

А.В. НАТЯГАНОВА

«...Какова же генетическая значимость кариотипа? Думаю, самым правильным будет ответ: его сцепленность, из которого вытекает новый вопрос: почему так важно иметь в нужных местах нужные гены?»
Г. Макгрегор, 1986

О хромосомных «судьбах» обитателей Байкала

«Инструкция» по созданию и функционированию любого живого организма, как известно, «записана» в его генах. Однако эта наследственная информация расположена в клетке не хаотично. У высших эукариотических организмов, к которым относится и человек, основная часть материального носителя этой информации – ДНК, расположена в клеточном ядре и организована в специальные структуры – хромосомы. Такой хромосомный уровень организации наследственного материала служит необходимым условием сцепления генов и перераспределения родительских генов у потомков при половом размножении. Изменение же специфического набора хромосом вследствие хромосомных и геномных мутаций может привести к образованию новых видов или появлению новых адаптаций к условиям окружающей среды

При слове «хромосомы» многим представляются таинственные «иксы» и «игреки» в клетках нашего организма, обеспечивающие передачу особенностей внешности и характеров от родителей к детям. В принципе это не так уж далеко от истины. Точнее, хромосомы представляют собой микроструктуры в форме нитей из линейных, компактно «упакованных» молекул ДНК – основного носителя наследственной информации. Вещество хромосом, включающее также белки, называют *хроматином*.

Диплоидные наборы хромосом ($2n$) из двух морфологически сходных (гомологичных) родительских комплектов формируют главную часть каждой соматической клетки животных и растений – клеточное ядро. У человека, например, $2n = 46$; у собаки – $2n = 78$; у кошки – $2n = 38$. В половых клетках – сперматозоидах и яйцеклетках, содержатся, соответственно, гаплоидные (одинарные) наборы хромосом (n).

У представителей каждого вида животного или растения в клеточных ядрах имеется один и тот же специфический набор хромосом – *кариотип* (от лат. *kario* – ядро), который может служить «цитогенетическим паспортом» вида. Получают такой паспорт на основе *кариотипирования* – подробного анализа всех характеристик хромосом (количества, морфологии и др.), включая их полное описание, зарисовку или фотографирование.

Разнообразие кариотипов сопоставимо с разнообразием растений или животных, так как образование новых видов очень часто сопровождается различными хромосомными перестройками. Поэтому кариотип считают одним из важных признаков, используемых для выяснения родственных связей между разными таксономическими группами, выявления механизмов видообразования, а также при решении экологических задач. Все это имеет особую актуальность для изучения обитателей Байкала, подавляющее большинство которых являются *эндемиками*, т. е. сформировались и эволюционировали именно в этом озере.

На сегодня мы располагаем сведениями о кариотипах лишь 145 видов байкальских гидробионтов, т. е. 5,6% от их общего числа. Тем не менее некоторые из этих таксономических групп дают нам интересные и поучительные образцы различных хромосомных «судеб».

Разноногие и равноногие – хромосомное противостояние

Обитающие в Байкале пресноводные раки отряда Amphipoda (разноногие раки, бокоплавы) выделяются своим видовым разнообразием даже среди богатой байкальской фауны. Они представлены огромным

НАТЯГАНОВА Антонина Валентиновна – научный сотрудник лаборатории геносистематики Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 68 научных работ и 1 патента

Ключевые слова: озеро Байкал, эндемики, хромосомы, кариотип, диплоидное число, экологический мониторинг.

Key words: Lake Baikal, endemics, chromosomes, karyotype, diploid number, ecological monitoring

© А.В. Натяганова, 2016



Ommatogammarus albinus
(Dyb., 1874)

Dorogostaiskia parasitica
(Dyb., 1874)



Ommatogammarus albinus
(Dyb., 1874)

Pallaseopsis cancelloides
(Gerstf., 1858)

Все эти виды байкальских разноногих раков Amphipoda, принадлежащие к разным семействам, имеют одно и то же число хромосом ($2n = 52$)

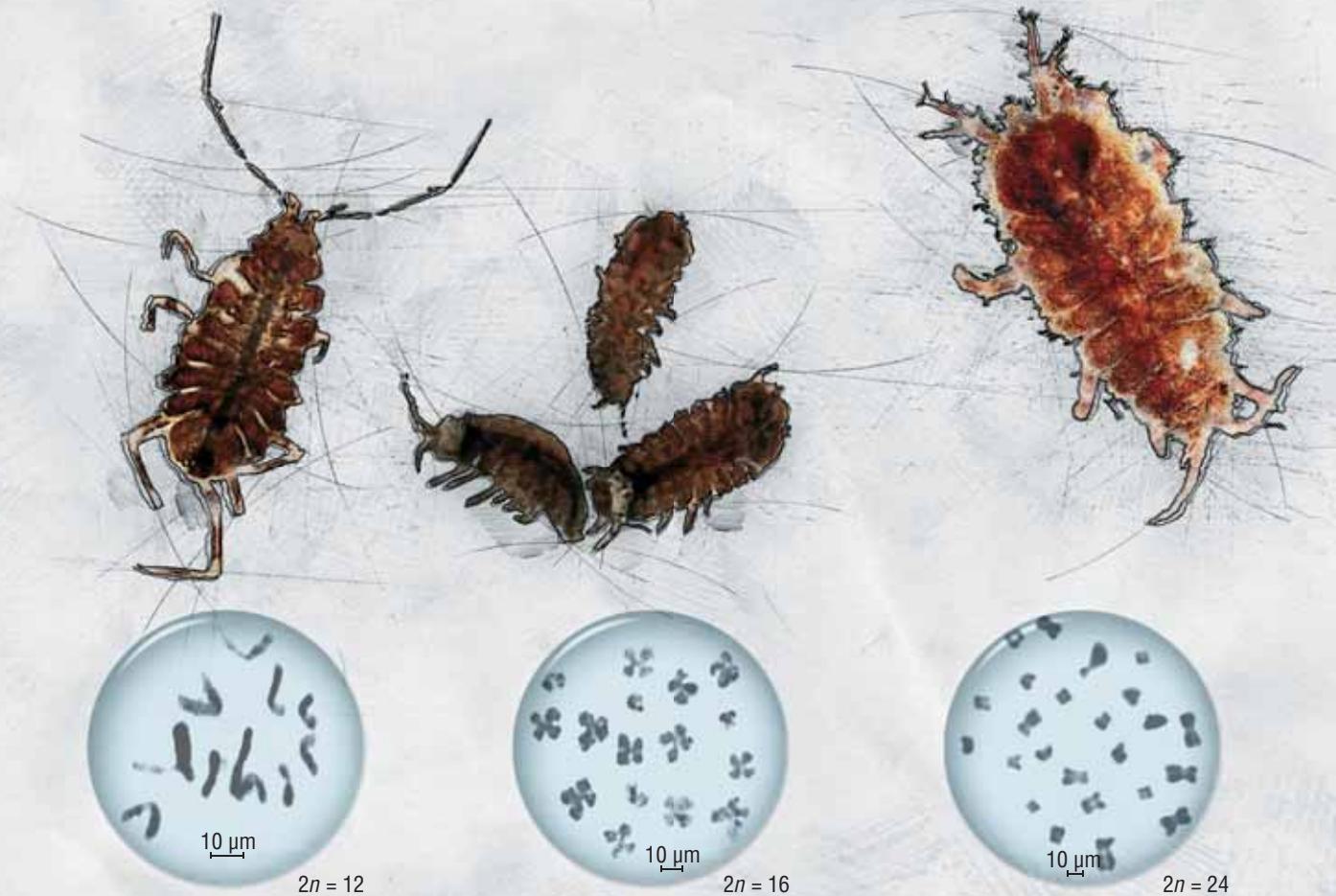
«букетом» из 347 видов, подавляющее большинство которых – эндемики (Тахтеев, 2000, Камалтынов, 2001).

Байкальские бокоплавцы демонстрируют исключительное разнообразие своей внешней морфологии, поведения и жизненных стратегий. Вместе с тем при исследовании хромосомных наборов у 33 видов и двух подвигов, принадлежащих к 18 родам (39% от общего числа родов), было обнаружено удивительное единообразие кариотипов. Все они, за единственным исключением, имеют диплоидные наборы из 52 хромосом сходной морфологии (Salemaa, Kamaltynov, 1994).

Число хромосом у амфипод обычно варьирует в довольно широком диапазоне ($2n = 10, \dots, 126$), при этом наибольшую изменчивость демонстрируют морские виды (Libertini, Krapp-Schickel, 2000; Natiyaganova, Sitnikova, 2012). Изучение фауны бокоплавцов из пресноводного Охридского озера на Балканах, по возрасту и происхождению схожего с Байкалом, также выявило довольно большое разнообразие в диплоидных наборах: $2n = 24, 42, 50, 52, 68$ (Salemaa, Kamaltynov, 1994). Авторы этого исследования расценили поразительное

Между делениями в соматических клетках происходит удвоение наборов хромосом. В ходе клеточных делений (митозов) они распределяются в дочерние клетки. Удвоенные и сконденсированные хромосомы, еще не разошедшиеся к разным полюсам клетки и сохраняющие контакт друг с другом, имеют вид букв «X» или «V». Эти митотические хромосомы хорошо видны под обычным светооптическим микроскопом, поэтому с давних пор они используются как удобный объект в различных генетических исследованиях

единообразие хромосомных наборов байкальских видов как эволюционный парадокс. Для объяснения этой загадки они выдвинули предположение, что кариотипическая дифференциация сопровождается возникновением видов на ранних этапах становления фауны, поэтому стабильность хромосомных наборов у байкальских



У байкальских равноногих раков (Isopoda), в отличие от разноногих, число хромосом существенно колеблется ($2n = 8, 12, 16, 24$).

амфипод свидетельствует в пользу их более древнего пресноводного происхождения.

Наше кариотипирование байкальских амфипод показало, что хотя их хромосомные наборы на первый взгляд выглядят сходными, они различаются по морфологической структуре. Очевидно, эти различия обусловлены хромосомными перестройками небольшого масштаба, не меняющими диплоидное число, а именно: *инверсиями* (переворотами на 180°) и *делециями* (потерями) небольших хромосомных участков (Натяганова и др., 2003).

Противоположная ситуация наблюдается у другой группы высших ракообразных Байкала – отряда Isopoda (равноногие раки). В озере обитает всего шесть эндемичных видов, принадлежащих двум родам одного семейства Asellidae (осликовые), тогда как в мире этих ракообразных насчитывается более 4 тыс. видов, из которых около 360 – азеллиды.

Многие семейства равноногих ракообразных характеризуются изменчивостью хромосомных чисел (Niijama, 1959; Hedgcock *et al.*, 1982). У азеллид, в частности, такие

различия наблюдаются либо между родами, либо между видами одного рода, но из достаточно разобщенных местообитаний. В том же Охридском озере, к примеру, обитает четыре вида водяных осликов из одного рода с одинаковым диплоидным набором $2n = 22$ (Salemaa, 1985). Однако все виды байкальских водяных осликов существенно различаются между собой как по числу ($2n = 8, 12, 16, 24$), так и по морфологии хромосом (Натяганова, 2001). Кроме того, диплоидное значение восемь на сегодня является уникально маленьким для равноногих раков всего мира.

Молекулярно-генетический анализ выявил две причины такого разнообразия хромосомных комплексов у байкальских равноногих (Hidding *et al.*, 2000). Первая – это происхождение от разных предков в результате двух независимых «вторжений» из водоемов Восточной Азии и Северной Америки. Североамериканские предки азеллид проникли в Сибирь в районе Берингийского пролива, где 5–7 млн лет назад была суша. От одного из этих «интервентов» и произошел род *Baicalasellus* Stammer, 1932, четыре вида которого сформировались



Среди обитателей Байкала самое маленькое хромосомное число $2n = 4$ имеет свободноживущий ресничный червь *Gyraux hermaphroditus* (Ehrenberg, 1831), встречающийся на дне пресноводных водоемов и морей. Фото О. Тимошкина (ЛИН СО РАН, Иркутск)

уже в самом Байкале благодаря хромосомным преобразованиям – второй причине кариотипического разнообразия байкальских изопод. Хромосомные числа представителей трех видов рода *Baicalasellus* образуют ряд кратных чисел – 8, 16, 24, что свидетельствует в пользу полиплоидного видообразования, связанного с увеличением числа хромосом на один и больше гаплоидных наборов.

Интересно, что молекулярно-генетические данные не подтвердили ожидаемое близкое родство между байкальским осликом *Baicalasellus angarensis* Dybowski, 1884 и широко распространенным в Европе рачком *Asellus aquaticus* L (Racovitza, 1919), которые имеют одно и то же диплоидное значение и сходную морфологию хромосом (Natyaganova *et al.*, 1996). Этот факт свидетельствует, что эволюционные изменения кариотипов могут идти параллельно даже у достаточно далеких в родственном отношении видов.

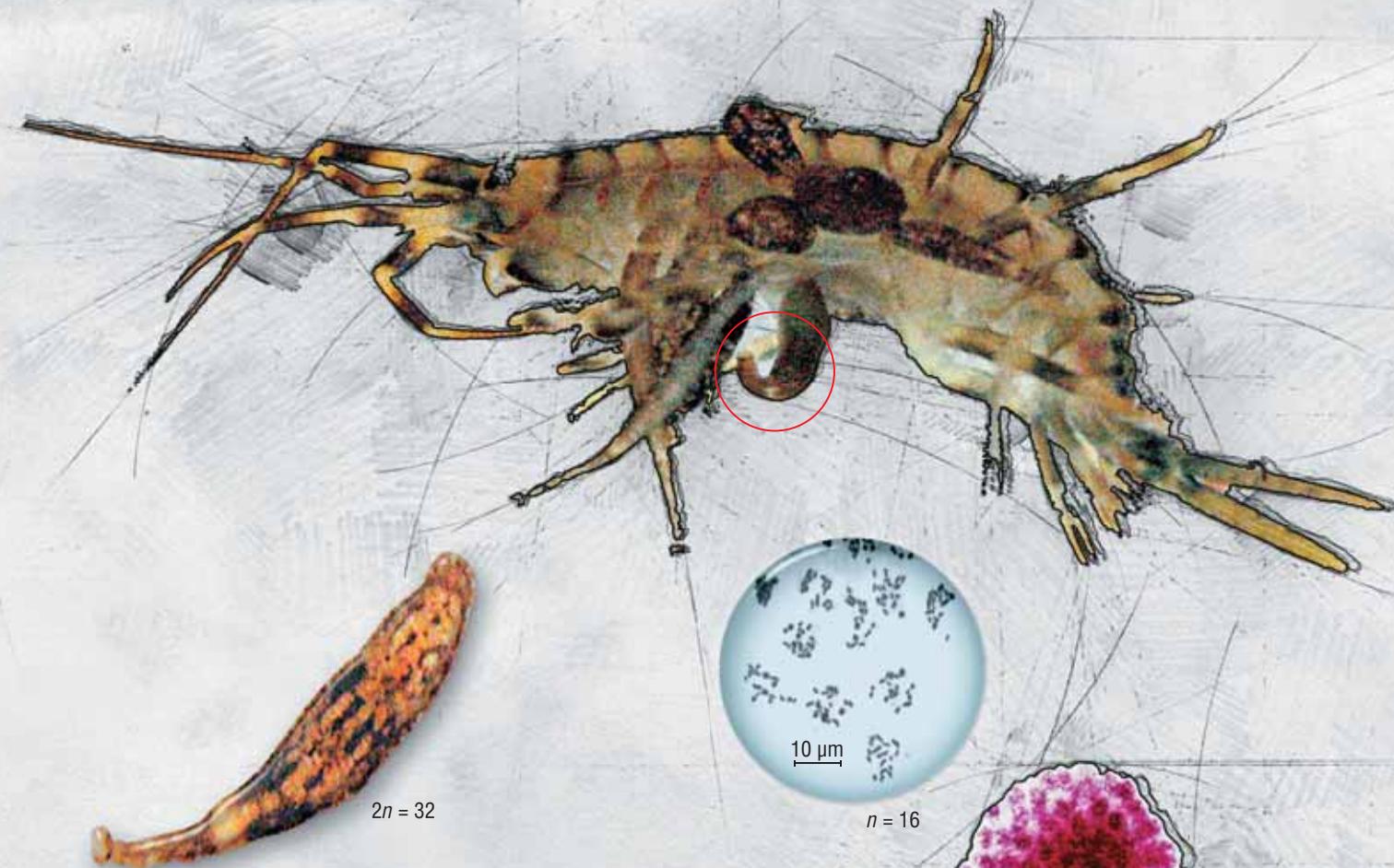
Кариотип – разделяющий и объединяющий

Межвидовая кариотипическая дифференциация внутри родов характерна и для некоторых групп эндемичных байкальских червей. Так, у плоских ресничных червей из рода *Geocentrophora* de Man, 1876 были обнаружены четыре варианта хромосомных чисел, а из рода *Bdelocephala* de Man, 1875 – три варианта кариотипа, различающихся по хромосомному числу, и шесть – по морфологии хромосом (Новикова, Тимошкин, 1995). Видообразование у этих гидробионтов сопровождали инверсии, а также *транслокации* (переносы участков между хромосомами).

Путем разделения жизненной ниши и хромосомных преобразований возникли два вида кольчатых червей из рода *Baicalobdella*. Пиявки вида *B. torquta* (Grube, 1871), паразитирующие на одном из видов амфипод, имеют хромосомный набор $2n = 32$, а *B. cottidarum* Dogiel, 1957, питающиеся кровью байкальских бычков-подкаменщиков, – $2n = 34$ (Kaugorodova, Natyaganova, 2015).

Наименьшее среди обитателей Байкала хромосомное число ($2n = 4$) демонстрируют плоские черви, относящиеся к видовому комплексу *Gyraux hermaphroditus* Ehrenberg, 1831. Кстати, эти черви вовсе не эндемики, а космополиты. Примечательно, что особи, добытые из разных географических мест, имеют одинаковый внешний вид, но отличаются морфологией своих хромосом и половых органов. Проведенный нами статистический анализ этих данных, включая полученные на Байкале, выявил прямую зависимость между размерами этих структур (Натяганова и др., 2015). Пример этих маленьких жителей дна показывает, что структурные перестройки, изменяющие форму хромосом, могут вызывать и заметные трансформации целых органов.

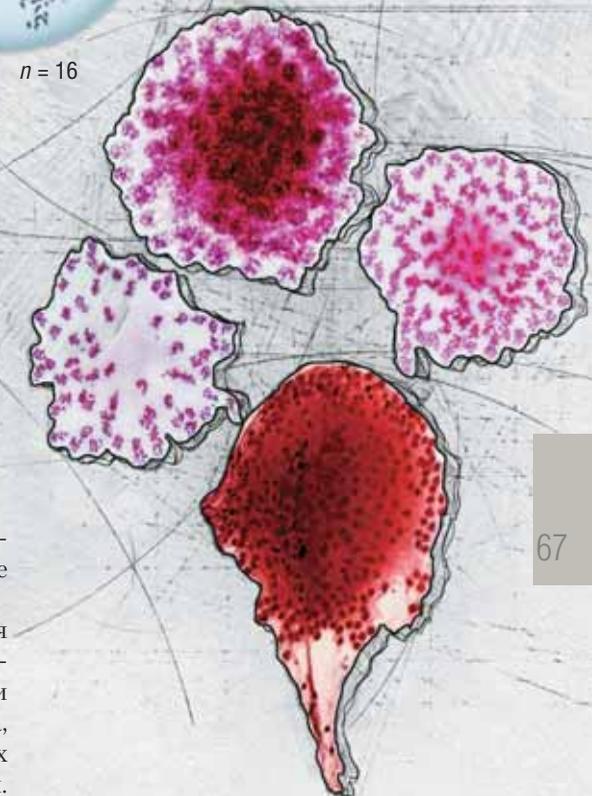
В поле зрения цитогенетиков попала и такая богатая видами группа беспозвоночных гидробионтов Байкала, как брюхоногие моллюски или улитки (Gastropoda), которых здесь насчитывают около 150 видов (Ситникова и др., 2001). Кариотипические исследования 18 видов улиток показали, что в пределах одного рода они имеют одно и то же число хромосом, однако между родами этот признак варьирует (Побережный, 1989). Поэтому в данном случае хромосомное число может служить четким классифицирующим признаком. Можно предположить, что у этих животных хромосомные



Байкальские эндемичные пиявки вида *Baicalobdella torquta* (Grube, 1871), паразитирующие на разноногих раках, имеют диплоидное хромосомное число $2n = 32$. На цитологических препаратах, приготовленных из их семенников, можно увидеть удивительные картины «салюта» из синхронно делящихся клеточных ядер (справа). Отдельная «гроздь огней» представляет собой совокупность ядер, находящихся на одной стадии сперматогенеза. Одна из таких стадий особенно удобна для подсчета гаплоидного числа хромосом (n), так как в этом случае клеточные ядра представлены набором отчетливо видимых структур – так называемых «хромосомных бивалентов», состоящих из двух гомологичных пар хромосом

перестройки настолько действенны, что приводили к появлению значительно генетически и морфологически различающихся особей, которые становились прародителями новых родовых группировок.

В связи с этим интересна спонтанная полиплоидия, обнаруженная в популяциях улиток рода *Benedictia* W. Dybowski, 1875, где некоторые особи имеют в своих клетках хромосомные наборы с $2n = 3n$ или $2n = 4n$ (т.е. не 34 хромосомы, как у большинства представителей вида, а 51 или 68). Причиной этого редкого для раздельнополых животных явления может быть *партеногенез* – размножение без оплодотворения. Партеногенезу, в свою очередь, способствует соотношение полов, смещенное в сторону женских особей: в различных популяциях этих моллюсков на одного самца приходится 3–60 самок (Побережный, 1989).





Байкальский эндемичный моллюск *Benedictia baicalensis* (Gerstfeldt, 1959) может иметь как нормальный диплоидный ($2n = 34$), так и полиплоидный ($2n = 68$) набор хромосом.
 Фото О. Каменской (ЛИН СО РАН, Иркутск)

Кариотипические исследования двух эндемичных байкальских брюхоногих моллюсков – *Benedictia baicalensis* (Gerstfeldt, 1959) и *Megalovalvata piligera* Lindholm, 1909, сослужили хорошую службу экологическому мониторингу, направленному на оценку степени антропогенного воздействия. Оказалось, что у улиток, обитающих в районе сброса промышленных стоков Байкальского целлюлозно-бумажного комбината, существенно повышается частота хромосомных повреждений (Побережный, 1989)

Картируем хромосомы

Интересными кариотипическими объектами среди байкальских гидробионтов являются также личинки хирономид, некусающих комаров-звонцов из отряда Diptera (двукрылые). Эти червеобразные организмы длиной до 3 см известны не только как излюбленный корм для рыб (мотыль), но и своими гигантскими многонитчатыми (*политенными*) хромосомами. Такие хромосомы образуются в ходе многократного копирования (репликации) ДНК при отсутствии клеточных делений. При этом гомологичные родительские хромосомы, превратившиеся в многотысячные пучки хроматиновых нитей, плотно соединяются (конъюгируют).

В результате в клетках формируются гигантские ядра с политенными структурами, количество которых равно гаплоидному числу (n) организма. Из-за неравномерной плотности хроматиновых нитей сформированные из них хромосомные фигуры при окрашивании выглядят как толстые полосатые жгуты, каждый из которых имеет уникальный рисунок поперечной исчерченности, отражающий специфичную дисковую структуру хромосомы. Поэтому политенные хромосомы – очень информативный объект для цитогенетических исследований.

У хирономид наиболее подробно изучены политенные хромосомы из клеточных ядер слюнных желез. Тысячи копий генетической информации, хранящиеся в этих клетках, востребованы для синтеза большого объема секрета, с помощью которого личинки скрепляют мелкие частицы грунта, создавая своеобразные домики или ловчие сети. Диплоидные значения у хирономид

чаще невысокие (6 или 8), поэтому в клеточных ядрах слюнных желез находятся, соответственно, 3 или 4 гигантские политенные хромосомы. Специалисты получают их фотоизображения и детально картируют дисковую структуру хромосом, которая служит надежным идентифицирующим и дифференцирующим признаком.

Личинки хирономид – типичный компонент донных сообществ. Среди обнаруженных в Байкале 139 видов из 62 родов, 16 видов – эндемики. Большую роль в понимании эволюции этой группы насекомых в озере сыграли данные картирования политенных хромосом эндемичных видов рода *Sergentia* Kieffer, 1922. К этому роду относятся 15 видов, имеющих одинаковый набор хромосом, личинки которых при этом морфологически отличаются друг от друга (Провиз, Провиз, 1999, 2001).

Оказалось, что видообразование у этих насекомых в ряде случаев сопровождалось выраженными преобразованиями хромосомной структуры хромосом. Так, три узко адаптированных вида, обитающих в литоральной зоне, имеют одинаковые дисковые последовательности. Другие же виды, широко освоившие литораль или жи-

Красные «червячки» – личинки одного из видов хирономид, известные всем рыбакам под названием «мотыль», а голубые – их политенные хромосомы, окрашенные флуоресцентным красителем.
 Справа внизу – цитофотокарта хирономиды *Sergentia rara* Proviz V. et Proviz L. (Провиз, Провиз, 1999)

вущие на больших глубинах, различаются по этой характеристике в основном за счет гомозиготных инверсий – поворотов участков в обеих гомологичных хромосомах.

Эти данные свидетельствуют о том, что внутренняя организация самих хромосом представляет важную особенность кариотипа, которая может быть задействована в процессах адаптации и видообразования. И в тех случаях, когда у большого «букета» видов обнаруживается «кариотипическая инертность», как у тех же байкальских бокоплавов, стоит обратить пристальное внимание на тонкую структуру носителей генов.



Байкальская нерпа.
Фото Н. Волокитиной (ЛИН СО РАН, Иркутск)

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ

Байкальская нерпа (*Pusa sibirica* Gmelin) – единственное эндемичное млекопитающее Байкала, получила свой цитогенетический «паспорт» уже почти полвека назад (Анбиндер, 1980). Интерес к этим работам был связан с попытками определения времени ее появления в озере и выявления родственных связей с другими видами тюленей и другими группами водных и наземных млекопитающих. Оказалось, что кариотип байкальской нерпы ($2n = 32$), как в отношении числа, так и морфологии хромосом, чрезвычайно сходен с кариотипами кольчатого (обитающего в Баренцевом, Беринговом, Чукотском и Охотском морях) и каспийского тюленей, что, по мнению Е. М. Анбиндера, подтверждает их родственные связи

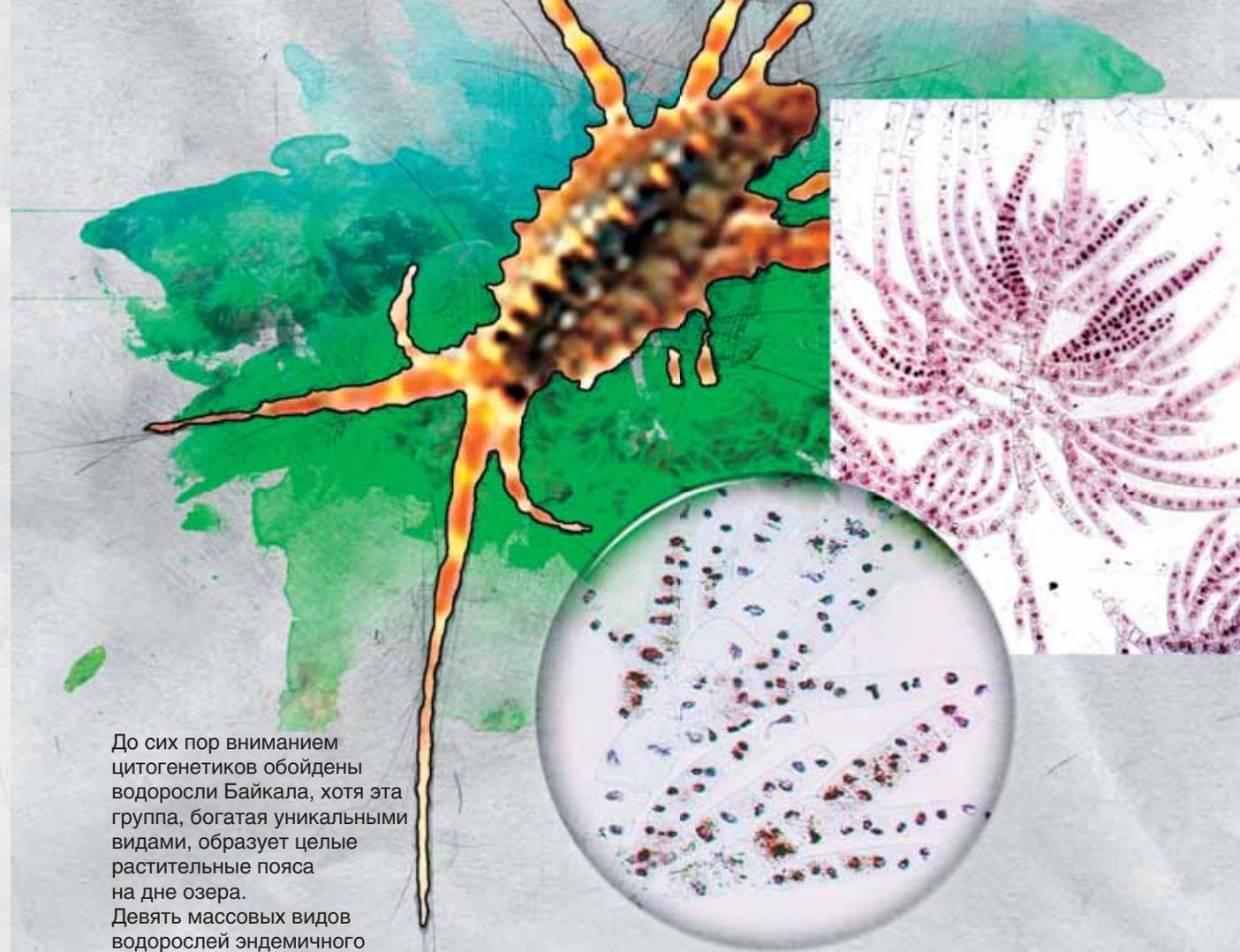
Даже эти небольшие заметки о хромосомных наборах обитателей озера Байкал ясно показывают, что в ходе эволюции кариотипы различных организмов ведут себя по-разному. Пока в одних фаунистических группах число и структура хромосом остаются сходными даже у видов с далекой степенью родства, в других значительные кариотипические преобразования идут в пределах одного и того же рода. С точки зрения систематики, в одних случаях кариотип выступает интегрирующим (у амфипод и моллюсков), а в других – дифференцирующим (у изопод и червей) признаком.

Для объяснения непостоянства поведения хромосомных наборов было высказано предположение о лабильности (способности к структурному переупорядочиванию) и консервативности («жесткости») геномов, которые зависят от наличия в них гетерохроматинового компонента – «молчащей», т. е. некодирующей, суперконденсированной ДНК, представленной повторяющимися нуклеотидными последовательностями (Стегний, 1993). Лабильный геном содержит небольшой объем гетерохроматина, преимущественно локализованного в районах первичных перетяжек хромосом. В случае

же консервативного генома большое количество этого материала диспергировано по всей длине хромосом. При этом было отмечено, что в ходе эволюции консервативность генома возрастает по мере перехода от исходных к «производным» видам. То есть речь идет о том, что у видов с более древними корнями хромосомы не склонны к сильным изменениям.

Наши результаты компьютерного моделирования кариотипической эволюции показали, что различия в видовых букетах байкальских гидробионтов (например, у амфипод и изопод) могут быть связаны с хромосомными перестройками разного масштаба (Натяганова, Букин, 2009), которые, в свою очередь, зависят от внутренней организации хромосом, степени их пластичности или, как говорилось выше, лабильности и жесткости. И в этом смысле изучение хромосомных наборов в пределах фаунистических групп отдельной экосистемы позволяет оценить относительный возраст не только этих групп, но и самой экосистемы. И хромосомы эндемичных амфипод Байкала убедительно свидетельствуют о довольно «преклонном» возрасте озера.

Работа выполнена в рамках проекта ФАНО № 0345-2014-0005 и при поддержке РФФИ (грант №15-29-02515)



До сих пор вниманием цитогенетиков обойдены водоросли Байкала, хотя эта группа, богатая уникальными видами, образует целые растительные пояса на дне озера. Девять массовых видов водорослей эндемичного рода *Draparnaldioides* Meyer et Skabitsch, 1976, доминирующих в зоне литорали в весенне-осенний период, представляют собой эволюционную «параллель» широко распространенному в пресных водах роду *Draparnaldia* Vogt. Большинство видов байкальских драпарнальдий имеют ряды морфологических форм, предположительно являющихся результатом межвидовых скрещиваний (Ижболдина, 2007). В ходе начатого нами кариотипического изучения вида *Draparnaldioides baikalensis* Meyer et Skabitsch, 1976 было установлено, что многие делящиеся ядра в вегетативных клетках водоросли имеют структуру, необычную для типичного митоза и не отмеченную в описаниях европейских видов (вверху справа). На фото – драпарнальдии на дне Байкала. Фото О. Каменской (Иркутск)

Литература

- Натяганова А. В. Равноногие раки (*Malacostraca, Isopoda*) // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 2001. Т. 1: Озеро Байкал, кн. 1. С. 558–571.
- Натяганова А. В., Букин Ю. С. Парадокс размеров таксонов. Проявление феномена в фауне озера Байкал и его возможная причина // Изв. Иркутск. гос. ун-та. Сер. «Биология. Экология» 2009. Т. 2, № 2. С. 79–82.
- Побережный Е. С. Байкальские эндемичные моллюски как объект гидро-биологического мониторинга: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск. 1989. 17 с.
- Kaygorodova I. A., Natiyaganova A. V. Karyotype characterization of the endemic piscine leech from Lake Baikal with vindication of *Baicalobdella cottidarum* Dogiel, 1957 (*Piscicolidae, Hirudinea*) // Arch. Biol. Sci. Belgrade. 2015. V. 67. (4). P. 1405–1410.
- Hidding B., Michel E., Natiyaganova A. V. et al. Molecular evidence reveals a polyphyletic origin and chromosomal speciation of Lake Baikal's endemic asselid isopods. // Molecular Ecology. 2003. V. 12. P. 1509–1514.
- Natiyaganova A. V., Kamaltynov R. M., Sherbakov D. Y. The chromosomes of the *Baicalasellus angarensis* (*Isopoda, Asellidae*). *Crustaceana*. 1996. V. 69(6). P. 696–702.
- Natiyaganova A. V., Sitnikova T. Y. Karyotype of the Baikal amphipod *Polyacanthisca calceolata* Bazikalova, 1937, (*Crustacea, Amphipoda*). *Chromosome Science*. 2012. V. 15. P. 43–48.
- Salemaa H., Kamaltynov R. The chromosome numbers of amphipod crustaceans – an evolutionary paradox in the ancient lakes // Arch. Hydrobiol. 1994, V. 44. P. 247–256.