

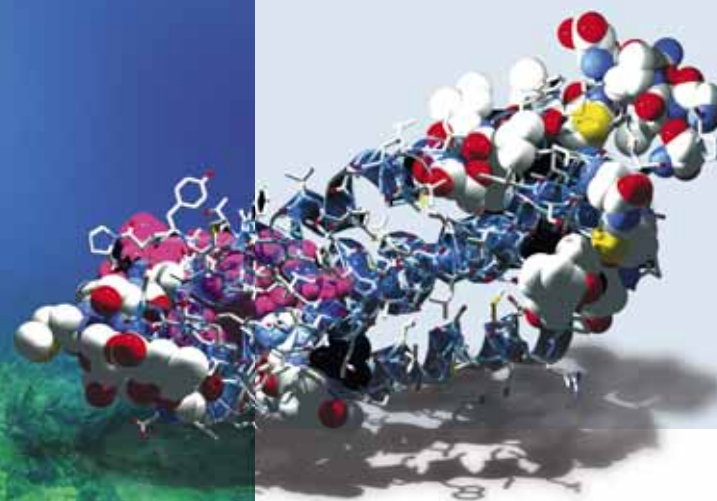
Х НУКЛЕОТИДНЫЕ РОНИ КИ «СМУТНОГО ВРЕМЕНИ»

Дмитрий ЩЕРБАКОВ,
Сергей СЕМОВСКИЙ

Дмитрий Юрьевич ЩЕРБАКОВ —
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
геносистематики Лимнологического
института СО РАН, преподаватель
Иркутского государственного
университета (г. Иркутск)



Сергей Валерьевич СЕМОВСКИЙ —
доктор физико-математических
наук, главный научный сотрудник
лаборатории геносистематики
Лимнологического института СО РАН
(г. Иркутск)



Ученых — по крайней мере, биологов — можно условно разделить на две категории. Первые (их в детстве зовут «ботаниками») однажды в жизни встречаются с большой любовью — к объекту своих научных занятий. По сути и по духу они — страстные коллекционеры, и мир для них — лишь огромный «музей», в котором, к сожалению, не все «экспонаты» снабжены подробными ярлычками. Другие — назовем их любознательными натурами — на всю жизнь сохраняют живой интерес к процессам и механизмам природных явлений. И какая, в конце концов, разница, кто будет объектом исследования — кит или неприметная мушка дрозофила, если все начинается с прозрачной капельки раствора ДНК...

Когда мы говорим о нашем Озере, все эпитеты приходится использовать в превосходной степени. Самое древнейшее, самое глубочайшее, а что касается видов животных, то им на Байкале просто «несть числа». Причем в самом прямом смысле, поскольку точное их количество неизвестно. И если завтра вдруг обнаружится, что число видов байкальских животных «приросло» на пару тысяч, то этот потрясающий факт научная общественность воспримет с олимпийским спокойствием.

Выявление механизмов, создавших такое огромное биоразнообразие в относительно замкнутой озерной экосистеме, важно для эволюционной теории в целом

Что же тревожит умы этой общественности? Вполне «простой» вопрос: как и когда возникло это поразительное видовое разнообразие фауны? Другими словами, чтобы что-то сделать и понять на Байкале, необходимо восстановить последовательность событий, понять, кто есть кто, и кто от кого «взялся». Выявление механизмов, которые создали в относительно ограниченной замкнутой экосистеме такое огромное биоразнообразие, важно не только для познания самого Байкала, но и для эволюционной теории в целом.

Однако когда мы имеем дело с настоящими букетами близкородственных видов, состоящих из десятков и сотен единиц, то разобраться в их эволюционном родстве на основе обычных морфологических критериев (усиков, шипиков и т. п.), принятых в систематике, исключительно сложно, поскольку для таких групп характерно множество параллелизмов. И совсем невозможно на основе этих признаков оценить время расхождения этих групп в далеком прошлом, особенно если благодаря своей «мягкотелости» организмы не оставляют никаких палеонтологических «улик». Но если мы не в состоянии увязать процессы видообразования с изменениями самой экосистемы, то о каком эволюционном механизме может идти речь?

К счастью, в прошлом веке генетика и молекулярная биология породили новую научную дисциплину — молекулярную систематику, которая дает нам объективный, а часто и единственно возможный способ разобраться в эволюционных связях между организмами. Иначе говоря — сравнить не только их внешний облик, но и их наследственность, *геном*, т. е. оценить степень генетического родства.

ЗЕМЛЯ ОБЕТОВАННАЯ

Байкал всегда являлся настоящей Меккой для зоологов и систематиков. На протяжении последней сотни лет сюда приезжали ученые-натуралисты, ловили разных животных и смотрели, как они устроены. Достаточно было поймать с десятков внешне похожих живых тварей, отличных от ранее описанных, и, пожалуйста, — новый вид открыт! Практически сразу же стало ясно, что многие виды в Байкале, особенно принадлежащие к эволюционным букетам, очень изменчивы: между видом *A* и видом *B* может лежать непрерывный спектр переходных форм так, что граница между видами становится весьма размытой. Для Байкала характерно

фантастическое внутривидовое морфологическое разнообразие, поэтому различить по внешним признакам, например, *гамарусов* разных видов может только очень квалифицированный зоолог после долгой кропотливой работы с микроскопом. Неудивительно, что после таких занятий поневоле задумываешься о том, что же стоит за самим понятием *вид*.

Проблемы в систематике начались как раз в процессе изучения биоразнообразия древних африканских озер — собратьев Байкала. В широко известных исследованиях на *цихлидовых* рыбах было обнаружено, что



На этой «сцене» разворачивались незаметные эволюционные «драмы» Байкала (фото Д. Щербакова)

организмы, четко различающиеся по морфологическим и поведенческим признакам, могут иметь очень схожие геномы и при изменении внешних условий прекрасно между собой скрещиваться. Это означает, что в данном случае классическое генетическое определение *вида*, подразумевающее генетическую обособленность (иначе — репродуктивную изоляцию), не работает. В дискуссию по этому поводу подлили масло дальнейшие успехи молекулярной биологии. Были обнаружены обратные случаи, когда между организмами, совершенно сходными по внешнему виду и условиям обитания, существовали очень большие генетические расстояния.



Байкалиды — эндемичное семейство байкальских моллюсков — оказались на удивление молодой группой видов, подвергшейся «взрывной» эволюции (фото В. Короткоручко)

В итоге стали подвергаться сомнениям даже такие основополагающие вещи, как, например, *относительность* вида: ранее и генетики, и морфологи определяли вид как нечто, отличающееся от другого вида. В результате попыток уточнить, что же является биологическим видом, появились *коалесцентные* определения, когда видом стали считать некую группу особей, внутри которой действуют механизмы, поддерживающие ее единообразие.

НЕ САЧКОМ ЕДИНЫМ...

Как сравнить между собой гены? Принцип сравнительного анализа ДНК очень прост. Состоит он в том, что у живых организмов одну и ту же функцию выполняют, как правило, сходные, т. е. *гомологичные*, белки. Например, гемоглобины, белки крови. Гемоглобин есть у мышки, у кошки и у хозяина кошки. И все эти белки обычно ведут свое происхождение от общего предка. При этом чем древнее был наш общий предок, тем больше наши гемоглобины будут отличаться друг от друга. А при чем же здесь ДНК?

Вспомним уроки общей биологии. Строение любого белка записано в определенном участке хромосомной ДНК, который зовется *геном*. Каждая аминокислота белка кодируется триплетом *нуклеотидов*, которые являются «элементарной единицей» ДНК. И с помощью молекулярных методов мы можем «прочитать» определенные фрагменты генов, сравнить их нуклеотидные последовательности между собой, подсчитать количе-

ство замен и после этого оценить вероятную степень родства. Конечно, это проще сказать, чем сделать, но, тем не менее, это возможно.

Теперь обратимся к гипотезе «молекулярных» часов. Если допустить, что частота мутаций гена остается достаточно постоянной в течение длительного времени, то по количеству аминокислотных замен в молекуле белка (т. е. по числу соответствующих нуклеотидных замен в гене) мы можем примерно определить время существования общего предка.

Такой молекулярно-филогенетический подход дает нам возможность не только оценить время основных эволюционных событий, но и подобрать к объяснению причин исключительно высокого биоразнообразия, характерного для всех древних озер. Конечно, в отличие от обычного систематика, вооруженного сачком, скальпелем и лупой, молекулярщику в дополнение к сачку необходимо иметь хорошо оснащенную лабораторию и любить математику.

Молекулярно-филогенетический подход дает возможность оценить время основных эволюционных событий и подобрать к объяснению причин исключительно высокого биоразнообразия древних озер

Амфиподы или *бокоплавки* — одна из самых древних и разнообразных групп байкальских организмов. Несколько волн заселения положили начало успешной эволюции этих ракообразных, которые сейчас занимают все мыслимые экологические ниши. Среди них — теплолюбивые травоядные карлики и идеально приспособленные к холоду и километровой глубине гиганты, паразиты и хищники, обитатели дна и уникальные пелагические *макрогектопусы* (фото В. Короткоручко)

ВЗЯЛИ НА МУШКУ

Есть проблема — фантастическое биоразнообразие, есть методы — молекулярно-генетические. Выбор объекта также был не случаен. Под прицел попали различающиеся по своим экологическим характеристикам, широко распространенные и многочисленные виды байкальских организмов, в том числе беспозвоночные: *рачки амфиподы, моллюски и олигохеты* — близкие родственники дождевого червя. Амфиподы являются свободноживущими организмами, обитателями водной толщи, остальные же ведут придонный образ жизни.

Древние предки этих групп обитали в древнем Байкале, который, с одной стороны, имел постоянную документированную прописку в течение примерно 30 млн лет, а с другой — не отличался постоянством характера. На Байкале происходили то похолодания, то потепления; менялся уровень воды, сходили ледники; возникали тектонические подвижки и другие геологические процессы. Еще одна проблема: в настоящее время байкальские воды почти до самого дна насыщены кислородом, но так было не всегда. Древний Байкал, вероятно, напоминал современное Черное море: только верхний 200-метровый слой воды содержал кислород.

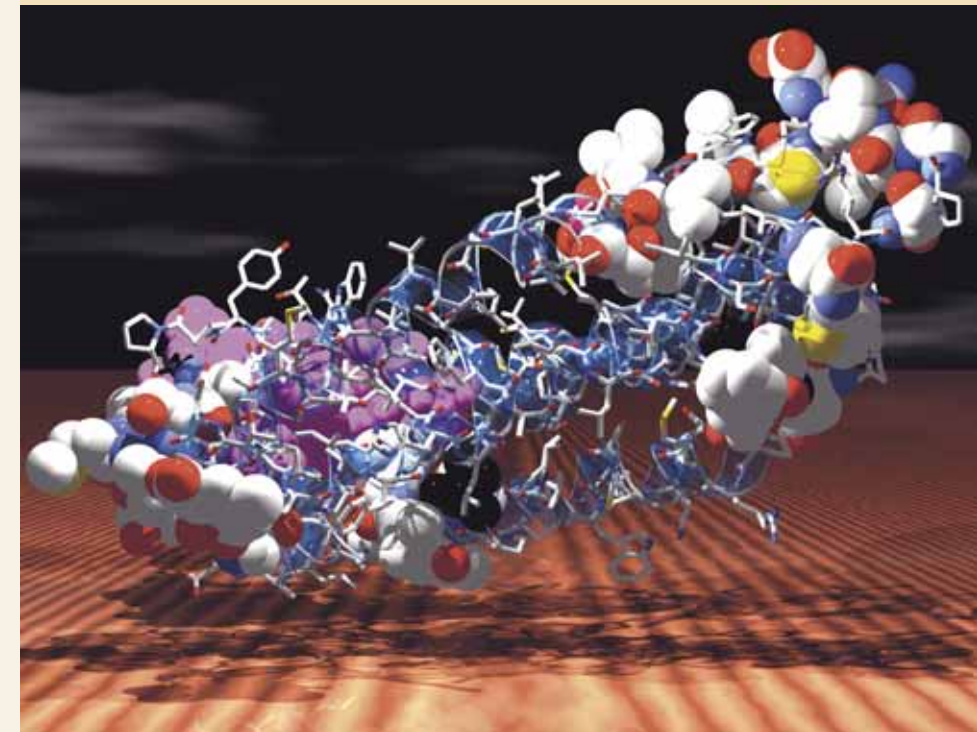
Именно в таких условиях пришлось жить предкам наших животных. Вопрос о путях заселения Байкала вызвал среди классических биологов жаркие дискуссии: одни считали, что Байкал заселялся реликтовой мезозойской фауной, другие — что заселение должно было происходить позднее, поскольку озеро сковывали ледники. И только молекулярная биология позволила взглянуть на этот вопрос с совершенно новой точки зрения.

РОЖДЕННЫЙ ПОЛЗАТЬ — УБЕЖАТЬ НЕ МОЖЕТ

Как все началось? Молекулярная филогенетика — дело само по себе непростое, особенно же для начала девяностых годов. Молекулярно-филогенетические исследования в Лимнологическом институте начались еще под руководством С. Я. Слободянюка, который ныне работает в новосибирском Институте цитологии и генетики. Объектом этих исследований были *коттоидные рыбы* — байкальские *бычки*. Мы же продолжили это направление, выбрав в качестве объекта бентосных беспозвоночных.

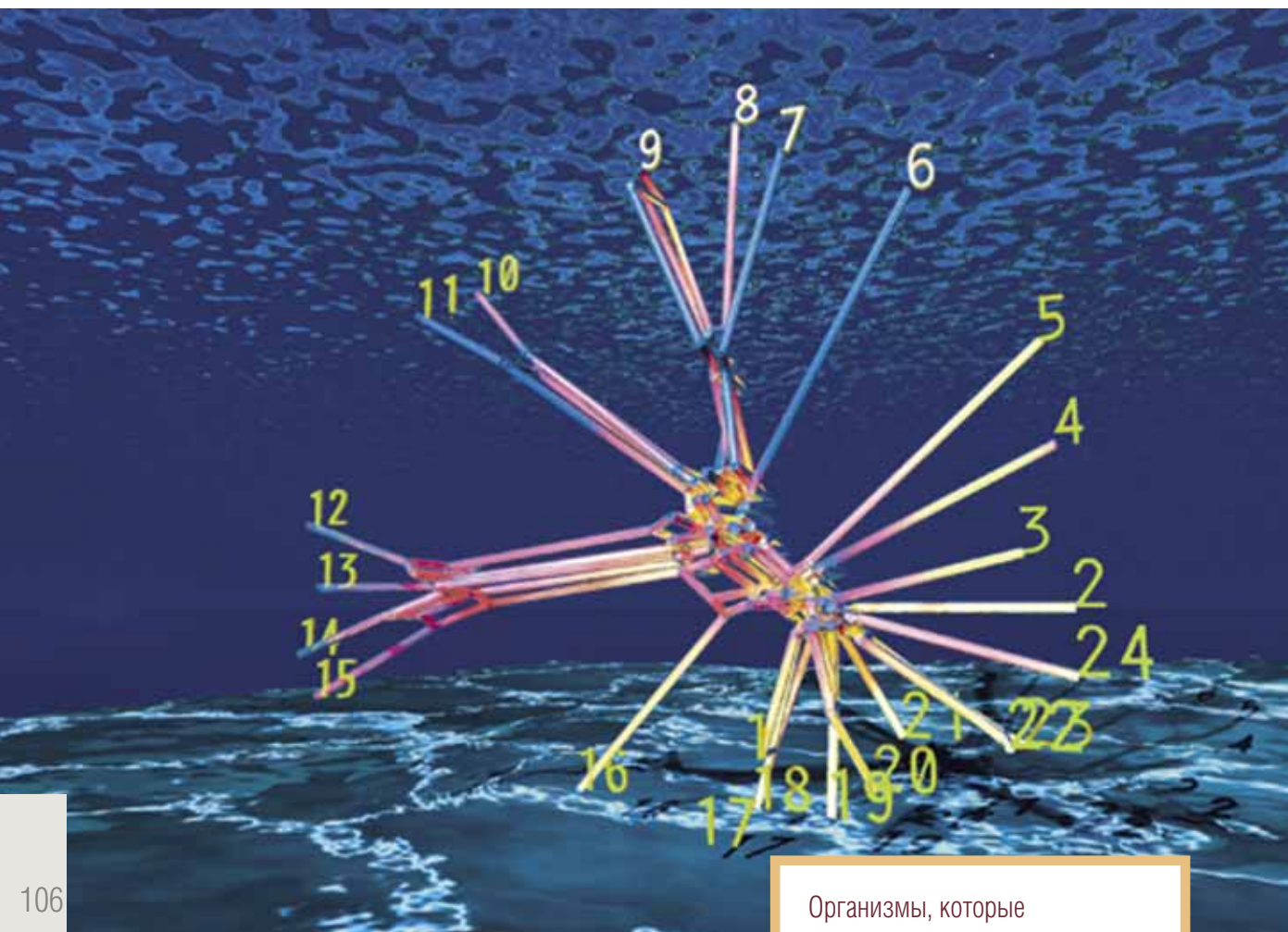
В то время такими исследованиями почти никто не занимался, методы массового чтения нуклеотидных последовательностей только-только появились, так

Модель фрагмента первой субъединицы митохондриальной цитохромоксидазы. Именно этот белок использовался для определения степени генетического родства в подавляющем большинстве молекулярно-филогенетических работ на байкальских беспозвоночных. На рисунке «шариками» обозначены аминокислотные остатки, которые претерпели изменения в процессе видообразования



же, как и метод *полимеразной цепной реакции (ПЦР)*, позволяющий в неограниченном количестве тиражировать участки ДНК. Пережили мы и довольно «нервные» моменты — пока для каждой группы животных не удалось подобрать подходящие для анализа «модельные» гены.

В результате наших трудов стала вырисовываться следующая картина. Выяснилось, что общий предок современных моллюсков из сем. *Baicaliidae* обитал в Байкале не позднее 3,5 млн лет назад. В это время в результате «взрывного» видообразования внутри семейства его родословное древо разделилось на два основных ствола.



Организмы, которые медленно перемещаются по дну и никогда от него не отрываются, оказались относительно «молодыми» по сравнению с возрастом самого Байкала

Эволюционное древо олигохет сем. *Lumbriculidae* — наглядный пример «взрывного видообразования». В отличие от обычного, на этом древе представлены все возможные пути, ведущие от общего предка к ныне существующим видам

Кстати сказать, прочный панцирь этих крошек стойко сопротивляется времени на радость палеонтологам, которые нашли восемь видов этого семейства в осадочных отложениях, возраст которых — более 20 миллионов лет! Возникло кажущееся противоречие с нашими данными. Может быть, это — ошибка палеонтологов, которые были обмануты внешним сходством раковин, поскольку мягкие части тела моллюска в отложениях не сохраняются. А может быть, и мы, и они — правы. Как это можно совместить? Довольно просто — с помощью гипотезы о том, что произошло массовое вымирание, а современные виды произошли от немногих уцелевших.

У олигохет из сем. *Lumbriculidae* родословное древо разделяется на несколько предковых ветвей, очень древних и удаленных друг от друга. Время их расхождения оценивается в 28–30 млн лет. Но самая молодая веточка, от которой образовался пышный букет видов группы *Lamprodrilus*, отпочковалась «всего лишь» 3,8–2,8 млн лет назад. И опять это магическое число 3 млн, как и в случае с байкалидами!

А вот с амфиподами в это время ничего примечательного не происходило. Большая часть современных видов амфипод, вероятно, является потомками одной предковой формы, существовавшей не менее 28–30 млн лет назад. Эта дата соответствует достоверному возрасту озера, как непрерывно существующему во времени относительно глубоководному водоему. Сходные результаты получили и наши коллеги, работающие с другими группами байкальских организмов. В целом же можно резюмировать, что организмы, которые медленно перемещаются по дну и в течение всего жизненного цикла никогда от него не отрываются, оказались относительно «молодыми» по сравнению с возрастом Байкала.

Можно предположить, что около 3–4 млн лет назад на озере происходили какие-то катастрофические явления, достаточно частые. И ползающие виды попадали под «удары» среды, которых свободноплавающие амфиподы смогли избежать. А обитатели дна пострадали, от них остались отдельные «островки», которые и дали затем начало новым группам и видам.

Одни и те же события — модели — можно описать как набором дифференциальных уравнений, так и набором конкретных «судеб»

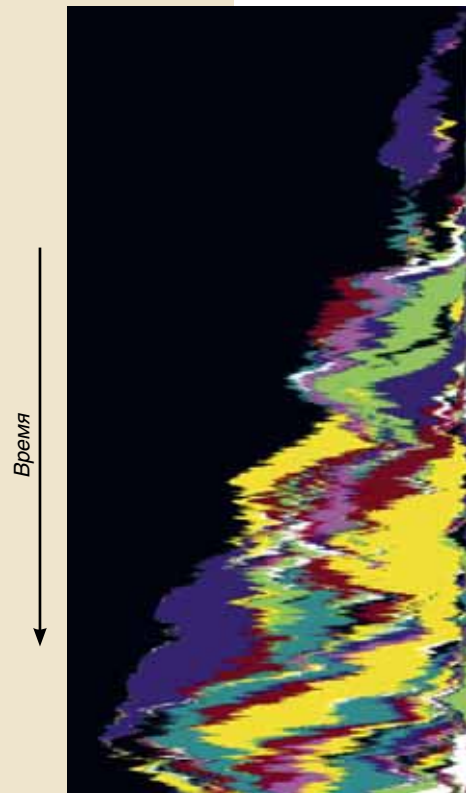
ПАРАД МОДЕЛЕЙ

Когда мы, наконец, получили эту картину, нам захотелось в ней разобраться основательнее, поскольку прелесть каждой истории — в деталях. Ведь подход, который был использован — сугубо молекулярный — дает только канву, факты. Более точно — последовательность эволюционных событий. Это сравнимо с набором улики, с которым сталкиваются следователи. А потом необходимо задействовать и «серое вещество», чтобы самому понять и убедить судью в своей правоте.

К счастью, к концу 90-х годов появились мощные компьютеры. Наряду с молекулярной биологией развивались *биоинформатика* и *математическая биология*. Биоинформатики идентифицируют и сравнивают гены в геномах разных организмов, матбиологи — строят модели. Однако главная проблема для классических биологов — в применимости результатов, полученных в рамках этих дисциплин, к своей работе. Молекулярный систематик, например, видит живой мир через «лес» эволюционных деревьев. И совместить такую «картину» мира с математическими кривыми, прослеживающимися во времени и пространстве судьбы совершенно неизмеримых величин типа «обобщенной индивидуальной приспособленности», далеко не просто. Наша дальнейшая работа была попыткой объединения этих областей знания, построения своеобразного биолого-математического альянса. И математика в этом случае послужила инструментом *понимания*, каковым она и являлась изначально.

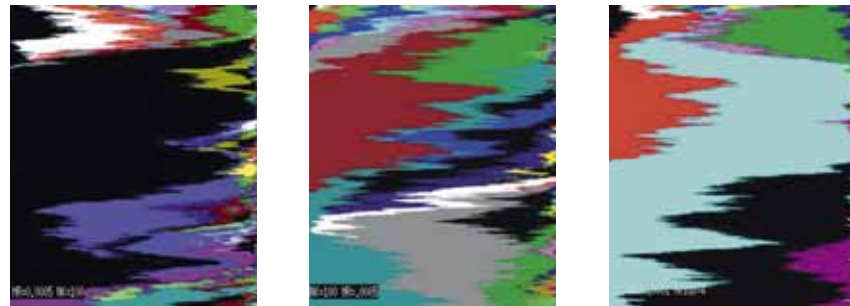
Приглянувшийся нам подход называется «Индивидуально ориентированное моделирование». В принципе, одни и те же события — модели — можно описать как набором *дифференциальных уравнений*, вид которых привычен для всех математиков, так и набором *конкретных судеб*. Похоже на компьютерную игру: машину заселяют животными, обладающими рядом свойств, и как бы «отпускают их на волю» Они конкурируют между собой, умирают от голода, размножаются, передают потомству свои гены, которые проходят через ряды поколений и ряды случайных встреч. А по пути гены мутируют.

Для примера вспомним о наших *люмбрикулидах* и *байкалидах*: по сути, это организмы, живущие на глубине 20 метров, в полосе шириной 15 метров, т. е. узкой замкнутой ленте, опоясывающей озеро. Они ползают, грубо говоря, по кругу: родились, поползли, определились, с кем поделиться генами (если повезло, и на этом пути им было что поесть, да и самих не съели). А для наших целей в эти компьютерные

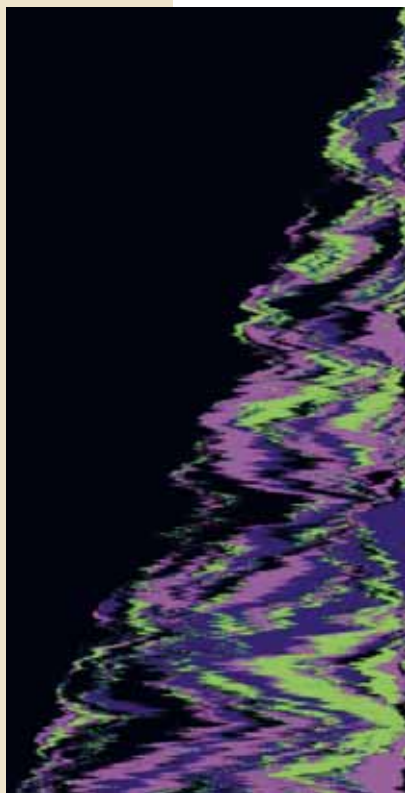


модели мы добавили возможность нейтральной эволюции генов, т. е. строили молекулярные часы.

Сначала был создан программный аппарат, который приводит результаты этих моделей к виду, идентичному экспериментальным данным, получаемым молекулярными биологами и экологами. Далее, на основе сведений о реальных преобразованиях нашей экосистемы стали



Результаты моделирования: эволюционная буря в компьютерной «пробирке». Каждая горизонтальная линия — поколение, каждая точка — индивидуум. Время течет «сверху вниз». Особи с одинаковым генотипом показаны одним цветом, мутировавшие — контрастными цветами



моделироваться те или иные обстоятельства, которые могли привести к современному состоянию биоразнообразия. Сейчас наша модель обладает определенной предсказательной силой: имея свои данные, мы можем выбрать наиболее вероятный сценарий событий далекого прошлого. С утилитарной точки зрения модель хороша еще и тем, что позволяет спланировать объем работ и оценить затраты. Нелишне напомнить, что молекулярная систематика — дело хотя и рутинное, но дорогое, особенно в нашей, не самой лучшей ситуации.

Наша модель обладает предсказательной силой: на основе своих данных мы можем выбрать наиболее вероятный сценарий событий, происшедших в далеком прошлом

КАКОГО ВЫ ВИДА, СУДАРЬ?

Вопросы, которые можно задавать нашей модели относительно процессов видообразования, оказались достаточно интересными. Вообще, понять, что такое видообразование, непросто. Потому что с точки зрения данного поколения его вообще не существует. Возможно, среди человечества уже появились другие виды. Ното, но уже не *sapiens*. Может быть, они уже изолированы, но этого никто не замечает. Потенциально каждый из нас — новый вид. Но заметить это можно только через очень существенное число поколений. Считается, что в зависимости от конкретных механизмов процесс образования нового вида занимает от двух до ста тысяч лет.

Возможно, среди человечества уже появились другие виды. Ното, но уже не *sapiens*. Потенциально каждый из нас — новый вид

Смоделировать процессы такого «ураганного» образования, которое наблюдалось на Байкале — достаточно большая проблема. А чтобы оценить адекватность подобной модели реальным событиям, приходится привлекать самые разные данные. Например, по древним африканским озерам, которые даже географически

очень напоминают Байкал. И глобальные изменения климата должны были, хотя и по-разному, одновременно на них повлиять.

Игра с моделями — вещь увлекательная. Достаточно простыми моделями удается объяснить такие удивительные вещи, как, например, явление *партеногенеза*, при котором вид отказывается от полового размножения. А еще есть интереснейшая проблема *коэволюции* (совместной эволюции) хищника и жертвы, когда у видов идет настоящая «гонка вооружений». Да мало ли еще других малоизученных проблем и нерешенных вопросов могут найти любознательные натуры на древнейшем и глубочайшем Озере, на котором божьим созданием просто «несть числа».

Результаты индивидуально ориентированного моделирования. В центре — эволюционное древо, построенное обычными методами для «ДНК», «извлеченной» из точек — организмов. Эволюция организмов изображена слева в виде траекторий эволюционных «линий», демографическая история популяции — справа

