

Л. С. ПОПОВ, А. С. АНТОНОВ, Б. М. МЕДНИКОВ,
академик А. Н. БЕЛОЗЕРСКИЙ

О ЕСТЕСТВЕННОЙ СИСТЕМЕ РЫБ: ИТОГИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ГИБРИДИЗАЦИИ ДНК

Система рыб в наше время не может считаться удовлетворительно разработанной. Пользовавшаяся большой популярностью система Л. С. Берга⁽¹⁾ с появлением новых данных была значительно переработана, развита и дополнена^(2, 3), но даже последние попытки в этом направлении нельзя считать окончательными. Нам представляется, что основным недостатком всех ныне существующих систем является субъективность присвоения рангов таксонам. Так, собственно рыбы считаются или одним классом, или разбиваются на два: хрящевых (*Chondrichthyes*) и костных (*Osteichthyes*). Л. С. Берг выделял отряд *Clupeiformes*, куда в качестве подотрядов входили, в частности, собственно сельдевые (*Clupeoidei*), лососеобразные (*Salmonoidei*, включая сем. корюшковых, айювых, аргентинных, батилановых), шуковидные (*Esocoidei*), стомиевидные и ряд других. Ныне выделяется отдельный отряд сельдеобразных (*Clupeiformes*) и лососеобразных (*Salmoniformes*), куда входят в качестве подотрядов лососевидные, корюшковидные, шуковидные, стомиевидные и др.⁽³⁾ Эти и близкие им отряды объединяются в надотряд клянопоидных (*Clupeomorpha*).

Как нам кажется, удовлетворительный критерий ранга таксона может дать анализ, геномов, и в первую очередь, определение гомологий в первичной структуре ДНК у образующих его видов. Величина этого показателя зависит от числа сходных генов у сравниваемых организмов.

Ранее проведенные исследования⁽⁴⁻⁷⁾ показали, что у животных (млекопитающие и птицы) ДНК видов внутри рода имеют 90–95% и выше гомологичных последовательностей нуклеотидов. Межродовые гомологии значительно ниже (75–90%). Еще меньше близких по структуре генов у представителей разных семейств внутри отряда (50–75%, чаще всего 55–65%); межотрядные гомологии еще ниже (20–50, чаще 25–35%). Гибридизация ДНК между представителями разных классов не идет больше 20, чаще всего 10–15%.

Все эти данные касаются не всей ДНК этих организмов, а лишь так называемой фракции повторяющихся последовательностей, составляющей у хордовых около трети всей ДНК. Известно, что у высших животных и растений в кодировании учитываемых признаков фенотипа участвует значительно меньшая доля генома. Метод молекулярной гибридизации ДНК, используемых для определения доли гомологичных участков генома, даже в нынешнем его варианте позволяет выносить достаточно обоснованные суждения о степени сходства генного материала сопоставляемых организмов.

Более того, можно утверждать, что таким способом можно получить значительно больше информации, чем из анализа фенотипических признаков. Дело в том, что ключевые признаки фенотипов, по которым выделяются крупные таксоны рыб (наличие или отсутствие орбитосфеноида и мезокоракиида, открытый или замкнутый плавательный пузырь, ктеоподная или циклоидная чешуя и т. д.), комбинируются во всех таксонах без видимого порядка. Деление костистых рыб на низших (отверстопузырные с циклоидной чешуей и мягкими лучами плавников) и высших (замкнуто-

Доля гомологичных последовательностей нуклеотидов в быстро реассоциирующей фракции ДНК рыб (%)

Гибридуемый вид	Реперный вид			
	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Acipenser güldenstädti</i>	<i>Coregonus lavaretus</i>	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>
1. <i>Cyprinus carpio</i> (капн)	100,0±1,0 (6)	12,1±1,5 (5)	—	—
2. » » (сазан)	98,0±2,3 (11)	—	—	29,3±1,4 (5)
3. <i>Scardinius erythrophthalmus</i>	75,0±4,5 (11)	—	—	75,0±4,5 (11)
4. <i>Leuciscus cephalus</i>	90,0±3,8 (5)	—	—	22,6±1,3 (5)
5. <i>Carassius auratus</i>	86,7±2,0 (10)	—	—	29,1±1,6 (5)
6. <i>Blicca bjorkna</i>	83,5±1,9 (10)	—	—	27,3±1,3 (5)
7. <i>Rutilus rutilus</i>	88,7±1,6 (10)	—	—	23,4±0,7 (5)
8. <i>Diptychus dybowskii</i>	77,7±1,3 (10)	—	—	25,0±1,5 (5)
9. <i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	29,6±1,4 (10)	15,0±1,2 (5)	62,6±1,9 (6)	100,0±3,0 (5)
10. <i>O. keta</i>	27,2±1,7 (5)	—	—	98,0±1,2 (5)
11. <i>Salvelinus alpinus</i>	26,4±1,2 (7)	—	—	93,5±4,0 (9)
12. <i>Salmo trutta m. fario</i>	23,6±1,4 (7)	—	—	79,2±2,2 (10)
13. <i>Coregonus lavaretus pidschian</i>	—	—	91,0±4,6 (5)	61,3±3,5 (9)
14. <i>C. nasus</i>	—	—	89,4±3,8 (5)	58,0±4,2 (10)
15. <i>C. muksun</i>	—	—	87,2±6,0 (5)	61,6±1,6 (9)
16. <i>C. peled</i>	—	—	86,0±4,6 (5)	—
17. <i>C. tugun</i>	—	—	85,6±3,7 (5)	—
18. <i>C. sardinella</i>	24,8±1,5 (7)	—	83,0±1,7 (5)	65,3±3,8 (10)
19. <i>C. lavaretus</i>	22,1±1,3 (7)	—	100,0±2,8 (5)	63,3±5,0 (11)
20. <i>Osmerus eperlanus dentex</i>	—	—	—	53,0±4,1 (9)
21. <i>Cyclothone sp.</i>	—	—	—	31,6±3,6 (9)
22. <i>Sternoptyx diaphana</i>	25,3±1,1 (10)	—	—	32,6±1,1 (5)
23. <i>Esox lucius</i>	29,8±3,1 (12)	—	—	28,0±6,1 (9)
24. <i>Clupea harengus pallasi maris albi</i>	—	—	—	27,1±3,8 (9)
25. <i>Gadus morhua</i>	28,3±2,1 (9)	—	—	23,3±1,9 (5)
26. <i>Platichthys flesus</i>	23,8±2,6 (6)	—	—	—
27. <i>Acerina cernua</i>	34,0±3,7 (8)	—	—	29,8±2,2 (5)
28. <i>Acipenser güldenstädti</i>	12,6±2,2 (10)	100,0±7,3 (5)	—	—
29. <i>Pterolamiops longimanus</i>	9,5±2,3 (9)	10,4±1,6 (5)	—	—

Примечание. В скобках — число параллелей.

пузырные с ктеноидной чешуей и колючими лучами) явно устарело. Эти признаки, по всей вероятности, или появились очень рано у общих предков всех костистых и потом комбинировались в разных сочетаниях у разных таксонов, или же возникали конвергентно; в том и в другом случае они непригодны для построения системы. Весьма вероятна возможность вторичного проявления предковых признаков (хрящевые гаеоиды, примитивные признаки многих сомов). Все это чрезвычайно усложняет построение естественной системы по структурам фенотипов. Генетическая систематика в этом отношении удачнее, так как возможность конвергенции в ней практически исключена из вероятностных соображений, поэтому мы полагаем, что анализ гомологии ДНК в будущем станет *experimentum crucis* для любой классификации, претендующей на естественность.

Мы попытались решить некоторые проблемы, стоящие перед систематиками рыб, применив метод молекулярной гибридизации ДНК.

Препараты ДНК выделяли по методу, описанному нами ранее ⁽⁸⁾, из фиксированной этанолом печени или молок рыб. Определение количества гомологичных последовательностей в них вели по методу Денхарда ⁽⁹⁾. Использовали ультрафильтры марки «VUFS», ЧССР. Концентрацию ДНК на фильтрах определяли по Спирину ⁽¹⁰⁾. Препараты радиоактивной ДНК реперных видов получали методом тритиевого обмена ⁽¹¹⁾. Удельная ак-

тивность их составляла $2-5 \cdot 10^3$ имп/мин на 1 мкг ДНК. Молекулярный вес фрагментов, полученных действием ультразвука, судя по величине седиментационного коэффициента (4S), был равен $5 \cdot 10^5$. Соотношение концентраций меченой фрагментированной и полимерной ДНК на фильтре было 1:100. Использовали ДНК четырех реперных видов — горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*), сига (*Coregonus lavaretus*), карпа (*Cyprinus carpio*) и осетра (*Acipenser guldénstädti*); виды, с ДНК которых проводили гибридизацию, приведены в табл. 1.

Результаты этих опытов можно суммировать следующим образом:

1. Род *Coregonus* (сиги), весьма однородный по структуре генома, обнаруживает четкие различия с ДНК горбуши (сем. Salmonidae) того же ранга, что и род *Osmerus*, выделяемый в самостоятельное сем. Osmeridae. Отсюда следует, что подсем. Coregoninae следует повысить в ранге, восстановив сем. Coregonidae Jordan.

2. Межотрядные гомологии — приблизительно одного порядка (25—35%) у представителей самых разных отрядов. Так, ДНК карпа (отр. Cypriniformes) образует 35—25% гибридных цепей с ДНК ерша *Acerina cernua* (отр. Perciformes), щуки *Esox lucius* (отр. Salmoniformes auct.), трески *Gadus morhua* (отр. Gadiformes) и камбалы (отр. Pleuronectiformes). Гомологии ДНК горбуши с ДНК циклотоны (сем. Gonostomidae отр. Salmoniformes), щуки (Salmoniformes auct.) и сельди *Clupea harengus* — того же порядка, из чего следует, что подотряды Esocoidei и Stomiatodei должны быть повышены в ранге до самостоятельных отрядов (как полагал Л. С. Берг, оставив, однако, окончательное решение вопроса до получения новых данных).

3. Естественность выделяемых надотрядов вызывает большие сомнения. В самом деле, одинаковая степень гомологии наблюдается как внутри надотряда Clupeomorpha, так и между представителями столь разных группировок, как Clupeomorpha, Cyprinomorpha, Parapercomorpha и Percomorpha. Нам кажется, что для получения более обстоятельных данных не следует выделять таксоны выше отряда.

4. Гомологии ДНК рыб разных классов (Chondrichthyes и Osteichthyes) — того же порядка (10—15%), что и ДНК надотряда Ganoidomorpha и собственно костистых рыб (Teleostei). Логика требует, чтобы по меньшей мере костистые рыбы, хрящевые ганоиды и хрящевые рыбы рассматривались как таксоны одного ранга (разные классы). В высшей степени желательно изучение ДНК низших лучеперых, таких как многопер, амия и панцирная щука.

В перестроенной подобным образом системе, очевидно, возрастет число отрядов и снизится степень иерархии, однако при выборе между системой стройной или более близкой к естественной следует, как нам кажется, отдавать предпочтение последней.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
17 XI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. С. Берг, Система рыб и рыбообразных, ныне живущих и ископаемых, 5, Тр. Зоол. инст. АН СССР, Изд. АН СССР, 1940. ² P. H. Greenwood, D. E. Rosen et al., Bull. Am. Mus. Natur., 131 (1965). ³ Т. С. Расс, Г. У. Линдберг, Вопр. ихтиол., 11, 3 (68), 380 (1971). ⁴ В. Н. Нoyer, B. J. McCarthy, E. T. Bolton, Science, 144, 959 (1964). ⁵ В. Н. Нoyer, E. T. Bolton et al., In: Evolving Genes and Proteins, N. Y., 1965. ⁶ G. A. Schultz, B. Church Robert, J. Exp. Zool., 179, 1, 119 (1972). ⁷ А. С. Антонов, В сборн. Строение ДНК и положение организмов в системе, М., 1972. ⁸ А. С. Антонов, Н. С. Владыченская, Н. Б. Петров, Научн. докл. высш. школы, биол. науки, № 8, 137 (1971). ⁹ D. T. Denhardt, Biochem. and Biophys. Res. Commun., 23, 5, 641 (1966). ¹⁰ А. С. Спирин, Биохимия, 23, 5, 656 (1958). ¹¹ D. G. Searcy, Biochim. et biophys. acta, 166, 2, 360 (1968).