

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ПРОГРАММА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАН № 11

«БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ДИНАМИКА ГЕНОФОНДОВ»

Подпрограмма II «ДИНАМИКА ГЕНОФОНДОВ»



Материалы отчетной конференции

Москва, 2008

КАРИОТИПЫ КАЛУГИ, *HUSO DAURICUS*, И САХАЛИНСКОГО ОСЕТРА, *ACIPENSER MIKADOI* (ACIPENSERIDAE, PISCES)

Васильев В.П.¹, Васильева Е.Д.², Шедько С.В.³, Новомодный Г.В.⁴

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

²Зоологический музей МГУ, Москва

³Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток,

⁴Хабаровский филиал ФГУП ТИПРО-Центр, Хабаровск

Полиплоидия играла важную роль в эволюции осетрообразных (*Acipenseriformes*). В настоящее время практически все работы по филогении этой группы рыб не обходятся без привлечения данных по их плоидности. Важны эти данные и при решении дискуссионных таксономических проблем, а также при получении гибридных линий в осетроводстве. В то же время кариотипы ряда видов осетровых не изучены. В данной работе впервые представлены кариотипы двух видов осетровых из бассейна р. Амур: калуги *Huso dauricus* и сахалинского осетра *Acipenser mikadoi*. Полученные результаты представляются чрезвычайно важными для решения перечисленных выше проблем.

Для изучения кариотипов было использовано по 11 экземпляров сеголетков калуги и сахалинского осетра, полученных на Анюйском рыболовном заводе (Хабаровский край). Анализ кариотипов проведен в клетках головного лимфоидного органа и почки по ранее опубликованной методике (Васильев, Соколов, 1980). Число изученных метафазных пластинок у калуги – 63, у сахалинского осетра – 58.

Кариотип калуги включает 268+4 хромосом, число двуплечих хромосом – 100, число хромосомных плеч (NF) – 368+4. У сахалинского осетра 262+4 хромосом, двуплечих хромосом – 80, NF – 342+4. Виды хорошо различаются не только по числу двуплечих хромосом, но и по структуре их рядов (рис. 1, 2).

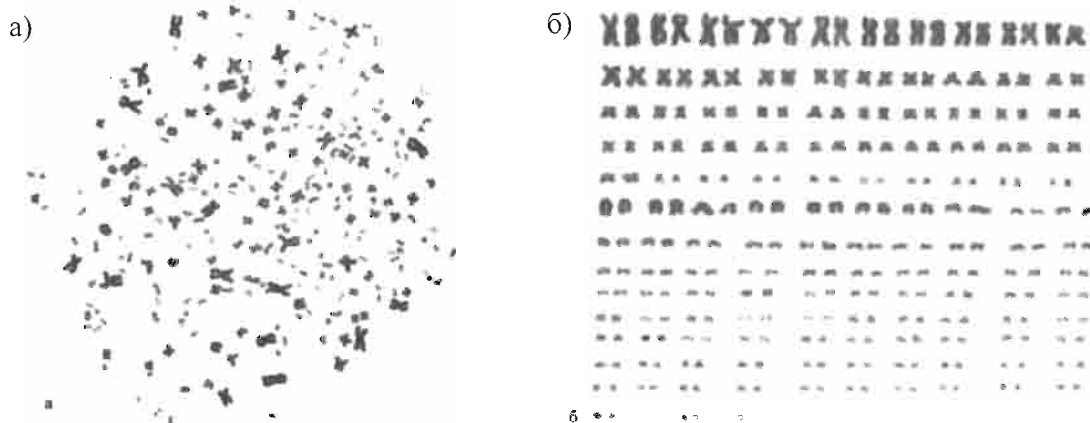


Рисунок 1. Метафаза (а) и раскладка хромосом (б) калуги *Huso dauricus* ($2n=270$).

По числу хромосом все осетровые делятся на три дискретные группы: 1) виды, кариотипы которых имеют около 120 хромосом (*Huso huso*, *Acipenser sturio*, *A. stellatus*, *A. nudiiventris*, *A. ruthenus*); 2) виды с числами хромосом 240–270 (*A. gueldenstaedtii*, *A. persicus*, *A. baerii*, *A. naccarii*, *A. sinensis*, *A. schrenckii*, *A. transmontanus*, *A. fulvescens*, *A. medirostris*),

условно их называют 250-хромосомные и 3) вид с числом хромосом около 370 (*A. brevirostrum*) (Vasil'ev, 2008). Ряд данных указывает, что 120-хромосомные виды имеют тетраплоидное происхождение, их диплоидный предок в настоящее время уже не существует (Dingerkus, Howell, 1976; Васильев, 1985). Соответственно этому 250-хромосомные виды

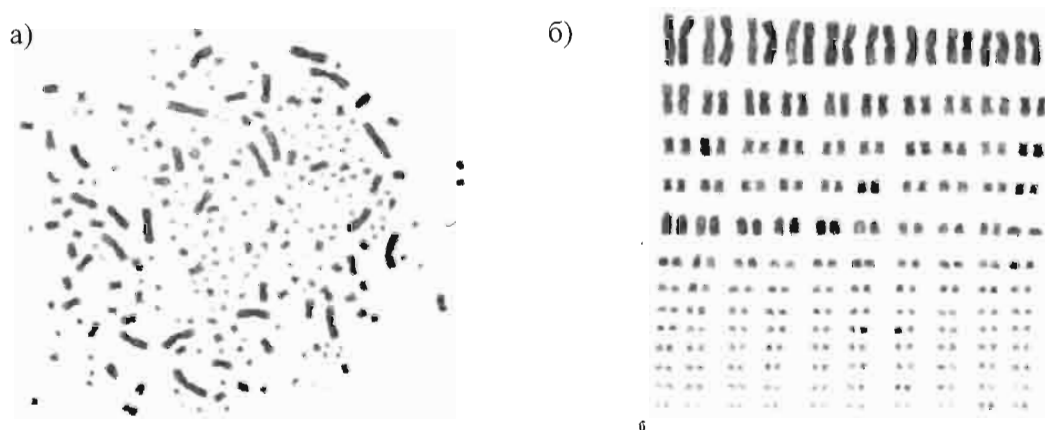


Рисунок 2. Метафаза (а) и раскладка хромосом (б) сахалинского осетра *Acipenser mikadoi* ($2n=264$).

имеют октоплоидное происхождение, а вид с числом хромосом 370 – 12-плоидное. Однако, поскольку 120-хромосомные виды достигли значительного уровня функциональной диплоидизации геномов, было предложено различать две шкалы уровней плоидности осетрообразных (Vasil'ev, 2008). 1. «Эволюционная шкала»: диплоидные виды (в настоящее время не существуют) – тетраплоидные виды (120-хромосомные), октоплоидные (250-хромосомные) и 12-плоидные (370 хромосом). 2. «Современная шкала»: диплоидные виды (120-хромосомные), тетраплоидные (250-хромосомные) и гексаплоидный вид (370 хромосом). В данной работе мы придерживаемся последней шкалы.

Число хромосом, полученное для калуги, оказалось достаточно неожиданным. Долгое время считалось, что калуга относится к 120-хромосомным видам, поскольку это число было указано в одной из ранних статей по кариотипам осетровых (Burtzev et al., 1976). Однако данные в этой работе были получены с помощью несовершенных методов (давленные препараты бластулы) и, как это часто случалось в ранней кариологии рыб, могли быть ошибочными. В то же время к группе 120-хромосомных видов калуга была отнесена на основе измерения количества ДНК на клетку (Birstein et al., 1993; Yin et al., 2004): содержание ДНК у калуги в 2-3 раза меньше, чем у 250-хромосомных видов. Исследование шести микросателлитных локусов у 20 видов осетрообразных (Ludwig et al., 2001) показало, что 120-хромосомные виды, в том числе и калуга, по большинству изученных локусов соответствуют функциональным диплоидам, тогда как большинство видов с числами хромосом около 250 являются функциональными тетраплоидами. Несоответствие результатов микросателлитного и кариологического анализов калуги легко объяснить неравномерной функциональной диплоидизацией геномов в разных филетических линиях осетровых, что хорошо известно для других групп полиплоидных видов (Whitt, 1981). Несоответствие количества ДНК и числа хромосом объяснить весьма трудно. Мы полагаем, что это может быть связано или с невер-

ным определением видов, или с методическими погрешностями при оценке количества ДНК.

У сахалинского осетра в 1993 г. удалось определить количество ДНК на клетку, которое оказалось наибольшим среди осетрообразных (Birstein et al., 1993). Поскольку эта оценка (14,30 пг) оказалась существенно выше, чем у русского *A. gueldenstaedtii* и сибирского *A. baerii* осетров (7,87-8,30 пг), относящихся к 250-хромосомным видам, авторы предположили, что у сахалинского осетра около 500 хромосом. В ряде последующих работ (Birstein, 1993; Birstein et al., 1997; Ludwig et al., 2001) цитировалось именно это число, принятие которого для одного из видов осетрообразных существенно влияло на анализ полиплоидной эволюции этой группы рыб. Полученные нами данные ясно свидетельствуют, что сахалинский осетр относится к группе 250-хромосомных видов. Это означает, что в эволюции осетрообразных не было окто- или 16-плоидного уровня (в зависимости от классификации уровней плоидности), как считали некоторые авторы.

У относимой вместе с калугой к роду *Huso* белуги, *H. huso*, около 120 хромосом, тогда как виды рода *Acipenser* имеют как 120-, так и 250-хромосомные кариотипы. Этот факт, а также результаты искусственной гибридизации осетровых (включая исследования стерильности и фертильности разных вариантов гибридов) поставили под сомнение обоснованность выделения белуги и калуги в самостоятельный род *Huso* (Burtzev et al., 1976). Данное предположение было позднее поддержано методами молекулярного анализа (Birstein et al., 1997; Ludwig et al., 2001; Krieger et al., 2008). Полученные нами данные по кариотипу калуги свидетельствуют о полифилетическом происхождении рода *Huso* и, таким образом, доказывают, что деление осетров на два рода *Huso* и *Acipenser* является искусственным.

У американского зеленого осетра *Acipenser medirostris*, в составе которого ряд авторов рассматривал и сахалинского осетра, число хромосом 249+8 (Van Eenennaam et al., 1999). Весьма существенные различия в их кариотипах проявляются в числе и морфологии двуплечих хромосом: у первого вида таких хромосом 96, тогда как у второго – 80. При этом из 20 первых по размерам пар хромосом у сахалинского осетра минимум 9 пар – субметацентрические и 11 – метацентрические, а у американского зеленого осетра их максимум 6 и 14, соответственно. В целом эти кариологические различия достаточно велики и убедительно свидетельствуют о видовой самостоятельности зеленого и сахалинского осетров.

Поскольку до последнего времени считалось, что калуга имеет 120 хромосом и является дальневосточным аналогом белуги, то предполагалось, что гибрид калуга х стерлядь, как и широко используемый в аквакультуре гибрид белуга х стерлядь (бестер), будет иметь хорошие перспективы в осетроводстве. Однако полученные в настоящей работе данные опровергают это предположение, так как гибриды 268-хромосомной калуги и 120-хромосомной стерляди будут стерильными. В то же время гибридизация калуги с 250-хромосомным амурским осетром *A. schrenckii*, осуществляемая в массовых количествах на рыбных заводах Китая (Wei et al., 2004), может привести к непреднамеренному загрязнению естественных водоемов фертильным гибридом.