

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

© 2009 г. В. П. Васильев, Е. Д. Васильева, С. В. Шедько, Г. В. Новомодный

Представлено академиком Д.С. Павловым 15.10.2008 г.

Поступило 31.10.2008 г.

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 ploидности. Кроме этого, современные представления о филогенетических отношениях осетрообразных, полученные на основе цитогенетических и молекулярно-генетических исследований, противоречат традиционному разделению всех видов осетров на два рода: *Huso* и *Acipenser*. В некоторых случаях остаются дискуссионными и видовые отношения прежде всего тихоокеанских видов. Помимо актуальности для решения этих вопросов, знание уровня ploидности отдельных видов осетровых играет важную роль в осетроводстве, где широко используются межвидовые гибриды, и нередко с успехом, как например, бестер (гибрид белуга × стерлядь). Результат получения гибридных линий зависит от структуры кариотипов: виды с одним уровнем ploидности обычно дают плодовитых гибридов, тогда как гибриды от видов различного уровня ploидности стерильны. В то же время кариотипы ряда видов осетровых не изучены, соответственно об уровне их ploидности судят по косвенным данным, по некоторым видам в литературе цитируются ошибочные сведения.

В настоящей статье 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 эволюционно-таксономических и рыбохозяйственных проблем.

Для изучения кариотипов использованы 11 экземпляров калуги и 11 – сахалинского осетра. Все рыбы были сеголетками, полученными на Анюйском рыбноводном заводе (Хабаровский край). Анализ кариотипов проведен в клетках головного лимфоидного органа (имеется только у осетрообразных) и клетках почки по ранее опубликованным методикам, включая разработанный нами специальный метод изучения кариотипов хрящевых ганойдов [1]. Митотическая активность клеток головного лимфоидного органа достаточно велика и значительно выше митотической активности клеток почки. Соответственно этому подавляющее число пригодных для анализа метафаз получено на лимфоидном органе. Число изученных метафазных пластинок у калуги составило 63, у сахалинского осетра – 58.

Анализ кариотипов калуги и сахалинского осетра показал, что у первого вида число хромосом 268 ± 4 , у второго 262 ± 4 . Более точный подсчет числа хромосом у осетровых затруднен в связи с наличием у этих рыб большого количества микрохромосом. Поэтому представлять числа хромосом со знаком “±” – обычная практика в кариологии осетрообразных. Количество двуплечих хромосом у калуги 100, у сахалинского осетра 80. Таким образом, число хромосомных плеч (NF) у первого вида 368 ± 4 , у второго – 342 ± 4 . Данные виды хорошо различаются не только по числу двуплечих хромосом, но и по структуре их рядов (рис. 1, 2).

По числу хромосом все осетровые делятся на три дискретные группы: 1) виды, кариотипы которых имеют около 120 хромосом (*H. huso*, *A. stellatus*, *A. nudiventris*, *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. brev-*

Институт проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова
Российской Академии наук, Москва
Научно-исследовательский зоологический музей
Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова, Москва
Биолого-почвенный институт
Дальневосточного отделения
Российской Академии наук, Владивосток
Хабаровский филиал ФГУП ТИНРО-Центр



Рис. 1. Метафаза (а) и раскладка хромосом (б) Калуги *H. dauricus* ($2n = 270$).

rostrum) [2]. Ряд данных указывает, что 120-хромосомные виды имеют тетраплоидное происхождение, их диплоидный предок в настоящее время уже не существует [3, 4]. Соответственно этому 250-хромосомные виды 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 пло-

идности осетрообразных [2]. 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). Ниже мы будем придерживаться 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 [5]. Однако данные в этой работе были получены с помощью весьма 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 [6, 7]: содержание ДНК у калуги в 2–3 раза меньше, чем у 250-хромосомных видов. Исследование шести микросателлитных локусов у 20 видов осетрообразных [8] 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 [9]. Несоответствие количества ДНК и числа хромосом объяснить весьма трудно. Мы полагаем, что это может быть связано или с неверным определением видов, или с методическими погрешностями при оценке количества ДНК.

Кариотип сахалинского осетра ранее не был изучен. В 1993 г. у этого вида удалось определить количество ДНК на клетку, которое оказалось наибольшим среди осетрообразных [6]. Поскольку эта оценка (14.30 пг) оказалась существенно выше, чем у русского *A. gueldenstaedtii* и сибирского *A. baerii* осетров (7.87–8.30 пг), которые относятся к 250-хромосомным видам, то авторы предположили, что у сахалинского осетра около 500 хромосом. В последующих работах ряда авторов [8, 10, 11] указывалось 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 белуги *H. huso*, относимой вместе с калугой к роду *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* [5]. Данное



Рис. 2. Метафаза (а) и раскладка хромосом (б) сахалинского осетра *A. Mikadoi* ($2n = 264$).

предположение было позднее поддержано методами молекулярного анализа [8, 11, 12]. 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 *A. medirostris*, в составе которого ряд авторов рассматривал и сахалинского осетра, число хромосом 249 ± 8 [13]. 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 × стерлядь, так же как и официально утвержденный в списке пород рыб и широко используемый в аквакультуре 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 рыбоводных заводах Китая [14], может привести к непреднамеренному загрязнению естественных водоемов фертильным гибридом.

Авторы выражают глубокую благодарность директору Анюйского рыбоводного завода А.А. Романенко и главному рыбоводу завода Л.Д. Кузнецовой за предоставленный для исследования материал.

Работа частично финансировалась грантами РФФИ (06-04-96004-р-восток-а, 06-04-48416, 07-04-00219), Программой фундаментальных исследований РАН “Биологические ресурсы России: Фундаментальные основы рационального использования биоресурсов” (№ III.4), Программой Президиума РАН “Биоразнообразие и динамика генофондов” (подпрограмма “Биоразнообразие” № 6.1.8 и подпрограмма “Динамика генофондов”)

и Программой комплексных исследований в бассейне р. Амур ДВО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильев В.П., Соколов Л.И. // Цитология. 1980. Т. 22. № 9. С. 1106–1109.
2. Vasil'ev V.P. In: Amsterdam: Springer, 2008. V. 29. P. 97–117.
3. Dingerkus G., Howell W.M. // Science. 1976. V. 194. P. 842–844.
4. Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука, 1985. 300 с.
5. Burtzev I.A., Nikoljukin N.I., Serebryakova E.V. // Ichthyologia. 1976. V. 8. № 1. P. 27–34.
6. Birstein V.J., Poletaeu A.I., Goncharov B.F. // Cytometry. 1993. V. 14. P. 377–383.
7. Yin H.-B., Sun Z.-W., Sun D.-J. // J. Shanghai Fish. Univ. 2004. V. 13. № 2. P. 111–114.
8. Ludwig A., Belfiore N.M., Pitra C. et al. // Genetics. 2001. V. 158. P. 1203–1215.
9. Whitt G.S. // Evolution today. Proc. II Intern. Congr. Systematic and Evolutionary Biology. Pittsburgh: Hunt Inst. Bot. Documentation; Carnegie-Mellon Univ., 1981. P. 271–289.
10. Birstein V.J. // Sturgeon Quart. 1993. V. 1. № 2. P. 8.
11. Birstein V.J., Hanner R., DeSalle R. // Environ. Biol. Fishes. 1997. V. 48. P. 127–155.
12. Krieger J., Hett A.K., Fuerst P.A. et al. // J. Appl. Ichthyol. 2008. V. 24. Suppl.1. P. 36–45.
13. Van Eenennaam A.L., Murray J.D., Medrano J.F. // Trans. Amer. Fish. Soc. 1999. V. 128. P. 175–177.
14. Wei Q., He J., Yang D. et al. // J. Appl. Ichthyol. 2004. V. 20. P. 321–332.