	Басс. р. Сыр-Дарья	2006
10	Рыбинское водохранилище	2007

Мазки окрашивали 15 мин, ополаскивали в дистиллированной воде, затем 96% этанолом, высушивали в термостате при +37°C и заключали в иммерсионное масло. Препараты анализировали на микроскопе Leica DM2500. У каждой особи проводили измерение площади ядер не менее чем 100 клеток. Для определения плоидности каждой особи строился график распределения частот площадей ядер эритроцитов, выраженных в условных единицах (пикселях). Все полученные гистограммы были распределены на



Рис. 1. Распределение филогрупп мтДНК в популяциях *Carassius auratus gibelio*. Черным цветом обозначена II филогруппа, белым – I филогруппа.

три группы по средним значениям площадей. За 1 было принято среднее значение площади ядра эритроцита в группе с наименьшими значениями площади. Соотношение средних значений площади в I, II и III группах получилось 1 : 1,4 : 1,85. Особи из первой группы отнесены к диплоидам, второй – к триплоидам, третьей группы – три-тетраплоидам.

Выделение и анализ митохондриальной ДНК

Кусочки ткани печени каждой особи фиксировались этанолом. Тотальную ДНК выделяли по стандартной методике (Sambrook et al., 1989). Изменчивость мтДНК исследовали, используя полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) двух участков мтДНК, амплифицированных в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Фрагмент ND3/ND4 включает последовательности генов, кодирующие 3-ю и 4-ю субъединицы надоксиддегидрогеназы. Второй фрагмент кодирует консервативные в эволюции 16S и 12S гены рибосомальных рРНК. Последовательность праймеров для амплифицированных фрагментов приведена Вл.А. Брыкова с соавторами (2005). Длина фрагментов в сумме составляет около 5200 пар оснований (п.о.) или около 30 % всего митохондриального генома караса.

Каждый из амплифицированных фрагментов анализировался набором рестрикционных ферментов. В настоящей работе для идентификации филогрупп гаплотипов мтДНК мы использовали ограниченный набор только информативных рестриктаз, т.е. хорошо дифференцирующих филогруппы гаплотипов. Для ND3/ND4 это: *MspI*, *MvaI*, *BsuRI*, *BstDEI*; для 12S/16S рРНК фрагмента: *MspI*, *RsaI* («Fermentas», Lithuania и «Сибэнзим», Новосибирск).

После обработки амплифицированных фрагментов рестриктазами пробы подвергали электрофорезу в 1,8% агарозном геле в 50мМ трис-боратном буфере (Sambrook et al., 1989). Фрагменты ДНК в геле окрашивали этидиумбромидом и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для определения молекулярной массы образующихся фрагментов использовали маркерный набор фрагментов ДНК, кратных 100 п.о. (BRL Gibco, Grand NY) и ДНК фага λ, обработанную *PstI* рестриктазой. Варианты, отличающиеся по наличию–отсутствию сайтов рестрикции, обусловленные мутациями, в каждом из участков по каждому из ферментов рестрикции обозначались буквой (Брыков и др., 2005).

Варианты расщепления по каждому фрагменту и по каждому ферменту кодировались в бинарной системе. Наличие сайта рестрикции обозначалась цифрой 1, отсутствие – 0. Результаты анализа двух фрагментов мтДНК каждой особи по всем сайтам и всем рестрикционным ферментам объединяли, получая, таким образом, комбинированные гаплотипы, каждый из которых обозначался одной буквой от А до I (рис. 2).

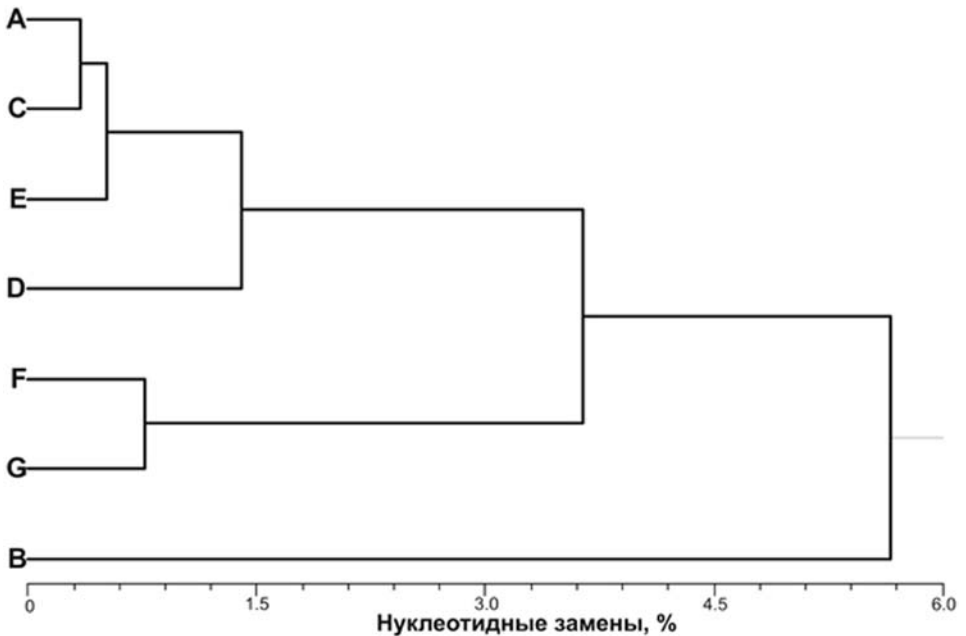


Рис. 2. UPGMA-дендрогрaмма гаплотипов мтДНК. А, С-Г – гаплотипы I филогруппы, В – гаплотип II филогруппы

Нуклеотидную дивергенцию между всеми гаплотипами, оценку количества замен оснований на нуклеотидный сайт рассчитывали, используя пакет программ REAP (McElroy et al., 1992). Полученная в REAP матрица количественных значений дивергенции между гаплотипами использовалась для кластеризации и построения фенограммы с использованием программы UPGMA (пакет программ NTSYS (Rohlf, 1990).

Результаты

На рис. 1 и 4 приведены данные анализа уровней плоидности и вариантов гаплотипов серебряного карася в десяти выборках. Соотношение полов в выборках (рис. 3) является важным показателем, в определенной степени свидетельствующим о преобладающем типе размножения, гонохорическом или гиногенетическом. В большинстве популяций соотношение полов смещено в сторону преобладания самок, от 75% в р. Сырдарья до 90% в оз. Ханка и Рыбинском водохранилище. В двух выборках (озеро о-ва Большой Пелис и р. Камчатка) соотношение полов близко к 1:1 (рис. 3).

Соотношение диплоидных и триплоидных особей в выборках также варьирует (рис. 4). В выборке из р. Раздольная, двух выборках бассейна р. Амур и выборке из р. Сырдарья преобладает триплоидная форма, в выборке бассейна р. Волга количество диплоидов составляет около половины всех особей. На Сахалине и на Камчатке серебряный карась представлен исключительно диплоидной формой (рис. 4). Анализ мтДНК подтвердил наличие двух ранее выявленных филогрупп, I и II, различающихся примерно 2.5% нуклео-

тидных замен (Брыков Вл.А. и др., 2005). В популяциях серебряного карася было выявлено 7 гаплотипов, из них 6 (А, С, Е, F, G, I) относятся к I-й филогруппе, а II-я филогруппа представлена одним гаплотипом В (рис. 2).

Обе филогруппы в разных соотношениях встречаются практически исключительно в выборках из бассейнов рек Раздольная и Туманная. В выборке оз. Безымянное (о-в Сахалин) лишь три из 50 особей характеризуются гаплотипом, относящимся к филогруппе I (рис. 1). В западных выборках (бассейны Амура, Сырдарьи и Волги) все гаплотипы мтДНК принадлежат к филогруппе I, в то время как в выборках северо-востока (озеро о-ва Б. Пелис и р. Камчатка) все особи характеризуются гаплотипом филогруппы II.

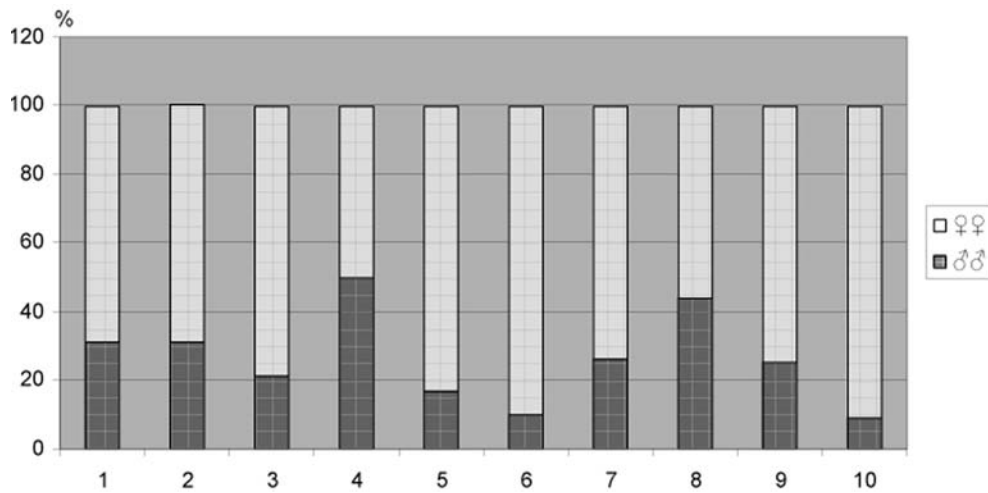


Рис. 3. Соотношение полов в различных популяциях серебряного карася

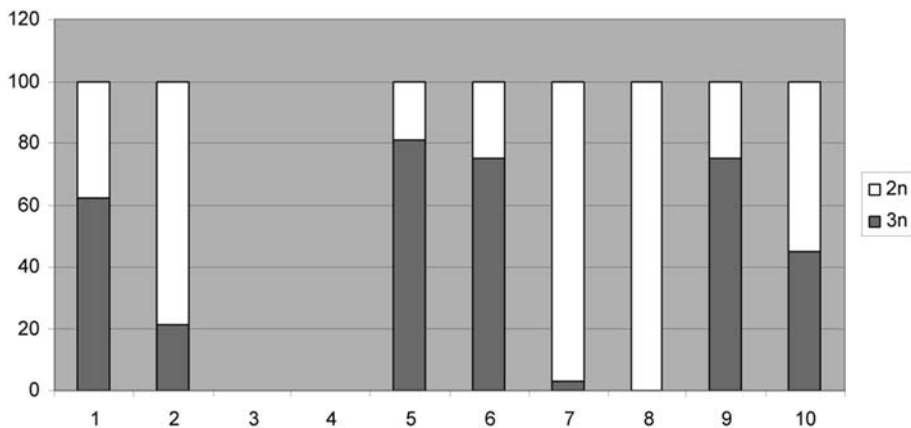


Рис. 4. Соотношение плоидности в различных популяциях серебряного карася

Распределение гаплотипов среди самцов и среди самок в выборках также варьирует (табл. 2). В западных популяциях (Ханке, Сырдарье и Волге) гаплотипы у обоих полов относятся к филогруппе I, в озере о-ва Большой Пелис и в р. Камчатка для всех особей характерен гаплотип филогруппы II. На Сахалине лишь у 3 из 35 самок обнаружены гаплотипы филогруппы I, остальные имеют гаплотип филогруппы II, все самцы в этой выборке без исключения характеризуются гаплотипом из филогруппы II. Более сложная картина выявлена в приморских популяциях. В р. Раздольная доля гаплотипов из филогруппы I

Соотношение полов, распределение филогрупп мтДНК и плоидности в различных популяциях серебряного караса

Выборка	Коль-во особей	Соотношение полов (♀:♂)	Соотношение гаплогрупп (I:II)	Соотношение гаплогрупп у самок	Соотношение гаплогрупп у самцов	Соотношение диплоидов и триплоидов	Соотношение гаплогрупп у диплоидов	Соотношение гаплогрупп у триплоидов
1. Р. Раздольная	52	2,3 : 1	3:01	5:01	1,3 : 1	0,6 : 1	1 : 2,4	Все I
2. Р. Карасик	64	2,2 : 1	2,6 : 1	4:01	0,18 : 1	4:01	Все II	Все I
3. Р. Лебединка	29	3,9 : 1	0,53 : 1	0,64 : 1	1:05	-	-	-
4. О-в Б. Пелис	26	1:01	все II	все II	все II	-	-	-
5. Р. Амур	29	4,8 : 1	все I	все I	все I	0,23 : 1	Все I	Все I
6. Оз. Ханка	20	9:01	все I	все I	все I	1:03	Все I	Все I
7. оз. Безымянное	50	3:01	0,1 : 1	0,1 : 1	все II	все 2n	1 : 30*	-
8. Р. Камчатка	57	1,3 : 1	все II	все II	все II	-	Все II	-
9. Р. Сьр-Дарья	20	3:01	все I	все I	все I	0,25 : 1	Все I	Все I
10. Рыбинское водохранилище	33	10:01	все I	все I	все I	1,2 : 1	Все I	Все I

увеличена среди самцов и среди самок. В басс. р. Туманная в одной из выборок (р. Карасик) у самок доминирует один из гаплогрупп I-й филогруппы, в р. Лебединка обратное соотношение гаплогрупп I и II филогрупп, но в обеих выборках значительно увеличена доля II-й филогруппы гаплогрупп среди самцов (табл. 2).

Соотношение гаплогрупп среди диплоидных особей также различается в разных выборках (табл. 2). В большинстве выборок наблюдается полное преобладание одного из гаплогрупп. Так, гаплогрупп только I филогруппы характерен для диплоидных особей в оз. Ханка, реках Амуре, Сьрдарье и Рыбинском водохранилище, и только II филогруппа характерна для диплоидов в реках Карасик и Камчатка. В популяции о-ва Сахалин лишь одна диплоидная особь имеет гаплогрупп из филогруппы I, остальные относятся ко II филогруппе (табл. 2).

При этом важно отметить, что триплоидные особи во всех выборках без исключения характеризовались гаплогруппами мтДНК, относящимися к I филогруппе (табл. 2).

Обсуждение

Цитологическими методами показано, что в большинстве материковых популяций Евразии присутствуют две формы серебряного караса, диплоидная гонохорическая и триплоидная гиногенетическая (табл. 2). Симпатрическое сосуществование обеих форм и значительное морфологическое сходство (Васильева, Васильев, 2000) указывают на тесную генетическую связь между этими двумя формами. Сравнение уровней плоидности и распределения филогрупп мтДНК позволяет предположить механизм появления гиногенетической формы и пути распространения вида.

Известно, что в эволюции карповых имел место один или два этапа автополиплоидизации (Allendorf, Thoogard, 1984). В случае с появлением триплоидных форм обычно предполагается этап ал-

лотетраплоидизации, т.е. гибридизации между видами. Е.Д. Васильева и В.П. Васильев рассматривают несколько возможных предковых форм при формировании гиногенетической формы (Васильева, Васильев, 2000). Интересные экспериментальные результаты представлены китайской группой исследователей (Liu et al., 2006; Guo et al., 2006). Они проводили гибридизацию обычного карася (*Carassius auratus* red var., $2n=100$) с карпом (*Cyprinus carpio*, $2n=100$) и поддерживали фертильных гибридных тетраплоидов ($4n=200$) на протяжении более чем 14 поколений. При этом скрещивание самцов такой тетраплоидной формы с диплоидной формой карася из Японии (*Carassius auratus cuvieri*) приводит к появлению жизнеспособной, но стерильной триплоидной формы (Guo et al., 2006). Можно предположить, что сходный механизм, возможно, лежал в основе появления триплоидной формы серебряного карася, но при этом получившей способность к гиногенетическому размножению.

Наличие у серебряного карася на значительной части ареала только двух филогенетических линий мтДНК, различающихся 2.5% нуклеотидных замен между ними (Брыков и др., 2005), предполагает однократное появление гиногенетической формы из диплоидной гонохорической в прошлом. Поскольку обе формы карася и обе филогруппы мтДНК обнаружены только в водоемах южной части Приморья и обе реки впадают в Японское море, можно предположить, что это событие произошло именно в этом регионе Дальнего Востока. Исходя из примерной скорости нуклеотидных замен в 2% за 1 млн. лет, можно допустить, что этап дивергенции форм произошел около 1 млн лет назад. Очевидно, что один из периодов регрессии уровня океана, происходивших в этом регионе в последние 2 млн лет, мог привести к опреснению Японского моря, и, таким образом, глобальные климатические изменения были одним из наиболее вероятных факторов в процессе образования гиногенетической формы. Дальнейшая эволюция гиногенетической формы и диплоидной проходила независимо на протяжении длительного времени, что подтверждается большими различиями между двумя филогенетическими линиями мтДНК. При этом все гиногенетические особи во всех популяциях имеют гаплотипы, относящиеся только к одной филогруппе I (табл. 2). Наличие у гиногенетической формы только одной филогруппы мтДНК, а у диплоидной формы гаплотипов из обеих филогрупп, позволяет предположить существование механизма генетического обмена между ними.

Исходя из того факта, что гиногенетические особи во всех случаях имеют лишь одну филогруппу мтДНК, а гонохорические – обе, следует полагать, что такой генетический обмен в значительной степени однонаправленный. Наиболее вероятным представляется, что это определяется возможностью трансформации гиногенетических линий (части особей) в диплоидную, гонохорическую. Доказательством существования явления трансформации служит периодическое, хотя и редкое появление диплоидных самцов в гиногенетических популяциях серебряного карася (Головинская и др., 1965; Кирпичников, 1987; Никольский, 1974). Экспериментально получено жизнеспособное тетраплоидное потомство при оплодотворении яйцеклеток триплоидной формы (*C. auratus langsdorffii*) спермой диплоидной формы (*C. auratus cuvieri*) и приведены доказательства формирования гибридного генома у особей из японских популяций (Takai, Ojima, 1983). Показана принципиальная возможность получения потомства от скрещивания гиногенетических самок с диплоидным самцом также и в европейской популяции карася (Toth et al., 2005), что может приводить к образованию диплоидной формы. В популяциях, где встречаются обе формы карася с разными типами размножения, обнаружены особи, у которых пloidность определяется как $4n$ (5 из 20 в р. Сырдарья, 4 из 20 в оз. Ханка), что в определенной степени подтверждает предположение о существовании этого механизма в природных популяциях.

Наличие в западных популяциях только «гиногенетической» филогруппы мтДНК объясняется, по-видимому, тем, что в этом направлении распространялась гиногенетическая форма. Диплоидные особи, появляющиеся в этих популяциях, образуются из гиногенетической формы и, соответственно, несут только мтДНК «гиногенетического» типа.

Генетическим обменом может объясняться высокое морфологическое и генетическое сходство двух форм карася с разными типами репродукции. В то же время две образовавшиеся после дивергенции форм филогруппы мтДНК эволюционируют у этого вида независимо как результат материнского наследования и отсутствия рекомбинации.

Интересным представляется сопоставление филогеографии серебряного карася по мтДНК с уровнем пloidности. Известно, что с востока на запад в Евразии у серебряного карася доля гиногенетических популяций увеличивается, а в Сибири, на Урале и в Европе практически все популяции до недавнего времени были представлены гиногенетическими особями (Головинская и др., 1965; Кирпичников, 1987; Никольский, 1974). Однако в материале, собранном за последние восемь лет в трех крупных речных системах Дальнего Востока (Раздольная, Туманная и Амур), а также в бассейнах Сырдарьи и Волги, обнаруживаются как диплоидная, так и гиногенетическая форма карася. При этом в двух речных системах, Раздольная и Туманная, обнаруживаются обе филогруппы мтДНК (табл. 2, рис. 1), а в популяциях бассейна Амура, Сырдарьи и Волги – только одна филогруппа, характерная для гиногенетической формы. Отсутствие II филогруппы мтДНК в западных популяциях, начиная с басс. Амура (табл. 2, рис. 1), дает основания предполагать, что в западном направлении распространялась только гиногенетическая форма, а диплоидная форма в этих популяциях периодически появлялась в результате трансформации гиногенетической. Как следствие, в этих популяциях отсутствует вторая филогруппа мтДНК.

В то же время в северо-восточных (о-в Сахалин, Камчатка) популяциях выявляется только диплоидная форма (табл. 2, рис. 1). При этом в сахалинской популяции лишь для нескольких особей характерно наличие гаплотипа филогруппы I, а в камчатской все особи имеют гаплотипы филогруппы II. В популяции о-ва Большой Пелис не удалось определить пloidность, тем не менее наличие только одной II филогруппы мтДНК и равное соотношение полов с очевидностью указывает, что в этой популяции все особи диплоидные (бисексуальные). На данном этапе наших исследований сложно указать фактор, определяющий распространение гиногенетической формы серебряного карася в западном направлении, а в северо-восточном – бисексуальной. Для камчатской популяции серебряного карася этим фактором могло быть полное отсутствие до недавнего времени в камчатских водоемах других пресноводных видов карповых рыб, сперма которых необходима для активации яйцеклетки гиногенетической формы карася. Но на Сахалине совместно с карасем обитают другие виды карповых. Возможно, что по каким-то причинам при распространении на северо-восток более адаптивной оказалась бисексуальная форма серебряного карася. В то же время согласно нашим данным, а также сообщениям других авторов (Lusková et al., 2004; Zhou et al., 2000) в среднеазиатских и европейских популяциях карася происходит увеличение доли диплоидных особей. Это факт дает основания полагать, что и в этом регионе, вероятно, в настоящее время происходит замещение гиногенетической формы гонохорической.

Работы частично финансировались грантом ДВО РАН № 06-III-Д-06-235.

Автор выражает благодарность Вл.А. Брыкову, М.Г. Елисейкиной А.П. Анисимову и Н.А. Зюмченко за помощь и ценные советы, Н.Е. Поляковой, С.М. Долганову, М.Ю. Ковалеву, С.В. Фролову, Н.А. Черных и О.В. Рычкову за помощь в сборе материала.

Литература

- Брыков Вл.А., Анапикова О.В., Елисейкина М.Г., Ковалев М.Ю. 2005. Изменчивость митохондриальной ДНК у диплоидной и триплоидной форм серебряного карася *Carassius auratus gibelio* // Генетика. Т. 41, № 6. С. 811–816 = Brykov V.I.A., Apalikova O.V., Eliseikina M.G., Kovalev M.Yu. 2005 Mitochondrial DNA variation in diploid and triploid forms of silver crucian carp *Carassius auratus gibelio* // Russ. J. Genet. Vol. 41, № 6. P. 811–816.
- Васильева Е.Д., Васильев В.П. 2000. К проблеме происхождения и таксономического статуса триплоидной формы серебряного карася *Carassius auratus* (Cyprinidae) // Вопр. ихтиол. Т. 40. С. 581–592.

- Головинская К.А., Ромашов Д.Д., Черфас Н.Б. 1965. Однополые и двуполые формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bl.) // Вопр. ихтиол. Т. 5, № 4. С. 614–629.
- Кирпичников В.С. 1987. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука. 520 с.
- Никольский Г.В. 1974. Теория динамики стада рыб. М.: Пищевая промышленность. 447 С..
- Allendorf F.W., Thoorgard G.H. 1984. // Evolutionary Genetics of Fishes / ed. B.J. Turner. N. Y.: Plenum Press. P. 1–53.
- Avise J.C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA, London, England. 447p.
- Guo X., Liu S., Liu Y. 2006. Evidence for recombination of mitochondrial DNA in triploid crucian carp // Genetics. Vol. 172 (3). P. 1745–1749.
- Hänfling B., Bolton P., Harley M., Carvalho G.R. 2005. A molecular approach to detect hybridization between crucian carp (*Carassius carassius*) and non-indigenous carp species (*Carassius* spp. and *Cyprinus carpio*) // Freshwater Biology. Vol. 50, P. 403–417.
- Klinkhard M., Tesche M., Greven H. 1995. Database of Fish Chromosomes. Westarp Wissenschaften, Magdeburg. 237 p.
- Liu Shao-Jun, Sun Yuan-Dong, Liu Kai-Kun, Liu Yun. 2006. Evidence of different ploidy eggs produced by diploid F₂ hybrids of *Carassius auratus* (♀) x *Cyprinus carpio* (♂). // Acta Genetica Sinica. Vol. 3 (4). P. 304–311.
- Liu Shao-Jun, Qinbo Qin, Jun Xiao, Wenting Lu, Jiamin Shen, Wei Li, Jifang Liu, Wei Duan, Chun Zhang, Min Tao, Rurong Zhao, Jinpeng Yan, Liu Yun. 2007. The Formation of the Polyploid Hybrids From Different Subfamily Fish Crossings and Its Evolutionary Significance // Genetics. 176. P. 1023–1034.
- Lusková V., Halacka K., Vetešník L., Lusk S. 2004. Changes of ploidy and sexuality status of *Carassius auratus* populations in drainage area of the River Dije (Czech Republic). // Ecohydrology and Hydrobiology, 4. P. 165–171.
- McElroy D., Moran P., Bermingham E., Kornfield I. 1992. REAP: an integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data // J. Heredity. Vol. 83. P. 153–158.
- Murakami M., Fujitani H. 1997. Polyploid-specific repetitive DNA sequences from triploid ginbuna (Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorfi*) // Genes Genet. Syst. Vol. 72. P. 107–113.
- Murakami M., Matsuba C., Fujitani H. 2001. The maternal origins of the triploid ginbuna *Carassius auratus langsdorfi*: Phylogenetic relationships within the *C. auratus* taxa by partial mitochondrial D-loop sequencing // Genes Genet. Syst. Vol. 76. P. 25–32.
- Murakami M., Matsuba C., Fujitani H. 2002. Characterization of DNA markers isolated from the gynogenetic triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorfi*) by representational difference analysis // Aquaculture. Vol. 208. P. 59–68
- Rohlf F.J. 1990. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 1.60. N.Y.: Exter publ. Ltd.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press. 1626 p.
- Shimizu Y., Oshiro T. and Sakaizumi M. 1993. Electrophoretic studies of diploid, triploid and tetraploid forms of the Japanese silver crucian carp, *Carassius auratus langsdorfi* // Jpn. J. Ichthyol. Vol. 40. P. 65–75.
- Takai A., Ojima Y. 1983. Tetraploidy appeared in the offspring of triploid ginbuna, *Carassius auratus langsdorfi* (Cyprinidae, Pisces) // Proc. Japan. Acad. Vol. 59 (B). P. 347–350.
- Toth B., Varkonyi A., Hidas A., Edvine Meleg E., Varadi L. 2005. Genetic analysis of offspring from intra- and interspecies crosses of *Carassius auratus gibelio* by chromosome and RAPD analysis // J. Fish Biol. 2005. Vol. 66. P. 784–797.
- Zhou L., Wang Y., Gui J.F. 2000. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays // J. Molecular Evolution. Vol. 51. P. 498–506.