ИНФОРМАЦИОННЫЙ
ВЕСТНИК
ВОГиС
ОСНОВАН В 1997 г.

Том 14
1
март 2010

Содержание

РЕШЕНИЕ V СЪЕЗДА ВОГиС 5

ПРОФЕССОР ИЯ ИВАНОВНА КИКНАДЗЕ. К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И К 55-ЛЕТИЮ НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
И.К. Захаров, Н.А. Колчанов, В.К. Шумный 12

THE KARYOTYPE OF *CHIRONOMUS ULIGINOSUS* KEYL (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
I.I. Kiknadze, A.G. Istomina, W.F. Wülker, H.J. Vallenduuk 22

ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОФОНДОВ ВИДОВ РОДА *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ГОЛАРКТИКЕ
Л.И. Гундерина, И.И. Кикнадзе 31

REARRANGEMENTS IN CHIRONOMIDAE (DIPTERA) GENOMES INDUCED BY VARIOUS ENVIRONMENTAL STRESS FACTORS
P.V. Michailova 43

ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ДИВЕРГЕНЦИЯ КАРИОТИПОВ ХИРОНОМИД РОДА *SERGENTIA* KIEFF. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
В.И. Провиз 55

A PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE CHANGE IN GENOMIC LOCATION OF THE SEX DETERMINING REGION IN THE GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA: CHIRONOMIDAE)
J. Martin 62

МОРФОЛОГИЯ ЛИЧИНКИ, СТРУКТУРА КАРИОТИПА И ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ХИРОНОМИДЫ ИЗ ЮЖНО-АФРИКАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
Н.А. Петрова, С.В. Жиров 70

АХИАЗМАТИЧЕСКИЙ МЕЙОЗ: ОБЗОР
В.Г. Кузнецова, С. Грозева 79

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПАРИВАНИЯ И РЕКОМБИНАЦИИ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ ПОЛЕВОК РОДА *MICROTUS* (ARVICOLINAE, RODENTIA)
П.М. Бородин, Е.А. Башева, Ф.Н. Голенищев, О.А. Дашкевич, И.Н. Картавцева, М.А. Потапов, Г.Р. Сакаева, А.А. Торгашева, Л.В. Фрисман 89

АНАЛИЗ *IN SILICO* СТРУКТУРНОЙ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РАЗЛИЧИЙ СОМАТИЧЕСКИХ И МЕЙОТИЧЕСКИХ ФОРМ КОГЕЗИНОВ SCC3/SA/STAG
Т.М. Гришаева, С.Я. Дадашев, Ю.Ф. Богданов 96

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ СИСТЕМЫ ANDCell ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ И АНАЛИЗА АССОЦИАТИВНЫХ СЕТЕЙ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЗАИМОСВЯЗИ МИОПИИ И ГЛАУКОМЫ
О.А. Подколодная, Е.Э. Яркова, П.С. Деменков, О.С. Коновалова, В.А. Иванисенко, Н.А. Колчанов 106

РЕДКОЕ СОЧЕТАНИЕ ДВУХ НОВЫХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ИНТРОНЕ 16 ГЕНА РЕЦЕПТОРА РИАНОДИНА *RYR1* У СВИНЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ПОРОДЫ
Н.С. Юдин, С.П. Князев, Р.Б. Айтназаров, И.В. Куликов, В.Ф. Кобзев, Е.В. Игнатьева, С.В. Никитин, В.И. Ермолаев 116

НОВАЯ ФОРМА МИСКАНТУСА КИТАЙСКОГО (ВЕЕРНИКА КИТАЙСКОГО *MISCANTHUS SINENSIS* ANDERS.) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ
В.К. Шумный, С.Г. Вепрев, Н.Н. Нечипоренко, Т.Н. Горячковская, Н.М. Слынько, Н.А. Колчанов, С.Е. Пельтек 122

ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ, НЕСУЩИХ ГЕНЫ АЦИЛ-ЛИПИДНЫХ ДЕСАТУРАЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ
И.М. Герасименко, Л.А. Сахно, И.С. Головач, Е.М. Кищенко, Я.Р. Синдаровская, Х.Р. Шимшилашвили, Ю.В. Шелудько, И.В. Голденкова-Павлова 127

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ Т-ДНК-ВСТРОЙКИ У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ЛИНИИ NU 21
Д.Б. Логинова, В.К. Шумный, Е.В. Дейнеко 134

ВКЛАД ГЕНОТИП-СРЕДОВЫХ ЭФФЕКТОВ В ФОРМИРОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ИНБРЕДНЫХ И АУТБРЕДНЫХ РАСТЕНИЙ
В.В. Сюков, Е.В. Мадякин, Д.В. Кочетков 141

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ПРОЯВЛЕНИИ ГЕТЕРОЗИСА
Е.В. Мадякин, В.В. Сюков 148

ТЕТРАПЛОИДНАЯ РОЖЬ: ЭНДОГЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПСЕВДОСОВМЕСТИМОСТИ
И.С. Попова, В.К. Шумный 155

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ РОЗОВОЦВЕТКОВОЙ КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.) В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ
С.О. Батурин, Л.Л. Кузнецова 165

100 ЛЕТ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА ДМИТРИЯ ФЁДОРОВИЧА ПЕТРОВА
И.К. Захаров 172

ПУТЬ ТВОРЧЕСКИЙ ТЕРНИСТ (К 120-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА ЕВГЕНИИ НИКОЛАЕВНЫ СИНСКОЙ)
А.А. Филатенко 185

THE HERALD
OF VAVILOV SOCIETY
FOR GENETICISTS AND
BREEDING SCIENTISTS

Vol. 14
1
March 2010

THE HERALD VAVILOV SOC. GENET. BREED. SCI.

Content

DECISION OF THE V CONGRESS OF VAVILOV SOCIETY FOR GENETICISTS AND BREEDING SCIENTISTS 5

PROFESSOR IYA IVANOVNA KIKNADZE. 80 YEARS ANNIVERSARY OF THE BIRTH AND 55 YEARS ANNIVERSARY OF SCIENTIFIC AND PEDAGOGICAL ACTIVITY
I.K. Zakharov, N.A. Kolchanov, V.K. Shumny 12

THE KARYOTYPE OF *CHIRONOMUS ULIGINOSUS* KEYL (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
I.I. Kiknadze, A.G. Istomina, W.F. Wülker, H.J. Vallenduuk 22

EVOLUTION OF BANDING SEQUENCE POOLS IN SPECIES OF THE GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) IN HOLARCTIC
L.I. Gunderina, I.I. Kiknadze 31

REARRANGEMENTS IN CHIRONOMIDAE (DIPTERA) GENOMES INDUCED BY VARIOUS ENVIRONMENTAL STRESS FACTORS
P.V. Michailova 43

INVERSION POLYMORPHISM AND KARYOTYPE DIVERGENCE IN THE GENUS *SERGENTIA* KIEFF. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)
V.I. Proviz 55

A PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE CHANGE IN GENOMIC LOCATION OF THE SEX DETERMINING REGION IN THE GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA: CHIRONOMIDAE)
J. Martin 62

LARVA MORPHOLOGY, KARYOTYPE STRUCTURE, AND INVERSION POLYMORPHISM IN A CHIRONOMID FROM THE REPUBLIC OF SOUTH AFRICA (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) 70
N.A. Petrova, S.V. Zhirov .....

ACHIASMATIC MEIOSIS: A REVIEW
V.G. Kuznetsova, S. Grozeva 79

IMMUNOFLUORESCENCE AND ELECTRON MICROSCOPIC ANALYSIS OF MEIOTIC CHROMOSOME PAIRING AND RECOMBINATION IN FOUR SPECIES OF VOLES (GENUS *MICROTUS*; ARVICOLINAE, RODENTIA)
P.M. Borodin, E.A. Basheva, F.N. Golenischev, O.A. Dashkevich, I.N. Kartavtseva, M.A. Potapov, G.R. Sakaeva, A.A. Torgasheva, L.V. Frisman 89

***IN SILICO* ANALYSIS OF THE STRUCTURAL BASE OF FUNCTIONAL DIFFERENCES BETWEEN SOMATIC AND MEIOTIC FORMS OF COHESINS SCC3/SA/STAG**
T.M. Grishaeva, S.Ya. Dadashev, Yu.F. Bogdanov 96

APPLICATION OF THE ANDCell COMPUTER SYSTEM TO RECONSTRUCTION AND ANALYSIS OF ASSOCIATIVE NETWORKS DESCRIBING POTENTIAL RELATIONSHIPS BETWEEN MYOPIA AND GLAUCOMA
O.A. Podkolodnaya, E.E. Yarkova, P.S. Demenkov, O.S. Konovalova, V.A. Ivanisenko, N.A. Kolchanov 106

A RARE COMBINATION OF TWO NEW SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN INTRON 16 OF THE *RYR1* GENE IN THE KEMEROVO PIG BREED
N.S. Yudin, S.P. Knyazev, R.B. Aitnazarov, I.V. Kulikov, V.F. Kobzev, E.V. Ignatieva, S.V. Nikitin, V.I. Ermolaev 116

A NEW VARIETY OF CHINESE SILVER GRASS (*MISCANTHUS SINENSIS* ANDERS.) IS A PROMISING SOURCE OF CELLULOSIC MATERIAL
V.K. Shumny, S.G. Veprev, N.N. Nechiporenko, T.N. Goryachkovskaya, N.M. Slynko, N.A. Kolchanov, S.E. Peltek 122

RAISE OF PLANTS POSSESSING GENES FOR ACYL-LIPID DESATURASES FROM THE CYANOBACTERIA
I.M. Gerasymenko, L.O. Sakhno, I.S. Golovach, O.M. Kishchenko, Y.R. Sindarovska, C.R. Shimshilashvili, Y.V. Sheludko, I.V. Goldenkova-Pavlova 127

FEATURES OF T-DNA INSERT ORGANIZATION IN TRANSGENIC TOBACCO-PLANTS, LINE NU 21
D.B. Loginova, V.K. Shumny, E.V. Deineko 134

THE CONTRIBUTION OF GENOTYPE-ENVIRONMENTAL EFFECTS TO THE FORMATION OF QUANTITATIVE TRAITS IN INBRED AND OUTBRED PLANTS
V.V. Syukov, E.V. Madyakin, D.V. Kochetkov 141

EPIGENETIC EFFECTS IN HETEROSIS
E.V. Madyakin, V.V. Syukov 148

TETRAPLOID RYE: ENDOGENOUS PSEUDOCOMPATIBILITY VARIABILITY
I.S. Popova, V.K. Shumny 155

ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES OF BREEDING PINK FLOWERING GARDEN STRAWBERRY (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.) IN WESTERN SIBERIA
S.O. Baturin, L.L. Kuznetsova 165

TOWARDS 100 YEARS BIRTH ANNIVERSARY OF PROFESSOR DMITRY FYODOROVICH PETROV
I.K. Zakharov 172

THE THORNY PATH OF CREATION (120 YEARS ANNIVERSARY OF THE BIRTH OF PROFESSOR EUGENIYA NIKOLAEVNA SINSKAYA)
A.A. Filatenko 185

РЕШЕНИЕ

Объединенного Съезда генетиков и селекционеров России, посвященного 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина, и Пятого съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров

Москва, 21–28 июня 2009 г.

В работе Съезда приняли участие 573 человека – представители региональных отделений ВОГиС России, в том числе:

6 действительных членов и 4 члена-корреспондента РАН,

6 действительных членов и 2 члена-корреспондента РАСХН,

4 действительных члена РАМН,

154 доктора и 152 кандидата наук.

В Съезде также участвовали ученые из Азербайджана, Беларуси, Казахстана, Литвы, Узбекистана, Украины.

На Съезде прошло 2 пленарных и 14 симпозиальных заседаний, состоялось 4 вечерних лекции и 3 заседания Круглого стола, на которых были рассмотрены актуальные проблемы генетики и селекции, биоинформатики, биоинженерии и биотехнологии, их современное состояние и перспективы дальнейшего развития.

Доклады и стендовые сообщения научной программы Съезда продемонстрировали крупные достижения теоретической и прикладной науки по широкому спектру направлений. Несмотря на сложную экономическую ситуацию, продолжаются интенсивные исследования в институтах РАН, РАМН и РАСХН, на основе которых разрабатываются принципиально новые подходы и прогрессивные технологии для решения практических проблем здравоохранения и сельского хозяйства. Существует и полноценно функционирует широкая сеть генетико-селекционных станций и стационаров, где проводится большая работа по созданию и апробации новых сортов растений и пород животных.

По результатам конкурса работ молодых ученых, объявленного оргкомитетом Съезда, победители отмечены дипломами и награждены годовой подпиской на журналы «Информационный вестник ВОГиС» и «Экологическая генетика».

В рамках Съезда генетиков и селекционеров России прошел, согласно Уставу, Пятый Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС).

На делегатском собрании, состоявшемся 26.06.2009 г., присутствовали 76 делегатов. На собрании был заслушан отчетный доклад Центрального совета ВОГиС, представленный Президентом ВОГиС академиком РАН В.К. Шумным, сообщения председателей ряда региональных отделений, проведена дискуссия по отчетному докладу.

Съезд отмечает, что за отчетный период происходили совершенствование научно-организационной деятельности ВОГиС, поиск новых форм его работы. В настоящее время активно работают 22 региональных отделения ВОГиС; в состав ВОГиС в качестве коллективного члена влилось Российское общество медицинских генетиков. Общая численность ВОГиС составляет, около 2900 членов.

Одной из важных форм работы ЦС ВОГиС было проведение совместных пленумов ЦС ВОГиС и Научного совета по генетике и селекции РАН, на которых заслушивали и обсуждали как научные доклады по современным проблемам генетики и селекции, так и информацию из региональных отделений, а также организационные вопросы, регламентирующие деятельность Общества.

С участием ЦС ВОГиС регулярно проводились всероссийские и международные научные мероприятия. Большое внимание уделялось взаимодействию ВОГиС с РАН, РАСХН, РАМН и вузами. Проводились «Вавиловские чтения» и Школы молодых ученых по актуальным на-

правлениям современной генетики, селекции, биоинформатики, биотехнологии.

ЦС ВОГиС активно участвовал в научно-издательской деятельности. Важным достижением отчетного периода явилось включение официального издания ВОГиС – журнала «Информационный вестник ВОГиС», который издается на базе Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск), и журнала «Экологическая генетика» (г. Санкт-Петербург) в список ВАК.

Ревизионная комиссия в своих выводах признала деятельность ЦС ВОГиС полностью соответствующей Уставу ВОГиС и констатировала правильность ведения финансовой отчетности и документации ЦС ВОГиС.

Место проведения очередного, 6-го, съезда ВОГиС будет определено на одном из ближайших пленумов ЦС ВОГиС с учетом предложений, высказанных участниками делегатского собрания.

Съезд избрал Президента, Центральный совет и ревизионную комиссию.

Президентом ВОГиС вновь избран академик РАН В.К. Шумный.

В состав Центрального совета ВОГиС вошли 60 человек (Приложение 1).

Ревизионная комиссия избрана в составе 6 человек (Приложение 2).

На основании проделанной работы Съезд постановляет:

1. Одобрить работу Центрального совета ВОГиС за отчетный период.

2. Рекомендовать ЦС ВОГиС более эффективно взаимодействовать с комитетами по науке и образованию законодательных органов и близкими по профилю ведомствами: РАН, РАСХН, РАМН, Минобрнауки, Минсельхоз, Минздрав.

3. Расширить контакты между ВОГиС и другими научными обществами: медицинских генетиков, биохимиков, биотехнологов и др., участвуя в организации и проведении совместных мероприятий.

4. Учитывая положительный опыт и высокую результативность совместных пленумов ЦС ВОГиС и Научного совета по генетике и селекции РАН, расширить их за счет участия профильных научных советов РАСХН и РАМН.

5. Содействовать укреплению международного сотрудничества генетиков и селекционеров стран ближнего зарубежья. С этой целью восстановить и поддерживать двухсторонние связи с генетическими и селекционными обществами стран СНГ, направленные на создание Международной ассоциации обществ генетиков и селекционеров СНГ.

6. Предпринять необходимые меры, направленные на активизацию членства ВОГиС в Международной генетической федерации, предполагающие возможность своевременной уплаты членских взносов.

7. Центральному совету ВОГиС продолжить практику создания региональных отделений ВОГиС в городах России, в которых имеются научные организации генетического профиля и селекционные центры, а также вузы с преподаванием генетики.

8. Признать эффективными и усилить такие формы деятельности, как семинары ВОГиС, конференции по направлениям, школы молодых ученых.

9. Усилить деятельность ВОГиС в образовательной сфере, начиная со средней школы; активизировать усилия членов ВОГиС для написания учебников, учебных пособий и создания иллюстративных материалов, уделяя особое внимание системе генетических понятий и правилам словоупотребления русского языка.

10. Повысить эффективность работы с молодежью, организуя школы по генетике и селекции, обращаясь с просьбой об их финансовой поддержке в РФФИ, РАН, РАМН, РАСХН и другие организации. Рекомендовать региональным отделениям рассмотреть возможность учреждения стипендий имени выдающихся биологов.

11. Рекомендовать региональным отделениям оперативно взаимодействовать с ЦС ВОГиС для более эффективных контактов и координации деятельности.

12. Центральному совету ВОГиС продолжить работу по созданию единого информационного пространства ВОГиС на основе использования средств электронных коммуникаций.

13. Совершенствовать издательскую деятельность ВОГиС прежде всего через «Информационный вестник ВОГиС». В этих целях изменить его название на «Вавиловский журнал генетики и селекции», улучшив качество и структуру публикуемых материалов.

14. Организовать в региональных отделениях ВОГиС подписку на журналы «Информационный вестник ВОГиС» и «Экологическая генетика», что позволит сохранить их в перечне ВАК.

15. Поставить перед СО РАН вопрос о включении журнала «Информационный вестник ВОГиС» в список журналов, издаваемых в СО РАН, и придании ему статуса академического издания.

16. Продолжить работу по освещению истории российской генетики и селекции через информационные возможности ВОГиС, СМИ, ТВ, радио, издания РАН, РАСХН, РАМН.

17. Посвятить один из объединенных Пленумов ЦС ВОГиС и Научного совета по генетике и селекции РАН проблеме генетических коллекций и их состоянию в стране.

18. Активизировать работу по пропаганде и внедрению методов генетики и селекции в лесное хозяйство. Обсудить возможные пути решения этой проблемы на совместном Пленуме ЦС ВОГиС и Научного совета по генетике и селекции РАН.

19. Утвердить при ЦС ВОГиС уставную комиссию, возложив на нее внесение корректив в текст Устава с последующим его утверждением на Съезде ВОГиС.

20. Учредить звание почетного члена ВОГиС.

21. ЦС ВОГиС опубликовать отчет президента ВОГиС и решение V съезда ВОГиС в журналах «Информационный вестник ВОГиС», «Генетика» и на Интернет-сайте ЦС ВОГиС.

Приложение 1

Состав ЦС ВОГиС, избранного на V Съезде ВОГиС (Москва, июнь 2009 г.)

ПРЕЗИДЕНТ:

Шумный Владимир Константинович, академик РАН, советник РАН (г. Новосибирск)

ВИЦЕ-ПРЕЗИДЕНТЫ:

1. **Янковский** Николай Казимирович, член-корреспондент РАН, Институт общей генетики РАН (г. Москва) – 1-й вице-президент
2. **Гинтер** Евгений Константинович, академик РАМН, ГУ МГНЦ РАМН (г. Москва)
3. **Жученко** Александр Александрович, академик РАСХН, ТСХА (г. Москва)
4. **Инге-Вечтомов** Сергей Георгиевич, академик РАН, СПб НЦ РАН, Санкт-Петербургский ГУ (г. Санкт-Петербург)
5. **Колчанов** Николай Александрович, академик РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
6. **Тихонович** Игорь Анатольевич, академик РАСХН, ВНИИСХМ РАСХН (г. Санкт-Петербург)

ПРЕЗИДИУМ:

1. **Бочков** Николай Павлович, академик РАМН, ГУ МГНЦ РАМН (г. Москва)
2. **Жимулев** Игорь Федорович, академик РАН, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск)
3. **Захаров-Гезехус** Илья Артемьевич, член-корреспондент РАН, советник РАН, Институт общей генетики РАН (г. Москва)
4. **Левитин** Марк Михайлович, академик РАСХН, Всероссийский НИИ защиты растений РАСХН (г. Санкт-Петербург)
5. **Платонов** Евгений Семенович, доктор биологических наук, профессор, Институт общей генетики РАН (Москва)
6. **Пузырев** Валерий Павлович, академик РАМН, Институт медицинской генетики РАМН (г. Томск)

7. **Скрябин** Константин Георгиевич, академик РАН, академик РАСХН, Центр «Биоинженерия» РАН (г. Москва)

8. **Хуснутдинова** Эльза Камилевна, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент АН РБ, Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (г. Уфа)

9. **Шестаков** Сергей Васильевич, академик РАН, МГУ (г. Москва)

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Фурман Дагмара Павловна, доктор биологических наук, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

ЧЛЕНЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО СОВЕТА:

1. **Арнаутова** Галина Ивановна, кандидат биологических наук, Дагестанский ГУ (г. Махачкала)

2. **Барабанщиков** Борис Иванович, доктор биологических наук, профессор, Казанский ГУ (г. Казань)

3. **Баранов** Владислав Сергеевич, член-корреспондент РАМН, Институт акушерства и гинекологии РАМН им. Д.О. Отта (г. Санкт-Петербург)

4. **Бебуров** Михаил Юрьевич, кандидат биологических наук, ВНИИ «Генетика» (г. Москва)

5. **Беспалова** Людмила Андреевна, академик РАСХН, Краснодарский НИИ сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко РАСХН (г. Краснодар)

6. **Болгов** Анатолий Ефремович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Петрозаводский ГУ (г. Петрозаводск)

7. **Бородин** Павел Михайлович, доктор биологических наук, профессор, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

8. **Гвоздев** Владимир Алексеевич, академик РАН, Институт молекулярной генетики РАН (г. Москва)

9. **Голденкова-Павлова** Ирина Васильевна, доктор биологических наук, Институт общей генетики РАН (г. Москва)

10. **Дебабов** Владимир Георгиевич, член-корреспондент РАН, академик РАСХН, ФГУП ГосНИИгенетика (г. Москва)

11. **Джигадло** Елизавета Николаевна, доктор сельскохозяйственных наук, ВНИИ селекции плодовых культур РАСХН (г. Орел)

12. **Дзюбенко** Николай Иванович, доктор биологических наук, профессор, ГНУ «Государственный научный центр Российской Федерации Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И.Вавилова РАСХН (г. Санкт-Петербург)

13. **Зайнуллин** Владимир Габдуллович, доктор биологических наук, Институт биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар)

14. **Зеленский** Григорий Леонидович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Кубанский государственный аграрный университет (г. Краснодар)

15. **Зинченко** Владислав Владимирович, доктор биологических наук, профессор, МГУ (г. Москва)

16. **Иванов** Владимир Петрович, доктор медицинских наук, профессор, ГОУ ВПО Курский государственный медицинский университет (г. Курск)

17. **Ижевская** Вера Леонидовна, доктор медицинских наук, МГНЦ РАМН (г. Москва)

18. **Ирошников** Анатолий Ильич, доктор сельскохозяйственных наук, НИИ лесной генетики и селекции РАСХН (г. Воронеж)

19. **Каньшина** Маина Владимировна, доктор сельскохозяйственных наук, ГНУ ВНИИ люпина РАСХН (г. Брянск)

20. **Картавцев** Юрий Федорович, доктор биологических наук, Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (г. Владивосток)

21. **Костров** Сергей Викторович, член-корреспондент РАН, Институт молекулярной генетики РАН (г. Москва)

22. **Кудрявцев** Александр Михайлович, доктор биологических наук, Институт общей генетики РАН (г. Москва)

23. **Лисицын** Евгений Михайлович, доктор биологических наук, ГНУ Зональный НИИ сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого РАСХН (г. Киров)

24. **Политов** Дмитрий Владиславович, доктор биологических наук, Институт общей генетики РАН (г. Москва)

25. **Прохорова** Инна Мечиславовна, кандидат биологических наук, Ярославский ГУ (г. Ярославль)

26. **Рубцов** Николай Борисович, доктор биологических наук, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

27. **Рысков** Алексей Петрович, доктор биологических наук, Институт биологии развития РАН (г. Москва)

28. **Савватеева-Попова** Елена Владимировна, доктор биологических наук, Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН (г. Санкт-Петербург)

29. **Савельев** Николай Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАСХН, Всероссийский НИИ генетики и селекции плодовых растений им. И.В.Мичурина РАСХН (г. Мичуринск)

30. **Свердлов** Евгений Давидович, академик РАН, Институт молекулярной генетики РАН (г. Москва)

31. **Серов** Олег Леонидович, доктор биологических наук, профессор, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

32. **Соловьев** Александр Александрович, доктор биологических наук, РГФУ МСХА им. Тимирязева (г. Москва)

33. **Стегний** Владимир Николаевич, доктор биологических наук, профессор, Томский ГУ (г. Томск)

34. **Сюков** Валерий Владимирович, доктор биологических наук, ГНУ Самарский НИИ сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова РАСХН (г. Самара)

35. **Трофимов** Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор, Мордовский ГУ им. Н.П. Огарева (г. Саранск)

36. **Тырнов** Валерий Степанович, доктор биологических наук, профессор, Саратовский ГУ (г. Саратов)

37. **Харитонов** Евгений Михайлович, академик РАСХН, Всероссийский научно-исследовательский институт риса (г. Краснодар)

38. **Чумакова** Вера Владимировна, кандидат сельскохозяйственных наук, Ставропольский НИИ сельского хозяйства РАСХН (г. Ставрополь)

39. **Чураев** Рустэм Нурович, доктор биологических наук, профессор, Институт биологии УНЦ РАН (г. Уфа)

40. **Шавнин** Сергей Александрович, доктор биологических наук, Ботанический сад УрО РАН (г. Екатеринбург)

41. **Шкурат** Татьяна Павловна, доктор биологических наук, профессор, НИИ биологии Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону)

ПОЧЕТНЫЕ ЧЛЕНЫ ЦС:

1. **Иванов** Владимир Ильич, академик РАМН, ГУ МГНЦ РАМН (г. Москва)

2. **Картамышев** Владимир Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, ГНУ Донская опытная станция масличных культур им. Л.А. Жданова (г. Ростов-на Дону)

Приложение 2

Состав Ревизионной комиссии, избранной на V Съезде ВОГиС (г. Москва, июнь 2009 г.)

1. **Абилев** Серикбай Каримович, доктор биологических наук, Институт общей генетики (г. Москва)
2. **Гончаров** Николай Петрович, доктор биологических наук, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
3. **Лутова** Людмила Алексеевна, доктор биологических наук, Санкт-Петербургский ГУ (г. Санкт-Петербург)
4. **Салина** Елена Артемовна, доктор биологических наук, Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)
5. **Фаворова** Ольга Олеговна, доктор биологических наук, профессор, Российский государственный медицинский университет (г. Москва)
6. **Фесенко** Николай Валерьянович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ГНУ ВНИИ зернобобовых культур РАСХН (г. Орел)

Тематический раздел настоящего номера журнала “Информационный вестник ВОГиС” посвящен 80-летию доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Ие Ивановне Кикнадзе.

Ее работы в области цитологии/клеточной биологии, цитогенетики, кариосистематики, сравнительной и эволюционной геномики хирономид хорошо известны у нас в стране и за рубежом.

ПРОФЕССОР ИЯ ИВАНОВНА КИКНАДЗЕ. К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И К 55-ЛЕТИЮ НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Кикнадзе Ия Ивановна – крупный специалист в области цитологии/клеточной биологии, цитогенетики, кариосистематики, сравнительной и эволюционной геномики хирономид.

9 февраля 2010 г. исполнилось 80 лет доктору биологических наук, профессору, заслуженному деятелю науки РФ Ие Ивановне Кикнадзе, одному из старейших сотрудников Института цитологии и генетики СО АН СССР/СО РАН и профессоров Новосибирского государственного университета. В 2010 г. отмечается также 55 лет ее научной деятельности, из них 3 года в Ленинграде (в лаборатории цитологии Зоологического института АН СССР, преобразованной затем в Институт цитологии АН СССР, 52 года (с января 1958 г.) в Новосибирске, в Институте цитологии и генетики СО РАН, из них заведовала лабораторией 32 года (с 1962 по 1994 гг.) и столько же – 32 года – по совместительству – в НГУ (1963–1986).

В России И.И. Кикнадзе является основателем научного направления – функциональной организации хромосом и дифференциальной активности генов у двукрылых. На модели политенных хромосом ею разработаны основные положения функциональной организации интерфазных хромосом и понятия о хромомерах как их структурно-функциональных единицах. Под ее руководством проведен анализ функции пуфов, определен генетический контроль синтеза тканеспецифических секреторных белков. Впервые проведена микродиссекция диска, кодирующего гены тканеспецифического кольца Бальбиани, изучена молекулярная структура генов кольца Бальбиани, впервые описаны мобильные элементы у хирономид. Впервые изучен цитогенетический контроль ультраструктурной организации клеток слюнных желез хирономид при индуцированной репрессии и экспрессии генов, что легло в основание оригинальной гипотезы периодического репрограммирования геномов. Работы по созданию цитофотокарт высокой степени разрешения политенных хромосом хирономид позволили ввести их в число видов для изучения эволюционных преобразований геномов и в разряд модельных объектов для изу-

С мамой Антониной Александровной Решетниковой. 24.07.1936 г.

Окончание школы, 1947 г. С папой Иваном Васильевичем Балакиным.

чения генетических последствий антропогенных воздействий на живые организмы. В частности, эти разработки широко использовались при оценке радионуклидных загрязнений среды в комплексных программах: «Отдаленные последствия радиационного воздействия ядерных испытаний на Семипалатинском полигоне на население Алтайского края» и «Изучение генетических последствий испытаний ядерного оружия на Семипалатинском полигоне в Казахстане для популяций растений и животных». Под руководством И.И. Кикнадзе разработана инверсионная геномика хирономид, основанная на глобальном анализе полиморфизма последовательностей дисков (генов) политенных хромосом на разных континентах (Евразия, Северная и Южная Америка, Африка, Австралия). Определены возможные анцестральные последовательности

Студенческое общежитие ЛГУ, Мытнинская набережная, комн. 28, 1948 г.
Слева направо: 1-й ряд – Балакина Ика (Кикнадзе), Покровская Вика (Мухина). 2-й ряд – Панова Ляля (Филиппова), Морозова Тамара, Цивилева Луиза (Козлова), Морозова Аля, Панфилова Таня.

дисков в каждом из хромосомных плеч генома (примитивного кариотипа). Совместно с сотрудниками Института математики СО РАН впервые построены филогенетические деревья для рода *Chironomus* на базе инверсионного полиморфизма 5 хромосомных плеч и реконструирована цитогенетическая история рода.

И.И. Кикнадзе были впервые получены экспериментальные доказательства отсутствия эндомитоза при соматической полиплоидизации клеток, что позволило провести ревизию гипотезы эндомитоза. Работы И.И. Кикнадзе посвящены изучению функциональной организации хромосом и дифференциальной активности генов. Она является основателем этого направления в России. Ей принадлежит первая монография, обобщающая результаты работ в этой области, «Функциональная организация политенных хромосом». На модели политенных хромосом хирономид ею разработаны основные положения функциональной организации интерфазных хромосом и сформулировано представление о хромомерах как их структурно-функциональных единицах.

В ИЦиГ СО АН СССР Ией Ивановной были начаты работы по изучению интерфазных хромосом, хромомер и ядрышек. Совместно с Е.С. Беляевой было доказано, что ядрышко является транскрипционно-активным участком интерфазной хромосомы.

Ею развито представление о пуфинге как основе дифференциальной транскрипции генов, описаны спектр и динамичность пуфов на основных стадиях развития хирономид. Под ее руководством был проведен анализ функционального значения пуфов тканеспецифической функции, определен генетический контроль синтеза тканеспецифических секреторных белков. Впервые был изучен цитогенетический контроль ультраструктурной организации клеток слюнных желез хирономид при индуцированной репрессии и индукции генов, что легло в основание оригинальной гипотезы периодического репрограммирования геномов.

Еще одно направление исследований коллектива, руководимого И.И. Кикнадзе с 1980-х гг., – изучение молекулярно-цитологической организации специфических районов эукариотических

25-летний юбилей лаборатории общей цитологии ИЦиГ СО АН СССР.

Слева направо сидят: Т.Я. Лернер, Н.А. Резник, А.Д. Груздев, И.И. Кикнадзе, А.И. Шерудило, Г.П. Ямполь, Е.П. Копанцев; стоят: В.А. Кокоза, Е.П. Размахнин, Т.М. Панова, С.В. Масич, А.Г. Истомина, А.Г. Блинов, Л.И. Гундерина, Е.И. Каракин, Л.П. Захаренко, А.В. Катохин, Т.Е. Себелева, Н.Н. Колесников, О.Е. Лопатин.

В санатории «Узкое»: В.В. Хвостова и И.И. Кикнадзе.

хромосом, в том числе организация мультигенных локусов и их преобразование в процессе эволюции.

Работа по созданию цитофотокарт политенных хромосом хирономид позволила И.И. Кикнадзе и ее коллегам ввести хирономид в число видов для изучения эволюционных преобразований геномов и модельных объектов для оценки генетических последствий антропогенных воздействий на живые организмы. Многолетний мониторинг кариофондов природных популяций хирономид проводится в зонах вечной мерзлоты в Якутии совместно с Институтом экологии ЯАН.

Ия Ивановна Кикнадзе родилась в старинном купеческом городе Тюмени 9 февраля 1930 г. Родители – мать Антонина Ивановна Решетникова и отец Иван Васильевич Балакин – были служащими.

Детские и школьные годы Ия провела в Тюмени и никуда далее десяти верст не выезжала. Ия поступила в школу № 1, а заканчивала женскую школу № 25. В военное время Тюмень дала приют и пристанище не только эвакуированным промышленным предприятиям, сюда были вывезены многие вузы Москвы и других российских городов, например, персонал Московского медицинского института (и, как потом стало известно, именно здесь в годы Великой Отечественной войны хранилось тело В.И. Ленина). В городе шли постановки труппы МХАТ и других театров, что значительно изменило атмосферу в общем-то провинциального города. Столичная культурная среда формировала вкусы тюменцев. Это не могло не отразиться на их культурном «запросе» и прежде всего подростков. В 1947 г. после окончания школы с золотой медалью Ия уезжает в северную столицу поступать в Ленинградский государственный университет.

В 1952 г. Ия Ивановна с отличием оканчивает биолого-почвенный факультет университета с присвоением редкой для того времени специальности «дарвинист-генетик». Научно-исследовательская работа началась еще в студенчестве. Трудовую деятельность она начала в 1955 г. в Ленинграде: после окончания аспирантуры ее приняли на должность младшего научного сотрудника лаборатории цитологии Зоологического института АН СССР (1955–1956), (преобразованного в 1956 г. в Институт цитологии АН СССР). В 1952 г. она поступила в аспирантуру ЛГУ и в 1955 г., в год окончания аспирантуры, защитила кандидатскую диссертацию на тему «Динамика ДНК и РНК в овогенезе и в раннем дроблении у беспозвоночных». Научным консультантом И.И. Кикнадзе в ЛГУ и ЗИН был известный в Ленинграде цитолог Иван Иванович Соколов, который и потом многие годы для Ии Ивановны оставался советником и идеалом научной увлеченности и порядочности. В 1957 г. А.А. Прокофьева-Бельговская советует Ие Ивановне переехать в организующийся новосибирский Академгородок, в Институт цитологии и генетики СО АН СССР. Обещают дать жилье, интересную работу. Ие Ивановне, коренной сибирячке, не надо покорять Сибирь. В 1958 г. они с мужем, ботаником Георгием Сергеевичем Кикнадзе, и их маленькой дочерью Ириной переезжают в Новосибирск.

На ученом совете ИЦиГ: И.И. Кикнадзе и Р.Л. Берг.

В кабинете И.И. Кикнадзе. Слева направо: проф. К. Маркерт, проф. И.И. Кикнадзе, академик Д.К. Беляев.

В Институте цитологии и генетики СО АН СССР Ия Ивановна начинает свой путь младшим научным сотрудником в отделе физических, химических и цитологических основ наследственности, которым в то время до 1961 г. руководил профессор Иван Дмитриевич Романов. Это были замечательные годы и это был необыкновенный человек – до сих пор портрет Ивана Дмитриевича висит в кабинете Ии Ивановны. В первое десятилетие новосибирского периода у Ии Ивановны сложились и остались на всю жизнь дружеские отношения как с представителями старшего поколения – Верой Вениаминовной Хвостовой и Раисой Павловной Мартыновой, так и со сверстниками – Нинелью Борисовной Христолюбовой, Клавдией Кузьминичной Сидоровой.

В 1961–1962 гг. она – старший научный сотрудник, а затем с октября 1962 г. она заведует лабораторией общей цитологии. Докторскую диссертацию «Функциональная организация хромосом» И.И. Кикнадзе защитила в Новосибирске в 1967 г. на Объединенном ученом совете по биологическим наукам СО АН СССР. Ученое звание профессора по кафедре «Цитология и генетика» ей было присвоено 10 декабря 1970 г.

21 января 1988 г. на основе лаборатории общей цитологии создается отдел клеточной биологии со следующими структурными подразделениями: лаборатория эволюционной цитогенетики, секторы: генетики тканеспецифических признаков; молекулярной нейрогенетики; геномики.

С 1994 г. И.И. Кикнадзе – главный научный сотрудник лаборатории эволюционной биологии клетки Института цитологии и генетики СО АН СССР (РАН).

По инициативе Ии Ивановны и под ее руководством были проведены несколько всесоюзных и международных симпозиумов: в 1970 г. – 2-й Всесоюзный симпозиум «Структура и функционирование хромосом» (г. Новосибирск), в 1985 г. – Всесоюзный симпозиум «Эволюция, видообразование и систематика хирономид» (г. Новосибирск). В 1982 г. в Академгородке

На генетическом съезде в Беркли, США: Ф.Г. Добжанский, В.К. Шумный, М.Е. Вартанян, И.И. Кикнадзе. Август 1973 г.

Проф. Б. Данехолт (Каролинский институт, Швеция), И.И. Кикнадзе и А.Г. Истомина в ИЦиГ СО АН СССР.

прошел международный симпозиум «Организация и экспрессия тканеспецифических генов», положивший начало регулярным совещаниям по кольцам Бальбиани хирономид. И в настоящее время она среди тех, кто готовит конференцию «Кариосистематика беспозвоночных животных» (г. Новосибирск) – И.И. Кикнадзе председатель оргкомитета.

Ия Ивановна является основателем новосибирской школы цитогенетиков-диптерологов (Chironomidae и Drosophilidae). Под ее научным руководством защищено 29 кандидатских диссертаций. Она щедро делится своими идеями со своими учениками. У нее десятки учеников-последователей и учеников, которые идут своим путем в науке в лабораториях многих стран мира. Многие из учеников Ии Ивановны уже взрастили собственных учеников.

Здесь уместно привести список ее «прямых» учеников, тех, у кого она была официальным

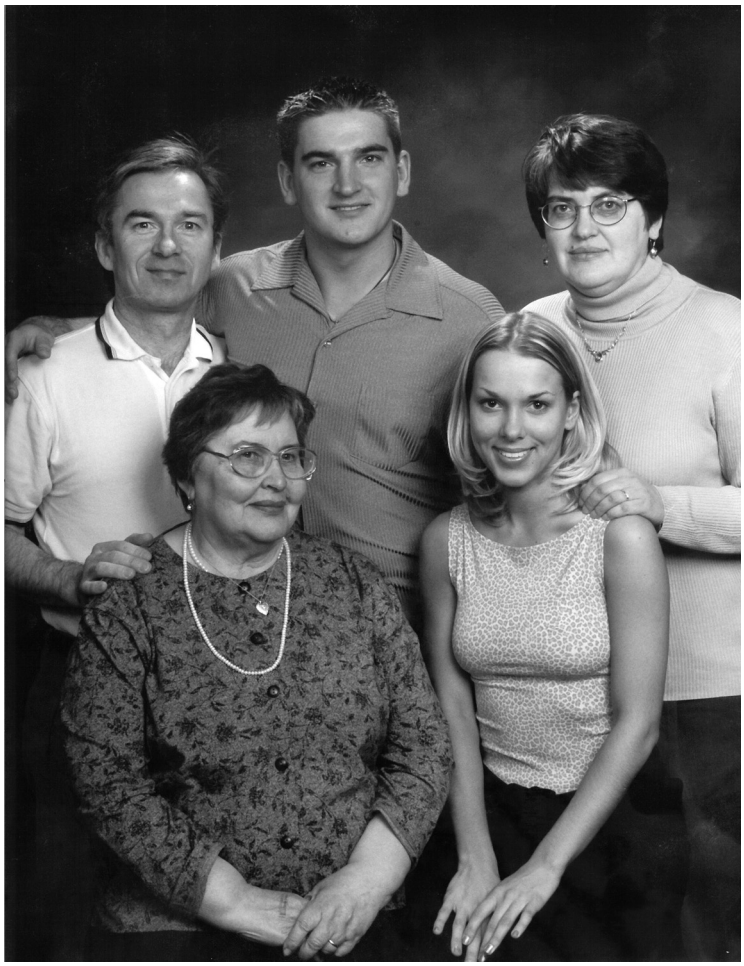
Расшифровали порядок дисков у полярных хирономид. Н.А. Шобанов (г. Борок), И.И. Кикнадзе (г. Новосибирск), проф. В. Вюлкер (г. Фрайбург), 1997 г. (слева направо).

Обсуждение результатов. Слева направо: В.В. Голыгина, Л.И. Гундерина, И.И. Кикнадзе, А.Г. Истомина, 2005 г.

научным руководителем диссертационных работ. Надо полагать, от многих из них Ия Ивановна получила юбилейные поздравления. Это д.б.н., проф. Беляева Е.С. (1965), к.б.н. Шерудило А.И. (1965), д.б.н. Губенко И.С. (1966), д.б.н. Груздев А.Д. (1966), к.б.н. Корочкина Л.С. (1968), академик РАН Жимулев И.Ф. (1974), к.б.н. Власова И.Е. (1974), д.б.н. Семешин В.Ф. (1975), д.б.н. Бахтадзе Г.И. (1975), к.б.н. Истомина А.Г. (1976), к.б.н. Костомаха А.Н. (1977), д.б.н. Каракин Е.И. (1977), д.б.н. Гундерина Л.И. (1977), д.б.н. Колесников Н.Н. (1977), к.б.н. Зайниев Г.А. (1980), к.б.н. Захаренко Л.П. (1980), к.б.н. Леонтьев Ф.П. (1982), к.б.н. Кокоза В.А. (1983), к.б.н. Агапова О.А. (1987), к.б.н. Щербаков Д.Ю. (1988), к.б.н. Керкис И.Е. (1989), к.б.н. Филиппова М.А. (1990), к.б.н. Салова Т.А. (1996), к.б.н. Сиирин М.Т. (1996), к.б.н. Голыгина В.В. (1999), к.б.н. Андреева Е.Н. (1999), к.б.н. Безматерных Д.М. (2003), к.б.н. Ермолаева О.В. (2008).

Много сил и энергии И.И. Кикнадзе отдала организации цитологической специализации на кафедре цитологии и генетики биологического отделения факультета естественных наук НГУ. С момента создания кафедры цитологии и генетики в 1962 г. и до 1986 г. она исполняла обязанности заместителя заведующего кафедрой. Она впервые не только в НГУ, но и в вузах СССР после десятилетий господства в стране «мичуринской биологии» создала и читала оригинальный курс «Цитология»/«Клеточная биология», разрабатывала программы, вела и курировала семинары, спецпрактикумы по цитологическим и генетическим дисциплинам.

Ия Ивановна привнесла многие элементы, характерные для ленинградской биологической школы в ИЦиГ СО АН СССР и НГУ. Начинала это с налаживания системы подготовки биологов. В НГУ малые и большие практикумы, летние практики по цитологии и генетике были организованы по образцу и подобию практикумов кафедры генетики ЛГУ. Так знаменитая ленинградская генетическая и цитологическая школа, связываемая с такими выдающимися именами, как Юрий Александрович Филипченко, Михаил Ефимович Лобашов, Дмитрий Николаевич Насонов и Михаил Сергеевич Навашин, пустила ростки на сибирской земле. Этим росткам помогли прижиться и другие представители ленинградской школы генетиков, приехавших в ИЦиГ СО АН, прежде всего, это Ю.Я. Керкис, А.Н. Лутков и Р.Л. Берг, а также молодые



Семья: И.И. Кикнадзе, внучка Лена. Стоят: Александр Боровков – зять, Алеша – внук, Ирина – дочь.

выпускники кафедры генетики ЛГУ 1960-х гг.: Е.С. Беляева, И.С. Губенко, Ф.М. Шкутина, Т.Е. Себелева, И.Н. Голубовская, М.Д. Голубовский и др.

С 1965 г. И.И. Кикнадзе входила в состав Объединенного ученого совета по биологическим наукам СО АН СССР. Была постоянным членом ученого совета ИЦиГ СО АН СССР/СО РАН с момента его создания и членом ученого совета факультета естественных наук НГУ. Была членом диссертационного совета при Новосибирской государственной медицинской академии, на протяжении многих десятилетий входит в состав диссертационных советов при ИЦиГ СО РАН и в последние годы – при Институте систематики и экологии животных СО РАН.

28 лет – с 1974 по 2001 гг. – И.И. Кикнадзе входила в состав редакционной коллегии журнала «Цитология» и 5 лет – с 1984 по 1989 гг. – она была в составе редакционного совета журнала «Онтогенез». И сейчас она член редакционной коллегии «Евроазиатского энтомологического журнала» (с 2003 г.), член редакционного совета журнала «Comparative Cytogenetics» (с 2008 г.).

Заслуженный деятель науки РФ (с 1998 г.) И.И. Кикнадзе награждена правительственными наградами: за создание Новосибирского научного центра СО АН СССР и успехи в науке в 1967 г. была награждена орденом «Знак почета»; в 1970 г. – медалью «За доблестный труд». Ия Ивановна имеет звание « Заслуженный ветеран СО АН СССР» и «Заслуженный ветеран труда». В 1999 г. в связи с 275-летием Академии наук награждена Почетной грамотой РАН. В 2000 г. Президиум СО РАН наградил И.И. Кикнадзе Почетной грамотой СО РАН. В 2007 г. в связи с 50-летием Сибирского отделения РАН Ия Ивановна награждена Почетной грамотой Министерства образования и науки. В 2010 г.

награждена Почетной грамотой от губернатора Новосибирской области В.А. Толоконского.

Ия Ивановна много и плодотворно работает. Об этом свидетельствуют ее многочисленные публикации последнего десятилетия, большой объем по рецензированию и редактированию научных работ. Как всегда, на ее рабочем столе «веера» фотографий ею любимых политенных хромосом. Их характерная «исчерченность» – своего рода штрих-код – помогает понять и проникнуть в особенность и эволюционное прошлое каждого изучаемого вида хирономид. Вместе со своими учениками – А.Г. Истоминой, Л.И. Гундериной, В.В. Голыгиной, А.Д. Брошковым, а также отечественными и зарубежными коллегами она интенсивно разрабатывает многоплановую тему по изучению кариофондов, хромосомного полиморфизма и видообразования у голарктических видов хирономид. Эти работы развивают важное направление цитогенетики природных популяций хирономид по изучению роли хромосомных перестроек в адаптации популяций и дивергенции кариотипов при видообразовании. В результате этой работы впервые была установлена глубокая цитогенетическая дивергенция между палеарктическими и неарктическими популяциями голарктических видов.

И.И. Кикнадзе – автор более 350 научных публикаций, в том числе автор и соавтор 10 монографий.

Избранные труды И.И. Кикнадзе

Монографии

Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. М.; Л.: Наука, 1972. 239 с.

Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е. и др. Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini. (Атлас). Новосибирск: Наука, 1991. 113 с.

Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. и др. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии. Новосибирск: Наука, 1996. 162 с.

Коллективные монографии

Кикнадзе И.И. Функционирование хромосом // Руководство по цитологии. М.; Л.: Наука, 1965. Т. 2. С. 329–346.

Кикнадзе И.И., Высоцкая Л.В. Микроскопическая морфология мейоза // Цитология и генетика мейоза. М.: Наука, 1975. С. 15–42, 96–113.

Кикнадзе И.И., Колесников Н.Н., Каракин Е.И. и др. Организация и экспрессия генов тканеспецифической функции у Diptera. Новосибирск: Наука, 1985. 239 с.

Кикнадзе И.И., Блинов А.Г., Колесников Н.Н. Молекулярно-цитологическая организация генома хирономид // Структура и функциональная организация генома эукариот. Новосибирск: Наука, 1989. С. 4–59.

Кикнадзе И.И., Гундерина Л.И., Истомина А.Г. и др. Цитогенетические механизмы дивергенции популяций и видов у хирономид // Биоразнообразие и динамика экосистем. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2006. С. 345–354.

Статьи

Кикнадзе И.И. Как работает хромосома // Наука и жизнь. 1962. № 4. С. 1–25.

Кикнадзе И.И. Хромосомы двукрылых. Эволюционное и практическое значение // Генетика. 1967. № 11. С. 145–165.

Кикнадзе И.И., Беляева Е.С. Ядрышко, закономерности его формирования и генетическая роль // Генетика. 1967. Т. 7. № 8. С. 149–161.

Кикнадзе И.И. Транскрипционная активность хромосом при дифференцировке клеток // Онтогенез. 1970. Т. 1. № 1. С. 7–27.

Кикнадзе И.И. Политенные хромосомы как модель интерфазной хромосомы // Цитология. 1971. Т. 13. № 1. С. 716–732.

Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом // Усп. соврем. генетики. 1971. Т. №. С. 175–204.

Kiknadze I.I., Perov N.A., Chentsov Yu.S. Electron microscopic studies on polytene chromosomes of *Chironomus thummi* salivaty glands. I. Ultrastructure mapping // Chromosoma. 1976. V. 55. № 1. P. 91–103.

Kiknadze I.I. Chromosome polymorphism in natural populations of plumosus species-group of West Siberia // Entomol. Scand. Suppl. 1987. V. 29. P. 113–121.

Кикнадзе И.И., Колесников Н.Н., Панова Т.М. и др. Мобильные элементы генома хирономид. 1. Локализация клона pCthC1.2HR в политенных хромосомах подвидов *Chironomus thummi* и *C. piger* и их гибридов // Генетика. 1987. Т. 23. № 8. С. 1365–1376.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Aimanova K.G. *et al*. Geographic variation in polytene chromosome banding pattern of Holarctic midge *Camptochironomus tentans* (Fabricius) // Can. J. Zool. 1996. V. 74. P. 171–191.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Aimanova K.G. *et al.* Divergent cytogenetic evolution in Nearctic and Palearctic populations of sibling species in subgenus *Camptochironomus* Kieffer. // Can. J. Zool. 1998. V. 76. № 2. P. 361–376.

Butler M.G., Kiknadze I.I., Golygina V.V. *et al*. Cytogenetic differentiation between Palearctic and Nearctic populations of *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae) // Genome. 1999. V. 42. P. 797–815.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Golygina V.V. *et al*. Intercontinental cytogenetic differentiation in *Chironomus entis* Shobanov, a Holarctic species in the plumosus-group (Diptera, Chironomidae) // Genome. 2000. V. 43. P. 857–873.

Kiknadze I.I., Gunderina L.I., Istomina A.G. *et al.* Similarity analysis of inversion banding sequences of Chironomus species (breakpoint phylogeny) // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure / Eds N. Kolchanov, R. Hofestaedt. Boston/Dordrecht/ London: Kluwer Acad. Publ., 2003. P. 245–253.

Kiknadze I.I. The role of chromosome polymorphism in divergence of populations and species of the genus Chironomus // Entomol. Rev. 2008. V. 88. № 5. P. 509–524.

Kiknadze I.I., Golygina V.V., Broshkov F.D. *et al.* Mystery of *Chironomus dorsalis* karyotype (Diptera, Chironomidae) // Comp. Cytogenet. 2008. V. 2. № 1. P. 21–35.

Kiknadze I.I., Gunderina L.I., Butler M.G. *et al.* Chromosomes and continents. Biosphere Origin and Evolution. Springer Verlag, 2008. P. 349–373.

Публикации об И.И. Кикнадзе

Биологи развития СССР. Справочник. М., 1981. 110 с.

3589 // Vorontsov's Who is Who in Biodiversity Sciences. Moscow: KMK Sci., Press, 2001. P. 237.

Шумный В.К., Груздев А.Д. Ия Ивановна Кикнадзе (К 70-летию со дня рождения) // Цитология. 2000. Т. 42. № 2. С. 209–211.

Любимый объект – кольца Бальбиани // Наука в Сибири. Февраль 2000 г. С. 4.

Нотман Р.К. Предназначение. [очерк: «Баба Яга» была талантливой. С. 175–182.] Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. 288 с.

Захаров И.К., Шумный В.К. Профессору Кикнадзе Ие Ивановне 75 лет // Генетика. 2005. Т. 41. № 2. С. 283–285.

Захаров И.К., Шумный В.К. Юбилей профессора Ии Ивановны Кикнадзе // Информ. вестник ВОГиС. 2005. Т. 9. № 1. С. 3–11.

Юдина Л. В поисках ответов на вечные вопросы // Наука в Сибири. Февраль 2005 г. № 5. С. 4.

Данилова М. Ия Кикнадзе // Сов. Сибирь. 2005 г. 5 марта. № 42.

Более полувека на службе науки // Наука в Сибири. 2010. 11 февраля. № 6.

И.К. Захаров, Н.А. Колчанов, В.К. Шумный
Учреждение Российской академии наук
Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск
Новосибирский государственный университет

THE KARYOTYPE OF *CHIRONOMUS ULIGINOSUS* KEYL (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

I.I. Kiknadze[1], A.G. Istomina[1], W.F. Wülker[3], H.J. Vallenduuk[2]

[1] Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
[2] Institut fur Biologie I (Zoologie), Universitat Freiburg, D-79104, Germany;
[3] Buro Vallenduuk, 5464 Veghel PA, 0413-319117, The Netherlands

The paper describes the karyotype of *C. uliginosus* Keyl, insufficiently studied up to now. Four *C. uliginosus* populations from the Netherlands and one population from Germany were investigated. Banding sequences of all seven chromosome arms in the *C. uliginosus* karyotype were analyzed. Inversion polymorphism was observed in arms A, B, C, D, E, and F. A total of 18 banding sequences were recorded. The sets and number of banding sequences varied between populations, causing their cytogenetic differentiation. The comparison of banding sequence sets and frequencies between the Netherlands and Russian populations of *C. uliginosus* was carried out, and considerable cytogenetic differences between these distant populations were discovered.

Keywords: karyotype, morphology, *Chironomus*, banding sequences, chromosomal polymorphism, populations.

Introduction

Keyl (1962) described several new species by studying their karyotypes («cytospecies» by Keyl). The karyotypes of these «cytospecies» differed greatly from other known *Chironomus* karyotypes and Keyl believed that the «cytospecies» were new species. The validity of «cytospecies» was confirmed by morphological studies (Strenzke, unpublished data because of the unexpected death of author; Wülker *et al*., 1981; Webb, Scholl, 1985; Webb *et al*., 1985; Kiknadze *et al*., 1988; Wülker, 1999; Sæther, Spies, 2004; Moller-Pillot, 2009).

Chironomus uliginosus was one of the «cytospecies» identified by Keyl (1960, 1962). It is known now that *C. uliginosus* is widespread in Europe (Fauna Europaea). However, the karyotype of *C. uliginosus* has not been analyzed since Keyl's time. Keyl (1962) mapped only three chromosome arms (A, E, F) of seven chromosome arms in *C. uliginosus* karyotype. The banding sequences of arms C, D, B, G and chromosomal polymorphism in all chromosome arms were not studied. It was not until recently that Broshkov *et al*. (2008) presented the new data on *C. uliginosus* karyotype from several Russian populations. Some cytogenetic differences were found between the German populations described by Keyl (1962) and Russian populations. The main difference was related to a fixed inversion in arm G in Russia. Morphological data were not presented in the paper by Broshkov *et al*.

In this paper we present a detailed karyological description of *C. uliginosus* from European (the Netherlands and Germany) populations. The banding sequences in all seven chromosome arms (A. B, C, D, E, F, G) were studied, the chromosomal polymorphism in all arms except arm G was recorded, and the banding sequence pool was evaluated. The comparison of *C. uliginosus* karyotypes and chromosomal polymorphism between European and Russian populations demonstrated considerable cytogenetical differences between distant populations.

Materials and Methods

The karyotype and chromosomal polymorphism of *C. uliginosus* were investigated in four natural populations from the Netherlands and one population from Germany (Table 1). Besides, six squashes with *C. uliginosus* karyotypes from Germany and Sweden from W. Wülker's collection were analyzed. Four of this squashes were made from holotype *C. uliginosus* larvae. The data on

Table 1

Collection sites and numbers of *Chironomus uliginosus* larvae analyzed

Locality	Collection date	Number of larvae
The Netherlands		
Bargerveen	17.04.2007	n = 6
	16.08.2007	n = 14
	05.09.2007	n = 12
	07.04.2008	n = 8
Mariapeel	18.07.2008	n = 6
	22.07.2008	n = 15
Peelvenen	05.11.2007	n = 5
	06.11.2007	n = 6
De Hamert	18.05.2007	n = 6
	01.09.2007	n = 2
Germany		
Leegmoor	02.05.2008	n = 3

chromosomal polymorphism of several Russian populations of *C. uliginosus* (Novosibirsk, Tchelyabinsk, Yaroslavl regions) were used for a comparison of West European and Asian populations.

Fourth instar larvae were fixed in 3 : 1 mixture of 100 % ethanol and glacial acetic acid for cytogenetic study. Isolated salivary glands were squashed for polytene chromosome preparation. Polytene chromosome squashes were made by the aceto-orcein method (Keyl H., Keyl I., 1959; Kiknadze *et al*., 1991). The polytene chromosomes were mapped in accordance with Keyl's system (1962) for arms A, E, F and Dévai *et al.*'s system (1989) for arms B, C, and D.

Detailed photomaps of all seven chromosome arms were made for the first time for European *C. uliginosus*. However, arms B and G were not mapped because of complex inversions differing banding sequences of these arms from standard *C. piger*.

The following equipment of the Center of Microscopy Analysis of Biological Objects of SB RAS in the Institute of Cytology and Genetics (Novosibirsk) has been used: microscope «Axioskop» 2 Plus, CCD camera AxioCam HRc, software package AxioVision 4 (Zeiss, Germany). The photographs of chromosomes were made at the magnification 100×.

Results

Karyotype structure

The *C. uliginosus* karyotype can be seen in Fig. 1. The four polytene chromosomes of *C. uliginosus* correspond to the haploid number of this species (n = 4) as usual in the genus *Chironomus*. Chromosome AE is submetacentric, chromosomes CD and BF are metacentric, and short chromosome G is telocentric. On the base of chromosome arm combination, *C. uliginosus* can be assigned to cytocomplex *pseudothummi*. The centromeric bands are not heterochromatinized. The nucleolus and three

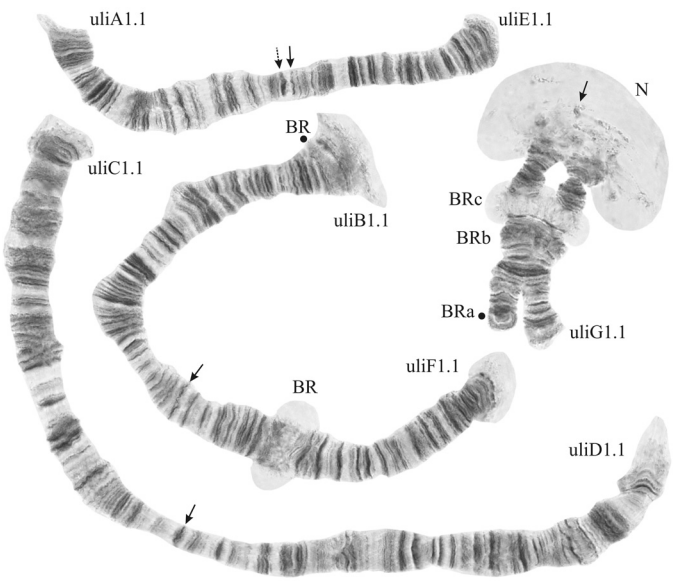


Fig. 1. Karyotype of *Chironomus uliginosus*. Symbols uliA1.1, uliB1.1, etc. designate genotypic combinations of banding sequences in chromosome arms; N – nucleolus; BR – Balbiani ring; arrows show centromeric bands.

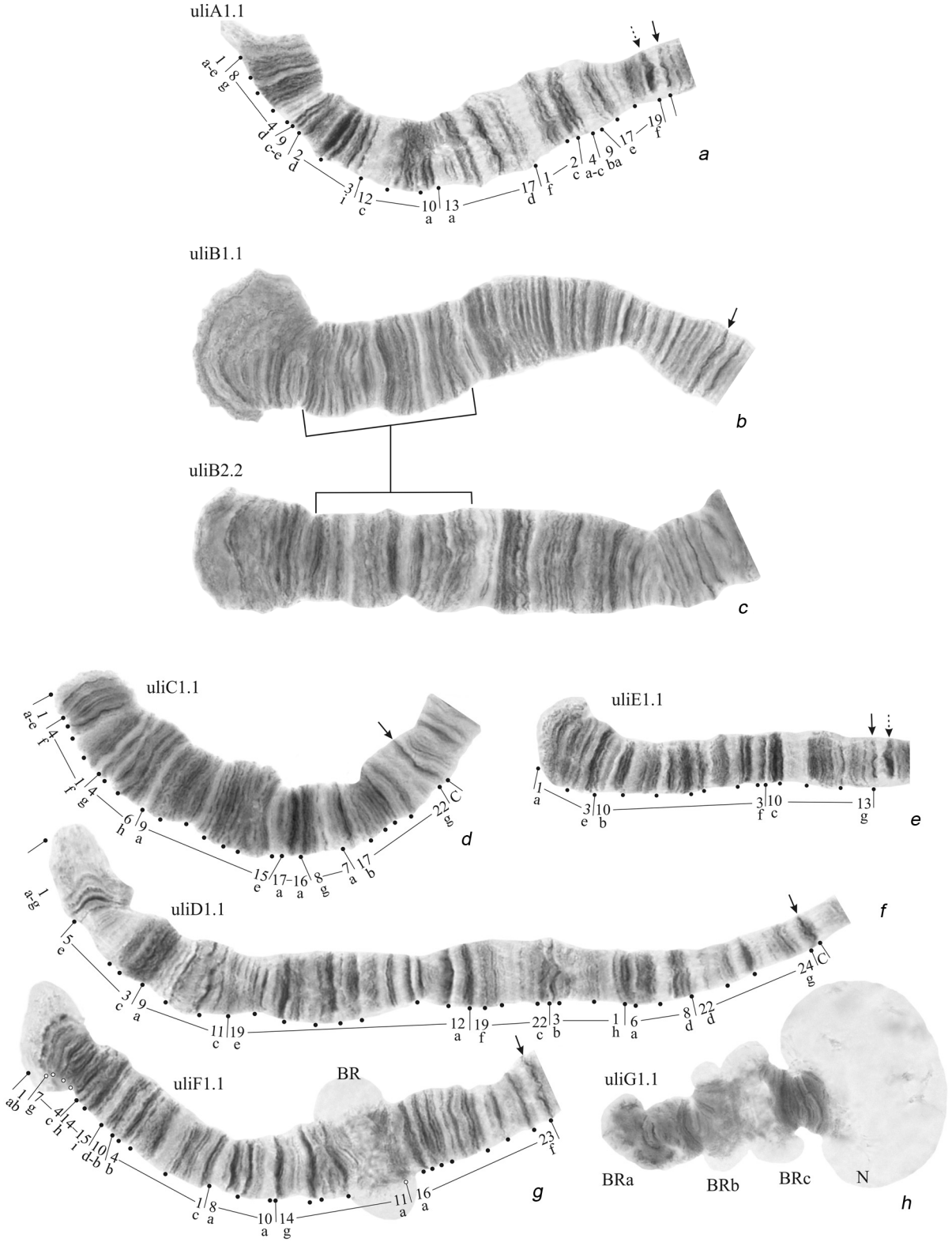


Fig. 2. Homozygous banding sequences in chromosome arms A (a), B (b, c), C (d), D (f), E (e), F (g) and G (h) of *Chironomus uliginosus*.

Table 2

Frequencies of banding sequences in populations of *Chironomus uliginosus*

Banding sequences	Populations				
	Bargerveen *n* = 40	Mariapeel *n* = 21	Peelvenen *n* = 11	De Hamert *n* = 8	Leegmoor *n* = 3
uliA1	1,000	0,976	1,000	1,000	1,000
uliA2	–	0,024	–	–	–
uliB1	0,637	0,666	0,591	0,875	1,000
uliB2	0,363	0,310	0,409	0,125	–
uliB3	–	0,024	–	–	–
uliC1	1,000	0,952	0,864	1,000	1,000
uliC2	–	0,024	0,045	–	–
uliC3	–	0,024	0,091	–	–
uliD1	0,900	0,881	0,864	1,000	1,000
uliD2	0,100	0,024	–	–	–
uliD3	–	0,071	0,045	–	–
uliD4	–	0,024	0,091	–	–
uliE1	1,000	0,976	1,000	1,000	1,000
uliE2	–	0,024	0	0	–
uliF1	0,987	0,000	0,955	1,000	1,000
uliF2	0,013	–	–	–	–
uliF3	–	–	0,045	–	–
uliG1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Balbiani rings are located on short arm G. Besides, Balbiani rings are present also on arms B and F.

We found that the karyotypes of *C. uliginosus* from all populations studied were identical with the karyotype described by Keyl (1960, 1962) and with the karyotypes of the holotype larvae.

Arm A occurred in one banding sequence uliA1 as a rule (Fig. 2, a, Table 2, Appendix). Another banding sequence, uliA2, was found only once in a larva with a long heterozygous pericentric inversion (Fig. 3, b, Tables 2, 3, Appendix). The banding sequence uliA1 was close to *C. dorsalis* and *C. luridus*, other members of *pseudothummi* cytocomplex.

Arm B was polymorphic with three banding sequences – uliB1, uliB2, and uliB3 (Figs 2, b, c, 3, a, c, Table 2, Appendix). The uliB1 sequence was predominant in the populations studied; uliB2 was also recorded at a high frequency, and it can be considered an alternative sequence to uliB1. The uliB2 sequence differed from uliB1 by a simple inversion. The uliB3 sequence was very rare (Table 2), it differed from uliB1 by an included inversion (Fig. 3, c). The uliB1 and uliB2 banding sequences were recorded in homo- and heterozygous states, and uliB3 was found only as a heterozygote (Table 3).

Arm C was polymorphic. It showed three banding sequences – uliC1, uliC2, and uliC3 (Figs 2, d, 3, d, e, Table 1, Appendix). The uliC1 sequence was predominant, whereas uliC2 and uliC3 were rare (Table 2); uliC2 differed from uliC1 by a simple inversion, and uliC3 differed from uliC1 by a long inversion, which occupied practically the entire central part of arm C (Appendix). The uliC1 sequence was recorded in homo- and heterozygous states, and uliC2 and uliC3 were always heterozygotes (Table 3).

Arm D was the most polymorphic. It occurred in four banding sequences – uliD1, uliD2, uliD3 and uliD4 (Figs 2, f, 3, f–h, Table 2, Appendix). The uliD1 and uliD2 sequences differed by a short simple inversion in the central part of the arm; uliD3

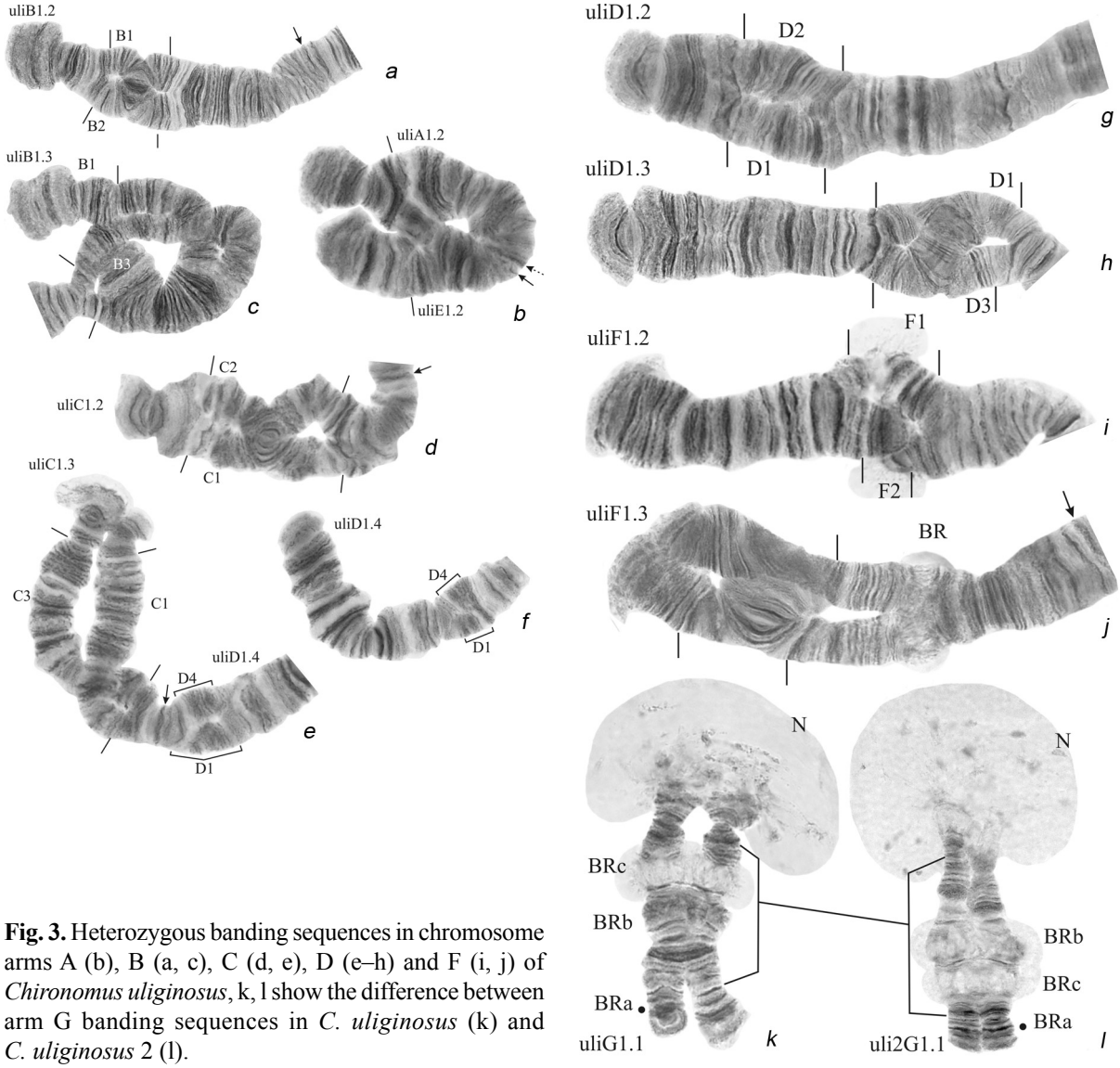


Fig. 3. Heterozygous banding sequences in chromosome arms A (b), B (a, c), C (d, e), D (e–h) and F (i, j) of *Chironomus uliginosus*, k, l show the difference between arm G banding sequences in *C. uliginosus* (k) and *C. uliginosus* 2 (l).

differed from uliD1 by a long simple inversion in the proximal part of the arm; uliD4 differed from uliD1 by a short simple inversion near the centromere region (Appendix). The uliD1 sequence was predominant; uliD2, uliD3, and uliD4 were rare (Table 2). The last two sequences were recorded only as heterozygotes (Table 3).

Arm E had practically one banding sequence uliE1. Another sequence, uliE2, was found only once in heterozygote uliE1.2 (Figs 2, e, 3, b, Table 2, Appendix). The uliE2 sequence was formed by a long pericentric inversion (Fig. 3, b). The uliE1 sequence belongs to the category of cosmopolitan sequences found in many *Chironomus* species on five continents (Eurasia, North and South America, Africa, Australia (Wülker, 1980; Kiknadze *et al*., 2008).

Arm F was polymorphic and occurred in three banding sequences: uliF1, uliF2, and uliF3 (Figs 2, g, 3, i, j, Table 2, Appendix). The uliF2 sequence differed from uliF1 by a short simple inversion in the proximal part of the arm, including BR (Fig. 3, i, Appendix); uliF3 differed from uliF1 by a short inversion in the distal part of arm (Fig. 3, j). The uliF1 sequence was predominant; uliF2 and uliF3 were rare and were found as heterozygotes (Tables 2, 3). The uliF1 sequence was close to *C. holomelas*, *C. dorsalis*, and *C. halophilus*.

Arm G occurred in one banding sequence uliG1 (Fig. 3, k, Table 2). As was mentioned above, arm G carries a nucleolus and Balbiani rings (BR). The most of salivary gland cells had two developed BRs (BRc and BRb (Fig. 3, k), the third BRa (Fig. 2, h)

Table 3

Frequencies of genotypic combinations of banding sequences in populations of *Chironomus uliginosus*

Genotypic combinations	Populations				
	Bargerveen $n = 40$	Mariapeel $n = 21$	Peelvenen $n = 11$	De Hamert $n = 8$	Leegmoor $n = 3$
uliA1.1	1,000	0,952	1,000	1,000	1,000
uliA1.2	0	0,048	0	0	0
uliB1.1	0,375	0,380	0,454	0,750	1,000
uliB2.2	0,100	0,048	0,273	0	0
uliB1.2	0,525	0,524	0,273	0,250	0
uliB1.3	0	0,048	0	0	0
uliC1.1	1,000	0,904	0,727	1,000	1,000
uliC1.2	0	0,048	0,091	0	0
uliC2.3	0	0,048	0,182	0	0
uliD1.1	0,800	0,761	0,727	1,000	1,000
uliD1.2	0,200	0,048	0	0	0
uliD1.3	0	0,143	0,091	0	0
uliD1.4	0	0,048	0,182	0	0
uliE1.1	1,000	0,952	1,000	1,000	1,000
uliE1.2	0	0,048	0	0	0
uliF1.1	0,975	1,000	0,909	1,000	1,000
uliF1.2	0,025	0	0	0	0
uliF1.3	0	0	0,091	0	0
uliG1.1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Table 4

Inversion polymorphisms in populations of *Chironomus uliginosus*

Characteristic of populations	Populations				
	Bargerveen $n = 40$	Mariapeel $n = 21$	Peelvenen $n = 11$	De Hamert $n = 8$	Leegmoor $n = 3$
Heterozygotes in population (%)	65,0	71,4	63,6	25,0	0
Average number of heterozygous inversions per individual	0,8	1,0	0,9	0,3	0
Number of banding sequences in population	10	16	14	8	7
Number of genotypic combinations of banding sequences in population	11	17	15	8	7

developed only in four cells of the special lobe of a salivary gland producing a tissue-specific protein.

Chromosomal polymorphism

As shown in Tables 2 and 3, six of seven chromosome arms in the Netherlands populations of *C. uliginosus* were polymorphic. Chromosomal polymorphism was not revealed in German population because of a few number of individuals. Two banding sequences were recorded in arms A and E, three banding sequences in arms B, C, F, and four banding sequences in arm D. Only arm G was monomorphic. A total of 18 banding sequences

were recorded in *C. uliginosus* studied (Table 2). They composed the banding sequence pool of this species. The numbers of sequences and genotypic combination of sequences varied in different populations (Table 4).

These data on chromosomal polymorphism showed that *C. uliginosus* could be considered a polymorphic species, although the general level of chromosomal polymorphism of this species is not as high as in many other *Chironomus* species: 40–60 banding sequences in their banding sequences pool (Kiknadze, Istomina, 2000). Keyl (1962) described *C. uliginosus* as a monomorphic species.

Discussion

We investigated morphologically similar larvae of 18 *Chironomus* populations in the Netherlands and distinguished 4 populations of *C. uliginosus* among them on the base of karyotype study. The karyotype proved to be the most useful taxonomic character for species identification at the larval stage. The main karyotype features of the larvae studied were identical with the *C. uliginosus* karyotype of the holotype larvae (Keyl, 1960, 1962; karyotype squash of holotype). We thoroughly analyzed the banding sequences in all seven chromosome arms, whereas Keyl had analyzed only three. Therefore, we can present new cytogenetic characteristics for European *C. uliginosus* populations. These populations had rather high levels of chromosomal polymorphism. Six of seven chromosome arms proved to be polymorphic, and as many as 18 banding sequences were recorded in populations studied. The sets and numbers of banding sequences and genotypic combinations of sequences varied in different populations to allow their cytogenetic differentiation.

Recently, Broshkov *et al*. (2008) have described karyotype and chromosomal polymorphism in several Russian *C. uliginosus* populations. They have found that main species specific banding sequences and chromosomal polymorphism in arms A, E, and F are identical in Russian and German populations (Keyl, 1962). As Keyl (1962) had not described banding sequences in arms C, D, and B, these sequences could not be compared in Russian and German populations. On the base of identity of arms A, E, and F, Broshkov *et al.* (2008) came to conclusion that the German and Russian populations belonged to *C. uliginosus*, but there are interpopulation differences related to the sets and frequencies of some sequences. The main difference was based on a fixed inversion in the central part of arm G in the Russian populations.

The quantitative characteristics of chromosomal polymorphism in arms C, D, and B in European populations were described in this paper for the

Table 5

Comparison of banding sequence sets between *Chironomus uliginosus* (European populations) and *C. uliginosus 2* (Russian populations)

Identical banding sequences	Banding sequences specific for *C. uligonosus*	Banding sequences specific for *C. uliginosus 2*
uliA1=uli2A1	uliA2	uli2B2 differs from uliB2 by simple short inversion
uliB1=uli2B1	uliB2	uli2C2 differs from uliC2 by simple long inversion
uliC2=uli2C1	uliB3	uli2C3 differs from uliC3 by included short inversion
uliD2=uli2D1	uliC1	uli2D2 differs from uliD2 by simple inversion
uliE1=uli2E1	uliC3	uli2D3 differs from uliD3 by complex inversion
uliF1=uli2F1	uliD1	uli2F2 differs from uliF2 by simple inversion
	uliD3	uli2G2 differs from uliG1 by simple inversion
	uliD4	
	uliE2	
	uliF2	
	uliF3	
	uliG1	

first time. They provided an opportunity to compare chromosomal polymorphism in all chromosomal arms in European and Russian populations.

This comparison showed a great difference in sets and frequencies between European and Russian populations, especially in arms C, D, and B. As mentioned above, 18 banding sequences were recorded in the Netherlands populations and 13 sequences in Russian populations. Among them six sequences were completely identical (Table 5); they belong to the category of main or alternative species-specific sequences (Kiknadze, 2008), found in homo- or heterozygous states, but their frequencies could be different in Europe and Russia. Twelve sequences were found only in the Netherlands and six, only in Russia (Table 5); the most of these sequences were rare and were found only as heterozygotes. The most important difference between the Netherlands and Russian populations was the fixed inversion in arm G (Figs 3, k, l). The banding sequence in arm G in the Netherlands corresponded to the sequence described by Keyl (1960). Therefore we conclude that the Netherlands populations corresponded to real *C. uliginosus*, and Russian populations can be considered as greatly differentiated geographic populations or even a subspecies, tentatively named *C. uliginosus* 2. The cytogenetic differentiation of geographic populations in *C. uliginosus* is very similar to differentiation in the *obtusidens*-group of subspecies and sibling-species (Wülker *et al*., 1983, Istomina *et al*., 1999, Kiknadze *et al*., 2007). It is necessary to investigate quantitative characteristics of chromosomal polymorphism in much more populations of *C. uliginosus* from different areas in Europe and Russia to clarify the taxonomic positions of distant populations of this species. Up to now there were only short descriptions of several *C. uliginosus* populations without quantitative analysis (Keyl, 1960, 1962; Krieger-Wolff, 1971; Wülker, 1999; Moller-Pillot, 2009).

Our data have shown that *C. uliginosus* is a polymorphic species, contrary to Keyl's (1962) view of this species as monomorphic. The percentage of inversion heterozygotes in population can reach 71 %, and the number of banding sequences per population, 16. However this level of chromosomal polymorphism is not as high as in many other *Chironomus* species (Kiknadze, Istomina, 2000; Kiknadze, 2008) and, correspondingly, *C. uliginosus* can be regarded as a species with moderate level of chromosomal polymorphism.

This work was supported by grants from the Presidium of the Russian Academy of Sciences: «Biodiversity and dynamics of gene pools» and «Origin and evolution of geobiosystems».

References

Broshkov A.D, Kiknadze I.I., Istomina A.G., Gunderina L.I. Karyotype structure of midge *Chironomus uliginosus* Keyl, 1960 (Diptera, Chironomidae) // Euroasian Entomol. J. 2008. V. 7. P. 57–67. (In Russ.).

Dévai Gy., Miskolczi M., Wülker W. Standardization of chromosome arms B, C and D in *Chironomus* (Diptera, Chironomidae) // Acta Biol. Debr. Oecol. Hung. 1989. V. 2(1). P. 79–92.

Istomina A.G., Kiknadze I.I., Siirin M.T. Karyological analysis of *Chironomus* species in *obtusidens*-group from Altai (Diptera, Chironomidae) // Tsitologia. 1999. V. 41. P. 1022–1031. (In Russ.).

Keyl H.-G. Die cytologische Diagnostik der Chironomiden. II Diagnosen der Geschwisterarten *Chironomus acidophilus* n. sp. and *C. uliginosus* n. sp. // Arch. Hydrobiol. 1960. V. 57. P. 187–195.

Keyl H.-G. Chromosomenevolution bei Chironomus. II Chromosomenbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten // Chromosoma. 1962. V. 13. P. 464–514.

Keyl H.-G., Keyl I. Die cytologische Diagnostik der Chironomiden. I. Bestimmungstabelle fur die Gattung *Chironomus* auf Grund der Speicheldrusenchromosomen // Arch. Hydrobiol. 1959. V. 56. P. 43–57.

Kiknadze I.I. The role of chromosomal polymorphism in divergence of populations and species of the genus *Chironomus* // Entomol. Rev. 2008. V. 88. P. 509–524.

Kiknadze I.I., Grebenyuk L.P., Filippova M.A, Kerkis I.E. Karyological analysis of *Chironomus* species of pseudothummi cytocomplex from USSR water bodies // Biol. of Interland Waters Inform. Bull. 1988. V. 79. P. 56–59. (In Russ.).

Kiknadze I.I., Gunderina L.I., Butler V.G. *et al*. Chromosomes and continents // Biosphere Origin and Evolution / Eds N. Dobretsov, A. Pozanov, N. Kolchavov, G. Zavarzin. Springer-Verlag, 2008. P. 349–369.

Kiknadze I.I., Istomina A.G. Karyotypes and chromosomal polymorphism in Siberian chironomid species (Diptera, Chironomidae) // Siberian Ecol. J. 2000. V. 7. P. 445–460. (In Russ.).

Kiknadze I.I., Istomina A.G., Gunderina L.I. Cytogenetic differentiation of natural populations of *Chironomus obtusidens* // Entomol. Rev. 2007. V. 87. P. 658–669.

Kiknadze I.I., Shilova A.I., Kerkis I.E. *et al.* Karyotypes and larval morphology in tribe Chironominae. Atlas. Novosibirsk: Nauka, 1991. 113 p. (In Russian with English Summary).

Krieger-Wolff E., Wülker W. Chironomiden (Diptera) aus der Umgebung von Freiburg i. Br. (mit besonderer Berücksichtigung der Gattung Chironomus) // Beitr. naturk. Forsch. Südw. Dtl. 1971. V. 30. P. 133–145.

Moller-Pillot H.K.M. Chironomidae larvae of the Netherlands and adjacent lowlands. Zeist, The Netherlands, KNNV Publishing, 2009. 270 p.

Sæther O.A., Spies M. Fauna Europaea // Fauna Europaea: Diptera, Nematocera / Ed. H. De Jong. 2004. available at http://www.faunaeur.org/

Webb C.J., Scholl A. Identification of larvae of European species of *Chironomus* Meigen (Diptera, Chironomidae) by morphological characters // Syst. Entomol. 1985. V. 10. P. 353–372.

Webb C.J., Scholl A., Ryser H.M. Comparative morphology of the larval ventromental plates of European species of *Chironomus* Meigen (Diptera, Chironomidae) // Syst. Entomol. 1985. V. 10. P. 373–385.

Wülker W. Basic pattern in the chromosome evolution of the genus *Chironomus* (Diptera) // Z. Zool. Syst. Evol. 1980. V. 18. P. 112–123.

Wülker W. Fennoscandian *Chironomus* species (Diptera, Chironomidae) – identified by karyotypes and compared with the Russian and Central European fauna // Studia Dipterologica. 1999. V. 2. P. 425–436.

Wülker W., Ryser H.M., Scholl A. Revision der Gattung *Chironomus* Meigen VI. *C. holomelas* Keyl, *C. saxatilis* n. sp., *C. melanescens* Keyl // Rev. Suisse Zool. 1981. V. 88. P. 903–924.

Wülker W., Ryser H.M., Scholl A. Revision der Gattung *Chironomus* Meigen VIII. Arten mit Larvae des fluviatilis-Type (*C. acutiventris* n. sp. und *C. obtusidens* Goetgh. // Rev. Suisse Zool. 1983. V. 90. P. 725–745.

Appendix. Banding sequences in *Chironomus uliginosus*

uliA1	1a-e 8g-4d 9c-e 2d-3i 12c-10a 13a-17d 1f-2c 4a-c 9ba 17e-19f
uliA2	not mapped; formed by a large pericentric inversion
uliB1	not mapped
uliB2	not mapped, differs from uli2B2 by a simple short inversion
uliB3	not mapped
uliC1	1a-e 4f-1f <u>4g-6h 9a-15e</u> 17a-16a 8g-7a 17b-22g differs from uli2C1 by a simple inversion
uliC2	1a-e 4f-1f 15e-9a 6h-4g 17a-16a 8g-7a 17b-22g
uliC3	1a-e 4f-1f 11d-15e 11c-9a 6h-4g 20c-17b 7a-8g 16a-17a 21a-22g
uliD1	1a-g 5e-3c 9a-11c <u>19e-12a</u> 19f-22c 3b-1h 6a-8d 22d-24g differs from uli2D1 by a simple inversion
uliD2	1a-g 5e-3c 9a-11c 15e-19e 15d-12a 19f-22c 3b-1h 6a-8d 22d-24g
uliD3	1a-g 5e-3c 9a-11c 19e-12b <u>8d-6a 1h-3b 22c-19f 12a</u> 22d-24g
uliD4	1a-g 5e-3c 9a-11c 19e-12a 19f-22c 3b-1i <u>8d-6a 1h</u> 22d-24g
uliE1	1a-3e 10b-3f 10c-13g basic cosmopolitan
uliE2	not mapped, formed by a large pericentric inversion
uliF1	1ab 7g-4c 14h-15i 10d-b 4b-1c 8a-10a 14g-11a 16a-23f
uliF2	1ab 7g-4c 14h-15i 10d-b 4b-1c 8a-10a 14g-12a <u>19d-16a 11a-i</u> 20a-23f
uliF3	not mapped
uliG1	not mapped, differs from uli2G1 by a fixed inversion

ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОФОНДОВ ВИДОВ РОДА *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) В ГОЛАРКТИКЕ

Л.И. Гундерина, И.И. Кикнадзе

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: gund@bionet.nsc.ru; kiknadze@bionet.nsc.ru

Сравнение объемов и составов кариофондов, их изменчивости и дифференциации у голарктических (обитающих на изолированных друг от друга Североамериканском и Евроазиатском континентах) и эндемичных (палеарктических и неарктических) видов рода *Chironomus*, а также анализ филогенетических связей между популяциями голарктических видов позволили установить эволюционную историю этих видов. Изучение интенсивности потока генов между популяциями, частот мутирования, изменения адаптивной значимости последовательностей дисков, эффективной численности популяций и продолжительности географической изоляции популяций позволило охарактеризовать и показать видоспецифичность вклада географической изоляции в эволюционную историю голарктических видов хирономид.

Ключевые слова: виды рода *Chironomus*, голарктические, палеарктические, неарктические виды, политенные хромосомы, последовательности дисков, кариофонды, эволюция, географическая изоляция.

Введение

Виды рода *Chironomus* обитают на всех континентах земного шара, однако виды-космополиты с глобальным ареалом среди них неизвестны (Шилова, Шобанов, 1996). Вместе с тем глобальное изучение хромосомного полиморфизма у видов рода *Chironomus* позволило охарактеризовать их кариофонды [1] и показать, что наряду с инверсионными последовательностями дисков, специфичными для каждого географического района (**эндемичные последовательности дисков**), в кариофондах существуют **базовые последовательности** – последовательности дисков, общие для всех видов из всех географических районов и зоогеографических зон. Проведенное исследование послужило основой для создания гипотетического представления об эволюции последовательностей дисков в хромосомах в роде *Chironomus* в процессе формирования континентов (Kiknadze *et al*., 2008). Согласно этой гипотезе, хирономиды появились в Пангее, на территории нынешней Австралии. Там возникли первые базовые последовательности дисков в хромосомах. Эти последовательности сохранились до настоящего времени, распространились по всему ареалу рода *Chironomus* и стали космополитными. По мере раскола Пангеи и формирования новых континентов в кариофонде рода *Chironomus* образовывались новые базовые последовательности. Причем, чем моложе базовая последовательность, тем меньше ее ареал. Поэтому базовые последовательности разного геологического возраста распространены на четырех, трех или двух континентах (Kiknadze *et al*., 2008).

После географической изоляции континентов у видов рода *Chironomus* появляются эндемичные континент-специфичные последовательности. Поэтому в состав их кариофондов обычно входят как космополитные, так и эндемичные последовательности дисков. Космополитные последовательности, являясь наиболее древними, свидетельствуют о существовании филогенетических связей между видами, в кариофонды которых они входят. Эндемичные последовательности, будучи моложе космополитных, создают основу для возникновения

[1] Кариофонд вида – это полный набор последовательностей дисков в хромосомах кариотипа, найденных в ареале вида.

межвидового разнообразия кариофондов и их дивергенции (Kiknadze *et al*., 2008).

Раскол континентов приводит к разделению ареала вида на изолированные части. Возникший географический барьер предотвращает поток генов между популяциями, оказавшимися на разных континентах, и способствует накоплению мутаций, специфичных для каждой из популяций. Это приводит к возникновению генетических различий в популяциях исходно единого вида на разных континентах. Усиление генетической дифференциации популяций может вызвать их репродуктивную изоляцию и последующее преобразование в новые виды. О возможности такого сценария эволюции видов в роде *Chironomus* свидетельствует тот факт, что виды-космополиты с глобальным ареалом в роде *Chironomus* неизвестны, хотя космополитные последовательности дисков в хромосомах встречаются на всех континентах земного шара. Это означает, что географическая изоляция является важным фактором эволюции видов в роде *Chironomus*.

Какие изменения возникают в кариофондах видов рода *Chironomus* после разделения их ареалов на изолированные части, какие факторы наиболее сильно влияют на структуру кариофонда подразделенных видов, как географическая изоляция сказывается на эволюционной судьбе вида? Ответы на эти вопросы может дать сравнение кариофондов космополитных и эндемичных видов.

Хотя среди хирономид нет космополитных видов с глобальным ареалом, однако имеются голарктические виды, обитающие на двух изолированных в настоящее время континентах – Евроазиатском и Североамериканском. На каждом из этих континентов обитает также значительное число эндемических видов – палеарктических, населяющих палеарктическую зоогеографическую зону Евразийского континента, и неарктических, населяющих неарктическую зоогеографическую зону Североамериканского континента (Kiknadze *et al*., 2008). Североамериканский и Евроазиатский континенты разделены Атлантическим и Тихим океанами. Атлантический океан слишком велик, чтобы комары хирономиды могли его преодолеть. Берингов пролив намного уже – в настоящее время его ширина около 85 км. Однако в плейстоцене во время ледниковых периодов уровень мирового океана был на 100 м ниже, чем в настоящее время. Вследствие этого между Североамериканским и Евроазиатским континентами возникала Берингия, а Северный Ледовитый океан и Тихий океан разделял Берингов мост шириной около 2000 км. Поскольку летние температуры того времени соответствовали нынешним, многочисленные озера, существовавшие на перешейке, создавали условия для миграции хирономид с континента на континент. В течение последних 60 тыс. лет оледенение происходило неоднократно: примерно 40, 20–14 и 14–11 тыс. лет назад (Elias *et al*., 1996). Поэтому изоляция континентов периодически нарушалась, создавая предпосылки для повторяющихся межконтинентальных миграций хирономид. Сравнение объемов и состава кариофондов, их изменчивости и дифференциации у голарктических и эндемичных (палеарктических и неарктических) видов позволяет установить эволюционную историю видов рода *Chironomus* и оценить роль факторов, участвующих в ее регуляции.

Материалы и методы

Материалом при выполнении настоящей работы послужили данные о цитогенетической структуре (наборе последовательностей дисков в хромосомах кариотипа и их частотах) природных популяций голарктических (*C. anthracinus* (Kiknadze *et al*., 2005), *C. entis* (Kiknadze *et al*., 2000), *C. plumosus* (Butler *et al*., 1999), *C. tentans* (Гундерина и др., 1996, Kiknadze *et al*., 1996), *C. pallidivittatus* (Kiknadze *et al*., 1998)), палеарктических ((*C. sokolovae*, *C. acutiventris* (Истомина и др., 1999), *C. balatonicus*, *C. muratensis* (Гундерина и др., 1999), *C. bernensis* (Истомина, Кикнадзе, 2004), *C. cingulatus* (Истомина и др., 2009), *C. obtusidens* (Кикнадзе и др., 2007), *C. pseudothummi* (Кикнадзе и др., 2008), *C. heterodentatus* (Сиирин и др., 2002)) и неарктических (*C. atrella* (Martin *et al*., 2006), *C. bifurcatus* (Wuelker *et al*., 2009), *C. mozleyi* (Wuelker, 2007), *C. crassicaudatus*, *C. utahensis*, *C. cuccini*, *C. staegeri* (Андреева, 1999)) видов рода *Chironomus*, представленные в наших публикациях. Кроме того, сведения о числе последовательностей дисков в кариофондах 90 видов рода *Chironomus* были получены из

статьи Кикнадзе и соавт. (2004). Следует отметить, что в настоящей статье мы рассматриваем *C. tentans* как единый голарктический вид, каким он был до того как из него был выделен неарктический вид *C. dilutus* на основании наших данных (Shobanov *et al*., 1999).

Для характеристики уровня хромосомной изменчивости в популяциях оценивали число последовательностей дисков в кариофондах видов, а также долю последовательностей, специфичных для отдельных географических районов, число полиморфных плеч хромосом (P) и среднюю ожидаемую гетерозиготность на плечо хромосомы на популяцию (H).

Степень цитогенетической дифференциации популяций определяли, используя в качестве меры генетические расстояния GD_{cg} (Link *et al*., 1995):

$$GD_{ij} = (N_i + N_j) / (N_{ij} + N_i + N_j),$$

где N_i – число последовательностей дисков, представленных в кариофонде популяции i и отсутствующих в популяции j; N_j – число последовательностей дисков, представленных в кариофонде популяции j и отсутствующих в популяции i; N_{ij} – число последовательностей дисков, представленных в кариофондах обеих популяций. Эта мера изменяется от 0 (максимальное сходство) до 1 (максимальное различие).

Определение коэффициента миграции (N_m) проводили по методу редких аллелей (Slatkin, Barton,1989).

Эффективную численность популяций (N_e) рассчитывали по Wright (1969), исходя из соотношения частот гетерозигот в исходной популяции (H_0) и в момент времени T (H_T):

$$H_T = H_0 e^{-T/2Ne}.$$

Результаты и обсуждение

Сравнение числа последовательностей дисков в кариофондах 90 голарктических, палеарктических и неарктических видов рода *Chironomus* показало, что объемы кариофондов у голарктических видов больше, чем у эндемичных видов (рис. 1). Среднее число последовательностей дисков в кариофондах голарктических видов составило 29,3 ± 6,0, а в кариофондах палеарктических и неарктических видов 13,0 ± 1,3 и 13,1 ± 1,2 соответственно. Ни один из голарктических видов не является мономорфным. В их кариофондах насчитывается до 56 последовательностей дисков, т. е. в среднем до 8 инверсионных вариантов последовательностей на одно плечо хромосомы. В то же время среди эндемичных видов как палеарктических, так и неарктических 10–15 % видов содержат в кариофонде 7 последовательностей дисков, по одной на каждое хромосомное плечо, т. е. не проявляют полиморфизма. Большинство (почти 60 %) эндемичных видов содержат в кариофондах от 8 до 14 последовательностей,

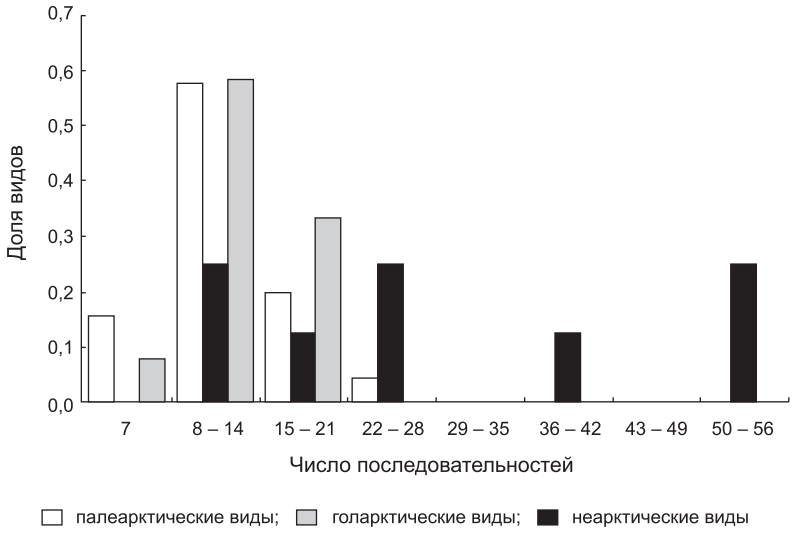


Рис. 1. Число последовательностей дисков в кариофондах палеарктических, голарктических и неарктических видов рода *Chironomus*.

т. е. в среднем до двух инверсионных вариантов последовательностей дисков на одно плечо хромосомы. И лишь у 25–30 % эндемичных видов кариофонды насчитывают до 27 последовательностей.

Голарктические и эндемичные виды рода *Chironomus* различаются и по географическому составу последовательностей дисков, входящих в состав кариофондов. В кариофонды голарктических видов входят последовательности трех типов – голарктические, палеарктические и неарктические. Кариофонды эндемических видов образованы либо только эндемичными последовательностями (палеарктическими последовательностями у палеарктических видов или неарктическими последовательностями у неарктических видов), либо последовательностями двух типов – эндемичными и голарктическими (Kiknadze *et al*., 2008). Эндемичные последовательности составляют большую часть кариофондов эндемичных видов – от 80 % до 100 % (табл. 1). У голарктических видов доли

Таблица 1

Доля последовательностей дисков разных географических типов в кариофондах голарктических, палеарктических и неарктических видов рода *Chironomus*

Виды	Σ	N_p	N_n	N_h
Голарктические виды				
C. anthracinus	20	0,250	0,250	0,500
C. plumosus	29	0,483	0,241	0,276
C. entis	46	0,478	0,391	0,131
C. pallidivittatus	29	0,655	0,172	0,172
C. tentans	60	0,633	0,267	0,100
В среднем для голарктических видов		0,500 ± 0,073	0,264 ± 0,036	0,236 ± 0,072
Палеарктические виды				
C. acutiventris	27	1,000		0,000
C. bernensis	16	1,000		0,000
C. heterodentatus	24	1,000		0,000
C. sokolovae	17	1,000		0,000
C. balatonicus	60	0,967		0,033
C. borokensis	11	0,818		0,182
C. muratensis	17	0,882		0,118
C. nuditarsis	16	0,938		0,063
C. sinicus	11	0,818		0,182
C. suwai	10	0,800		0,200
В среднем для палеарктических видов		0,922 ± 0,027		0,078 ± 0,027
Неарктические виды				
C. crassicaudatus	11		1,000	0,000
C. maturus	13		1,000	0,000
C. utahensis	15		1,000	0,000
C. atrella	16		0,875	0,125
C. cuccini	9		0,778	0,222
C. staegeri	17		0,882	0,118
В среднем для неарктических видов			0,923 ± 0,038	0,077 ± 0,038

Σ – число последовательностей дисков в кариофонде вида; Np – доля палеарктических последовательностей дисков в кариофонде вида; Nn – доля неарктических последовательностей дисков в кариофонде вида; Nh – доля голарктических последовательностей дисков в кариофонде вида.

палеарктических и неарктических последовательностей существенно ниже, чем у эндемичных видов.

Поскольку голарктические виды обитают как в палеарктической, так и в неарктической зонах Голарктики, можно предположить, что географический состав их кариофондов в Палеарктике и в Неарктике совпадает с географическим составом кариофондов соответствующих эндемичных видов. Однако, как видно из данных табл. 1, 2, у всех голарктических видов доля эндемичных последовательностей в кариофондах и в Палеарктике, и в Неарктике существенно ниже, чем у эндемичных видов. В то же время доля голарктических последовательностей у всех голарктических видов в обеих зоогеографических зонах выше, чем у эндемических видов. Следовательно, географическая структура кариофондов голарктических видов отличается от структуры, характерной для эндемических видов, и не является результатом простого их объединения.

Голарктические виды рода *Chironomus* различаются по географической структуре кариофондов как в Голарктике в целом, так и в отдельных зоогеографических зонах (табл. 2). В Палеарктике частоты палеарктических и голарктических последовательностей в кариофонде *C. tentans* близки к таковым у эндемичных палеарктических видов. У трех видов (*C. plumosus*, *C. entis* и *C. pallidivittatus*) палеарктические последовательности являются модальными, однако их частоты существенно ниже, чем у палеарктических видов. А в кариофонде *C. anthracinus* преобладают голарктические последовательности. В Неарктике частоты неарктических последовательностей являются модальными только у двух голарктических видов (*C. tentans* и *C. entis*), у двух видов (*C. plumosus* и *C. pallidivittatus*) частоты неарктических и голарктических последовательностей совпадают, а в кариофонде *C. anthracinus*, как и в Палеарктике, преобладают голарктические последовательности. В Неарктике межвидовые различия географической структуры кариофондов голарктических видов и отличия от географической структуры кариофондов эндемичных видов проявляются сильнее, чем в Палеарктике.

Для того чтобы количественно оценить степень различий кариофондов голарктических видов рода *Chironomus* в разных зоогеографических зонах, рассчитали цитогенетические расстояния между ними (GD_{cg}) (табл. 3). Значения GD_{cg} варьируют от 0 – максимальное сходство, до 1 – максимальное различие между сравниваемыми группами.

Таблица 2

Доля эндемичных и голарктических последовательностей дисков в кариофондах голарктических видов в Палеарктике и Неарктике

Виды	Голарктика				Палеарктика				Неарктика			
	Σ	N_h	N_p	N_n	Σ	N_h	N_p	N_n	Σ	N_h	N_p	N_n
C. anthracinus	20	0,500	0,250	0,250	15	0,667	0,333	0	15	0,667	0	0,333
C. plumosus	29	0,276	0,483	0,241	22	0,364	0,636	0	15	0,533	0	0,467
C. entis	46	0,130	0,478	0,391	28	0,214	0,786	0	24	0,250	0	0,750
C. pallidivittatus	29	0,172	0,655	0,172	24	0,208	0,792	0	10	0,500	0	0,500
C. tentans	60	0,100	0,633	0,267	44	0,136	0,864	0	22	0,273	0	0,727
В среднем для голарктических видов		0,236	0,500	0,264		0,279	0,721	0		0,386	0	0,614
В среднем для палеарктических видов						0,086	0,914	0				
В среднем для неарктических видов										0,093	0	0,907

Σ – число последовательностей дисков в кариофонде вида; N_p – доля палеарктических последовательностей дисков в кариофонде вида; N_n – доля неарктических последовательностей дисков в кариофонде вида; N_h – доля голарктических последовательностей дисков в кариофонде вида.

Таблица 3

Цитогенетическая изменчивость (H) и дифференциация (GD_{cg}) природных популяций голарктических видов рода *Chironomus* в Палеарктике и Неарктике

Виды	Характеристики	Географический район		
		Палеарктика	Неарктика	Палеарктика/Неарктика
C. anthracinus	n	12	8	
	P	5	5	
	H	0,115 ± 0,037*	0,024 ± 0,009*	
	GD_{cg}	0,299 ± 0,019	0,258 ± 0,026	0,372 ± 0,013***
C. plumosus	n	15	12	
	P	6	3	
	H	0,131 ± 0,014***	0,045 ± 0,008***	
	GD_{cg}	0,280 ± 0,010***	0,227 ± 0,005***	0,608 ± 0,010***
C. entis	n	21	20	
	P	7	6	
	H	0,127 ± 0,015**	0,075 ± 0,010**	
	GD_{cg}	0,424 ± 0,008***	0,351 ± 0,009***	0,749 ± 0,003***
C. pallidivittatus	n	6	3	
	P	6	3	
	H	0,233 ± 0,038*	0,090 ± 0,028*	
	GD_{cg}	0,355 ± 0,028**	0,133 ± 0,067**	0,730 ± 0,013***
C. tentans	n	20	4	
	P	7	7	
	H	0,310 ± 0,011	0,258 ± 0,042	
	GD_{cg}	0,329 ± 0,008	0,362 ± 0,030	0,873 ± 0,005***

n – число популяций; P – число полиморфных плеч хромосом; H – ожидаемая гетерозиготность; GD_{cg} – цитогенетическое расстояние; *, **, *** $p < 0,05$, 0,001, 0,0001 соответственно.

Можно видеть, что у всех голарктических видов хирономид цитогенетические расстояния между популяциями в Палеарктике сходны с аналогичными значениями между популяциями в Неарктике. Средние значения этого параметра сходны у всех голарктических видов как в Палеарктике, так и в Неарактике и совпадают с цитогенетическими расстояниями между популяциями эндемичных палеарктических и неарктических видов (табл. 3, 4).

Однако цитогенетические расстояния между популяциями голарктических видов хирономид, обитающими на разных континентах, существенно выше оценок степени цитогенетической дифференциации популяций внутри каждого

Таблица 4

Коэффициент миграции (N_m) между популяциями голарктических видов рода *Chironomus* в разных географических районах

Вид	Голарктика	Палеарктика	Неарктика
C. anthracinus	0,223	20,5	8,3
C. plumosus	0,166	6,7	28,8
C. entis	0,251	5,2	18,3
C. pallidivittatus	0,126	3,9	–
C. tentans	0,189	15,2	3,1

из континентов. Причем у разных видов эти оценки не одинаковы. У *C. tentans* цитогенетические расстояния между палеарктическими и неарктическими популяциями достигают значений, характерных для различий между видами-двойниками, тогда как у *C. anthracinus* не отличаются от оценок между популяциями в каждой из зоогеографических зон. У остальных голарктических видов они существенно больше, чем межпопуляционные, хотя и меньше, чем межвидовые (табл. 3).

В целом анализ состава кариофондов показал, что, имея сходный ареал распространения, голарктические виды рода *Chironomus*, во-первых, существенно отличаются друг от друга по географической структуре кариофондов как в Голарктике в целом, так и на каждом из континентов, а, во-вторых, оценки цитогенетических расстояний между географически изолированными палеарктическими и неарктическими популяциями у 4 из 5 голарктических видов (за исключением *C. anthracinus*) значительно больше, чем между популяциями внутри каждого из континентов. Эти оценки межконтинентальной дифференциации популяций голарктических видов выходят за пределы значений, соответствующих степени цитогенетической дифференциации популяций, не нарушающей целостности вида, и свидетельствуют о возникновении дивергенции видов, достигшей разной глубины у разных голарктических видов в условиях географической изоляции.

Причин разнообразия степени межконтинентальной цитогенетической дифференциации популяций среди голарктических видов хирономид может быть много. Наиболее существенные факторы, которые могут вызвать наблюдаемые межвидовые различия, – это интенсивность потока генов между популяциями, частота мутирования, изменение адаптивной значимости последовательностей дисков, эффективная численность популяций и продолжительность географической изоляции популяций.

Один из факторов – это миграция. Если предположить, что в настоящее время хирономиды могут преодолевать Берингов пролив, тогда между популяциями на разных континентах возможен поток генов. Это приведет к снижению межконтинентальной дифференциации их кариофондов. Если межконтинентальный поток генов у разных видов неодинаков, степень межконтинентальной дифференциации их кариофондов будет различаться. Для того чтобы проверить это предположение, оценили коэффициенты миграции (N_m) между палеарктическими и неарктическими популяциями голарктических видов хирономид, а также между палеарктическими и между неарктическими популяциями этих видов. Принято считать, что если коэффициент миграции (N_m) между популяциями больше 1, между ними существует обмен генами. Если $N_m < 1$, популяции изолированы и обмена генами между ними нет. Данные табл. 5 показывают, что как в Палеарктике, так и в Неарктике у всех голарктических видов $N_m > 1$, а между популяциями с разных континентов $N_m < 1$. Следовательно, в настоящее время обмен генами между популяциями голарктических видов рода *Chironomus* существует на каждом из континентов, однако между популяциями, населяющими географически изолированные континенты, он отсутствует. Это означает, что в настоящее время хирономиды не могут преодолеть Берингов пролив, и различие степени межконтинентальной дифференциации кариофондов голарктических видов обусловлено не межконтинентальной миграцией голарктических видов хирономид в настоящее время, а воздействием других факторов.

Оценивая вклад межконтинентальной миграции, нельзя не учитывать тот факт, что в отдаленные геологические периоды, когда Евроазиатский и Североамериканский континенты были соединены Беринговым мостом, хирономиды могли перемещаться с континента на континент. Об этом свидетельствует наличие голарктических последовательностей в их кариофондах. В первые сроки после колонизации нового географического пространства уровень цитогенетической изменчивости популяций должен снижаться по сравнению с исходным вследствие изменения частот новых благоприобретенных аллелей (selective sweep) или «слабовредных» аллелей (background selection) и потери части генотипов из-за изменения их адаптивной ценности (Hudson, 1994, Stephan *et al*., 1998). Впоследствии мутационный процесс, напротив, должен приводить к появлению новых инверсионных вариантов и к росту цитогенетической изменчивости популяций.

Таблица 5

Цитогенетическая изменчивость (P и H) и дифференциация (GD_{cg}) популяций палеарктических и неарктических видов рода *Chironomus*

Виды	Число популяций	P	H ± m	GD_{cg} ± m
Палеарктические виды				
C. acutiventris	5	7	0,148 ± 0,025	0,430 ± 0,071
C. balatonicus	15	7	0,135 ± 0,018	0,439 ± 0,012
C. bernensis	3	4	0,098 ± 0,020	0,425 ± 0,092
C. cingulatus	7	5	0,145 ± 0,027	0,213 ± 0,040
C. heterodentatus	5	7	0,209 ± 0,020	0,357 ± 0,050
C. muratensis	4	5	0,076 ± 0,019	0,284 ± 0,078
C. obtusidens	4	5	0,066 ± 0,019	0,314 ± 0,046
C. pseudothummi	5	4	0,096 ± 0,023	0,315 ± 0,027
C. sokolovae	6	7	0,112 ± 0,025	0,298 ± 0,038
В среднем для палеарктических видов		5,7 ± 0,4	0,121 ± 0,015	0,342 ± 0,026
В среднем для палеарктических популяций голарктических видов		6,2 ± 0,4	0,183 ± 0,038	0,338 ± 0,025
Неарктические виды				
C. atrella	14	6	0,102 ± 0,025	0,448 ± 0,015
C. bifurcatus	3	4	0,075 ± 0,045	0,572 ± 0,020
C. mozleyi	2	6	0,290 ± 0,026	0,071
В среднем для неарктических видов		5,3 ± 0,6	0,156 ± 0,068	0,364 ± 0,151
В среднем для неарктических популяций голарктических видов		4,8 ± 0,8	0,098 ± 0,042	0,266 ± 0,039

Такое развитие событий подтверждают результаты оценки степени цитогенетической изменчивости видов в разных зоогеографических зонах. В Палеарктике уровень цитогенетической изменчивости (оцениваемый по числу полиморфных плеч хромосом и их гетерозиготности) у голарктических видов соответствует уровню, характерному для палеарктических видов, или превышает его. В Неарктике уровень цитогенетической изменчивости голарктических видов (за исключением *C. tentans*) снижается по сравнению с уровнем, характерным для эндемичных как палеарктических, так и неарктических видов (табл. 3, 4). У палеарктических и неарктических видов уровни цитогенетической изменчивости совпадают, что свидетельствует о сходстве частот возникновения хромосомных мутаций у эндемичных видов на разных континентах (табл. 4). Следовательно, различия уровней хромосомной изменчивости в палеарктических и неарктических популяциях голарктических видов не являются следствием различия частот мутирования хромосом на разных континентах.

Характер изменчивости кариофондов голарктических видов в Палеарктике и Неарктике подтверждает современное представление о том, что виды хирономид, обитающие в настоящее время в Голарктике, до колонизации Северной Америки были палеарктическими (Acton, Scudder, 1971).

Можно предполагать, что в то время в кариофондах исходно палеарктических видов рода *Chironomus* существовали только палеарктические последовательности дисков. После колонизации Североамериканского континента определенные палеарктические последовательности дисков сохранились как на старом, так и на новом географическом пространствах, и стали голарктическими. Наряду с этим как в Новом, так и в Старом Свете возникли новые последовательности – неарктические в Север-

ной Америке и неопалеарктические в Евразии. Поскольку состав кариофондов исходно палеарктических популяций неизвестен, выделить в кариофондах современных палеарктических популяций голарктических видов неопалеарктические последовательности дисков, возникшие после изоляции континентов, невозможно. По-видимому, именно этим можно объяснить тот факт, что в кариофондах голарктических видов палеарктические последовательности составляют большую часть кариофондов. Однако в неарктических популяциях голарктических видов можно выделить неарктические последовательности дисков. Эти последовательности возникли после географической изоляции неарктических популяций. Их концентрация в кариофондах голарктических видов является отражением времени, прошедшего после колонизации нового континента, и географической изоляции популяций. Поскольку частоты мутирования у разных видов хирономид одинаковы, то оценки доли неарктических последовательностей в кариофондах Неарктики у разных голарктических видов (табл. 2) отражают относительный срок колонизации Североамериканского континента. Для простоты сравнения эти оценки у разных голарктических видов были нормированы относительно срока колонизации Северной Америки *C. anthracinus* (табл. 6). Можно видеть, что наиболее длительный срок колонизации у *C. entis* и *C. tentans*.

Для определения относительных оценок эффективной численности голарктических видов необходимо знать гетерозиготность вида в момент его возникновения (H_0) и в настоящее время (H_T). Гетерозиготность видов хирономид в настоящее время хорошо известна (табл. 3, 4), однако их гетерозиготность в период колонизации Североамериканского континента можно определить только косвенным путем. Гетерозиготность неарктических популяций голарктических видов ниже, чем гетерозиготность эндемических неарктических видов (табл. 4). Это является следствием факторов, влияющих на структуру популяций в процессе колонизации. Вместе с тем гетерозиготность палеарктических популяций голарктических видов не отличается от гетерозиготности эндемичных палеарктических видов. Это позволяет предполагать, что уровень изменчивости палеарктических популяций сохраняется на протяжении длительного срока, и значение гетерозиготности палеарктических популяций голарктических видов можно использовать как H_0 – гетерозиготность вида в начальный период. Оценки показали, что эффективная численность у голарктических видов неодинакова. Наиболее велика она у *C. tentans*, минимальна – у *C. anthracinus* (табл. 6).

Таблица 6

Эффективная численность (N_e) и срок миграции (T) видов рода *Chironomus* на Североамериканский континент

Вид	Относительная эффективная численность, N_e	Относительный срок миграции, T
C. anthracinus	0,319 T	1,0
C. plumosus	0,465 T	1,4
C. entis	0,955 T	2,3
C. pallidivittatus	0,526 T	1,5
C. tentans	2,723 T	2,2

Сравнение филогенетических связей между популяциями голарктических видов показало, что популяции объединяются в кластеры по географическому принципу (рис. 2). Палеарктические и неарктические популяции образуют дискретные кластеры у 4 из 5 голарктических видов. Это свидетельствует о значительной дифференциации популяций голарктических видов на разных континентах. И только у одного из видов, *C. anthracinus*, в каждый из кластеров входят как палеарктические, так и неарктические популяции. Этот факт наряду с преобладанием в кариофонде этого вида голарктических последовательностей свидетельствует о его голарктическом происхождении и об отсутствии заметной межконтинентальной дифференциации кариофондов.

Сравнение объема и состава кариофондов, их изменчивости и дифференциации у голарктических и эндемичных (палеарктических и неарктических) видов рода *Chironomus* позволяет установить эволюционную историю вида и регулирующие ее факторы. Занимая один и тот же географический ареал, голарктические виды рода *Chironomus* существенно различаются по эволюционной истории. *C. anthracinus*

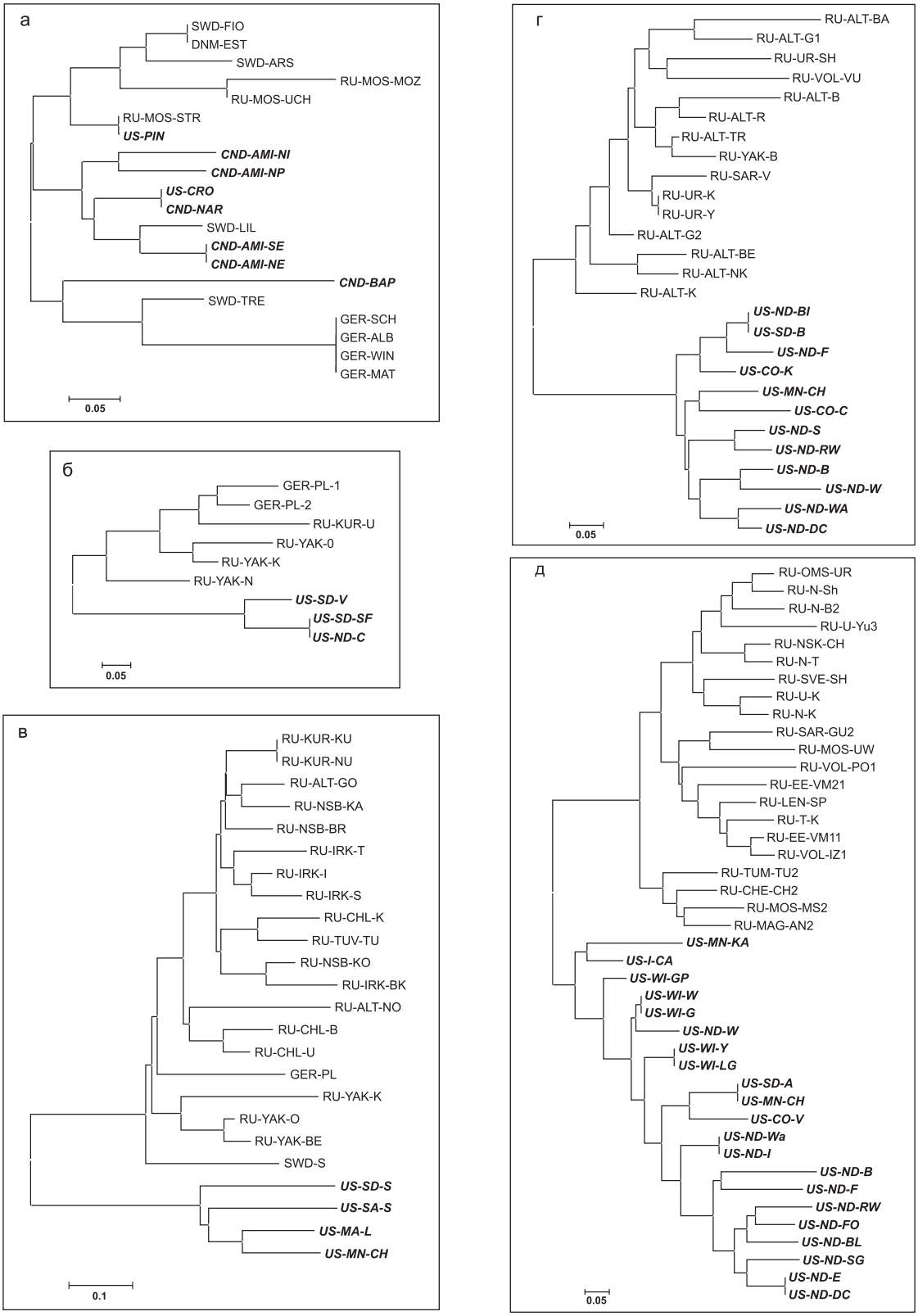


Рис. 2. NJ деревья филогенетических связей палеарктических и неарктических популяций голарктических видов рода *Chironomus*.

а – *C. anthracinus*, б – *C. pallidivittatus*, в – *C. tentans*, г – *C. plumosus*, д – *C. entis*. Палеарктические популяции обозначены прямым шрифтом, неарктические популяции обозначены курсивом.

возник в то время, когда Евроазиатский и Североамериканский континенты были соединены Беринговым мостом и потому является исходно голарктическим видом. Четыре голарктических вида рода *Chironomus* – *C. plumosus*, *C. entis*, *C. pallidivittatus* и *C. tentans* – возникли в Палеарктике в период изоляции Евроазиатского и Североамериканского континентов и были исходно палеарктическими. Миграция в Новый Свет превратила их в голарктические виды. Дифференциация кариофондов голарктического вида *C. tentans* в Палеарктике и Неарктике достигла уровня, характерного для дифференциации видов-двойников. На основании морфологического, цитогенетического и молекулярно-генетического анализа этот вид был разделен на два – *C. tentans* в Палеарктике и *C. dilutus* в Неарктике (Гундерина и др., 1996; Kiknadze *et al*., 1996; Shobanov *et al*., 1999; Гундерина и др., 2007). Исходный голарктический вид *C. tentans* перестал существовать.

Таким образом, весь комплекс полученных данных показывает, что географическая изоляция является мощным фактором, влияющим на генетическую и цитогенетическую структуру видов рода *Chironomus*, создающим предпосылки для их эволюции, реализующейся у каждого из видов в соответствии с его особенностями.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ Президиума РАН «Биологическое разнообразие», проект № 23.30 и «Происхождение и эволюция геобиосистем».

Литература

Андреева Е.Н. Кариотип и хромосомный полиморфизм у неарктических видов хирономид: Дис. … канд. биол. наук. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 1999. 283 с.

Гундерина Л.И., Кикнадзе И.И., Айманова К.Г. и др. Цитогенетическая дифферециация природных и лабораторных популяций *Camptochironomus tentans* (Fabricius) (Chironomidae: Diptera) // Генетика. 1996. Т. 32. С. 53–67.

Гундерина Л.И., Кикнадзе И.И., Голыгина В.В. Дифференциация цитогенетической структуры природных популяций видов-двойников группы plumosus *Chironomus balatonicus*, *Chironomus entis*, *Chironomus muratensis* и *Chironomus nudiventris* (Chironomidae: Diptera) // Генетика. 1999. Т. 35. № 5. С. 606–614.

Гундерина Л.И., Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Батлер М. Дивергенция геномной ДНК у видов подрода *Camptochironomus* (Diptera, Chironomidae), различающихся по степени цитогенетического сходства // Зоол. журнал. 2007. Т. 86. С. 933–944.

Истомина А.Г., Кикнадзе И.И. *Chironomus bernensis* в Западной Сибири. Кариотип и хромосомный полиморфизм // Евразиатский энтомол. журнал. 2004. Т. 3. № 4. С. 283–288.

Истомина А.Г., Кикнадзе И.И., Гундерина Л.И. Хромосомная изменчивость в природных популяциях *Chironomus cingulatus* Meigen (Diptera, Chironomidae) // Цитология. 2009. Т. 51. № 2. С. 138–148.

Истомина А.Г., Кикнадзе И.И., Сиирин М.Т. Кариологический анализ видов *Chironomus* gr. obtusidens Алтая (Diptera, Chironomidae) // Цитология. 1999. Т. 41. № 12. С. 1022–1031.

Кикнадзе И.И., Брошков А.Д., Истомина А.Г. и др. Географическая изменчивость последовательностей дисков политенных хромосом комара-звонца *Chironomus pseudothummi* (Diptera, Chironomidae) // Цитология. 2008. Т. 50. № 6. С. 539–548.

Кикнадзе И.И., Голыгина В.В., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. Закономерности хромосомного полиморфизма при дивергенции популяций и видов у хирономид (Diptera, Chironomidae) // Сиб. экол. журнал. 2004. Т. 5. С. 635–651.

Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Гундерина Л.И. Цитогенетическая дифференциация природных популяций *Chironomus obtusidens* (Diptera, Chironomidae) // Зоол. журнал. 2007. Т. 86. № 8. С. 921–932.

Сиирин М.Т., Кикнадзе И.И., Истомина А.Г. Цитогенетическая дифференциация популяций у видов *Chironomus heterodentatus* и *Ch. sokolovae* из группы obtusidens (Diptera, Chironomidae) // Зоол. журнал. 2002. Т. 81. № 12. С. 1476–1486.

Шилова А.И., Шобанов Н.А. Каталог хирономид рода *Chironomus* Meigen 1803 (Diptera, Chironomidae) России и бывших республик СССР // Экология, эволюция и систематика хирономид. Тольятти, Борок: ИБВВ и ИЭВБ РАН, 1996. С. 28–43.

Acton A.B., Scudder G.G.E. The zoogeography and races of *Chironomus* (=*Tendipes*) *tentans* Fab. // Limnologica. 1971. V. 8. P. 83–92.

Butler M.G., Kiknadze I.I., Golygina V.V. *et al.* Cytogenetic differentiation between Palearctic and Nearctic populations of *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae) // Genome. 1999. V. 42. № 5. P. 797–815.

Elias S.A., Short S.K., Nelson C.H., Birks H.H. The life and times of the Bering Land Bridge // Nature. 1996. V. 382. P. 60–63.

Hudson R.R. How can the low level of DNA sequence variation in regions of the *Drosophila* genome with low recombination rates be explained? // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 6815–6818.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Aimanova K.G. *et al*. Geographic variation in polytene chromosome banding pattern of the Holarctic midge *Chironomus* (*Camptochironomus*) *tentans* (Fabricius) // Canad. J. Zool. 1996. V. 74. P. 171–191.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Aimanova K.G. *et al*. Divergent cytogenetic evolution on Nearctic and Palearctic populations of sibling species in *Chironomus* (*Camptochironomus*) Kieff. // Canad. J. Zool. 1998. V. 76. P. 361–376.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Golygina V.V. *et al*. Intercontinental karyotypic differentiation of *Chironomus entis* Shobanov, a Holarctic member of the *C. plumosus* group (Diptera, Chironomidae) // Genome. 2000. V. 43. P. 857–873.

Kiknadze I.I., Gunderina L.I., Butler M.G. *et al*. Chromosomes and continents // Biosphere Origin and Evolution / Eds N. Dobretsov, A. Rozanov, N. Kolchanov, A. Zavarzin. Springer, 2008. P. 349–369.

Kiknadze I.I., Wülker W.F., Istomina A.G., Andreeva E.N. Banding sequence pool of *Chironomus anthracinus* Zett (Diptera, Chironomidae) in Palearctic and Nearctic // Euroasian Ent. 2005. V. 4. P. 13–27.

Link W., Dixkens C., Singh M. *et al*. Genetic diversity in European and Mediterranean faba bean germ plasm revealed by RAPD markers // Theor. Appl. Genet. 1995. V.90. P. 27–32.

Martin J., Andreeva E.N., Kiknadze I.I., Wülker W.F. Polytene chromosomes and phylogenetic relationships of *Chironomus atrella* (Diptera, Chironomidae) in North America // Genome. 2006. V. 49. № 11. P. 1384–1392.

Shobanov N.A., Kiknadze I.I., Butler M.G. Palearctic and Nearctic *Chironomus* (*Camptochironomus*) *tentans* (Fabricius) are different species (Diptera: Chironomidae) // Ent. Scand. 1999. V. 30. P. 311–322.

Slatkin M., Barton N.H. A comparison of three indirect methods for estimating the average level of gene flow // Evolution. 1989. V. 43. P. 1349–1368.

Stephen W., Xing L., Kirby D.A., Braverman J.M. A test of the background selection hypothesis based on nucleotide data from *Drosophila ananassae* // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 5649–5654.

Wuelker W. Two new *Chironomus* (Diptera)-species with fluviatilis-type larvae from the nearshore sandy sediments of lake Michigan // Andersen T. Contributions to the systematics and ecology of Aquatic Diptera. A tribute to Ole Saether. The Caddis press, 2007. P. 321–333.

Wuelker W., Martin J., Kiknadze I. *et al*. *Chironomus blaylocki* sp. n. and *C. bifurcatus* sp. n., North American species near the base of the decorus-group (Diptera: Chironomidae) // Zootaxa. 2009. V. 2023. P. 28–46.

Wright S. Evolution and Genetics of Populations. V. 2. The Theory of Gene Frequences. Chicago; London: Univ. Chicago Press, 1969. 511 p.

EVOLUTION OF BANDING SEQUENCE POOLS IN SPECIES OF THE GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) IN HOLARCTIC

L.I. Gunderina, I.I. Kiknadze

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: gund@bionet.nsc.ru; kiknadze@bionet.nsc.ru

Summary

Comparison of the numbers and sets of banding sequences in the banding sequence pools of Holarctic species inhabiting North America and Eurasia, and endemic, Palearctic and Nearctic, species of the genus *Chironomus*, analysis of variation and differentiation of banding sequence pools in Holarctic, Palearctic and Nearctic species, study of phylogenetic relationships between populations of Holarctic species shed light to the evolutionary history of these species. The study of gene flow between populations, mutation rate, changes of banding sequence fitness, effective numbers of populations and the duration of geographic isolation of populations, allowed the impact of geographic isolation into the evolutionary history of Holarctic species of genus *Chironomus* to be evaluated and demonstrated its species-specificity.

Key words: species of genus *Chironomus*, Holarctic, Palearctic, Nearctic species, polytene chromosomes, banding sequences, banding sequence pools, evolution, geographic isolation.

REARRANGEMENTS IN CHIRONOMIDAE (DIPTERA) GENOMES INDUCED BY VARIOUS ENVIRONMENTAL STRESS FACTORS

P.V. Michailova

Institute of Zoology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria,
e-mail: michailova@zoology.bas.bg

Invertebrates are known to be an appropriate tool for assessment of the state of aquatic ecosystems. Some insect groups are frequently used in alternative test methods due to their specific characteristics such as: higher sensitivity than in vertebrates, short live cycles, large population size, availabity at a very low cost, etc. Species of family Chironomidae are very suitable invertebrates for risk assessment within the scope of programs of aquatic ecosystem and human health protection. They are widely distributed, sensitive to many pollutants; some of them can be cultivated; they have a short life cycle; and their larvae are of great importance in aquatic food chains. They have excellent salivary gland chromosomes, which are promising tools to assess genotoxicity in the environment. Due to their good resolution they allow detection of a broad range of cytogenetic aberrations at the structural and functional levels. Somatic structural aberrations (inversions, deletions, deficiencies, amplification, and others) can be used as biomarkers at the cytogenetical level for measurement of the toxic effects of different stress agents in the environment. Due to deletions in chromosome G in some chironomid species, it was transformed to so called pompon-like chromosome G, which can be used to test the genotoxicity of various agents in an aquatic ecosystem. It is emphasized that the BR system is a very interesting model for studying the response of the genome to pollutants in the environment. Together with the standard activity of this system, a clear reversed level of activity was observed. Changes of the activity of the Nucleolar Organizer were also detected. It is shown that these important key structures are affected by trace metal toxicity. The protective role of heterochromatin is discussed. It has been shown that in the model ecotoxicological species *C. piger* and *C. riparius* the distribution of somatic rearrangements in their genome is nonrandom. They concentrate mainly at or close to sites rich in repetitive DNA loci. Structural and functional aberrations in polytene chromosomes can serve as early-warning indicators of environmental pollutions. Changes at the population and community levels can be analyzed by using these biomarkers of individual response.

Key words: Chironomidae, genotoxicity, polytene chromosomes, structural aberrations.

To the famous scientist, colleague and friend Prof. Dr. Iya Ivanovna Kiknadze, who is still full of energy and keeps working in the field of Genetics: Cytogenetics and Evolution, especially of family Chironomidae, Diptera

Invertebrates as early indicators of environmental impact

Environmental pollution is one of the serious problems in the world. Nowadays we witness degradation of the surroundings. Many species have disappeared, ecosystem structures and functions have changed, and biodiversity is being destroyed. The main task of our society is to protect the environment and improve life quality. Methods applied to detection and assessment of the impact of pollutants on ecosystems are of great importance. Biological approaches have a number of advantages that make them particularly suitable for accessing the dynamic process in ecosystems (Walker *et al*., 1998).

Biological communities provide direct means for studying the impact of pollutants in the environment. They are exposed to and directly involved in the transformation of pollutants in ecosystems.

Different vertebrate species are in use as test system to monitor the environment (Walker *et al*., 1998).

Nowadays, though, invertebrates can replace vertebrates in some testing protocols. With invertebrates, pollutants can be better evaluated at the individual, population and community levels (Lagadic, Caquet, 1998). They provide evidence for the existence of causal links between individual responses and changes at the population and community levels. Changes of individual responses assessed through biomarker measurements at the population and community levels are probably among the most important initial steps in the development of early indicators of the environmental impact of agents. The toxicological and ecotoxicological responses of invertebrates have a key role in the environmental agent impact assessment. The development of bioassays with invertebrates is stimulated by both biological and toxicological features of these organisms. Biological aspects are related to their maintenance under controlled conditions. Their specific responses to various stress factors determine their toxicological significance. They have been successfully used in acute and chronic tests for hazard identification (Lagadic, Caquet, 1998). These authors note that invertebrates occupy key positions in the food webs of aquatic ecosystems and some of them are present in a wide range of habitats. The invertebrates have been used largely for the monitoring of chemicals in the environment. Biological, ecological and toxicological characteristics render invertebrates useful in detecting pollution in specific habitats, mainly through their bioaccumulation potential, and in evaluation of individual effects of exposure (Lagadic, Caquet, 1998). Predictions can be made about how future contamination would act at the population and community levels, and therefore, invertebrates can be used as early warning indicators of deterioration and restoration of ecosystem structure and function. With regard to their positions at different levels of food webs, invertebrates play key roles in ecosystems. Most of them occur as large populations and have intimate contact with the substrate where pollutants are accumulated. Also, they have limited ability to move freely and thus cannot escape the exposure to pollutants. Molting appear to be a critical step in the arthropod life cycle and is very important to assess toxic effects of stress factors on individual development. The duration of the intermolt period, mortality rate, and frequency of body part abnormalities can be used as individual criteria to assess the effect of pollutants.

The advantages of family Chironomidae for evaluating the effect of pollutants in freshwater ecosystems

One very important group of invertebrates is Chironomidae. They have many advantages for assessment of the state of the environment. Chironomids are a widely distributed and abundant group of species, which inhabit aquatic ecosystems and play there an important role. Chironomid larvae account for at least 50 % of the macro-invertebrate species in any freshwater ecosystem. Individual larvae represent basic units of biological communities. They integrate into a single whole at lower levels of biological organization (molecular, cellular and organ) and form building blocks for higher organization levels: populations, communities, and ecosystems (Warwick, 1990). Their larva stage is the most critical, the most responsive to environmental stress, and the most metabolically active stage of their life.

From the viewpoint of pollution assessment in biomarker studies, benthic larval stages of Chironomidae (Diptera) are regarded as a typical biomonitoring model for ecotoxicological tests (Warwick, 1988; Jannssen de Bisthoven *et al*., 1992). They are included in both the Extended Biotic Index (De Pauw *et al*., 1992) and the Annex V.1.2.6 of the E. C. Water Framework Directive. The classification of lakes as oligotrophy, mesotrophy and eutrophy can be performed on the basis of chironomid communities. In this way they can be used for defining the trophic state of a lake (Saether, 1979). Also, they play a large role in lake purification. Chironomid larvae are directly exposed to pollutants, and their tissues can accumulate various pollutants, which later are transferred to fish and ducks and then to humans. Chironomid larvae are the primary link of the food chain, from the sediment to the higher levels of the chain. At present, chironomid larvae are used in environmental tests owing to their wide range of sensitivity to different environmental factors: temperature, pH, depth, food, freezing, salinity, oxygen, pollutants and etc. The external morphology of the larvae (mandibles,

antenna, submentum, and epipharynx) is very sensitive to these parameters (Warwick, 1990). Warwick also indicated that morphological abnormalities possessed a number of advantages for assessment and detection of the impact of pollution on aquatic ecosystems. However, later it was shown that the chironomid genome was more sensitive and responsive to pollutants in aquatic ecosystems than external morphology (Michailova *et al*., 1996, 1998, 2000, 2001a, b, 2003, 2006, 2008, 2009a, b, c; Petrova, Michailova, 2002; Petrova *et al*., 2004; Sella *et al*., 2004; Planello *et al*., 2007). Chironomid larvae (stage exposed to pollutants) possess salivary gland chromosomes, which make chironomids appropriate subjects for cytogenetic monitoring. Due to chromosome aberration analysis, chironomids can be used for tracing mutagen effects of a number of stress agents. The following features of polytene chromosomes are applicable for this purpose: size and polyteny with a very good band pattern along the chromosomes (Michailova, 1989). Also, standard karyological characteristics of some species (Hägele, 1970; Wülker, Klötzli, 1973; Kiknadze, 1987; Michailova, 1987, 1989; Michailova, Contreras-Lichtenberg, 1995; Kiknadze *et al*., 1991; Michailova, Todorova, 1998) can be employed as a basis to reveal environmental mutagens by studying chromosome aberrations; appearance of heterochromatin; and changes in the functional activity of the polytene chromosomes and the activity of key structures, such as Balbiani rings (BRs) and Nucleolar Organizer (NOR).

Having in mind the advantages of chironomids, we used this knowledge for tracing the effect of several factors in the environment, especially the consequences of trace heavy metal pollutants on the structure and functional organization of polytene chromosomes in the species. We also tried to establish biomarkers for detection of pollutants in aquatic ecosystems and assessment of their significance and their toxic effects.

The effect of heavy metals and important species appropriate for characterization of their genotoxicity

Heavy metals are very important as trace element for normal cellular functions. Most of them form active sites in a number of enzymes involved in oxidation-reduction reactions. However, they can be toxic to cells once their levels exceed physiological values. The effect of heavy metals can manifest itself at high concentrations for short periods, causing acute toxicity, or at low concentrations but for long periods of time, when it can cause chronic toxicity, leading to disorders in vital functions, such as abnormalities in morphology, growth, maturation, reproduction, hatching, etc.

In order to study the effect of various trace metals on the genome structure, we can use species of genera *Chironomus* Meigen and *Glyptotendipes* Kieffer, subfamily Chironominae. It is important that the species can be reproduced in the laboratory (Fischer, 1969; Michailova, 1985) and used in dose-response experiments in order to validate and calibrate responses observed in the field. Such species are *Chironomus riparius* Meigen 1804, *C. piger* Strenzke, 1959, *Glyptotendipes barbipes* (Staeger, 1839), *G. salinus* Michailova, 1987, *G. glaucus* Meigen, 1818 and *G. pallens* Meigen 1804 (Michailova, Belcheva, 1990; Michailova *et al*., 1996, 1998, 2000; Ilkova, 2004). The response of the genome to various stress agents was also detected in *C. bernensis* Wülker, Klötzli, 1973 (Petrova, Michailova, 2002; Michailova *et al*., 2009b) and *C. plumosus* L. (Michailova, Mettinen, 2000; Ilkova, 2004; Michailova *et al*., 2009b). Also, the reaction of *C. acidophilus* Keyl, Keyl, 1959 genome from an acidic lake was analyzed (Michailova *et al*., 2009a). The polytene chromosomes of the above species have clear band structures, and good standard chromosome maps are available for them (Hägele, 1970; Michailova, 1987, 1989; Kiknadze *et al*., 1991; Petrova, Michailova, 2002). This allows tracing the cytogenetic effects of some metals on the structure and function of polytene chromosomes. Cytogenetic effects can also be studied under laboratory conditions, and typical chromosome rearrangements are known to be signals for certain pollutants.

Knowledge of the biology of the species, their phylogeny, and DNA organization of their genome is very important in consideration of genomic responses.

Chironomus riparius and *C. piger* are homosequential species, distinguished by the amount of heterochromatin (Hägele, 1977; Michailova *et al*., 2009c) and by the amount and location of repetitive DNA (Schaefer, Schmidt, 1981; Michailova *et al*., 2009c). The former is a phylogenetically younger

benthic chironomid species, most widely distributed in freshwater ecosystems. *Glyptotendipes barbipes* and *G. salinus* are sibling species, also benthic. They differ in specific homozygous inversions (Michailova, 1987; Andreeva *et al*., 1998) as well as in phylogeny: *G. barbipes* is younger (Michailova, 1987).

Glyptotendipes glaucus and *G. pallens* are miner species. They have species-specific band patterns of the polytene chromosomes. *Glyptotendipes pallens* is phylogenetically older (Hoffrichter, 1977). In this way, it is possible to trace the effects of biology and phylogeny on the genome response of Chironomids. Timmermans *et al*. (1989) established different external morphology reactions of *Chironomus* species depending on their biology. In order to understand the genome response to anthropogenic factors, especially to trace metal pollution, it was necessary to perform two types of studies: field and laboratory experiments.

Field studies of various *Chironomus* and *Glyptotendipes* species were performed in lakes or ponds characterized by higher concentrations of different trace metals in comparison with fossil sediments (Forstner, Salomons, 1980; Michailova *et al*., 1996, 1998, 2000, 2009a, b; Ilkova, 2004; Petrova *et al*., 2004; Sella *et al*., 2004).

Laboratory experiments were performed with fertilized egg masses from unpolluted ponds: *C. riparius*, *C. piger*, *G. salinus*, *G. barbipes* and *G. pallens* (Michailova, Belcheva, 1990; Michailova *et al*., 2001a, b, 2003, 2006, 2009c). Acute and chronic experiments involved treatment with Al ions, $CuCl_2$, $Cr(NO_3)_3$ and $Pb(NO_3)_2$. All experiments were carried out under standard conditions at 20 °C and with a photoperiod of 16h light, constantly aerated, and pH 7, which was kept by adding NaOH or HNO_3. Parallel control experiments were done.

Cytogenetic characteristics of the genomes of species under study

The species of genus *Chironomus* belong either to the cytocomplex thummi (Keyl, 1962) (*C. riparius*, *C. piger*, *C. plumosus*), with chromosome arm combinations AB CD EF G or to cytocomplexes *lacunarius* (Wülker, Klötzli, 1973) (*C. bernensis*) and *pseudothummi* (Keyl, 1962) (*C. acidophilus*), with chromosome arm combinations: AD BC EF G and AE, BF, CD G respectively. In all complexes the chromosome set is $2n = 8$, chromosomes AB, AD, BF, BC, CD are metacentric, chromosomes AE and EF – submetacentric and chromosome G – is either acrocentric (*C. riparius*, *C. piger*, *C. plumosus*, *C. acidophilus*) or telocentric (*C. bernensis*). In most cases chromosome G bears the key structures: Balbiani rings (BRs) and a Nucleolar Organizer (NOR). In *C. bernensis*, NORs occur in chromosomes AD and EF. The centromere regions of the polytene chromosomes of these species are distinct. They look like dark heterochromatin bands. The species of genus *Glyptotendipes* also have $2n = 8$, with chromosome arm combinations tentatively designated as AB CD EF G, Chromosome G of *G. glaucus* and *G. pallens* carries BRs and NORs, while in *G. barbipes* and *G. salinus* chromosome G has BRs only, each of the other chromosomes having a NOR. Chromosomes AB CD EF of the studied species are metacentric, in *G. pallens*, *G. salinus*, *G. barbipes* chromosome G is telocentric, and in *G. glaucus* it is acrocentric. (Michailova, Contreras-Lichtenberg, 1995). The centromere regions in *G. barbipes* and *G. salinus* are characterized by large dark knobs, whereas in *G. glaucus* and *G. pallens* they look like dark heterochromatin bands.

Well done standard chromosome maps are available for all aforementioned species (Hägele, 1970; Michailova, 1987, 1989; Kiknadze *et al*., 1991; Michailova, Contreras – Lichtenberg, 1995; Petrova, Michailova, 2002), which allow detailed analysis of chromosome rearrangements under different stress factors.

Structure chromosome rearrangements

In all species studied, belonging to geographically isolated populations (Bulgaria, Italy, Russia, Poland, and Finland) and collected from lakes and ponds with elevated concentrations of trace metals (Michailova *et al*., 1996, 1998, 2009a, b; Petrova *et al*., 2004; Sella *et al*., 2004), we found both inherited (Chromosomes are affected in all salivary gland cells.) and somatic rearrangements (Only few cells of one individual are affected.) (Sella *et al*., 2004). The **inherited aberrations** were dominated by paracentric heterozygous inversions, appearing as complex heterozygous inversions affecting large regions of polytene chromosomes, with a fre-

quency exceeding 1 % (Petrova, Michailova, 2002; Michailova *et al*., 2009a, b). An exception was *C. riparius*, whose inherited aberrations occurred at a frequency below 1 % (Kiknadze *et al*., 1988; Sella *et al*., 2004). According to Sella *et al*. (2004), the observed inversions in this species can be considered endemic, which have occurred recently or have been randomly floating in populations for a long time and should disappear sooner or later (Sella *et al*., 2004). The observed heterozygous frequency did not differ significantly from those expected from the Hardy – Weinberg equilibrium (Sella *et al*., 2004). Only few pericentric inversions were detected in a separate population of *C. riparius* (Petrova *et al*., 2004, Sella *et al*., 2004). No correlation or relationships were detected between the H index (obtained by dividing the number of different hereditary aberrations by the number of studied larvae) and pollutant levels in the sediments (Sella *et al*., 2004). Inherited heterozygous inversions in *C. riparius* were observed also in larvae exposed to different concentrations of Cr, Pb, Al, or Cu (Michailova *et al*., 2001a, b, 2003, 2006), although at a higher frequency.

Somatic rearrangements. Somatic chromosome aberrations of different types were detected in the *Chironomus* and *Glyptotendipes* species studied, both by field and laboratory exposure to different concentrations of trace metals (Al, Cr, Pb, Cu): para-pericentric heterozygous inversions, deficiencies, amplifications, and deletions (Michailova *et al*., 2000, 2001a, b, 2003, 2006, 2008, 2009a, b, c). The inversions, amplifications and deficiencies affected small regions of the chromosomes and only few cells of a particular individual. They occurred at very low frequencies (Michailova *et al*., 2001a, b, 2003, 2006, 2009c; Petrova *et al*., 2004; Sella *et al*., 2004). With regard to the phylogeny of the species, it is important to emphasize that the genome of the phylogenetically younger species is more sensitive than the genome of an older species, *C. piger*. For instance, the frequency of somatic inversions observed in *C. riparius* sampled in the field (51,9 %) was significantly higher than that observed in *C. piger* (21,3 %) (G = 61,923, df 1, P < 0,001) (Ilkova *et al*., 2007). Having in mind King's (1993) idea that the chromosome rearrangements are not randomly distributed in the chromosome but depend on DNA organization, note that the genome of *C. riparius* showed the tendency for more variable aberrations compared to other species. It can be a result of the more interspersed repetitive DNA distribution in its genome. However, some breakpoints of inversions were shared by both sibling species (Michailova *et al*., 2002; Ilkova *et al*., 2007). Benthic and miner species showed different reactions. Benthic species are also more sensitive than miner ones owing to their direct contact with pollutants in the sediments (Ilkova, 2004).

In addition to inversions, we observed homozygous deletions and heterozygous deficiencies in some of the polluted sites and exposed larvae of *C. riparius* and *C. piger* (Michailova *et al*., 1996, 1998, 2000, 2001a, b, 2003, 2006; Sella *et al*., 2004; Michailova *et al*., 2009c). Deletions affected only chromosome G of sibling, homosequential species, *C. piger* and *C.riparius*, where in fact very important structures are located: BRs and NOR. They affected either BRb or BRc, or both BRc + BRb, again with a higher frequency in the phylogenetically younger species *C. riparius* – 16,8 % compared to *C. piger* – 7,9 % (Ilkova *et al*., 2007). Some of these deletions can induce the formation of a so-called «pompon»-like chromosome (Fig. 1, a, b). This is a specific phenomenon of the reaction of a small chromosome: it has lost much of its genetic material, and other parts become very active. Sometimes, chromosome G assumed a very compact state in few cells of studied individuals (Fig. 1, a, c) (Michailova *et al*., 2003).

Somatic deficiencies appear very seldom. For instance, in few cells of *C. riparius* from Moncalieari, Italy, a deficiency was detected in arm E (Michailova *et al*., 1998), and in individuals from Santena, Italy, in arms A, B, D, and G (Michailova *et al*., 1998, 2000). Of special interest is the appearance of heavily stained bands in some sections of *C. riparius* chromosomes. Arm D: D2, D2f, D3b, D3de, C4e; arm E: 4f, 5ef; arm F: B3h (Michailova *et al*., 1996). Some of these bands appeared in different forms: as an amplified band, as a band in the heterozygous state, and as a band in the normal homozygous state. Very interesting events were observed in chromosome EF in Italian sites studied (Moncalieari and Santena). Two sections in arm E (A5d-g and A4f-g) and two sections in arm F (B3h and B3o) were often larger than the same sections in the standard chromosome map. They could appear in the homozygous, heterozygous and

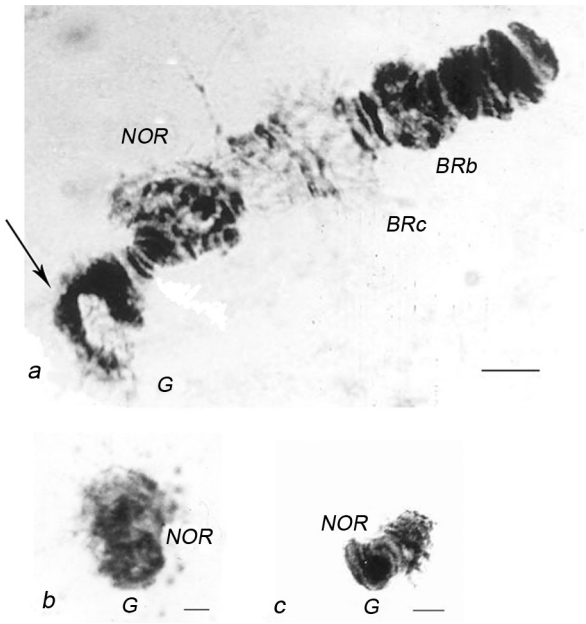


Fig. 1. Chromosome G of *Chironomus riparius*.

a – chromosome G: BRb, Balbiani Ring b; BRc, Balbiani Ring c; NOR, Nucleolar Organizer; b – chromosome G with deletions, looking as a «pompon»; c – chromosome G with deletions, in the compact state.
BR – Balbiani Ring; NOR – Nucleolar Organizer. The arrow indicates the centromere region.
Scale bar = 10 μm.

amplified homozygous states in one and the same individual. Densitometrical analysis was performed in sections A5d-g and A4f of arm E and section B3h of arm F (Sella *et al*., 2001). The mean value of DNA content in section EA4f was 18,8 pg., in section EA5d-g, 18,2 pg, and in section FB3h of arm F, 9,6 pg. Sections A4f and A5d-g of arm E and section FB3h of arm F had 7, 13 and 15 times higher DNA contents than the lowest class in the control (Sella *et al*., 2001). The authors suggested that this somatic size variation was due to somatic recombination events provoked by pollutants in the sediments of water basins.

Another interesting event, a somatic heterozygous translocation, was observed in the St. Petersburg population of *C. riparius* (Petrova *et al*., 2004).

One very important event should be mentioned: the tendency for correlation between the number of somatic aberrations and pollution in the regions under study. The maximum numbers of somatic aberrations were detected in samples of *C. riparius* and some other chironomid species from very highly polluted sites (Sella *et al*., 2004; Michailova *et al*., 2009b). Also, the frequency of somatic aberrations in chironomid larvae treated with different concentrations of trace metals was significantly higher than in control larvae (Michailova *et al*., 2001a, b, 2003, 2006). These results confirm Lagadic and Caquet's (1998) idea that somatic aberrations can be used to assess the genotoxic effect of environmental factors.

It is important to consider the observed changes of the appearance of euchromatin and heterochromatin in the polytene chromosomes of *C. riparius* from polluted areas. The field and laboratory-treated materials of *C. riparius* provide evidence for a process involving the transformation of euchromatin into heterochromatin. Chromosomes AB, CD and EF have fine interstitial dark C heterochromatin bands, which are euchromatic in unpolluted and control populations (Michailova *et al*., 1997). If we assume that heterochromatin plays a protective role in absorbing damages and structure aberrations, the transformation of euchromatin to heterochromatin might provide an adaptive advantage for cells or individuals as a whole.

Another very interesting event observed in the field populations under study is position effect variegation (PEV). Some of the somatic pericentric inversions were associated with PEV: in the homologue where the inversion is located, a pseudopuff was found, and in the other homologue the same region was in the standard condensed state (Michailova *et al*., 1997).

In this case the activity of one and the same gene can depend on its position in the genome (Henikoff, 1990). Euchromatin, near or within a heterochromatin region, usually becomes inactivated or shows variegated expression. In some studied populations in Italy and treated material, PEV was observed in arms A, D, E and F of *C. riparius* polytene chromosomes. In all these cases PEV varied from cell to cell, producing mosaic gene expression. It is known that a variety of environmental conditions can either enhance or suppress the variegating effect. In *Dr. melanogaster* PEV has been observed after ionizing radiation (Henikoff, 1990), inducing chromosome rearrangements. In populations studied by us and the treated material of *C. riparius* PEV could be caused by a heterozygous inversion, produced by the high concentrations of some heavy metals or complexes of various trace metals in the

field. In this way the euchromatin adjacent to the centromere heterochromatin becomes inactive owing to a heterozygous inversion, and turns into heterochromatin (Michailova *et al*., 1997). Assuming the hypothesis that PEV results from inactivation of normal genes by histone-mediated condensation of chromatin within some cells (Mottus *et al*., 1980), one may suggest that it is accumulation of specific proteins that is involved in gene inactivation.

There are different hypotheses concerning the effect of trace metals on the species and its genome. Naturally, the chemical speciation of trace metals exists, and it can therefore increase their bioavailability. Kleimann *et al*. (1981) found that chironomids from an acidic lake polluted with trace metals also could regulate the accumulation of copper, zinc and, to some extent, manganese. Karlik *et al*. (1980) noted that, as aluminum forms different complexes depending on pH, at high pH the presence of Al has a stabilizing effect upon DNA as the metal binds to its phosphate groups. At low pH, aluminum can destabilize the DNA double helix, for it preferentially binds to denaturized DNA and forms cross links between strands, forming the so-called Complex II (Karlik *et al*., 1980).

Copper is known to destabilize DNA, possibly through localized production of hydroxyl radicals (Bremner, 1998). Zinc generally has a beneficial effect on the genome by, for example, reducing the toxicity of cadmium (Nocentini, 1987; Coogan *et al*., 1992). Excess zinc can, however, leads to an increase in reactive iron, which can damage DNA through reaction with hydrogen peroxide to produce hydroxy radicals (Elgohary *et al*., 1998). Copper and zinc also influence gene expression by, for example, regulating the activity of detoxication-associated metallothionein genes. Sanderson *et al*. (1980), who studied the black fly *Simulium vitatum*, found that aluminum toxicity may be related to alterations in gene expression. However, special molecular analysis of the genome is required to confirm that such mechanisms operate in the chironomid species studied by us.

Functional changes in chromosomes

Many functional alterations were observed both in field and lab materials of chironomids exposed to different concentrations of trace metals (Michailova *et al*., 2001a, b, 2003, 2006, 2008, 2009a–c). The response of chironomid genomes to different stress agents in the nature, as well as to trace metals in the lab, is characterized by changes in gene expression, clearly manifesting themselves in the puff activity of BRs and NOR. Balbiani rings are key structures, as they are sites of intense transcription of genes encoding silk proteins (Wieslander, 1994). These proteins are very important for chironomids due to their participation in the construction of the tubes where larvae develop. The Nucleolar Organizer function is essential for cell maintenance and ribosomal production, which is highly conserved through evolution (Planello *et al*., 2007).

In most cases, the activity of BRs in *C. riparius* is below the normal value (Michailova *et al*., 1996, 1998, 2001a, b, 2003, 2006). For instance, in *C. riparius* the puffing activity of BRs is normally relatively stable in forth instar larvae but occurs in the fully expanded state up to the prepupa stage (Santa Cruz et al., 1978; Kiknadze et al., 1976, 1985; Diez et al., 1990). BRb is very active in young larvae and at the prepupa stage, while in the middle larval stage BRb is slightly active or collapsed (Santa Cruz *et al*., 1978; Kiknadze *et al*., 1985). Pollution by trace metals or complexes of different trace metals affect the BRs transcription mechanism dramatically. For instance, in some polluted sites of Italian rivers, BRc and BRb of *C. riparius* (IV larva stage, 6–7th phase) are very sensitive, whereas the BRa activity does not change. Both BRs (BRb and BRc) can be in collapse or become very active, and a drastic regression of BRc, paralleled by an expansion of BRb was observed (Michailova *et al*., 1998; Petrova *et al*., 2004). Changes of the activity of these key structures were also recorded after exposure of *C. riparius* larvae to different concentration of Cr, Pb, Al, Cu ions (Michailova, 2001a, b, 2003, 2006). Both the BRs could show slight activity or be in the heterozygous state, or be completely repressed. So, a clear reversal of BRb and BRc activity was observed in polytene chromosomes of *C. riparius* from polluted or exposed lab materials in comparison with an unpolluted population or control. It is important to note that trace metals can induce changes in the puffing of *C. riparius* Balbiani rings relatively similar to those induced by heat shock or sugar feeding (Beermann, 1973; Yagi, 1984; Diez *et al*., 1990). The same tendency was also observed in other chironomid species (Michailova *et al*., 2009a, b, c). It is possible that the BR transcription

machinery can respond in a similar way to different stress situations in the nature.

A very interesting mechanism was observed in *C. acidophilus* (Michailova *et al*., 2009a). In cases when one of BRs was not expressed, a puff at the telomere of chromosome was observed. It is considered to be a compensatory mechanism. Many specific puffs in other chromosomes were also detected in species collected from polluted sites or exposed to trace metals (Michailova *et al*., 1996, 2000, 2001a, b, c). In *C. riparius* an induction of a puff in chromosome G (Dc, E2de) was detected, in either a homozygous or heterozygous state (Kiknadze, Panova, 1972; Michailova *et al*., 1998).

Furthermore, it is noteworthy that the Nucleolar Organizer also shows a change in its activity: from a very high activity of both the homologues in a heterozygous state to a slight activity or complete collapse (Michailova *et al*., 1998, 2003, 2006, 2009c; Petrova *et al*., 2004). Intermediate activity was recorded very often (Michailova *et al*., 2009b, c). Planello *et al*. (2007) to show that ribosomal genes and the Nucleolar function are direct targets for cadmium toxicity.

Thus, the results of drastic disruption of activity of BRs and NOR appear to be the earliest and sensitive signal of toxicity of trace metals. These key cell structures may play the main role in monitoring and responding to stress in the environment.

Some other functional alterations were also observed in both populations and lab experiments. Few specimens of *C. riparius* had two or three chromosomes with telomeres having a loose, granular structure or the centromere looking like a pseudopuff (Michailova *et al*., 2001a, b, 2003). Very often, larvae treated with various concentrations of Cr ions had polytene chromosomes with granular structures in the mosaic state (Michailova *et al*., 2001a).

In few cells of the polytene chromosomes of *G. glaucus* (Ilkova, 2004), of *C. acidophilus* (Michailova *et al*., 2009a), of *C. riparius* (Michailova *et al*., 1996, 2000), an ectopic pairing between different chromosomes was detected. For instance, in *C. riprius*, an ectopic conjugation was observed between chromosome G, section Ee and telomeres A, C, D, E and F (Michailova *et al*., 1996). The lowest degree of contacts was noticed between centromeres AB, EF and G chromosomes. Normally in *C. riparius* the homologues of chromosome G are paired. However, material cases of disturbed pairing were observed in some populations studied or exposed: either both homologues were completely asynapted or they were asynapted in a specific site of the chromosome. The frequency of asynapsis increased from section A to E (Michailova *et al.*, 1996, 1998, 2003).

Other very interesting events were observed in centromere regions of chromosome G of *C. riparius* (Michailova *et al*., 1996, 1998, 2001a, b) and *C. bernensis* (Petrova, Michailova, 2002; Michailova *et al*., 2009b). The species had been either collected from polluted basins or treated with ions of trace metals. Centromere heterochromatin condensation, which led to «dark-knob» formation in *C. bernensis*, was detected. The formation of a «dark knob» had been observed in *C. nuditarsis* from a Swiss population (Fischer, Tichy, 1980). The authors' hypothesis is that the mutation resulted from the absence of a Balbiani ring, replaced by a compact heterochromatin mass. The observed condensation of heterochromatinin in species living in polluted sediments can be formed by additional DNA replication in these chromosome segment under the influence of heavy metal pollution. However, additional molecular studies are required to understand the causes of this phenomenon.

Association between localization of repetitive DNA clusters (Alu and Hinf) and the transposable elements (NRCth1, CRTR) and break points of rearrangements in Chironomid genome

Michailova *et al*. (1996) put forward the hypothesis that a correlation between the chromosomal distribution of some mobile and repetitive DNA elements and sites of chromosomal breakpoints exists in *C. riparius*. In the sibling homosequential species *C. riparius* and *C. piger* the repeats of DNA elements (Alu and Hinf) are very stable in different geographically isolated populations from Germany, Bulgaria, and Italy (Hankeln, 1990; Bovero *et al*., 2002; Ilkova *et al*., 2007; Michailova *et al*., 2007). The Alu and Hinf elements seem to be structural components of *C. piger* and *C. riparius* heterochromatin-like Cla elements (Schmidt, 1984).

The genome of the phylogenetically younger species, *C. riparius*, is rich in these elements in

comparison with the older *C. piger* species. On the one hand, as these cluster have constant positions in both the homosequemtal species, they can be used as molecular markers for their identification. On the other hand, they may cause the higher sensitivity of the *C. riparius* genome to different stress agent. Also, both species are distinguished in the locations of retrotransposons NLRCth1, and larger numbers of signals were detected in the *C. riparius* genome than in *C. piger* (Ilkova *et al*., 2007; Michailova *et al*., 2007, 2009c). Zampicinini *et al*. (2004) performed PCR-based Transposon Insertion Display (TID) and found a high level of insertion variability in *C. riaprus*. The greater number of copies of dispersed repetitive sequences in the *C. riparius* genome than in *C. piger* determines the higher sensitivity of the *C. riparius* genome, where somatic aberrations affected the whole chromosome, whereas in *C. piger* they are concentrated mainly in pericentromeric regions and in few sites of arms D and F (Michailova *et al*., 2009c). Thus, both species, which differ in DNA organization (*Chironomus riparius* has a greater content of DNA elements rich in repetitive DNA elements, dispersed among all chromosomes.) respond to stress agents in different ways. None or significantly less chromosome rearrangements (inversions) were found in *C. piger* (Michailova *et al*., 2009c). In some localities *C. piger* responded mainly by changing the functional activity of its polytene chromosomes, whereas the response of the *C. riparius* genome involved numerous structural and functional alterations. So, these different responses to environmental agents may be associated with the structural organization of their genomes.

In both species the distribution of break points was nonrandom, and proximal regions of the chromosome had significantly more breakpoints than distal ones (Bovero *et al*., 2002). These are common breakpoints, which, according to Bovero *et al*. (2002), are cytological points where a breakage was observed in at least two larvae, either from the same or different populations.

Like breakpoints, repetitive DNA clusters appear to be significantly more abundant in regions of constitutive heterochromatin, such as pericentromeric, proximal regions, but they are rare in or absent from distal sections of chromosomal arms. Also, Gunderina and Aimanova (1998) observed that γ-induced breakpoints concentrated in the pericentromeric regions of *C. riparius* chromosomes and that in some cases their locations coincided with those of repetitive DNA sequences. However, it was proven that the significant association formed between breakpoints and sites of distributions of NLRCth1, Alu, and Hinf clusters in the genomes of both species (Ilkova *et al*., 2007). For instance, twenty of the total number of weak points (58,8 %) occurred in the vicinity of bands hybridizing to probes of Alu and Hinf satellite DNA (Bovero *et al*., 2002). Such correlations were found also for the distribution of CRTR clusters and breakpoints of rearrangements in *C. piger* (Michailova *et al*., 2009 c). Location of the pCthC12HR transposable element (TE) in the genome of *C. riparius* was studied by Kiknadze *et al*. (1987) in larvae of the Novosibirsk population, and coincidences between the location of this element and sites of chromosomal breaks were detected. The data about the sensitivity of the genome to stress agents confirm the idea put forward by Bovero *et al*. (2002) that repetitive DNA and TE-rich regions are more sensitive to genotoxic agents and that they are potentially prone to rearrangements.

According to Golubovsky (2000), the genome consists of obligate and facultative components, and there is an interaction between them. The obligate component consists of unique sequences of structural genes. The facultative components include repetitive DNA and transposable elements. Our data support Golubovsky's (2000) suggestion of interaction between the facultative and obligate components of the genome. Different stress agents can activate transposable elements and induce a burst of mutational activity.

Conclusion

Chironomids can be used as an indicator of genotoxic concentrations of pollutants in aquatic ecosystems.

Polytene chromosomes of chironomids, due to their great resolution, are very useful in applied investigations on environment quality. Important structures of polytene chromosomes, such as the BR system and NOR, may be regarded as a model for studying the response of the genome to heavy metal pollution.

The functional aberrations plus somatic cytogenetic damages (heterozygous inversions, deletions,

deficiencies, formation of «pompon» chromosome G) are particularly suitable as biomarkers, as these cytogenetic changes are easily identifiable and provide early alarm signals of adverse long-term effects in organisms.

Most somatic chromosome rearrangements are nonrandomly distributed: they occur more frequently in specific sections of the chromosomes composed either by satellite DNA or by transposable elements.

Closely related *Chironomus* species show different genome responses to stress agents. The type and frequency of the rearrangements depend on DNA structure and organization.

Analysis of cytogenetic responses is therefore a potentially powerful tool in preventing long-term effects of anthropogenic stress at the population and community level.

Acknowledgements

This research was supported by a grant from the Ministry of Education and Sciences, Sofia, B1601.

References

Andreeva E.N., Kiknadze I.I., Aimanova K. Comparative analysis of polytene chromosome banding pattern of closely related species *Glyptotendipes salinus* Michailova and *G. barbipes* Staeger (Diptera, Chironomidae) // Tsitologia. 1998. V. 40. № 11. P. 972–979.

Beermann W. Directed changes in the pattern of Balbiani ring puffing in *Chironomus*: effect of a sugar treatment // Chromosoma. 1973. V. 41. P. 297–326.

Bovero S., Hankeln T., Michailova P. *et al*. Nonrandom chromosomal distribution of spontaneous breakpoints and satellite DNA cluster in two geographically distant populations of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) // Genetica. 2002. V. 115. P. 273–281.

Bremner I. Manifestations of copper excess // Amer. J. Clin. Nutr. 1998. V. 67. P. 1069–1073.

Coogan T.P., Bare R.M., Walkes M.P. Cadmium-induced DNA strand damage in cultured liver cells: reduction in cadmium genotoxicity following zinc pretreatment // Toxicol. Appl. Pharmacol. 1992. V. 113. P. 27–33.

De Pauw N., Ghetti P.F., Manzini P., Spaggiari R. Biological assessment methods for running waters // River water quality – Ecological assessment and control. European Commission. Brussels, 1992. P. 217–248.

Diez L., Cortes E., Merimo J., Santa Cruz M. Galactoze induced puffing changes in *Chironomus thummi* Balbiani rings and their dependence on protein synthesis // Chromosoma. 1990. V. 99. P. 61–70.

Elgohary W.G., Sidhu S., Krezoski S.O. *et al*. Protection of DNA in HL-60 cells from damage generated by hydroxyl radicals produced by reaction of H_2O_2 with cell iron by zinc-metallothionein // Chem.-Biol. Interactions. 1998. V. 115. P. 85–107.

Fischer J. Zur Fortplanzungsbiologie von *Chironomus nuditarsis* // Rev. Zool. 1969. V. 76. P. 23–35.

Fischer J., Tichy H. Über eine heterochromatin mutation aus einer wildpopulation von *Chironomus nuditarsis*. I. Zur funktion des veranderten genom-abschnittes // Genetica. 1980. V. 54. P. 41–43.

Forstner U., Salomons W. Trace metal analysis on polluted sediments. I. Assessment of sources and intensities // Environ. Technol. Lett. 1980. V. 1. P. 494–505.

Golubovsky M.D. The Century of Genetics: Evolution of Ideas and Concept Burey Art. Saint-Petersburg, 2000. P. 262.

Gunderina L., Aimanova K.G. Genetic consequences of exposure to Ɣ-radiation in *Chironomus thummi*: aberrations of polytene chromosomes // Russ. J. Genet. 1998. V. 34. P. 273–280.

Hägele K. DNA – replicationmuster der speicheldrusen chromosomen von Chironomiden // Chromosoma. 1970. V. 31. P. 91–138.

Hägele K. Differential staining of polytene chromosome bands in *Chironomus* by Gimsa banding methods // Chromosoma. 1977. V. 59. P. 207–216.

Hankeln T. Molekular analyse phylogenetisch bedeutsamer repetitiver DNA Chironomiden: PhD Thesis, Ruhr University. Buchum, 1990. 57 p.

Henikoff S. Position effect variegation after 60 years // Hereditas. 1990. V. 6. P. 422–426.

Hoffrichter O. Studied zur Morphologie und Karyosystematik der Gattungen *Glyptotendipes* (Chironomidae, Diptera): Dissertation, Albert L. Universität, Freiburg, 1977. 200 p.

Ilkova J. Chromosome variability of species of subfamily Chironominae (Diptera, Chironomidae) from Polluted Regions near Sofia // Acta Zool. Bulgaria. 2004. V. 56. № 1. P. 15–30.

Ilkova J., Hankeln T., Schmidt E. *et al*. Genome instability of *Chironomus riparius* Mg. and *Chironomus piger* Strenzke (Diptera, Chironomidae) // Caryologia. 2007. V. 60. № 4. P. 299–305.

Jannssen de Bisthoven L.G., Timmermans K.R., Ollevier F. The concentration of cadmium, lead, copper and zinc in *Chironomus riparius* larvae with deformed versus normal menta // Hydrobiologia. 1992. V. 239. P. 141–149.

Karlik S.J., Eichhorn G.L., McLachlan Crapper D.R.

Molecular interactions of aluminium with DNA // Neurotoxicology. 1980. V. 1. P. 83–88.

Kiknadze I.I. Comparative puffing characteristics in salivary gland chromosomes in larval development and metamorphosis. Puffing in IVth chromosome // Tsitologia. 1976. V. 18. P. 1322–1329.

Kiknadze I. Chromosomal polymorphism in natural populations of plumosus species-group of West Siberia // Entomol. Scand. 1987. Suppl. 29. P. 113–121.

Kiknadze I., Gunderina L., Filippova M., Seray E. Chromosomal polymorphism in natural and laboratory populations in *Chironomus thummi thummi* Kieff. // Genetica. 1988. V. 24. P. 1795–1805.

Kiknadze I., Kolesnikov N., Panova T. *et al*. Transposable elements in Chironomidae. Localization of pCth. C12HR sequences in the polytene chromosomes of closely related subspecies, *C. th. thummi* and *C. th. piger*. Moscow, 1987.

Kiknadze I., Panova T. Heteromorphic puffs in *Chironomus thummi* // Tsitologia. 1972. V. 9. P. 1081–1091.

Kiknadze I.I., Shilova A., Kekris I. *et al*. Karyotype and morphology of larvae in Chironomini. Atlas. Novosibirsk, 1991. 117 p.

Kiknadze I., Zainiev G., Panova T. *et al*. Identification of Balbiani ring chromosomes in *Chironomus thummi* polytene chromosomes // Biol. Zbl. 1985. V. 1. P. 113–123.

King M. Species evolution: Role of chromosome changes. Cambridge: Cambridge Univ. Press, UK, 1993. 358 p.

Kleimann R., Crerar D., Paceli R. Biochemistry of acid mine drainage and a method to control acid formation // Mineral Engineering. 1981. V. 33. P. 300–305.

Lagadic L., Caquet Th. Invertebrates in testing of Environmental Chemicals: Are they Alternatives? // Environ. Health Persp. 1998. V. 106. Suppl. 2. P. 593–613.

Michailova P. Method of breeding the species from family Chironomidae, Diptera in experimental conditions // CR. Acad. Bulg. des Sciences. 1985. V. 38. № 9. P. 1179–1181.

Michailova P. Comparative karyological studies on three species of the genus *Glyptotendipes* Kieff. (Diptera, Chironomidae) from Hungary and Bulgaria. *Glyptotendipes salinus* sp.n. from Bulgaria // Folia Biol. 1987. № 1/2. P. 43–56.

Michailova P. The polytene chromosomes and their significance to the systematics of the family Chironomidae, Diptera // Acta Zool. Fenn. 1989. V. 186. P. 1–107.

Michailova P., Belcheva R. Different effect of lead on an external morphology and polytene chromosomes of *Glyptotendipes barbipes* (Staeger) (Diptera, Chironomidae) // Folia Biol. 1990. V. 38. № 1/4. P. 83–88.

Michailova P., Contreras-Lichtenberg R. Contribution of the knowledge of *Glyptotendipes pallens* (Meigen, 1804) and *Glyptotendipes glaucus* (Meigen, 1818) // Ann. Naturhist. Mus. 1995. 97B. P. 395–410.

Michailova P., Ilkova J., Hankeln T. *et al*. Somatic breakpoints, distribution of repetative DNA and non-LTR retrotransposones insertion sites in the chromosomes of *Chironomus piger* Strenzke (Diptera, Chironomidae) // Genetica. 2009c. V. 135. P. 137–148.

Michailova P., Ilkova J., Kerr R., White K. Effect of trace metals at Acid and Neutral Conditions on the Structure and Function of Polytene chromosomes in *Chironomus* species // Boletim do Museu Municipal do (Funchal). 2008. Suppl. 13. P. 61–68.

Michailova P. Ilkova J., Kerr R., White K. Chromosome variability in *Chironomus acidophilus* Keyl from the Afon Goach, UK – a river subject to long-term metal pollution // Aquatic Insects. 2009a. V. 31. № 3. P. 213–225.

Michailova P., Ilkova J., Petrova N., White K. Rearrangements in the salivary gland chromosomes of *Chironomus riparius* Mg. (Diptera, Chironomidae) following exposure to lead // Caryologia. 2001a. V. 54. P. 349–363.

Michailova P., Ilkova J., Petrova N. *et al*. Relationship between chromosome rearrangements and repetitive DNA clusters in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera, Chironomidae) from anthropogenic polluted Palaearctic regions // Compar. Cytogenet. 2007. V. 1. P. 45–49.

Michailova P., Ilkova I., White K.N. Functional and structural rearrangements of salivary gland chromosomes of *Chironomus riparius* Mg. (Diptera, Chironomidae) in response to freshly neutralized aluminium // Environ. Pollut. 2003. V. 123. P. 193–207.

Michailova P., Mettenen A. Cytotaxonomical variability of *Chironomus plumosus* L. and *Chironomus anthracinus* Zett. (Diptera, Chironomidae) from industrial and municipal polluted areas of Finland // Caryologia. 2000. V. 53. № 1. P. 69–81.

Michailova P., Petrova N., Bovero S. *et al*. Effect of environmental pollution on the chromosomal variability of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera, Chironomidae) larvae from two Piedmont stations // Genetica. 2000. V. 108. P. 171–180.

Michailova P., Petrova N., Ilkova J. *et al*. Genotoxic effect of copper on salivary gland chromosomes of *Chironomus riparius* Meigen 1804 (Diptera, Chironomidae) // Environ. Pollut. 2006. V. 144. P. 647–654.

Michailova P., Petrova N., Ramella L. *et al*. Cytogenetic characteristics of a population of *Chironomus reporius* Meigen (Diptera, Chironomidae) from a polluted Po river station // Genetica. 1996. V. 98. P. 161–178.

Michailova P., Petrova N., Sella G. *et al*. Structural – functional rearrangements in chromosome G in *Chironomus riparius* Meigen (Diptera, Chironomidae) collected from a heavy metal polluted area near Turin, Italy // Environ. Pollut. 1998. V. 103. P. 27–35.

Michailova P., Petrova N., Sella G. *et al*. Genotoxic effects of chromium on polytene chromosomes of *Chironomus riparius* Meigen 1804 (Diptera, Chironomidae) // Caryologia. 2001b. V. 54. № 1. P. 59–71.

Michailova P., Ramella L., Sella G., Bovero S. C-band variation in polytene chromosomes of *Chironomus riparius* Mg (Diptera, Chironomidae) from a polluted Piedmont station (Italy) // Cytobios. 1997. V. 90. P. 139–151.

Michailova P., Szarek-Gwiazda E., Kovnacki A. Effect of contaminants on the genome of some species of genus *Chironomus* (Chironomidae, Diptera) live in sediments of Dunajec river and Czorsztyn reservoir // Water, Air and Soil Pollut. 2009b. V. 202. P. 245–258.

Michailova P., Todorova J. Cytogenetic characteristics of *Glyptotendipes pallens* Mg. (Diptera, Chironomidae) reared in standard laboratory conditions // Cytobios. 1998. V. 94. P. 151–160.

Michailova P., Todorova K., White K. The effect of lead on the salivary gland chromosomes of *Glyptotendipes salinus* Michailova (Chironomidae, Diptera) // Biologia, Section, Cellular and Mol. Biol. 2002. V. 57. № 3. P. 359–367.

Mottus R., Reeves R., Grigliatti T. Butyrate suppression of position effect variegation in *Drosophila melanogaster* // Mol. Genet. 1980. V. 178. P. 465–469.

Nocentini S. Inhibition of DNA replication and repair by cadmium in mammalian cells. Protective interaction of zinc // Nucl. Acids Res. 1987. V. 26. P. 4211–4225.

Petrova N., Michailova P. Cytogenetic characteristics of *Chironomus bernensis* Wülker and Klötzli (Diptera, Chironomidae) from a heavy metal polluted station in Northern Italy // Ann. Zool. 2002. V. 52. № 2. P. 227–233.

Petrova N.A., Michailova P., Ilkova J., Comparative Cytogenetic variation of the salivary gland Polytene Chromosomes in *Chironomus riparius* Mg. 1804 (Diptera, Chironomidae) from two Polluted Biotopes of Bulgaria and Russia // Rus. J. Genet. 2004. V. 40. 1. P. 40–48.

Planello R., Martinez-Guitarte L., Morcillo G. Ribosomal genes as early target of cadmium-induced toxicity in *Chironomus riparius* larvae // Sci. Total Environ. 2007. V. 373. P. 113–121.

Saether O. Chironomid communities as water quality indicators // Holarctic Ecol. 1979. V. 2. P. 65–74.

Schaefer J., Schmidt E. Different repetition frequencies of 120 base-pair DNA element and its arrangement in *Chironomus thummi thummi* and *C. piger* // Chromosoma. 1981. V. 84. P. 61–66.

Sanderson C., McLachlan Crapper D.R., De Boni U. Altered steroid induced puffing by chromatin bound aluminium in a polytene chromosome of the blackfly *Simulium vittatum* // Canad. J. Genet. Cytol. 1980. V. 24. P. 27–36.

Santa-Cruz M., Villanueva A., Diez L. Effect of galactose treatment in the puffing pattern of Chironomus thummi Balbiani rings // Chromosoma. 1978. V. 69. P. 93–100.

Schmidt E. Clustred and interspersed repetitive DNA sequence family of Chironomids // J. Mol. Biol. 1984. V. 178. P. 1–5.

Sella G., Robotti C., Michailova P., Ramella L. Repetitive DNA size variation in three sections of the chromosome EF in a population of *Chironomus riparius* Mg (Diptera, Chironomidae) from Piedmont (Italy) // Caryologia, (Firenze). 2001. V. 54. № 2. P. 155–160.

Sella G., Bovero S., Ginpero M. *et al*. Inherited and somatic cytogenetic variability in Palaearctic populations of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera, Chironomidae) // Genome. 2004. V. 47. P. 332–244.

Timmermans K., Peeters W., Tonkes M. Cadmium, zinc, lead and copper in larvae of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) uptake and effects. Trace metal in ecotoxicokinetics of Chironomids: Ph D Dissertation. Amsterdam, 1989. P. 89–121.

Walker C., Kaiser K., Klein W. *et al*. Alternative testing methodologies for ecotoxicity // Environ. Health Persp. 1998. V. 106. Suppl. 2. P. 441–451.

Warwick W.F. Morphological deformities in Chironomidae (Diptera) larval as biological indicators of toxic stress // Toxic Contaminants and Ecosystem Health / Ed. M.S. Evan. A Great Lakes Focus, John Wiley and Sons, 1988. P. 80.

Warwick W.F. The use of morphological deformities in Chironomid larvae for biological effects monitoring. Inland Waters Directorate Scientific Publications, Series 173. Environment Canada ON, 1990. P. 1–34.

Wieslander L. The Balbiani ring multigene family: coding sequences and evolution of a tissue-specific function // Proc. Nucl. Acids Res. 1994. V. 48. P. 275–313.

Wülker W., Klötzli M. Revision der Gattung *Chironomus* Meig. IV. Arten des lacunarius Komlexes // Arch. Hydrobiol. 1973. V. 72. № 4. P. 474–489.

Yagi S. Effects of legation on ethanol induced Balbiani ring puffing in salivary gland of *Chironomus* // Chromosoma. 1984. V. 89. P. 274–279.

Zampicinini GP., Blinov A., Cervella P., Sella G. Insertional polymorphism of a non – LTR mobile element (NLRCth1) in European populations of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) as detected by transposon insertion display // Genome. 2004. V. 47. № 11. P. 54–1163.

ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ДИВЕРГЕНЦИЯ КАРИОТИПОВ ХИРОНОМИД РОДА *SERGENTIA* KIEFF. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

В.И. Провиз

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия, e-mail: proviz@lin.irk.ru

Представлены результаты исследования инверсионного полиморфизма в популяциях 11 видов хирономид рода *Sergentia* Kieff. (Diptera, Chironomidae) из Германии, Швейцарии, России (Иркутское и Братское водохранилища, Дальний Восток) и США. Использованы все имеющиеся к настоящему времени собственные и литературные данные. В кариофонде рода обнаружены 32 гомо- и гетерозиготные инверсии. Установлено, что общее число инверсионных последовательностей у 7 видов хирономид, обитающих в Байкале, и 4 видов, живущих за его пределами, совпадает – 18. Общими для обеих групп являются 4 инверсии. Из них наиболее широко распространена по ареалу инверсия IIIF (11–19), встреченная как в Восточной Сибири, так и на Дальнем Востоке. Остальные отмечены только в Байкале и Иркутском водохранилище. Видообразование байкальских эндемичных видов – эврибатного *S. flavodentata*, литорального *S. baicalensis*, глубоководных *S. nebulosa* и *S. assimilis* – происходило с изменением в первую очередь дисковой структуры хромосомы I. Различные спектры инверсий у эндемичных и широко распространенных видов указывают на их адаптивную ценность в различных точках ареала и в условиях конкретных водоемов, особенно озера Байкал.

Ключевые слова: хирономиды, личинки, кариотип, хромосомы, инверсия, полиморфизм, видообразование, эндемик, Байкал.

Введение

Кариологические исследования хирономид рода *Sergentia* представляют большой интерес и являются актуальными как для уточнения таксономического статуса отдельных видов, так и для изучения особенностей эволюции разных групп видов и всего рода в целом. С таксономической точки зрения род *Sergentia* исследован крайне недостаточно, так как большинство видов описано только по личинкам, полный метаморфоз с описанием морфологии личинок и имаго известен только для нескольких видов. Всего к настоящему времени имеются сведения о личинках 15 видов, из которых исследованиями кариотипов видовая самостоятельность подтверждена только у 11. Это голарктический *S. coracina* Bauer, 1945 (2*n* = 6), палеарктические *S. baueri* Wülker *et al*., 1999 (2*n* = 8), *S. prima* Proviz *et al*., 1997 (2*n* = 8) и *S. electa* Proviz *et al*., 1999 (2*n* = 6) и байкальские эндемичные виды *S. baicalensis* Tshernovskij, 1949 (2*n* = 8), *S. flavodentata* Tshernovskij, 1949 (2*n* = 8), *S. nebulosa* Linevitsh *et al*., 1984 (2*n* = 8), *S. rynocephala* Linevitsh *et al*., 1991 (2*n* = 8), *S. rara* Proviz *et al*., 1999 (2*n* = 8), *S. affinis* Proviz *et al*., 1999 (2*n* = 8), *S. assimilis* Proviz V. *et al*., 1999 (2*n* = 8). Из остальных 4 видов у *S. koschowi* Linevitsh, 1948, *S. brachicephala* Linevitsh, 1964 и *S. albodentata* Linevitsh, 1964 описания личинок очень краткие и недостаточные для их идентификации (не исключено, что это морфотипы ранее описанных видов), у *S. intermedia* Linevitsh, 1958, напротив, кариотип, исследованный Л.В. Фегер (1985), оказался идентичен кариотипу *S. baueri*, что при отсутствии четких морфологических отличий личинок позволяет предположить, что это один и тот же вид.

Хромосомный полиморфизм хирономид рода *Sergentia* изучен в ряде популяций из Западной Европы, Восточной Сибири, Дальнего Востока и Северной Америки (Nevers, 1972; Кикнадзе и др., 1991; Провиз В., Провиз Л.,

1992, 1999; Wülker *et al*., 1999; Провиз, 2005, 2008а, б, 2009а, б). На протяжении более чем 45-летнего периода разные авторы применяли в своих исследованиях собственные системы картирования хромосом. В итоге у широко распространенных видов за стандарт был принят кариотип *S. baueri* (Nevers, 1972; Wülker *et al*., 1999), а у байкальских эндемичных видов – кариотип *S. rara* (Провиз В., Провиз Л., 1992), что в целом сделало затруднительным сравнительный анализ участков хромосом и последовательностей дисков с инверсиями у этих групп видов.

В настоящей работе представлен обзор всех известных в роде *Sergentia* гомо- и гетерозиготных инверсий, идентифицированных с использованием обеих систем картирования. Для определения особенностей эволюционных преобразований хромосом в качестве исходного использован кариотип *S. baueri* как более древнего вида по сравнению с байкальскими эндемиками (по данным молекулярного анализа, возраст рода *Sergentia* оценен в 38 млн лет, букета байкальских видов – 25,7 млн лет (Papousheva *et al*., 2003)) и как содержащего наименьшее количество хромосомных перестроек среди остальных небайкальских видов.

Материалы и методы

В работе использованы описания кариотипов и хромосомного полиморфизма *S. baueri* из Германии, Иркутского и Братского водохранилищ, Дальнего Востока и *S. coracina* из Швейцарии и США (Nevers, 1972; Кикнадзе и др., 1991; Провиз В., Провиз Л., 1999; Wülker *et al*., 1999; Провиз, 2009а, б), *S. prima* и *S. electa* из Иркутского водохранилища (Провиз В., Провиз Л., 1999; Провиз, 2009а, б), *S. baicalensis*, *S. flavodentata*, *S. nebulosa*, *S. rynocephala*, *S. rara*, *S. affinis*, *S. assimilis* из оз. Байкал (Провиз В., Провиз Л., 1992, 1999; Провиз, 2005, 2008а, б).

Для сравнительного анализа дисковой структуры *S. baueri* и *S. rara* у первого вида участки и плечи хромосом обозначались, как и ранее, по: Wülker *et al*., 1999 – IL, IR, IIL, IIR, IIIL, IIIR, IV, у второго – по: Провиз, 2005 – IA, IB, IIC, IID, IIIE, IIIF, IVG (рис. 1). Для идентификации инверсионных последовательностей, выявленных у небайкальских видов и картированных по первой системе, нами приводится список всех гомо- и гетерозиготных инверсий, в котором плечи хромосом и участки с инверсиями указаны в соответствии с обеими системами картирования: IA (3–11) = IR (19–24), IIC (2–8) = IIL (1–5), IIC (4–13) = IIL (3–8), IIC (8–13) = IIL (5–8), IIC (10–12) = IIL (6–8), IID (14) = IIR (9–11), IID (14–20) = IIR (11–17), IIIE (3–6) = IIIL (2–4), IIIE (3–9) = IIIL (2–5), IIIF (11–19) = IIIR (7–12), IIIF (18–19) = IIIR (7–8), IVG (2–5) = IV (5–7), IVG (3–5) = IV (2–4), IVG (3.1–5) = IV (1.5.–3.1.5.2), IVG (4–5) = IV (2–3), IVG (5–8) = IV (2–6), IVG (6–9) = IV (3–7), IVG (8–9) = IV (6–7).

Результаты

Результаты изучения хромосомного полиморфизма в популяциях 11 видов хирономид рода *Sergentia* представлены в табл. 1. Среди байкальских эндемиков 3 вида – *S. rara*, *S. rynocephala* и *S. affinis* – имеют одинаковые последовательности дисков, поэтому помещены в таблице в одну колонку.

Хромосома I. Выявлено 6 инверсионных последовательностей, 5 из которых встречены только у байкальских эндемиков. Наиболее распространена инверсия IA (6–9), встреченная у 4 видов в гомозиготном виде, а у *S. flavodentata* – и в гетерозиготе. У *S. baicalensis* и *S. assimilis* обнаружены фиксированные инверсии IA (3–6) и IA (2–7). Последовательность IB (16–24) найдена только в гетерозиготном состоянии у 3 видов, IA (9–12) – только у *S. nebulosa*. Среди небайкальских видов отмечена только 1 фиксированная инверсия IA (3–11) у *S. coracina* из США (Wülker *et al.*, 1999).

Хромосома II. Из всех хромосом кариотипа наибольшее количество инверсий обнаружено в плечах IIC (8) и IID (3). При этом у байкальских и широко распространенных видов очень сильно отличаются спектры инверсий. В каждой из групп видов выявлено по 6 инверсий, только 1 из которых – IIC (10–12) – найдена как у *S. baicalensis*, так и у *S. electa*. Среди байкальских эндемиков только 2 инверсии, IIC (4–6) и IID (16–23), присутствуют у двух видов: первая – у глубоководных *S. nebulosa* (в гомозиготе) и *S. assimilis* (в гетерозиготе), вторая – у эврибатного *S. flavodentata* и *S. nebulosa* – только в гетерозиготах. Остальные 3 последовательности

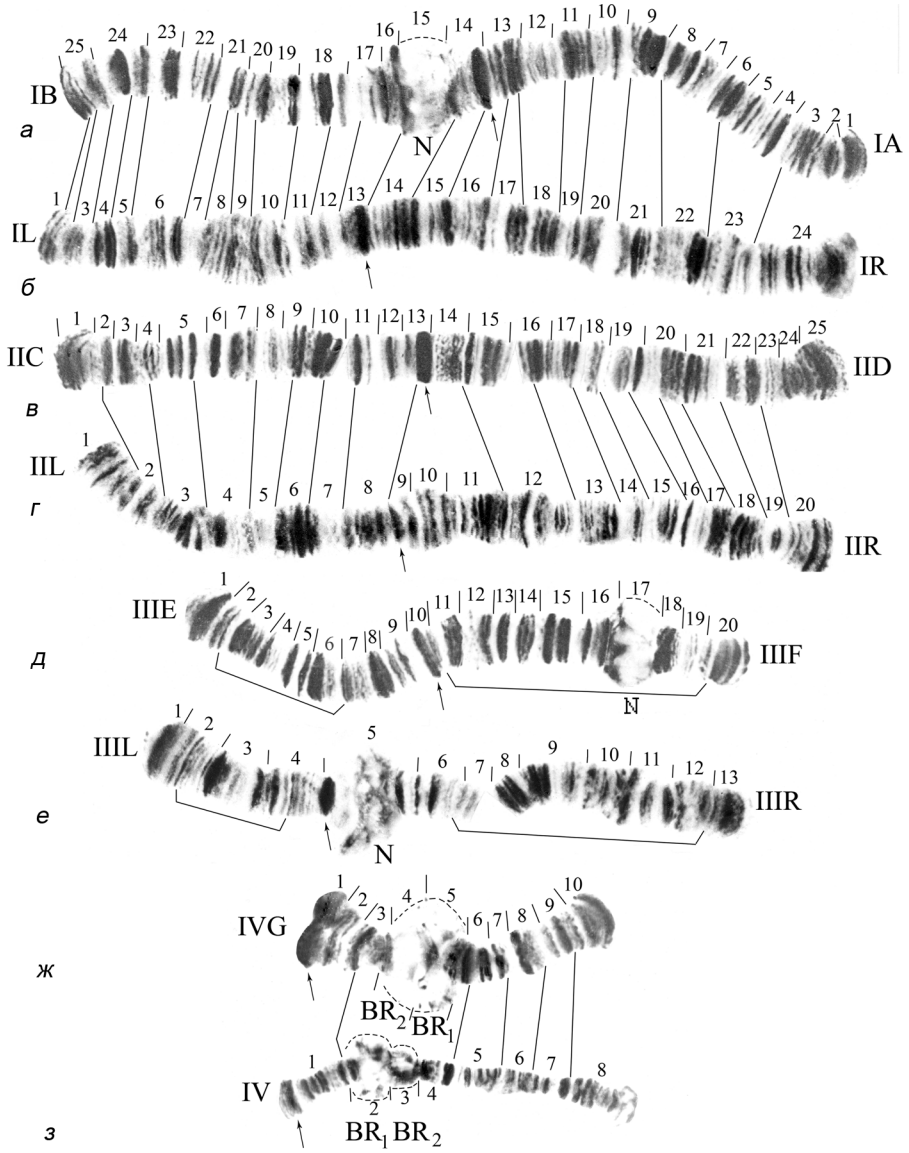


Рис. 1. Последовательности дисков в хромосомах *Sergentia baueri* и *Sergentia rara*.

а, в, д, ж – хромосомы I, II, III, IV *S. rara*, плечи – IA, IB, IIC, IID, IIIE, IIIF, IVG; б, г, е, з – хромосомы I, II, III, IV *S. baueri*, плечи IR, IL, IIR, IIL, IIIR, IIIL, IV. 1–25 – участки хромосом, N – ядрышко, BR – кольцо Бальбиани, стрелками указаны центромеры, скобками выделены участки с гомозиготными инверсиями.

найдены также в гетерозиготах у *S. flavodentata* – IIC (2–9) и IIC (11–13), и у *S. nebulosa* – IIC (3–8). В группе небайкальских видов, кроме уже отмеченной инверсии IIC (10–12), еще одна последовательность, IIC (2–8), обнаружена в гомо- и гетерозиготном состоянии у двух видов – *S. prima* и *S. electa* из Иркутского водохранилища. В дальневосточной популяции *S. baueri* найдена одна фиксированная инверсия IIC (8–13). Инверсии IIC (4–13) и IID (14–20) у *S. coracina* и IID (14) – у *S. electa* выявлены только в гетерозиготном состоянии.

Хромосома III. В обоих плечах имеются широко распространенные инверсионные последовательности IIIE (3–6) и IIIF (11–19). Первая инверсия, кроме *S. prima* и *S. electa*, в гомозиготном состоянии обнаружена и у трех гомосеквентных байкальских видов *S. rara*, *S. rynocephala* и *S. affinis*. Вторая – у всех байкальских (в гомозиготах только у гомосеквентных) и палеарктических (в гомозиготах и гетерозиготах, кроме *S. prima*). Следует отметить, что в плече IIIE у четырех байкальских видов имеется близкая к IIIE (3–6) последователь-

Таблица 1

Инверсии в хромосомах хирономид рода *Sergentia* Kieff.

Инверсии	Байкальские эндемичные виды*										Палеарктические виды						ГА** вид	
	rar, ryn, aff		fla		bai		neb		ass		bau		pri		ele		cor	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
IA (2–7)									+									
IA (3–6)					+													
IA (3–11)																	+	
IA (6–9)			+	+	+		+		+									
IA (9–12)								+										
IB (16–24)				+				+		+								
IIC (2–8)													+	+	+			
IIC (2–9)				+														
IIC (3–8)								+										
IIC (4–6)							+		+									
IIC (4–13)																		+
IIC (8–13)											+							
IIC (10–12)						+									+			
IIC (11–13)				+														
IID (14)														+				
IID (14–20)																		+
IID (16–23)				+				+										
IIIE (3–6)	+												+	+	+			
IIIE (3–7) p			+		+		+		+									
IIIE (3–9)												+						
IIIF (11–19)	+			+		+		+			+	+	+		+	+		
IIIF (18–19)														+				
IVG (1–3)				+														
IVG (2–5)														+				
IVG (2–9)							+	+										
IVG (3–5)	+		+		+		+						+		+			
IVG (3.1–5)														+				
IVG (4–5)																		+
IVG (4–10)									+									
IVG (5–8)												+						
IVG (6–9)											+							
IVG (8–9)														+				

Примечания. * Названия видов указаны символами: rar – *S. rara*, ryn – *S. rynocephala*, aff – *S. affinis*, fla – *S. flavodentata*, bai – *S. baicalensis*, neb – *S. nebulosa*, ass – *S. assimilis*, bau – *S. baueri*, pri – *S. prima*, ele – *S. electa*, cor – *S. coracina*. ** ГА – голарктический вид. 1 – гомозиготная инверсия, 2 – гетерозиготная инверсия.

ность IIIE (3–7), которая, возможно, вторична и возникла в результате реинверсии первой, почти восстановившей исходный порядок дисков. Инверсии IIIE (3–9) и IIIF (18–19) встречены только у *S. baueri* и *S. prima* в гетерозиготном состоянии.

Хромосома IV. Из 10 инверсионных последовательностей, обнаруженных в плече IVG, наиболее распространенной является последовательность IVG (3–5), встреченная у 8 из 11 исследованных видов только в гомозиготном виде. Исключение составили два вида *S. assimilis* с гомозиготной инверсией IVG (4–10) и *S. coracina*, у которой в неарктических популяциях отмечена инверсия IVG (4–5). Наибольшее число инверсий (4) встречено у *S. prima*, из них 3 – IVG (2–5), IVG (3.1–5) и IVG (8–9) – только в гетерозиготах. Из остальных перестроек в гомозиготном виде найдены 2 последовательности – IVG (2–9) у *S. nebulosa* и IVG (6–9) у *S. baueri* из дальневосточной популяции, в гетерозиготах – последовательности IVG (1–3) у *S. flavodentata* и IVG (5–8) у *S. baueri* из Иркутского водохранилища.

Обсуждение

Полученные данные наглядно демонстрируют, что формирование кариотипов и преобразования дисковой структуры хромосом у исследуемых групп видов происходили с большими различиями. Дивергенция кариотипов двух широко распространенных видов с редуцированным числом хромосом ($2n = 6$) произошла за счет нереципрокных транслокаций – тандемной у *S. coracina* и внутрихромосомной у *S. electa*. Также у всех видов, особенно у глубоководных *S. nebulosa* и *S. assimilis*, имеются различия в локализации и числе ядрышковых организаторов (табл. 2).

Следует отметить, что общее число инверсионных последовательностей у 7 видов хирономид, обитающих в Байкале, и 4 видов, живущих за его пределами, совпадает – 18. Из 32 инверсий, известных к настоящему времени в кариофонде рода, общими для обеих групп являются только 4. Из них наиболее широко распространена по ареалу инверсия IIIF (11–19), встреченная как в Восточной Сибири, так и на Дальнем Востоке.

Таблица 2

Характеристика кариотипов хирономид рода *Sergentia* Kieff.

Виды	2*n*	Сочетание плеч	N	Число и локализация ядрышек в плечах хромосом						
				A	B	C	D	E	F	G
Голарктические виды										
S. coracina	6	AB, CD, GEF	4	1	1	1	–	–	–	–
Палеарктические виды										
S. baueri	8	AB, CD, EF, G	5	–	–	–	–	–	1	–
S. prima	8	AB, CD, EF, G	9	1	–	–	1	–	–	–
S. electa	6	AB, CD, EGF	5	1	1	–	–	–	–	–
Байкальские эндемичные виды										
S. rara	8	AB, CD, EF, G	3	–	1	–	–	–	1	–
S. rynocephala	8	AB, CD, EF, G	3	–	1	–	–	–	1	–
S. affinis	8	AB, CD, EF, G	3	–	–	–	1	–	1	–
S. flavodentata	8	AB, CD, EF, G	9	–	1	–	–	–	–	1
S. baicalensis	8	AB, CD, EF, G	6	–	1	–	–	–	–	–
S. nebulosa	8	AB, CD, EF, G	10	–	1	1	–	–	–	1
S. assimilis	8	AB, CD, EF, G	6	–	1	1	–	–	–	1

Примечание. 2*n* – диплоидное число хромосом, N – количество инверсионных последовательностей.

Особенностью другой последовательности, IVG (3–5), с двумя кольцами Бальбиани, является то, что она встречена только в гомозиготной форме у 7 видов из Байкала и 1 вида из Иркутского водохранилища. Одинаковые последовательности дисков на инвертированных участках IIIE (3–6) имеют 5 видов: 3 байкальских гомосеквентных, *S. rara*, *S. rynocephala*, *S. affinis*, и *S. prima* и *S. electa*. Инверсия IIC (10–12) встречена только у двух видов: в гомозиготном состоянии у *S. electa* и в гетерозиготах у *S. baicalensis*.

Различные спектры инверсий у эндемичных и широко распространенных видов в целом свидетельствуют о разной адаптивной ценности данных хромосомных перестроек как в различных точках ареала, так и в условиях конкретных водоемов, особенно оз. Байкал. Очевидно, что видообразование всех хорошо адаптированных к разнообразным глубинам и биотопам видов: эврибатного *S. flavodentata*, литорального *S. baicalensis*, глубоководных *S. nebulosa* и *S. assimilis* – происходило с изменением в первую очередь структуры хромосомы I. В отличие от небайкальских видов, среди которых обнаружена только одна гомозиготная инверсия у *S. coracina*, у них в этой хромосоме встречено 5 гомо- и гетерозиготных инверсий.

В фауне хирономид озера Байкал, представленной 139 видами из 62 родов (Линевич, 1981; Провиз, 2004), эндемичные хирономиды рода *Sergentia* занимают особое место. Они единственные из всего класса Insecta населяют в настоящее время разнообразные глубины, вплоть до максимальных, и биотопы озера. Более 25 млн лет назад представители этого рода смогли не только внедриться в мелководную зону озера, но и, образовав «букет» из 7 эндемичных видов, преодолеть барьер несмешиваемости – специфического в Байкале явления несмешиваемости эндемичной и широко распространенной фаун (Верещагин, 1935; и др.). Явление несмешиваемости можно наблюдать и в настоящее время: широко распространенные виды рода *Sergentia* не встречены ни в открытом Байкале, ни в прибрежно-соровой зоне; эндемики же не найдены в прибрежно-соровой зоне, они обитают только в открытом Байкале. Не исключено, что высокий эволюционный потенциал хирономид рода *Sergentia*, позволивший им проникнуть в биоценозы литорали, а затем и разных глубин, был обусловлен и структурными особенностями кариотипов.

Благодарности

Выражаю глубокую благодарность д.б.н., профессору И.И. Кикнадзе за консультации, ценные замечания и рекомендации, неоднократно получаемые мной в течение 20-летнего периода работы над данным материалом. Также глубоко признательна и благодарна моим коллегам из лаборатории биологии водных беспозвоночных Лимнологического института СО РАН за помощь в сборе личинок.

Работа выполнена в рамках госбюджетного проекта № VII 62-1-4 «Междисциплинарное исследование заплесковой зоны как важной составляющей литорали озера Байкал» (руководитель д.б.н. О.А. Тимошкин) и при поддержке гранта РФФИ № 09-04-00781.

Литература

Верещагин Г.Ю. Два типа биологических комплексов Байкала // Тр. Байкальск. лимнолог. станции АН СССР. 1935. Т. 6. С. 199–212.

Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е. и др. Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini. Атлас. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. 115 с.

Линевич А.А. Хирономиды Байкала и Прибайкалья. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1981. 152 с.

Провиз В.И., Провиз Л.И. Структура и эволюция кариотипа группы эндемичных видов хирономид рода *Sergentia* (Diptera, Chironomidae) из озера Байкал // Зоол. журнал. 1992. Т. 71. Вып. 6. С. 60–70.

Провиз В.И., Провиз Л.И. Атлас и определитель личинок хирономид рода *Sergentia* из озера Байкал. Новосибирск: Науч.-издат. центр ОИГГМ, 1999. 102 с.

Провиз В.И. Хирономиды (Diptera: Chironomidae) // Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. Новосибирск: Наука, 2004. Т. 1: Озеро Байкал. Кн. 2. С. 878–924. (Справочники и определители по фауне и флоре озера Байкал).

Провиз В.И. Хромосомный полиморфизм уникальной байкальской глубоководной популяции *Sergentia flavodentata* (Diptera, Chironomidae) из района выхода термальных вод // Генетика. 2005. Т. 41. № 3. С. 366–373.

Провиз В.И. Видообразование и хромосомная эво-

люция эндемичных хирономид рода *Sergentia* Kieff. (Diptera, Chironomidae) из озера Байкал. Дивергенция кариотипов и хромосомный полиморфизм в популяциях эврибатного вида *Sergentia flavodentata* Tshern. и литорального *Sergentia baicalensis* Tshern. // Генетика. 2008а. Т. 44. № 9. С. 1191–1202.

Провиз В.И. Видообразование и хромосомная эволюция эндемичных хирономид рода *Sergentia* Kieff. (Diptera, Chironomidae) из озера Байкал. Дивергенция кариотипов и хромосомный полиморфизм в популяциях глубоководных видов *Sergentia nebulosa* Linevitsh *et al*. и *Sergentia assimilis* Proviz V. et Proviz L. // Генетика. 2008б. Т. 44. № 12. С. 1627–1637.

Провиз В.И. Видообразование и хромосомная эволюция палеарктических видов хирономид рода *Sergentia* Kieffer (Diptera, Chironomidae). Дивергенция кариотипов *S. baueri* Wülker *et al*., 1999, *S. prima* Proviz *et al*., 1997, *S. electa* Proviz *et al*., 1999 и их связь с эндемичными видами из озера Байкал // Генетика. 2009а. Т. 45. № 10. С. 1393–1400.

Провиз В.И. Видообразование и хромосомная эволюция палеарктических видов хирономид рода *Sergentia* Kieffer (Diptera, Chironomidae). Хромосомный полиморфизм в популяциях *S. baueri* Wülker *et al*., 1999, *S. prima* Proviz *et al*., 1997 и *S. electa* Proviz *et al*., 1999 из Иркутского водохранилища // Генетика. 2009б. Т. 45. № 12. С. 1650–1658.

Фегер Л.В. Эколого-систематическое изучение хирономид (Diptera, Chironomidae) Братского водохранилища: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 1985. 24 с.

Nevers P. Beiträge zur Cytotaxionomie, Morphologie, Systematik und Biologie der Gattung *Sergentia* Kieff. (Diptera, Chironomidae). 1972. Staatsexamensarbeit Univ. Freiburg. 72 s.

Papousheva E., Proviz V., Lambkin C. *et al*. Phylogeny of the endemic Baikalian *Sergentia* (Chironomidae, Diptera) // Mol. Phylog. Evol. 2003. V. 29. № 1. P. 120–125.

Wülker W., Kiknadze I.I., Kerkis I.E., Nevers P. Chromosomes, morphology, ecology and distribution of *Sergentia baueri*, spec. nov., *S. prima* Proviz et Proviz, 1997 and *S. coracina* Zett., 1824 // Spixiana. 1999. V. 22(1). P. 69–81.

INVERSION POLYMORPHISM AND KARYOTYPE DIVERGENCE IN THE GENUS *SERGENTIA* KIEFF. (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

V.I. Proviz

Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia,
e-mail: proviz@lin.irk.ru

Summary

Inversion polymorphism was studied in populations of 11 species of the genus *Sergentia* Kieff. (Diptera, Chironomidae) from Germany, Switzerland, Russia (Irkutsk and Bratsk reservoirs and Far East) and USA. The study was based on all personal data and those reported in the literature. The banding sequence pool of the genus included 32 homo- and heterozygous inversions, and the total number of band inversion sequences was 18 in 7 chironomid species inhabiting Lake Baikal and 4 species encountered elsewhere. Four inversions are common for both groups, IIIF (11–19) inversion being most widely distributed in East Siberia and Far East. The rest were recorded only in Lake Baikal and the Irkutsk reservoir. The speciation of endemic Baikalian species, namely, eurybathic *S. flavodentata*, littoral *S. baicalensis*, and deep-water *S. nebulosa* and *S. assimilis* was accompanied primarily by changes of banding patterns in chromosome I. Inversion variations of endemic and common species suggest their significance for fitness in different localities and certain water basins, Lake Baikal in particular.

Key words: chironomids, larvae, karyotype, chromosomes, inversion, polymorphism, speciation, endemic, Baikal.

A PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE CHANGE IN GENOMIC LOCATION OF THE SEX DETERMINING REGION IN THE GENUS *CHIRONOMUS* (DIPTERA: CHIRONOMIDAE)

J. Martin

Department of Genetics, The University of Melbourne, Australia,
e-mail: j.martin@unimelb.edu.au

Sex determination in the genus *Chironomus* is a dominant male determining (MD) system, based on a single gene or a small group of genes at a particular chromosomal location. However, that location may change between, or even within, species. The MD location of the 24 species in which it is known has been plotted on a cytological phylogeny to determine whether there are phylogenetically significant trends in the locations observed. A site on arm G is observed in the basal southern hemisphere branches of the tree, then there is a marked difference in the frequency of sites between the species in the southern hemisphere and those of the northern hemisphere. The Australasian members of the pseudothummi-cytocomplex show a predominance of a site near the arm C centromere, while northern hemisphere members of this and the other cytocomplexes seem largely to have a site on arm F. A site on arm A is found in some species in both hemispheres, some of which can be explained by incomplete lineage sorting, but others are most likely due to independent origin. A similar possibility exists in relation to the other more sporadically occurring site on arm B, while the presence of an arm G site in *C. bernensis* of the lacunarius-cytocomplex is most likely an independent occurrence. Further studies, particularly of the species of other southern hemisphere areas, and of North America, are required to strengthen these initial tentative conclusions about the phylogenetic relationships of MD location.

Key words: *Chironomus*, polytene chromosomes, sex determination, aberrations, phylogeny.

Introduction

Sex determination in the genus *Chironomus* is a dominant male determining (MD) system, based on a single gene or a small group of genes at a single chromosomal location. There is a report of female heterogamety in some populations of *Chironomus dilutus* (Thompson, 1971), but this is most likely due to a misinterpretation of the data, due to linked lethal factors confusing the results (Martin, Lee, 1984a), and is not considered here. The nature of the sex determining system was first demonstrated by Beerman (1955) in *C. tentans*, with the unusual feature that the MD was on different chromosome arms in different populations. Subsequently it has been shown that there are a number of different locations that may differ between or within species (e.g. Martin *et al*., 1980, Table 1), and that the fixation at alternative sites may actually drive speciation, due to assortative mating (Martin *et al*., 1980; Martin, Lee, 1988) or perhaps by sex ratio distorters (Kozielska *et al*., 2010).

Two alternative hypotheses have been proposed to account for the change of location of the effective MD region. One is that the MD is associated with a transposable element (Green, 1980) that can insert into a limited number of sites in the genome (Martin, Lee, 2000). The other hypothesis is that the different MD locations are due to mutations of different genes in a sex-determining cascade (Kraemer, Schmidt, 1993). Martin and Lee (2000) postulated that each succeeding mutation should be at an earlier step in the pathway with the consequence that mutation of a gene at a particular site could not reappear later in phylogeny, as its phenotype would be masked by the mutation at the earlier step in the cascade. If the MD is associated with a transposable element, no such phylogenetic restriction need apply. However the recent report by Hediger *et al*. (2010), that the various autosomal

Table 1

List of the currently known sex determiner locations in *Chironomus* species

Species	Arm	Reference
pseudothummi-cytocomplex		
C. australis	CD	Martin, 1971
C. cloacalis	G	Martin, Lee, 1984b
C. duplex	B	Martin, 1971; Martin *et al*., 1980
C. 'februarius'	G near nucleolus	Martin, 2010, present study
C. 'jacksoni'	CD	Martin, Lee, 1984b
C. maddeni	CD	Martin, 2010, present study
C. magnivalva	BF or CD?	Martin, 2010, present study
C. nepeanensis	G	Martin, Lee, 1984b
C. novae-zelandiae	not on A	Martin, 2010, present study
C. occidentalis	A	Martin *et al*., 1980
C. oppositus f. connori	A	Martin, Lee, 1984b
C. oppositus f. oppositus	CD	Martin, Lee, 1984b
C. oppositus f. tyleri	G	Martin *et al*., 1980
C. oppositus f. whitei	A, CD, F, G	Martin et al., 1980
C. 'pseudoppositus'	CD	Martin *et al*., 1980
C. samoensis	not on CD	Martin, 2010, present study
C. tepperi	A	Martin, 1981; Martin, Lee, 1984b
C. zealandicus	C	Martin, Lee, 1984b
thummi-cytocomplex		
C. annularius	F	Beermann, 1955; Keyl, 1962
C. crassicaudatus	A	Wuelker, Martin, 1971
C. nuditarsis	AB, G	Rosin, Fischer, 1972
C. obtusidens	F	Keyl, 1961; Keyl, 1962
C. plumosus	A, C	Acton, 1957; Keyl, 1962; Rosin, Fischer, 1972
*C. rempeli (anthracinus)**	F	Rempel *et al*., 1962
C. riparius	F	Haegele, 1985
C. stigmaterus	F	Martin, Wuelker, 1974
lacunarius-cytocomplex		
C. bernensis	F	Rosin, Fischer, 1972; Wuelker, Kloetzli, 1973
camptochironomus-cytocomplex		
C. dilutus	C	Beermann, 1955; Kiknadze *et al*., 1998
C. pallidivittatus	B, F(?)	Beermann, 1955; Kiknadze *et al*., 1998
C. tentans	B, F	Beermann, 1955

* The MD location was determined from a North American population with the nomen nudum C. 'rempeli'. Kiknadze *et al*. (2005) subsequently placed this in *C. anthracinus*, although they have no data on the MD location in any other population.

MD locations in the housefly are regulatory genes that interact to control the expression of the *transformer* (*tra*) gene, leaves open the possibility that the situation may be a regulatory network rather than a simple cascade. They propose that this may represent the ancestral mode of sex determination in Diptera. In such a regulatory network the phylogenetic restriction could also be removed as different mutations of the same gene may have different dominance relationships with the other genes in the network in regard to their regulation of the tra gene. As such, it is not expected that this phylogenetic investigation of MD location will shed any further light on the nature of the sex determination system of *Chironomus*. Rather it will look at the distribution of MD locations in different cytocomplexes and previous phylogenetic analyses of the genus (e.g. Guryev *et al*., 2001; Gunderina *et al*., 2005; Kiknadze *et al*., 2008), particularly the clusters recognized by Guryev *et al*. (2001).

Materials and Methods

MD locations: Much of the data comes from previously published works, as indicated in Table 1. However, some new data are presented. These come from the examination of the inheritance of rearrangements induced by about 10 Gy gamma radiation (Martin, 1981), or of polymorphisms present in larvae reared from egg masses. Some negative results are also presented where these eliminate certain MD locations. The species examined were C. 'februarius' (manuscript name), *C. maddeni*, *C. magnivalva* and *C. novae-zelandiae*.

Phylogenetic analysis: Ideally DNA sequence would be used for construction of the phylogenetic trees (e.g. Guryev *et al*., 2001). However, no such data exist for some of the critical species required for this analysis. Therefore a cytological phylogeny is used instead. Even here there is a similar problem in using the more recent '5 arm' analyses (i.e. based on data from five of the seven chromosome arms), such as those of Gunderina *et al.* (2005), since banding sequences for arms C and D are not available for many species. Therefore a 'three arm' tree based on arms A, E and F, as in the cytological analysis of Guryev *et al*. (2001), has been used. In addition to including all those species for which MD location was known, other species are also included to ensured that the tree also contained representatives from the six clusters recognized by Guryev *et al*. (2001). The forms of *C. oppositus* are entered separately, as the change in MD location is often accompanied by a change of inversion sequence(s). Phylogenetic trees were constructed using Camin-Sokal parsimony (which assumes ancestral states are known) in MIX from the package Phylip 3.68 (Felsenstein 2008). Where necessary, cross-reference to other phylogenetic trees based on DNA sequence or cytology is used to clarify relationships, particularly at the base of the tree.

Results

Determination of MD locations

C. 'februarius': Based on irradiation experiments, where sex linkage was observed for translocations involving arms B and G (Fig. 1, a); F and G; and a three-break event creating translocations between A and D, and between A and the distal part

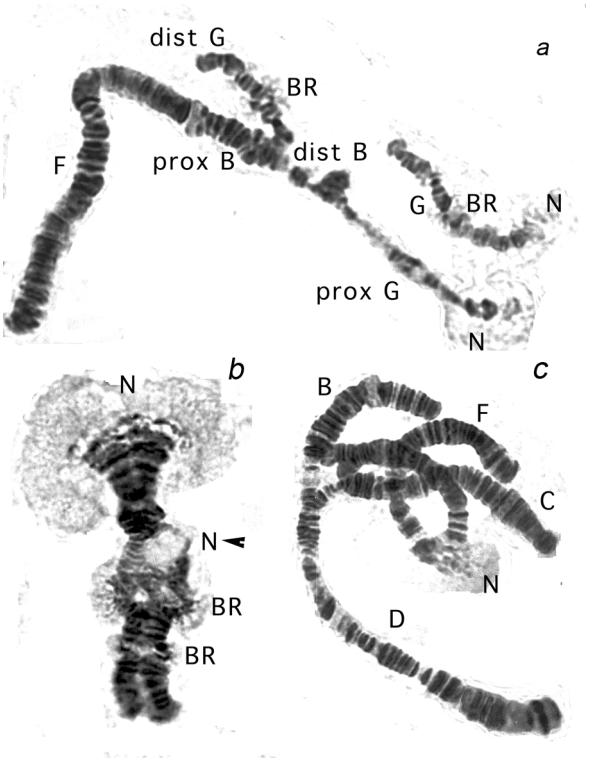


Fig. 1. Chromosomal aberrations of C. 'februarius' (a and b) and *C. magnivalva* (c), that are inherited in an apparently sex linked manner. a – heterozygous BG translocation, b – heterozygous extra nucleolus in arm G (arrowed), c – heterozygous BD translocation. N – nucleolus, BR – Balbiani Ring.

of G. This latter rearrangement resulted in many aneuploid larvae and showed no clear evidence of sex linkage, thereby indicating that the MD is not in the distal part of arm G. There was also a small pericentric inversion of chromosome BF which showed no evidence of sex linkage, indicating an MD on B would have to be distal, and therefore not compatible with a translocation of F showing sex linkage due to the presence of an MD near the centromere of arm B. Separate evidence comes from larvae reared from an egg mass collected at Kilcoy, Queensland, which carried a small additional nucleolus just proximal of the median Balbiani ring of arm G (Fig. 1, b). This was present in 12 of 13 male larvae, but in only two of the 29 female larvae, suggesting about seven percent recombination between this nucleolus and the MD. All these results are most consistent with an MD near the subterminal nucleolus on arm G.

C. maddeni: This species will hybridize with the related species C. 'pseudoppositus', C. 'jacksoni' (manuscript name) or *C. oppositus* (Martin, in press). When F1 males from hybridization crosses of *C. maddeni* males to females of the other species were backcrossed to either parental stock, madC1 and madD1 were passed only to the F2 backcross males, while other arms were inherited by both sexes.

C. magnivalva: Specimens from Nadi, Fiji were used in irradiation experiments, and a translocation involving the distal half of arm B and the distal two thirds of arm D (Fig. 1, c) appears to show sex linkage. However, due to the high level of infertility (84 %) and abnormal development apparent in many eggs, there were insufficient larvae available for the data to be conclusive.

C. novae-zelandiae: Larvae reared from an egg mass where both parents must have been heterozygous for novA1.2, showed clear autosomal inheritance of the alternative sequences. This inversion covers about the middle third of the arm and it is unlikely that an MD anywhere on the arm could appear unlinked to it.

Phylogeny

Trees were constructed from consensus data of a single MIX analysis (100 trees) and from 200 bootstrapped data sets. The two consensus trees obtained were very similar, but only that from the single run is presented because its placement of cluster 1 more closely reflects the DNA phylogenies (Fig. 2). The six clusters recognized by Guryev *et al.* (2001) are conserved, and some of the additional species included in the analysis can be placed into those clusters. Thus *C. occidentalis* and *C. novae-zelandiae* fit into cluster II, *C. acidophilus* into cluster IV, *C. nuditarsis* into cluster V, and *C. stigmaterus* and *C. longiventris* into cluster VI. The root species, *C. nepeanensis*, and the two species in cluster I have the MD on arm G. An arm G MD is also found in two of the forms of *C. oppositus* in cluster II, and in *C. bernensis* from cluster V. In cluster II, the most common site is on the CD chromosome (6 species), probably near the centromere of arm C (Martin, Lee, 1984a), then arm A in 3 species, arm B in one species and arm F in one species (assuming that MDs in the different forms of *C. oppositus* are of common origin (see Discussion)). In cluster III, the camptochironomus-cytocomplex species, there are three sites represented, arm B in both *C. tentans* and *C. pallidivittatus*, arm F in *C. tentans*, and arm C in *C. dilutus*. The only two species from cluster IV for which the MD location is known, *C. riparius* and *C. luridus*, both have it on arm F. Cluster V appears to be able to be split into two groups, the *C. plumosus*-group species with the MD on either arm A or arm G, and the other species, including the lacunarius-cytocomplex species, where all known cases are on arm F. No MD locations are known for previously recognized members of cluster VI, but *C. obtusidens*, which is included with the cluster VI species in the 'five arm' cytological tree of Gunderina *et al*. (2005), and *C. stigmaterus*, which also appears to belong in this cluster, both have the MD on arm F.

Discussion

One problem that arises with the cytological phylogeny based on just arms A, E and F that is used here, is that these three arms, more so than arms C, D and probably B, are those upon which Wuelker (1980) based his formulation of basic patterns within *Chironomus*, i.e. those banding sequences that are found in many species across several cytocomplexes. Often the same species carry the basic patterns in all of these three arms and, as the term 'basic' implies, these species tend to be

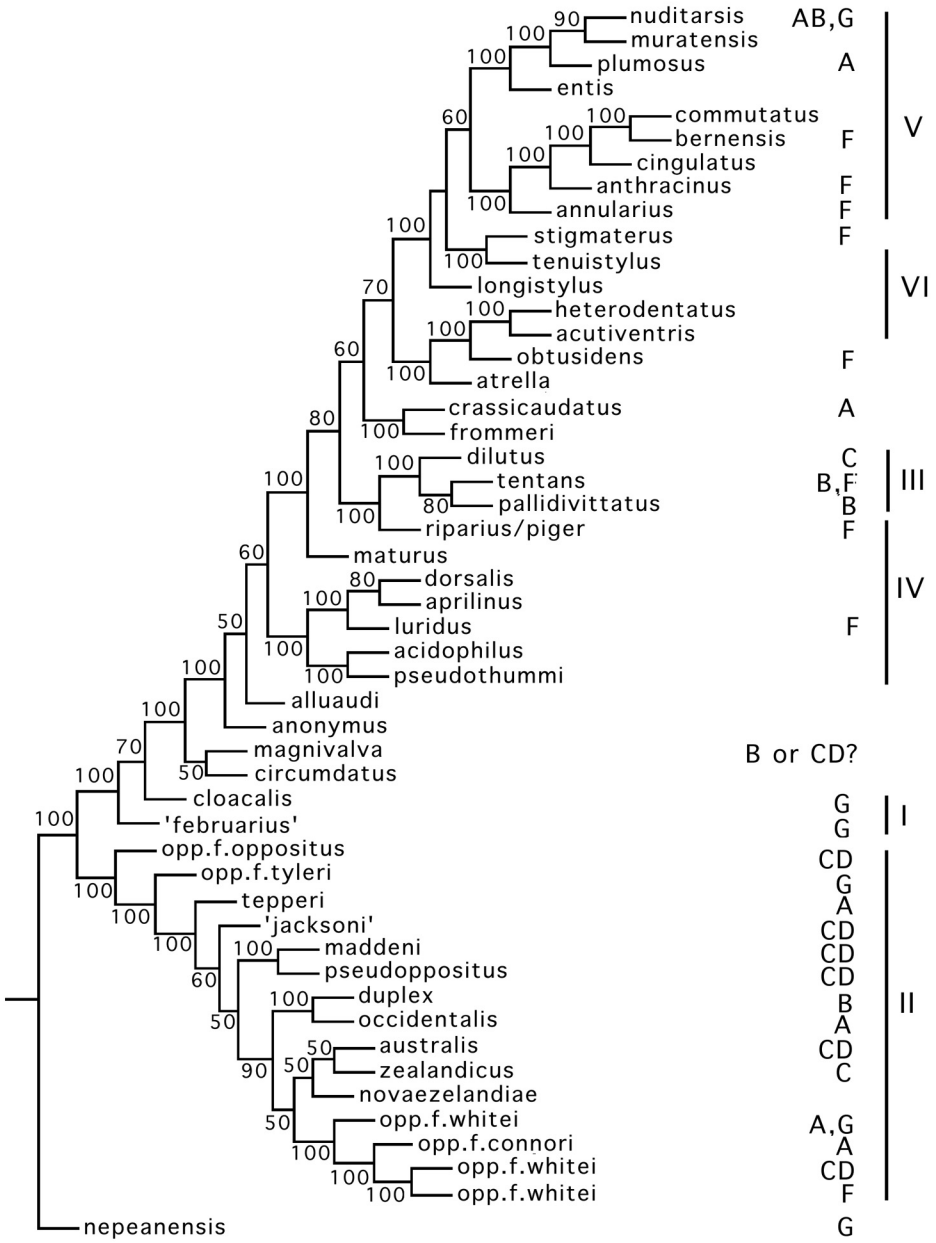


Fig. 2. Consensus mixed parsimony (MIX) tree, of 100 trees found, based on the cytological relationships of arms A, E, and F, and rooted on C. nepeanensis to conform to the mitochondrial and globin DNA sequence trees of Guryev *et al.* (2001). MD location is indicated to the right of the tree; I – VI are the groupings recognized by Guryev *et al*. (2001).

near the base of the tree. Consequently the relationships between clusters I to IV tend to be obscured. For example cluster III appears derived from cluster IV in Fig. 2, while in the DNA tree (Guryev *et al*., 2001), as in the 'five arm cytological tree (allowing for the fact that this is an unrooted tree) (Gunderina *et al*., 2005), it is more basal and closer to cluster II, with cluster IV in a more terminal position. The following discussion will therefore use the latter relationships in deriving phylogenetic inferences of MD locations. Wuelker's (1980) basic pattern hypothesis also carries the implication that the basic patterns were spread across the cytocomplexes in an evolutionary short period, leading to a strong

likelihood that incomplete lineage sorting may play a role in the distribution of MD locations between species and cytocomplexes.

The results clearly suggest that the MD location in arm G is ancestral, since it is found in the root species, *C. nepeanensis*, and the two representatives of cluster I, the most basal in the DNA phylogenies of Guryev *et al*. (2001). However, there is no solid evidence to suggest that it is ancestral in the wider Chironomidae, largely due to a lack of information on the sex chromosomes of other genera. Sex linkage associated with arm G has been reported for *Polypedilum nubifer*, but this is a female heterogametic species (Martin, 1966; Porter, Martin, 1977), and may therefore be a different gene, or it may be a different mutation of the same gene. In the housefly, the female determinant F has been shown to be the homolog of the *transformer* gene (Hediger *et al*., 2010), so it will be interesting to see whether this arm G-located gene in chironomids also proves to be the *transformer* homolog. In *Kiefferulus intertinctus*, a sister genus to *Chironomus*, the MD is on one of the metacentric chromosomes, not on arm G (Martin, 1962), but it cannot be concluded that this site is ancestral in that genus. In the most primitive chironomid in which sex chromosomes have been identified, *Telmatogeton hirtus* (subfamily Telmatogetoninae), the small heterochromatic chromosome is involved in a complex sex chromosome (Newman, 1977), but it cannot be assumed that this chromosome is homologous to the small chromosome of Chironomini, which is not heterochromatic.

It is then parsimonious to assume that the MD on arm G was carried through into cluster II, perhaps due to incomplete lineage sorting, since *C. oppositus* is not the most basal species of the cluster (at least in the DNA phylogenies). The presence of this MD in a small number of populations of form *whitei* can probably be attributed to introgression, since natural hybridization is known to occur between forms (Martin, in press). A similar explanation may also apply to the presence of an arm A location in at least two forms. However, the occurrence of a MD on arm A of two other species of this cluster cannot necessarily be attributed to a single event, as that of *C. occidentalis* is close to the centromere in band group 19 (Martin *et al*., 1980), while that of *C. tepperi*, which has an identical banding sequences in the region, shows about eight percent recombination with the centromere and is therefore probably distal of group 19. The arm A MD of *C. oppositus*, however, may be from a common origin with that of *C. tepperi*. The arm B location found in *C. duplex* would appear to be a unique origin within the cluster, although it is not impossible that it has a common origin with that found in cluster III (or in *C. magnivalva* if that species proves to have the MD on arm B, rather than on CD).

More commonly, the MD location of species in cluster II is on the CD chromosome, with all cases compatible with a location on arm C near the centromere. Therefore only a single origin needs to be postulated. The only other proven case of an arm C location, in *C. dilutus* of cluster III, could be from the same event, particularly if *C. magnivalva*, which is intermediate between these two clusters has its MD on this chromosome.

The most noteworthy point about the remaining clusters (as well as some populations of *C. tentans*) is the apparently widespread occurrence of an MD on arm F. This may be a single origin for all these groups, but possibly independent of the single known case in cluster II. The most accurately identified location in clusters III to VI is that of *C. riparius* (= *thummi*), which Haegele (1985) and Kraemer and Schmidt (1993) placed at the distal end near the junction of band groups 1 and 2. In *C. oppositus* f. *whitei*, the arm F MD is associated with a more proximal inversion involving band groups 11–15, but also includes band 2c, which is close to the region identified by Kraemer and Schmidt (1993) in *C. riparius*, i.e. the MD in all cases could potentially be at band 2c.

The remaining MD locations are essentially in the *C. plumosus*-group of cluster V, since little can be concluded for the arm A location in the North American *C. crassicaudatus*, since no DNA sequence is available to confirm its relationships to the other species considered here. Unless further information becomes available to suggest otherwise, it is simplest to assume that the AB location in *C. nuditarsis* is on arm A and homologous to that of *C. plumosus*. These species are phylogenetically removed from those species with an arm A MD in cluster I, so it seems unlikely that incomplete lineage sorting can be the explanation, and a similar situation applies to the arm G location in *C. nuditarsis*. As noted in the introduction, an independent

origin of an arm G location in this terminal branch does not contribute to an understanding of the nature of the MD genes, since it can be explained by either an independent transposition event or a regulatory mutation with different dominance relationships.

It has been noted that the cytologically based phylogeny is biased due to the presence of 'basic' sequences that occur in many species and in different cytocomplexes. It is therefore pertinent to ask whether this cytological conservation is reflected in the distribution of MD locations. For the 'basic' sequences of arms A and F there is only a single species for each with a known MD, but for arm E there are sufficient to suggest that there is no strong correlation: species with In10b-3f have the MD on arm C (*C. australis*), arm A (*C. tepperi*) and arm F (*C. luridus*), and those with In5-10b have both arm A (*C. plumosus*) and arm F (*C. rempeli*) locations.

The questions raised by this phylogenetically based analysis, clearly indicate the need for further studies to determine the MD location in other *Chironomus* species. Presently there are limited data for North America in the northern hemisphere, and no data for any area of the southern hemisphere besides Australasia. As well, sequencing of the genome of *Chironomus* species will be important for the understanding of phylogenetic relationships. Are we seeing the results of transpositions to a limited number of sites, or to mutations in the genes that regulate the sex determination pathway? Are all sites on the same chromosome arm really the same site or gene? Since it has been suggested that fixation of a new MD location may depend on selective advantage of genes linked to the particular site (Martin *et al*., 1980), it will be useful to know what genes occur nearby, and if the functions of these genes shed light on whether the different distributions of the arm C and arm F locations between the northern and southern hemisphere reflect adaptation to particular environmental conditions. For example, the much milder winter conditions in Australasia are one obvious difference.

References

Acton A.B. Sex chromosome inversions in *Chironomus* // Amer. Nat. 1957. V. 91. P. 57–59.

Acton A.B. A study of the differences between widely separated populations of *Chironomus* (*Tendipes*) *tentans* (Diptera) // Proc. R. Soc. Lond. 1959. 151B. P. 277–296.

Beermann W. Geschlechtsbestimmung und Evolution der genetischen Y-Chromosomen bei *Chironomus* // Biol. Zbl. 1955. B. 74. S. 525–544.

Felsenstein J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package), Version 3.68. Distributed by the author, Department of Genetics, University of Washington, Seattle. 2008.

Green M.M. Transposable elements in *Drosophila* and other Diptera // Annu. Rev. Genet. 1980. V. 14. P. 109–120.

Gunderina L.I., Kiknadze I.I., Istomina A.G. *et al*. Divergence patterns of banding sequences in different polytene chromosome arms reflect relatively independent evolution of different genome components // Russ. J. Genet. 2005. V. 41. P. 549–558.

Guryev V., Makarevitch I., Blinov A., Martin J. Phylogeny of the genus *Chironomus* (Diptera) inferred from DNA sequences of mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome oxidase I. // Mol. Phyl. Evol. 2001. V. 19. P. 9–21.

Haegele K. Identification of a polytene chromosome band containing a male sex determiner of *Chironomus thummi thummi* // Chromosoma. 1985. V. 91. P. 167–171.

Hediger M., Henggeler C., Meier N. *et al*. Molecular characterization of the key switch F provides a basis for understanding the rapid divergence of the sex-determining pathway in the housefly // Genetics. 2010. V. 184. P. 155–170.

Keyl H.-G. Chromosomenevolution bei *Chironomus*. I. Struktur-abwandlungen an Speicheldrüsen-Chromosomen // Chromosoma. 1961. V. 12. P. 26–47.

Keyl H.-G. Chromosomenevolution bei *Chironomus*. II. Chromosomenumbauten und phylogenetische Beziehungen der Arten // Chromosoma. 1962. V. 13. P. 464–514.

Kiknadze I.I., Butler M.G., Aimanova G. *et al*. Divergent cytogenetic evolution in Nearctic and Palearctic populations of sibling species in the subgenus *Camptochironomus* Kieffer. // Canad. J. Zool. 1998. V. 76. P. 361–376.

Kiknadze I.I., Gunderina L.I., Butler M.G. *et al*. Chromosomes and continents // Biosphere Origin and Evolution / Eds N. Dobretsov, N. Kolchanov, A. Rozanov, G. Zavarzin. Springer, N.Y., 2008. P. 349–369.

Kiknadze I.I., Wuelker W.F., Istomina A.G., Andreeva E.N. Banding sequence pool of *Chironomus anthracinus* Zett. (Diptera, Chironomidae) in Palearctic and Nearctic // Euroasian Ent. J. 2005. V. 4. P. 13–27.

Kozielska M., Weissing F.J., Beukeboom L.W., Pen I. Segregation distortion and the evolution of sex-

determining mechanisms // Heredity. 2010. V. 104. P. 100–112.

Kraemer C., Schmidt E.R. The sex determining region of *Chironomus thummi* is associated with highly repetitive DNA and transposable elements // Chromosoma. 1993. V. 102. P. 553–562.

Martin J. Interrelation of inversion systems in the midge *Chironomus intertinctus* (Diptera: Nematocera) I. A sex-linked inversion // Austal. J. Biol. Sci. 1962. V. 11. P. 666–673.

Martin J. Female heterogamety in *Polypedilum nubifer* (Diptera: Nematocera) // Amer. Nat. 1966. V. 100. P. 157–159.

Martin J. A review of the genus *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). IV. The karyosystematics of the *australis* group in Australia // Chromosoma. 1971. V. 35. P. 418–430.

Martin J. Location of a sex-determining region in *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera: Chironomidae) using irradiation induced chromosomal rearrangements // Genetica. 1981. V. 57. P. 113–117.

Martin J. From bands to base pairs: Problems in the identification of *Chironomus* species, using the example of *Chironomus oppositus* Walker. Honorary Thienemann Lecture, VII Intern. Symposium on Chironomidae, Tianjin, China, July 2009. (In press).

Martin J., Kuvangkadilok C., Peart D.H., Lee B.T.O. Multiple sex determining regions in a group of related *Chironomus* species (Diptera: Chironomidae) // Heredity. 1980. V. 44. P. 367–382.

Martin J., Lee B.T.O. Are there female heterogametic strains of *Chironomus tentans* Fabricius? // Canad. J. Genet. Cytol. 1984a. V. 26. P. 743–747.

Martin J., Lee B.T.O. A phylogenetic study of sex determiner location in a group of Australasian *Chironomus* species (Diptera, Chironomidae) // Chromosoma. 1984b. V. 90. P. 190–197.

Martin J., Lee B.T.O. Sex determiners and speciation in the genus *Chironomus* // Proc. of the Intern. Symposium on Genetics, Speciation and the Founder Principle // Pacific Sci. 1988. V. 42. P. 51–55.

Martin J., Lee B.T.O. Sex determination in *Chironomus* and the *Drosophila* paradigm // Late 20th Century Research on Chironomidae: an Anthology from the 13th Intern. Symposium on Chironomidae / Ed. O. Hoffrichter. Shaker Verlag, Aachen, 2000. P. 177–181.

Martin J., Lee B.T.O., Connor E. Apparent incipient speciation in the midge *Chironomus oppositus* Walker (Diptera: Chironomidae) // Aust. J. Zool. 1978. V. 26. P. 323–329.

Martin J., Wuelker W. Review of the genus *Chironomus* (Diptera: Chironomidae). VIII. Cytology of Chironomus stigmaterus Say // Stud. Nat. Sci. 1974. (Portales, N.M.) 1(11). P. 1–17.

Newman L.J. Chromosomal evolution of the Hawaiian *Telmatogeton* (Chironomidae, Diptera) // Chromosoma. 1977. V. 64. P. 346–369.

Porter D.L., Martin J. Cytology of *Polypedilum nubifer* (Diptera, Chironomidae) // Caryologia. 1977. V. 30. P. 41–62.

Rempel J.G., Naylor J.M., Rothfels K., Ottonen B. The sex chromosome constitution of chironomid intersexes parasitised by nematodes // Canad. J. Genet. Cytol. 1962. V. 4. P. 92–96.

Rosin S., Fischer J. Geschlechtsgekoppelte Inversionen bei *Chironomus nuditarsis* Str. // Arch. Julius Klaus-Stift. Vererbungsforsch., Sozialanthrop. Rassenhyg. 1972. V. 40. P. 26–35.

Thompson P.E. Male and female heterogamety in populations of *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae) // Canad. Entomol. 1971. V. 103. P. 369–372.

Wuelker W. Basic patterns in the chromosome evolution of the genus *Chironomus* (Diptera) // Z. f. Zool. Syst. u. Evolutionsf. 1980. V. 18. P. 112–123.

Wuelker W., Kloetzli A.M. Revision der Gattung *Chironomus* Meig. IV. Arten des lacunarius-(commutatus) Komplexes // Arch. Hydrobiol. 1973. V. 72. P. 474–489.

Wuelker W.F., Martin J.C. Karyosystematics of the *Chironomus staegeri* group // Stud. Nat. Sci. (Portales, N.M.). 1971. 1(1). P. 22–34.

МОРФОЛОГИЯ ЛИЧИНКИ, СТРУКТУРА КАРИОТИПА И ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ХИРОНОМИДЫ ИЗ ЮЖНО-АФРИКАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

Н.А. Петрова, С.В. Жиров

Учреждение Российской академии наук Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: chironom@zin.ru

Исследовались личинки *Glyptotendipes* sp. Afr., собранные летом 1999 г. в Южно-Африканской Республике в небольшом пруду. Приводится подробная характеристика морфологии личинок. Описаны кариотип вида ($2n = 8$) и инверсионный полиморфизм. Кариотип состоит из трех крупных субметацентрических хромосом – IAB, IICD, IIIEF – и телоцентрической IVG, которая значительно короче каждой из них. Локализованы три ядрышка в плечах A, C, G, два кольца Бальбиани в IV хромосоме и 3 пуфа в плечах A, C, и D. Инверсии отмечены только в трех хромосомах: IIC, IIIE, IIIF и IVG. Обнаружено 7 типов инверсий и 13 геномных сочетаний.

Ключевые слова: Chironomidae, Южно-Африканская Республика, морфология личинки, кариотип, инверсионный полиморфизм.

Статья посвящается замечательному специалисту по политенным хромосомам Ие Ивановне Кикнадзе в связи с её 80-летием

Введение

Для настоящего исследования были использованы личинки хирономид из Южно-Африканской Республики, собранные для цитотаксономического исследования. Для идентификации этого вида мы изучили списки африканских хирономид. Несмотря на значительное количество работ, посвященных фауне двукрылых насекомых африканского континента (Кикнадзе и др., 1991), мы практически не смогли обнаружить сведений о хирономидах, обитающих в Африке южнее экватора, за исключением работ единственного автора (Harrison, 2000, 2002, 2004). При сравнении фаун Палеарктики (Kieffer, 1921, 1922; Черновский, 1949; Панкратова, 1983; Pinder, Reiss, 1983) и Южной Африки (Harrison, 2000) нами обнаружено 23 общих рода. После тщательного анализа морфологических признаков личинок этого вида, мы пришли к выводу, что данные личинки относятся к подсем. Chironomidae, трибе Chironomini, роду *Glyptotendipes* (?), однако в литературе совершенно отсутствует упоминание о роде *Glyptotendipes* на африканском континенте.

Род *Glyptotendipes* (Kieffer) является одним из наиболее интересных в сем. Chironomidae. Виды этого рода встречаются почти на всех континентах (Pinder, Reiss, 1983; Cranston *et al*., 1989) и занимают различные экологические ниши. Род считается эволюционно молодым, различия на межвидовом уровне, даже у личинок, достаточно велики. Процветание рода подтверждается способностью к обитанию в биотопах с нарастающим биогенным давлением и освоением фитофагии наравне с фильтрацией детрита (Калугина, 1963, 1971, 1975). В настоящий момент в роде *Glyptotendipes* известно не менее 40 видов. Из них для 12 видов описаны и исследованы кариотипы (Michailova, 1989; Дурнова, 1998). Список видов рода продолжает увеличиваться, особенно за счет исследований в тех частях света, куда доступ исследователей был затруднен по тем или иным причинам.

Материал и методика

Личинки хирономид были собраны 19 июля 1999 г. в небольшом пруду на территории университетского городка (University of the North, Qwa-Qwa campus, KestellRoad, Phuthadithjaba, South Africa) сотрудником Зоологического института РАН Л.А. Куприяновой. Местообитание представляло собой неглубокий сильно заросший водоем естественного происхождения с илистым дном. Личинки собирались с подводных частей растений, в том числе с прикорневых участков. Это позволило предположить, что они являются фитофагами-минерами или детритофагами.

Собранный материал фиксировали на месте сбора в жидкости Карнуа (95 %-й этиловый спирт + ледяная уксусная кислота в соотношении 3 : 1), через сутки после сбора фиксатор меняли. В лабораторных условиях слюнные железы выделяли в капле фиксатора и окрашивали в 2 %-м растворе ацетооорсеина. После короткой мацерации в 45–60 %-й молочной кислоте отделяли клетки от секрета. Каждая личинка содержала в слюнной железе 21–26 гигантских клеток. Давленые препараты готовили рутинным способом (Чубарева, Петрова, 1982). Всего было изучено 22 особи. В статье приведены метафазные хромосомы из клеток гонад и политенные хромосомы из клеток слюнных желез. Изготовлены цитофотокарты.

Анализ морфологических признаков личинки показал, что изученные особи имеют значительное сходство с видами рода *Glyptotendipes*. Однако идентифицировать личинки до видового уровня нам не удалось, поэтому было решено оставить рабочее наименование *Glyptotendipes* species Africa (*Glyptotendipes* sp. Afr.).

В сообществе исследованного пруда также было обнаружено 11 личинок второго вида с похожими морфологическими признаками, вероятно, из того же рода *Glyptotendipes*, однако имеющих значительные отличия в структуре кариотипа (иная дисковая структура в плечах IB и IVG). В данной статье мы не приводим результаты исследований этой популяции, поскольку материал обработан еще не полностью.

Кроме личинок из подсемейства Chironominae, в этом же сообществе мы нашли представителей подсемейств Orthocladiinae – *Orthocladius* (Euorthocladius) *thienemanni* (3 личинки) и Tanypodinae – *Ablabesmia phatta* (2 личинки).

Морфологическая характеристика личинки

Личинка 10–13 мм длиной, красная с зеленоватым оттенком. Основные морфологические особенности показаны на рис. 1. Передние ложноножки и анальные жабры хорошо развиты. Подталкиватели конические, длиннее несущего сегмента. Подставки преанальных кисточек небольшие, примерно равной высоты и ширины, по 6 щетинок в каждой. Вентральные отростки отсутствуют. Головная капсула желтая с коричневыми пятнами, которые исчезают после обработки щелочью, за исключением пятна под субментумом. Сверху и частично снизу головная капсула имеет зернистую структуру. Фронтоклипеальный шов виден нечетко, он немного длиннее первого членика усика. Имеются 2 пары глаз, одна под другой, относительно размеров головы они крупные, верхние и нижние отстоят недалеко друг от друга. Нижняя пара глаз хорошо обособлена. Соотношение длины члеников усика примерно 10,5 : 3,5 : 1,5 : 2 : 1, индекс усика около 1,3. Первый членик усика немного искривлен, щетинка усика достигает конца 5-го членика. Лаутерборновы органы небольшие, сидячие. Кольцевой орган расположен на 1/3 высоты от основания первого членика. Мандибула массивная, с 4 внешними истинными зубцами. Все зубцы черные, щетинка под зубцами ланцетовидная, сильно суженная к вершине. Внутренняя щетинка состоит из 5–6 основных стволов, делящихся на множество ветвей. Щупик максиллы короче половины длины первого членика усика. Передний край основания максиллы с длинными тонкими коническими зубчиками. Премандибула дистально разделена на 2 крупных зубца, а в точке прикрепления мембраны заметно не менее трех коротких закругленных зубчиков. Гребень эпифаринкса состоит из пяти равных по высоте зубцов. Срединный зубец субментума по высоте равен первому боковому зубцу, а по ширине равен ему или чуть шире. Иногда по бокам срединного зубца наблюдаются неглубокие выемки. Первые боковые зубцы почти сливаются со вторыми, отчего пара кажется

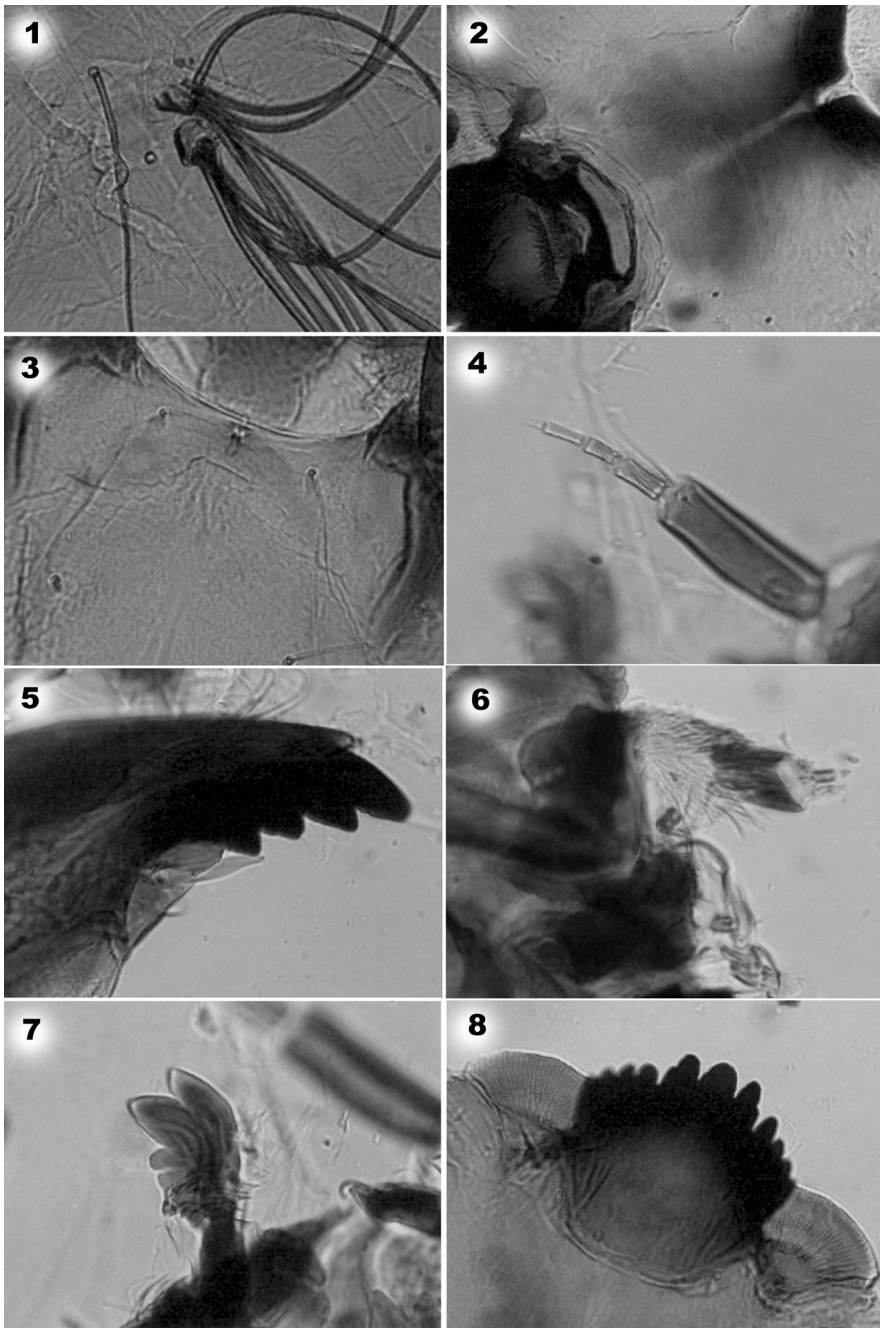


Рис. 1. Морфологические особенности личинки *Glyptotendipes* sp. Afr.

1 – подставки преанальных кисточек, 2 – темное пятно под субментумом, 3 – фронтоклипеальный шов, 4 – антенна, 5 – мандибула, 6 – максилла, 7 – премандибула, 8 – субментум.

одним зубцом. Ширина пластинок субментума приблизительно равна его ширине, они почти вдвое шире своей высоты, их внутренние углы широко расставлены. Передний край пластинок гладкий, под ним нечетко видны крупные зубчики числом не менее 30. По бокам субментума у основания наблюдаются несколько складок.

Личинки были собраны на подводных частях растений. В то же время известно, что большинство видов рода *Glyptotendipes* живут в обрастаниях, минируют гнилую древесину и разлагающиеся растения.

Таким образом, по многим отдельным признакам исследованные особи похожи на пред-

ставителей рода *Glyptotendipes*, однако по совокупности приведенных выше признаков видовую принадлежность нам установить не удалось.

Характеристика кариотипа

Кариотип из клеток гонад характеризуется диплоидным числом хромосом $2n = 8$ (рис. 2, а). Политенные хромосомы из слюнных желез личинки представлены тремя парами длинных и четвертую, значительно более короткую, что характерно для кариотипов хирономид с $2n = 8$ (рис. 2, б). По аналогии с цитофотокартами видов рода *Glyptotendipes* было установлено следующее сочетание плеч хромосом: IAB, IICD, IIIEF, IVG. Хромосомы AB, CD и EF – субметацентрические, хромосома G – акроцентрическая. Кариотип полинуклеолярен – три ядрышка (N) локализованы в плечах A, C, G. Имеется два кольца Бальбиани (BR) в плече G. На цитофотокартах можно заметить несколько распуфленных участков (P) – один в плече A уч. 8 и два в плечах C и D уч. 3 и уч. 15 соответственно. Рисунок дисков–междисков политенных хромосом у изученной кариоформы, как и у прочих представителей рода *Glyptotendipes*, четкий, и в каждой хромосоме обнаруживаются удобные маркеры для анализа цитофотокарт. Все хромосомы несут хорошо различимые блоки центромерного гетерохроматина, между которыми изредка наблюдается эктопическая конъюгация. Такие редкие и непостоянные контакты отмечены и для районов локализации теломерного гетерохроматина. Для больших хромосом характерно наличие заметных перетяжек (сужений): одна перетяжка в плече A хромосомы I недалеко от теломеры и по одной – в плечах C и D также недалеко от теломеры.

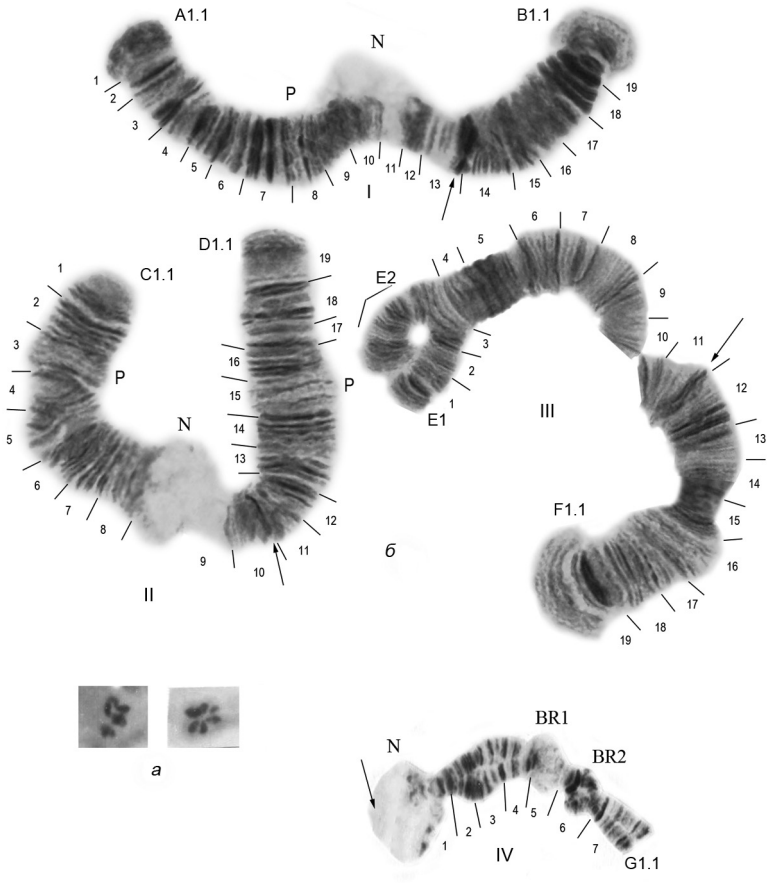


Рис. 2. Метафазные пластинки (а) и кариотип (б) *Glyptotendipes sp*. Afr.

Обозначения: A, B, C, D, E, F, G – плечи хромосом, N – ядрышко, BR – кольца Бальбиани, P – пуфы, стрелками обозначены центромеры.

Поскольку прямой аналогии с цитофотокартами видов из рода *Glyptotendipes* нам обнаружить не удалось, мы провели собственное картирование хромосом.

Хромосома I (*плечи AB*). Рисунок дисков видоспецифичен. В хромосоме выделено 19 участков. Центромера находится на границе 13-го и 14-го участков. Плечо A содержит 13 участков. В плече A маркерами могут служить перетяжка в участках 4–5 (подобно перетяжке в плече A у видов группы *plumosus*) и группа из трех темных дисков почти посередине плеча в участке 7 (тип маркера, характерный для рода *Glyptotendipes*). Также в плече A находится N (уч. 11) в непосредственной близости от центромеры. Плечо B состоит из 6 участков. В плече B недалеко от веерообразного теломерного участка последовательно расположены темный диск, светлая зона и три плотные группы крупных темных дисков (уч. 18). Гомологи I хромосомы плотно конъюгируют во всех клетках слюнной железы.

Хромосома II (*плечи CD*) разделена на 19 участков. Рисунок дисков видоспецифичен. Центромера расположена на границе уч. 10 и 11. Плечо C состоит из 10 районов, недалеко от центромеры локализовано N (уч. 9). Характерной особенностью плеча C являются перетяжка в уч. 3, по сторонам которой диски собраны в хорошо узнаваемые блоки, а также группа равномерно чередующихся дисков одинаковой ширины в уч. 2. Плечо D состоит из 9 участков и характеризуется легко узнаваемым рисунком дисков. В плече имеется перетяжка в уч. 17. Между этой перетяжкой и теломерой хорошо заметны две группы крупных двойных дисков, разделенных более светлым блоком тонких дисков-междисков на уч. 18. Этот район является хорошим маркером плеча. Оба гомолога плотно конъюгируют.

Хромосома III (*плечи EF*) разделена на 19 участков. Рисунок дисков видоспецифичен. Центромера расположена на границе уч. 11–12. Плечо E поделено на 11 районов. В середине плеча E имеется группа темных дисков (уч. 5), этот маркер тоже напоминает маркер плеча E у видов *Glyptotendipes*. Плечо F поделено на 8 участков. Его маркером можно считать группу темных дисков недалеко от центромеры в уч. 12. Гомологи конъюгируют плотно, за исключением случаев гетерозиготных перестроек (например, в уч. 1–2). Рисунок дисков теломерных районов (1 и 19) в обоих плечах несколько сходен и представляет собой четкий темный диск, причем в плече E диск окружен с обеих сторон светлыми районами, а в плече F полоса предшествует темному диску.

Хромосома IV (*плечо G*) разделена на 7 участков. Рисунок дисков видоспецифичен. В плече G можно выделить три активных участка: N (уч. 1) и два BR (уч. 5 и 6), которые служат отличными маркерами. Эти участки разделены небольшими группами узких темных дисков.

Инверсионный полиморфизм

В ходе исследования популяции были обнаружены хромосомные перестройки в гетерозиготном состоянии. Анализ последовательностей дисков хромосом показал, что популяция *Glyptotendipes* sp. имела инверсионные последовательности в плечах IIC, IIIEF и IVG.

Gly. sp. Afr. A1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
Gly. sp. Afr. B1 14 15 16 17 18 19

В хромосоме I AB наблюдалась только стандартная последовательность дисков (табл. 1).

Таблица 1

Частота встречаемости последовательностей дисков у *Glyptotendipes* sp. Afr., собранных в Южно-Африканской Республике

Последовательности плеч	Количество особей	Частота встречаемости, %
AI	22	100
BI	22	100
CI	21	95,5
C2	1	4,5
DI	22	100
EI	12	54,5
E2	8	36,4
E3	2	9,1
F1	12	54,5
F2	10	45,4
G1	9	40,8
G2	10	45,4
G3	2	9,1
G4	2	9,1
G5	1	4,5
G6	1	4,5

Gly. sp. Afr. C1 1 2ab 3 4 5 6 7 8 9 10
Gly. sp. Afr. C2 1 2a 8 7 6 5 4 3 2b 9 10

У одной личинки в плече C была обнаружена большая инверсия (рис. 3, а), захватывающая все плечо. Эта инверсия была в гетерозиготном состоянии. Частота ее составила 4,5 %.

Gly. sp. Afr. D1 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Плечо D в хромосоме II оказалось мономорфным у всех изученных особей.

Gly. sp. Afr. E1 1abc 2abc 3 4 5 6 7 8 9 10 11
Gly. sp. Afr. E2 1ab 2cba 1c 3 4 5 6 7 8 9 10 11
Gly. sp. Afr. E3 1 10 9 8 7 6 5 4 3 2 11

У 8 (36,4 %) личинок в плече E была обнаружена короткая инверсия E1.2 (рис. 3, б, табл. 1). Эта инверсионная последовательность отличается от стандартной незначительной перестройкой, захватывающей участок 2cba-1c, и встречается только в гетерозиготном состоянии. У 2 (9,1 %) личинок имелась большая гетерозиготная инверсия E1.3, захватывающая почти все плечо (уч. 2–10).

Gly. sp. Afr. F1 12 13 14 15 16 17 18 19
Gly. sp. Afr. F2 12 18 17 16 15 14 13 19

Этот тип инверсии встретился у 10 (45,5 %) особей (рис. 3, б, табл. 1). Инверсионная последовательность отличается от стандартной простой перестройкой на уч. 13–18 и встречается только в гетерозиготном состоянии.

У 8 личинок (36,4 %) последовательность Gly. sp. Afr. E2 встретилась сцепленно с последовательностью Gly.sp. Afr. F2 (рис. 3, б, табл. 1).

Gly. sp. Afr. G1 1N 2 3 4 5BR 6BR 7
Gly. sp. Afr. G2 1N 2 6BR 5BR 4 3 7
Gly. sp. Afr. G3 1N 2 3 4 N 5BR 6BR 7
Gly. sp. Afr. G4 1N 4 3 2 N 6BR 5BR 7
Gly. sp. Afr. G5 1N 2 3 6BR 5BR 4ab 7
Gly. sp. Afr. G6 1N 3 2 6BR 5BR 4ba 7

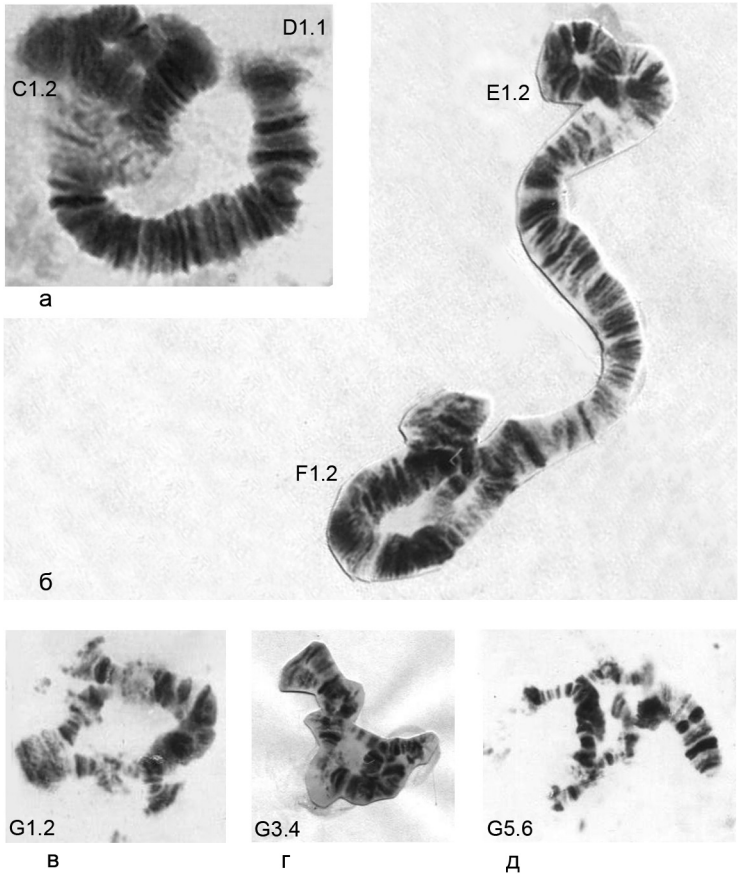


Рис. 3. Инверсии в кариотипе *Glypto-tendipes* sp. Afr.

а – инверсия в IIC (2b-8); б – инверсии в IIIE (1c – 2c) и в IIIF (13 – 18); в – инверсия в IVG (3 – 6); г, д – сложные инверсии в IVG.

Наибольшее число инверсий, довольно сложных, было обнаружено в IV хромосоме. 9 личинок (40,9 %) имели стандартную последовательность дисков в G плече, остальные 13 (59,1 %) несли в своих кариотипах ту или иную инверсию.

Gly. sp. Afr. G2 встретилась у 10 особей (45,4 %). Эта инверсия легко узнаваема, так как хромосома приобретает вид кольца. Встретилась только в гетерозиготном состоянии (рис. 3, в).

Последовательность Gly. sp. Afr. G3 отличается от стандарта дуплицированным ядрышком. Она встретилась у двух особей (9,1 %) в совокупности с последовательностью Gly. sp. Afr. G4, которая возникла в результате двух последовательных инверсий на уч. 2–4 и 5BR–6BR. (рис. 3, г, табл. 1).

Последовательность Gly. sp. Afr. G5 также оказалась сложной для определения. Она встретилась у единственной личинки (4,5 %) в совокупности с Gly. sp. Afr. G6, образуя сложную гетерозиготу. При этом в последовательности G5 произошла простая инверсия на уч. 4–6 с захватом обоих BR. Тогда как в последовательности G6 была обнаружена двойная инверсия на уч. 2–3 и 4–6 (рис. 3, д, табл.1).

В целом в популяции было обнаружено 13 геномных сочетаний (табл. 2). Основную долю (5 личинок) составили особи со стандартной последовательностью. Остальные варианты встречались почти с одинаковой частотой.

Таблица 2

Частота геномных сочетаний разных хромосом у *Glyptotendipes* sp. Afr. из Южно-Африканской Республики

N	Геномные сочетания	Кол-во, %
1	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.1 F1.1 G1.1	5/22,7
2	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.2 F1.1 G1.2	1/4,5
3	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.2 F1.1 G5.6	1/4,5
4	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.2 F1.2 G1.1	1/4,5
5	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.1 F1.1 G3.4	2/9,1
6	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.2 F1.1 G1.1	2/9,1
7	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.1 F1.2 G1.1	1/4,5
8	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.2 F1.2 G1.2	2/9,1
9	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.1 F1.2 G1.2	1/4,5
10	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.1 F1.1 G1.2	3/13,6
11	A1.1 B1.1 C1.2 D1.1 E1.2 F1.2 G1.2	1/4,5
12	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.3 F1.2 G1.1	1/4,5
13	A1.1 B1.1 C1.1 D1.1 E1.3 F1.1 G1.2	1/4,5
Всего		22

Обсуждение

Таким образом, по результатам нашего исследования можно сделать заключение о том, что мы, скорее всего, имеем дело с неизвестным видом, который мы отнесли к роду *Glyptotendipes*. Морфологические характеристики изученных особей на стадии личинки сходны с характеристиками многих видов этого рода из Палеарктики (Панкратова, 1983). Однако имеются также и существенные различия. Во-первых, отличается соотношение длин члеников антенны – у африканского вида 4-й членик стабильно длиннее 3-го, тогда как у видов *Glyptotendipes* в лучшем случае 4-й равен 3-му. Во-вторых, у африканского вида щетинка усика достигает конца 5-го членика, а у большинства видов *Glyptotendipes* она едва достигает конца 4-го членика. В-третьих, гребень эпифаринкса состоит из 5 почти равных по высоте округлых зубцов, в то время как у видов из рода *Glyptotendipes* этот орган устроен значительно сложнее. В-четвертых, такой признак, как «соотношение ширина/высота пластинок субментума» оказался весьма вариабельным. В пределах выборки это соотношение изменялось от 2 практически до 1. Для представителей *Glyptotendipes* более характерны длинные пластинки с соотношением, близким к 2.

Исходя из вышесказанного, мы не можем с полной уверенностью отнести данный вид к роду *Glyptotendipes*. Поэтому еще раз подчеркиваем, что присвоенное виду наименование *Glyptotendipes* sp. Afr. является предварительным.

Вид имеет кариотип $2n = 8$, как у большинства представителей Chironominae. Кариотип легко узнаваем, имеет несколько хороших дисковых маркеров. Также хорошо проявляются ядрышки и кольца Бальбиани. Последовательность дисков, принятая за стандарт, обладает явным адаптивным преимуществом в популяции. Инверсионный полиморфизм характеризуется 7 типами гетерозиготных инверсий. 4 типа ин-

версий можно назвать редкими: C1.2, E1.3, G3.4, G5.6. Их частота не превышала 9,1 %. Остальные типы инверсий встречаются значительно чаще (более 36,6 %) и, видимо, играют ведущую роль в формировании картины полиморфизма. С другой стороны, максимальное количество типов перестроек было обнаружено в IV хромосоме, что для подсемейства Chironominae не совсем обычно.

Благодарности

Мы выражаем искреннюю благодарность сотруднику Зоологического института Л.А. Куприяновой за собранный материал.

Работа выполнена при поддержке программ фундаментальных исследований Президиума РАН «Генофонды и генетическое разнообразие» и «Происхождение биосферы и эволюция геобиологических систем».

Литература

Дурнова Н.А. Хирономиды рода *Glyptotendipes* Kieff. Diptera, Chironomidae (морфология, кариотип, экологические особенности): Автореф. дис. … канд. биол. наук. Саратов, 1998. 191 с.

Калугина Н.С. Места обитания личинок и смена поколений у семи видов *Glyptotendipes* Kieff. и *Endochironomus* Kieff. из Учинского водохранилища // Учинское и Можайское водохранилища. М.: МГУ, 1963. С. 173–212.

Калугина Н.С. Сравнение фауны хирономид (Diptera, Chironomidae) трех прудов с разной степенью загрязненности бытовыми стоками // Докл. Моск. об-ва испыт. природы. 1971. С. 39–40.

Калугина Н.С. Определительная таблица личинок *Glyptotendipes* (Diptera, Chironomidae) водоемов Московской области // Зоол. журнал. 1975. Т. LIV. Вып. 12. С. 1830–1837.

Кикнадзе И.И., Шилова А.И., Керкис И.Е. и др. Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini. (Атлас). Новосибирск: Наука, 1991. 113 с.

Панкратова В.Я. Личинки и куколки комаров подсемейства Chironomidae фауны СССР (Diptera, Chironomidae – Tendipedidae). Л.: Наука, 1983. 295 с.

Черновский А.А. Определитель личинок комаров семейства Tendipedidae (Chironomidae) // Определители по фауне СССР. Л., 1949. Т. 31. 185 с.

Чубарева Л.А., Петрова Н.А. Цитологический метод анализа хромосом у хирономид // Методическое пособие по изучению хирономид. Душанбе: Дониш, 1982. С. 64–73.

Cranston P.S., Dillon M.E., Pinder L.C.V., Reiss F. The adult males of Chironominae (Diptera, Chironomidae) of the Holarctic Region. Keys and Diagnoses // Chironomidae of the Holarctic Region. Keys and Diagnoses / Ed. T. Wiederholm. Part 3. Adult males. Ent. Scand. 1989. Suppl. 34. P. 353–502.

Harrison A.D. Four new genera and species of Chironomidae (Diptera) from Southern Africa // Aquatic Insects. 2000. V. 22. P. 210–236.

Harrison A.D. Chironomidae (Diptera) in the Albany Museum, Part 1 // Ann. of the Eastern Cape Museum. 2002. V. 2. P. 9–18.

Harrison A.D. A contribution to the taxonomy of Tanytarsini (Diptera: Chironomidae) of sub-Saharan Africa, with a description of a new genus (*Afrozavrelia*) and five new species from other genera // Ann. of the Eastern Cape Museums. 2004. V. 3. P. 1–15.

Kieffer J.J. Chironomides nouveaux ou peu connus de la région paléarctiqu // Bull. Soc. D'histoire Naturelle de Metz. 1921. V. 29. P. 51–109.

Kieffer J.J. Chironomides nouveaux ou peu connus de la région paléarctique // Ann. Soc. Sci. Brux. 1922. V. 42. P. 71–180.

Michailova P. The polytene chromosomes and their significance to the systematic of the family Chironomidae, Diptera // Acta Zool. Fenn. 1989. V. 186. P. 1–107.

Pinder L.C.V., Reiss F. The larvae of Chironominae (Diptera, Chironomidae) of the Holarctic region – Keys and diagnoses // Entomol. Scand. 1983. Suppl. 19. (Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part 1. Larvae / Ed. T. Wiederholm). P. 293–436.

LARVA MORPHOLOGY, KARYOTYPE STRUCTURE, AND INVERSION POLYMORPHISM IN A CHIRONOMID FROM THE REPUBLIC OF SOUTH AFRICA (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

N.A. Petrova, S.V. Zhirov

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia,
e-mail: chironom@zin.ru

Summary

Glyptotendipes sp. Afr. larvae were collected in a small pond in the Republic of South Africa in summer 1999. Larvae morphology is presented in details. The karyotype of the species ($2n = 8$) and inversion polymorphism are described. The chromosome set consists of submetacentric chromosomes IAB, IICD, and IIIEF and telocentric chromosome IVG, which is much shorter than the others. Three nucleoli are located on arms A, C, and G and two Balbiani rings, on chromosome IV. Three puffs are observed on arms A, C, and D. Inversions have been found on three chromosomes: IIC, IIIE, IIIF and IVG. Seven inversion types and thirteen genomic combinations have been recognized.

Key words: Chironomidae, Republic of South Africa, larva morphology, karyotype, inversion polymorphism.

АХИАЗМАТИЧЕСКИЙ МЕЙОЗ: ОБЗОР

В.Г. Кузнецова[1], С. Грозева[2]

[1] Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: karyo@zin.ru;
[2] Институт зоологии Болгарской академии наук, София, Болгария, e-mail: sgrozeva@yahoo.com

Статья представляет собой обзор литературных данных по проблеме ахиазматического мейоза. Перечислены простейшие, растения и беспозвоночные животные, у которых он обнаружен. Показано, что в эволюции живых организмов ахиазматический мейоз возникал независимо и многократно, однако в некоторых группах этот признак является хорошим таксономическим маркером, позволяющим устанавливать родственные связи и выявлять монофилетические группы. Обсуждаются приуроченность ахиазматического мейоза к гетерогаметному полу; наличие в большинстве случаев синаптонемного комплекса и его роль как структуры, обеспечивающей правильную сегрегацию гомологичных хромосом в анафазе мейоза при отсутствии хиазм и кроссинговера; разнообразие типов ахиазматического мейоза и его эволюционное значение.

Ключевые слова: мейоз, гетерогаметный пол, хиазмы, синаптонемный комплекс, коллохоры, простейшие, растения, беспозвоночные животные.

Статья посвящена 80-летнему юбилею
профессора Ии Ивановны Кикнадзе

Введение

В типичном мейозе между гомологичными хромосомами формируются хиазмы, т. е. физические перекресты несестринских хроматид. Хиазмы удерживают гомологичные хромосомы вместе вплоть до их расхождения (сегрегации) в редукционном делении.

У организмов с моноцентрическими хромосомами количество хиазм, которое может сформироваться в биваленте, зависит от его размера. Например, у прямокрылых насекомых (Orthoptera) в мелких бивалентах обычно имеются 1–2 хиазмы, в то время как в крупных бивалентах их число может достигать 8 (White, 1973; Jones, 1987). У организмов с голокинетическими (голоцентрическими) хромосомами, как правило, в биваленте формируется не более двух хиазм (Halkka, 1964; White, 1973). Это связано со специфическими структурными особенностями голоцентрических бивалентов, что приводит к элиминации клеток, несущих биваленты с тремя и более хиазмами, и, как следствие, жесткому отрицательному отбору против формирования в голоцентрических бивалентах большого числа хиазм (Nokkala *et al*., 2004).

Ахиазматический мейоз и синаптонемный комплекс

У некоторых организмов гомологичные хромосомы конъюгируют и расходятся в профазе мейоза без формирования хиазм и рекомбинации. Такой мейоз называется ахиазматическим (другие употребляемые названия – ахиазмия, мейоз без рекомбинации, нерекомбинантный мейоз), и в этих случаях правильное прохождение мейоза и регулярная сегрегация гомологов в первой анафазе обеспечиваются другими, так называемыми ахиазматическими механизмами (Gassner, 1969; Welsch, 1973; Rasmussen, 1976, 1977). В большинстве случаев (наиболее известное исключение составляют некоторые Diptera (см. White, 1973; John, 1990) в ахиазматических бивалентах между гомологичными хромосомами имеется синаптонемный комплекс (Gassner, 1969; Rasmussen, 1976, 1977;

Debus, 1978; Marec, Traut, 1993; Rego, Marec, 2003; Schneider *et al*., 2009a, b). Преобладает мнение, что формирование синаптонемного комплекса в ранней профазе мейоза является необходимым условием для последующего формирования хиазм, однако его роль в мейозе этим не ограничивается и, по существу, остается до конца не выясненной (Богданов, Коломиец, 2007). Наличие синаптонемного комплекса в ахиазматических бивалентах показывает, что прямой связи между этой структурой и хиазмообразованием и кроссинговером нет. У *Ephestia kuehniella* и у некоторых других видов Lepidoptera (Marec, Traut, 1993) синаптонемный комплекс формируется как в хиазматическом мейозе самцов, так и ахиазматическом мейозе самок. Однако в синаптонемном комплексе самцов имеются также рекомбинационные узелки (recombination nodules), число и распределение которых в пахитенных хромосомах соответствует числу и распределению хиазм, а у самок рекомбинационные узелки отсутствуют (Marec, Traut, 1993; Богданов, Коломиец, 2007). В цитированной работе эти факты рассматриваются как непрямое доказательство роли рекомбинационных узелков в мейотической рекомбинации (Marec, Traut, 1993). Стоит в этой связи добавить, что тот же феномен, т. е. наличие синаптонемного комплекса и отсутствие рекомбинационных узелков в ахиазматическом мейозе, недавно был описан для самцов скорпионов *Tityus bahiensis* (Schneider *et al*., 2009a).

Хотя синаптонемные комплексы формируются как в хиазматическом, так и в ахиазматическом мейозе, между ними (комплексами) существуют структурные и поведенческие отличия. Например, в хиазматическом мейозе синаптонемный комплекс формируется в зиготене и поэтапно разрушается в диплотене (Богданов, Коломиец, 2007). В ахиазматическом мейозе синаптонемный комплекс может сохраняться, обычно в структурно модифицированной форме, вплоть до первой метафазы или даже анафазы, что косвенно подтверждает его роль в осуществлении и поддержании синапсиса гомологичных хромосом и их последующей правильной сегрегации в отсутствии хиазм и кроссинговера (Gassner, 1969; Rasmussen, 1976, 1977).

Распространение ахиазматического мейоза

В широко известном обзоре «Animal Cytology and Evolution» (White, 1973) ахиазматическому мейозу посвящен небольшой раздел (С. 476–490), в котором перечислены одноклеточные и многоклеточные организмы с этим типом мейоза.

Простейшие

У простейших (Protozoa) упоминаются солнечники (*Actinophrys sol*), кокцидии (*Aggregata eberthi*), гипермастигиды (*Trichonypha*), грегарины (*Stylocephalus longicollis*) и фораминиферы. Виды фораминифер не указаны, однако даны ссылки на две оригинальные публикации, в которых отсутствие хиазм приписывается *Rubratella intermedia* (Le Calvez, 1950), *Patellina corrugate* и *Discorbis vilardeboanus* (Grell, 1958).

Растения и беспозвоночные животные

Приуроченность к гетерогаметному полу и исключения

Абсолютное большинство примеров многоклеточных «высших» эукариот с ахиазматическим мейозом относится к животным, причем исключительно беспозвоночным. Из растений упоминаются виды рябчиков, относящиеся к *Fritillaria japonica* group (Liliaceae), которые характеризуются отсутствием рекомбинации в микроспорогенезе (Noda, 1975). Эта группа близких видов вплоть до настоящего времени является единственной среди растений, демонстрирующей этот тип мейоза (Noda, 1975; Ito *et al*., 1983).

За десятилетия, прошедшие со времени опубликования монографии Уайта (White, 1973), были выявлены десятки новых видов и надвидовых таксонов беспозвоночных животных с ахиазматическим мейозом. Имеющиеся данные показывают, что этот тип мейоза встречается в филогенетически далеких группах и почти всегда приурочен к одному гетерогаметному полу (рекомбинационный диморфизм), независимо от того, какой тип хромосомной полоопределяющей системы (XY, X0 или ZW,

в том числе множественные типы половых хромосом) ему свойствен. Для объяснения этого феномена, известного как «правило Холдейна–Хаксли» («Haldane–Huxley rule») (Haldane, 1922; Huxley, 1928), были предложены две гипотезы. Согласно «гипотезе плейотропии» («the pleiotropy hypothesis»), связь между ахиазмией и гетерозиготностью по половым хромосомам представляет собой плейотропный эффект отбора против рекомбинации между X и Y (Z и W) хромосомами. Согласно «гипотезе отсутствия рекомбинации» («no-recombination hypothesis»), эта связь является результатом эволюции Y (W) хромосомы у пола, который изначально не имел рекомбинации. Обе гипотезы имеют слабые стороны, в частности (первая) – наличие ахиазмии при механизме X0 (Lenormand, 2003).

Исключение составляют некоторые гермафродитные животные, которые, как правило (а возможно, всегда), не имеют специализированных половых хромосом. Например, у олигохет из родов *Buchholzia*, *Fridericia*, *Enhytronia*, *Marionina* и *Henlea* (Annelida, Oligochaeta, Enchytraeidae) хиазмы не формируются в мужской и женской зародышевых линиях (Christensen, 1961). Уникальная ситуация описана у гермафродитных планарий *Mesostoma ehrenbergii ehrenbergii* с $2n = 10$ (Turbellaria, Rhabdocoela). У них женский мейоз всегда ахиазматический, в то время как в сперматогенезе 6 хромосом образуют биваленты, каждый с единственной дистально локализованной хиазмой, а 4 хромосомы остаются унивалентными, что, однако, не препятствует их регулярной сегрегации в первой анафазе (Oakley, 1982, 1985; Oakley, Jones, 1982). Некоторые авторы полагают, что и у раздельнополых видов мейоз может быть ахиазматическим у обоих полов, как, например, у южно-американского скорпиона *Tityus bahiensis* (Scorpiones) (Shanahan, 1989a, b; Schneider *et al*., 2009a, b). Однако если вывод о том, что в мейозе самцов этого вида хиазм нет, подтверждается цитологическими картинами, то доказательства отсутствия хиазм у самок недостаточно убедительны или их пока нет (Shanahan, 1989a, b) и заменяются умозрительными рассуждениями, не поддерживаемыми никакими цитологическими или генетическими наблюдениями (Schneider *et al*., 2009a, b).

Помимо упомянутых ранее групп, ахиазматический мейоз описан у некоторых моллюсков (Mollusca), ракообразных (Crustacea), тихоходок (Tardigrada), клещей (Acari), пауков (Araneae), скорпионов Scorpiones (не *T. bahiensis*), псевдоскорпионов (Pseudoscorpiones) и насекомых (Insecta).

Моллюски

У моллюсков хиазмы отсутствуют в сперматогенезе двустворок *Sphaerium corneum* (Keyl, 1956) и гастропод *Bithynia leachi* и *B. tentaculata* (Debus, 1978).

Ракообразные

Среди ракообразных ахиазматический мейоз описан у копепод (Copepoda) (Ar-Rushdi, 1963; Chinnappa, Victor, 1979). Примечательно, что у Copepoda гетерогаметным полом являются самки, и в полном соответствии с указанным выше правилом Холдейна–Хаксли, ахиазматический мейоз наблюдается у самок, а не у самцов. У морских копепод *Tigriopus californicus* отсутствие мейотической рекомбинации в овогенезе было подтверждено генетическим анализом (Burton *et al*., 1981).

Тихоходки

Недавно были опубликованы первые цитогенетические данные для энигматической группы Tardigrada (тихоходки, они же water-bears) (Altiero, Rebecchi, 2003), предположительно сестринской по отношению к членистоногим (Arthropoda) (Giribet *et al*., 1996). У изученных видов *Richtersius coronifer* и *Macrobiotus richtersi* (Eutardigrada) не удалось выявить половые хромосомы, но было показано, что у самок имеются хиазмы, а у самцов мейоз ахиазматический (Altiero, Rebecchi, 2003).

Паукообразные

Среди паукообразных (Arachnida) убедительные цитологические доказательства ахиазматического сперматогенеза имеются для некоторых акариформных клещей (Acariformes) (Keyl, 1957; Oliver, 1977), для очень многих семейств скорпионов (Schneider *et al*., 2009a, b) и для псевдоскорпионов из родов *Chthonius* и *Mundochthonius*

(Stahlavsky, Kral, 2004). У скорпионов ахиазматический мейоз, кажется, является синапоморфией нескольких семейств (Schneider *et al*., 2009a), и аналогичное предположение ранее было высказано в отношении семейства псевдоскорпионов Chthoniidae, к которому относятся упомянутые выше роды (Kral *et al*., 2006). Стоит отметить, что в отличие от псевдоскорпионов, имеющих полоопределяющую систему XX/X0, у скорпионов цитологически дифференцированных половых хромосом нет (во всяком случае их не удается пока идентифицировать), но ахиазматический мейоз встречается у самцов. Скорее всего, у скорпионов самцы являются гетерогаметным полом. Имеются также данные об отсутствии хиазм у пауков из родов *Dysdera* (Dysderidae) и *Segestria* (Segestriidae) (Benavente, Wettstein, 1980; Rodriguez Gil *et al*., 2002). Однако Крал с соавт. (Kral *et al*., 2006) полагают, что биваленты у этих видов на самом деле хиазматические, а кажущееся отсутствие хиазм связано с наличием в сперматогенезе пауков очень длительной диффузной стадии и, как следствие, поздней и кратковременной визуализацией хиазм – в самом конце профазы или только в первой метафазе. Можно предположить, что обсуждаемые виды пауков имеют атипичный, так называемый криптохиазматический мейоз, как у некоторых кузнечиков африканского подсемейства Thericleinae (Eumastacidae) (White, 1965a, 1973) или у растений *Alstroemeria andina var. venustula* (Alstroemeriaceae) (Sanso, Wulff, 2007). При этом типе хиазматического мейоза стадии диплотены и диакинеза отсутствуют (как в настоящем ахиазматическом мейозе), переход от стадии пахитены к первой метафазе происходит без раскрытия («opening-out») бивалентов, которое происходит позже, уже в зрелой метафазе или даже в анафазе, и хиазмы видны в течение очень короткого времени (White, 1965a). Криптохиазматический мейоз рассматривается как промежуточный, переходный, этап между «нормальным» мейозом и мейозом ахиазматического типа (Noda, 1975).

Насекомые

Среди насекомых имеется множество видов и надвидовых таксонов, характеризующихся ахиазматическим мейозом у одного из полов. Стоит, однако, отметить, что такие примеры не найдены у коллембол (Collembola) и тизанур (Thysanura), входящих в комплекс первично бескрылых насекомых (Apterygota). Не найдены они также в обоих отрядах когорты Palaeoptera (древнекрылые) – Ephemeroptera (поденки) и Odonata (стрекозы), наиболее рано отделившихся от общего ствола крылатых насекомых (Pterygota). Можно высказать предположение, что тенденция к переходу к ахиазматическому мейозу проявляется только у «высших» крылатых насекомых. Однако в отношении мейоза изучено немного видов, а для многих групп такие данные отсутствуют полностью. Учитывая, что насекомые представляют собой самую большую, богатую видами и наиболее разнообразную группу животных, их дальнейшее цитогенетическое изучение должно привести к выявлению новых видов и надвидовых групп с ахиазматическим мейозом. В настоящее время такой тип мейоза описан у представителей 9 отрядов Pterygota: Mantodea, Blattoptera, Orthoptera, Homoptera, Heteroptera, Lepidoptera, Trichoptera, Mecoptera и Diptera. Во всех случаях этот ахиазматический мейоз оказывается характерным для гетерогаметного пола. Так как у подавляющего большинства насекомых гетерогаметны самцы, то и ахиазматический мейоз встречается у самцов. Исключение составляют два близкородственных отряда: чешуекрылые (Lepidoptera) и ручейники (Trichoptera). У чешуекрылых и ручейников, как и у упомянутых выше копепод, гетерогаметны самки, а не самцы, и в соответствии с правилом Холдейна–Хаксли (Haldane, 1922; Huxley, 1928) ахиазматический мейоз свойствен самкам. Исходя из правила Холдейна–Хаксли, можно также предположить, что у скорпионов и тихоходок, не имеющих морфологически дифференцированных половых хромосом, ахиазматические самцы являются гетерогаметным полом. Среди насекомых чешуекрылые и ручейники уникальны еще и тем, что у них ахиазматическим мейозом характеризуются самки всех без исключения видов (Suomalainen, 1966, 1969; Soumalainen *et al*., 1973; Traut, 1977; Wolf *et al*., 1992; Marec, Traut, 1993). У богомоловых (Mantodea) ахиазматический мейоз найден по крайней мере в 14 родах, представляющих несколько филогенетических линий, что свидетельствует об его многократном (не менее 8 раз)

(White, 1973) и независимом происхождении в эволюции отряда (Hughes-Schrader, 1943; White, 1965b, 1973, 1975; Gassner, 1969; Welsch, 1973). У других ортоптероидных насекомых (надотряд Orthopteroidea) ахиазматический мейоз обнаружен у двух представителей африканского подсемейства Tericleinae (Orthoptera, Eumastacidae) (White, 1965a, 1973) и у таракана *Periplaneta americana* (Blattoptera) (Sharma *et al*., 1956, 1959), однако отсутствие хиазм в сперматогенезе *P. americana* было поставлено под сомнение (Lewis, John, 1957; John, Lewis, 1960). Стоит отметить, что среди Orthoptera позже не было описано ни одного вида с ахиазматическим мейозом. Эта группа характеризуется крупными и легкодоступными хромосомами и поэтому является модельной для изучения разных аспектов цитогенетики, в том числе (или прежде всего) мейоза (John, 1976; Viera *et al*., 2004). Поэтому отсутствие других находок ахиазматического мейоза можно рассматривать как указание на его весьма ограниченный эволюционный успех у прямокрылых насекомых.

В отряде жуков (Coleoptera) ахиазматический мейоз найден в разных филогенетических линиях надсемейства Caraboidea (подотряд Adephaga) (Serrano, 1981) и у австралийского вида *Distocupes varians* из семейства Cupedidae (подотряд Archostemata) (Galian, Lawrence, 1993). Интересно, что все изученные до настоящего времени представители самого крупного (около 90 % всех видов жуков) и разнообразного подотряда Polyphaga имеют «нормальный» хиазматический мейоз. В небольшом (около 300 видов) отряде Mecoptera (скорпионовые мухи), по крайней мере в 5 родах, в том числе в роде *Panorpa* (Panorpidae), сперматогенез ахиазматический (Ullerich, 1961), в то время как у видов двух других семейств, Bittacidae и Boreidae, хиазматический (White, 1973). У двукрылых насекомых (Diptera) ахиазматический мейоз встречается очень часто. Он обнаружен в нескольких семействах «низших» (подотряд Nematocera) и, по-видимому, является характерным свойством «высших» двукрылых (подотряд Brachicera). Однако и у них в некоторых случаях хиазматический и ахиазматический мейоз встречается в близких родах одного семейства или даже у разных видов одного рода (Suomalainen, 1966), а семейство Phoridae, возможно, целиком характеризуется нормальным хиазматическим мейозом (White, 1965a, b). Стоит отметить, что самцы *Drosophila* представляют собой наиболее полно изученный пример ахиазматического мейоза среди эукариот в целом (White, 1973; Gethman, 1988).

У гемиптероидных насекомых (Hemipteroidea, или когорта Paraneoptera) ахиазматический мейоз не найден в относительно примитивных отрядах Psocoptera (сеноеды) и Thysanoptera (трипсы), однако для последнего отряда цитологические данные практически отсутствуют. Отряд Phthiraptera (вши и пухоеды, эктопаразиты птиц и млекопитающих) характеризуется уникальным высокоаберрантным сперматогенезом, и отсутствие хиазм представляет собой лишь одну из его специфических особенностей (Bayreuther, 1955; Scholl, 1955; Tombesi, Papeschi, 1993; Tombesi *et al*., 1999). Наиболее убедительные цитологические картины ахиазматического мейоза были опубликованы для пухоедов *Bovicola limbata*, *B. caprae* и *Menacanthus stramineus* (Mallophaga) и вшей *Haematopinus suis* (Anoplura) (Tombesi, Papeschi, 1993; Tombesi *et al*., 1999). В отряде Homoptera ахиазматический мейоз найден у самцов кокцид *Protortonia primitiva* (Schrader, 1931) и *Parlatoria oleae* (Nur, 1965) (Coccinea) и у самцов нескольких видов тлей (Blackman, 1976, 1987), включая самцов *Myzus persicae*, у которых отсутствие кроссинговера было подтверждено также генетическим анализом (Spence, Blackman, 2000; Sloane *et al*., 2001). У полужесткокрылых насекомых или клопов (Heteroptera) большинство видов и надвидовых групп характеризуются «нормальным» хиазматическим мейозом, однако в некоторых семействах все изученные виды имеют ахиазматический мейоз. В отряде выделяют 7 филогенетических линий в ранге инфраотрядов (Stys, Kerzhner, 1975). Ахиазматический мейоз найден в семействах Saldidae из инфраотряда Leptopodomorpha (Nokkala S., Nokkala C., 1983), Micronectidae из инфраотряда Nepomorpha (Ituarte, Papeschi, 2004; Grozeva *et al*., 2008), Nabidae, Miridae, Anthocoridae, Microphysidae и Cimicidae из Cimicomorpha (Nokkala S., Nokkala C., 1984, 1986a, b; Kuznetsova, Maryańska-Nadachowska, 2000; Nokkala, Grozeva, 2000; Grozeva, Nokkala, 2002; Kuznetsova *et al*., 2004, 2007; Poggio *et al*., 2009).

Приведенные примеры показывают, что у насекомых так же, как и у других групп беспозвоночных животных, ахиазматический мейоз имеет полифилетическое происхождение. Тем не менее ясно, он возник монофилетически у ближайшего предка чешуекрылых и ручейников и у ближайшего предка пухоедов и вшей (см. выше). Ахиазматический мейоз рассматривается как синапоморфия нескольких семейств скорпионов (Schneider *et al*., 2009a), как аутапоморфия семейства псевдоскорпионов Chthoniidae (Stahlavsky, Kral, 2004) и используется как таксономический маркер для установления родственных связей и выявления монофилетических групп в отряде клопов (Nokkala S., Nokkala C., 1984, 1986a, b; Лухтанов, Кузнецова, 2009). Полагают, что в эволюции живых организмов ахиазматический мейоз возникал 25–30 раз (Burt *et al*., 1991), однако, по нашему мнению, эта цифра занижена, и количество эволюционных событий, приведших к возникновению ахиазматического мейоза, значительно выше. Только среди насекомых он возникал много раз в подотряде жуков Adephaga (Serrano, 1981), 8 раз у богомоловых (Mantodea) (White, 1973) и несколько раз у клопов (наши неопубл. данные).

Типы ахиазматического мейоза

Как любой признак, возникающий повторно, ахиазматический мейоз не одинаков в разных группах беспозвоночных животных. Известны два основных типа ахиазматического мейоза. Чаще встречается так называемый тип «alignment» (alignment – выравнивание; трудно найти адекватный русский эквивалент этому названию – выровненный?), при котором гомологичные хромосомы объединяются (спариваются) друг с другом плотно по всей длине в ранней профазе и остаются в этом состоянии вплоть до начала анафазы. Этот тип ахиазматического мейоза встречается в разных группах – среди насекомых он описан у Mecoptera (Ullerich, 1961), Orthoptera (White, 1965a, b), Trichoptera (Suomalainen, 1966), Lepidoptera (Suomalainen *et al*., 1973), Coleoptera (Serrano, 1981) и во всех перечисленных выше семействах Heteroptera, за исключением Miridae и Cimicidae. Для другого, «коллохорного», типа мейоза характерно объединение гомологичных хромосом в одном участке посредством так называемых коллохор («гипотетических» структур (Cooper, 1964); этот термин используется для обозначения участков спаривания в гетерохроматине X-хромосомы *Drosophila*). Цитологические картины коллохорного мейоза напоминают таковые при хиазматическом мейозе, однако в ахиазматическом мейозе отсутствуют стадии диплотены и диакинеза, а вместо них имеются длительная диффузная стадия и стадия конденсации (condensation stage), после которых сразу наступает стадия первой метафазы. Коллохорный мейоз впервые был описан у *Drosophila melanogaster* (Cooper, 1964) и позже найден у клопов семейств Miridae и Cimicidae (Nokkala S., Nokkala C., 1986a; Grozeva, Nokkala, 2002; Poggio *et al*., 2009) и у тихоходок *Richtersius coronifer* и *Macrobiotus richtersi* (Altiero, Rebecchi, 2003). Недавно описан еще один вариант ахиазматического мейоза, который рассматривается как промежуточный между двумя основными типами: у самцов клопов *Arachnocoris trinitatus* (сем. Nabidae; тип «alignment») в первой метафазе гомологичные хромосомы связаны друг с другом в нескольких точках (несколькими коллохорами) (Kuznetsova *et al*., 2007). Природа коллохор до сих пор неизвестна. Возможно, они представляют собой остатки синаптонемного комплекса или какие-то связанные с ним структуры (Gassner, 1969; Welsch, 1973; Rasmussen, 1977). Если это так, то все известные варианты ахиазматического мейоза могут представлять собой этапы последовательного разрушения в мейотической профазе синаптонемного комплекса, закрепившиеся в эволюции разных групп животных. Однако этому противоречит наличие коллохоров у ахиазматических самцов *Drosophila melanogaster*, у которых синаптонемного комплекса нет (Mayer, 1964; см. также Nokkala S., Nokkala C., 1986a).

Эволюционное значение ахиазматического мейоза

Вопрос об эволюционном значении ахиазматического мейоза активно обсуждается в литературе (White, 1973; Serrano, 1981; Nokkala S., Nokkala C., 1983; Altiero, Rebecchi, 2003; Ituarte, Papeschi, 2004; Schneider *et al*., 2009a). Преобладает мнение, что отсутствие хиазм у одного из

полов имеет адаптивное значение, так как снижает уровень рекомбинационной изменчивости и способствует сохранению коадаптированных генных комплексов (супергенов). Однако этой гипотезе противоречит тот факт, что ахиазматический мейоз встречается в группах с самыми разными адаптивными стратегиями.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-04-00787-а), программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Генофонды и генетическое разнообразие природных популяций», программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем» и Болгарского национального научного фонда (проект ДО-02-259/08).

Литература

Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптонемный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. 358 с.

Лухтанов В.А., Кузнецова В.Г. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики // Журн. общ. биологии. 2009. Т. 70. № 5. С. 415–437.

Altiero T., Rebecchi L. First evidence of achiasmatic meiosis in the water bears *Richtersius coronifer* and *Macrobiotus richtersi* (Etardigrada, Microbiotidae) // Hereditas. 2003. V. 139. P. 116–120.

Ar-Rushdi A.H. The cytology of achiasmatic meiosis in the female *Tigriopus* (Copepoda) // Chromosoma. 1963. V. 13. P. 526–539.

Bayreuther K. Holokinetische Chromosomen bei *Haematopinus suis* (Anoplura, Haematopinidae) // Chromosoma. 1955. V. 7. P. 260–270.

Benavente R., Wettstein R. Ultrastructural characterization of the sex chromosomes during spermatogenesis of spiders having holocentric chromosomes and a long diffuse stage // Chromosoma. 1980. V. 77. P. 69–81.

Blackman R. Cytogenetics of two species of *Euceraphis* (Homoptera, Aphididae) // Chromosoma. 1976. V. 56. P. 393–408.

Blackman R. Reproduction, cytogenetics and development // Aphids, their biology, natural enemies and control 2A / Ed. A.K. Minks, P. Harrewijn. Amsterdam: Elsevier, 1987. P. 163–195.

Burt A., Bell G., Harvey P.H. Sex differences in recombination // J. Evol. Biol. 1991. V. 4. P. 259–277.

Burton R.S., Feldman M.W., Swisher S.G. Linkage relationships among five enzyme-coding gene loci in the copepod *Tigriopus californicus*: a genetic confirmation of achiasmatic meiosis // Biochem. Genet. 1981. V. 19. P. 1237–1245.

Chinnappa C.C., Victor R. Achismatic meiosis and complex heterozygosity in female cuclopoid copepods (Copepoda, Crustacea) // Chromosoma. 1979. V. 71. P. 227–236.

Christensen B. Studies on cytotaxonomy and reproduction in the Enchytraeidae with notes on parthenogenesis and polyploidy in the animal kingdom // Hereditas. 1961. V. 47. P. 387–450.

Cooper K.W. Meiotic conjunctive elements not involving chiasmata // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1964. V. 52. P. 1248–1255.

Debus B. «Nodules» in the achiasmatic meiosis of *Bithynia* (Mollusca, Prosobranchia) // Chromosoma. 1978. V. 69. P. 81–92.

Galian J., Lawrence J.F. First karyotypic data on a cupedid beetle (Coleoptera: Archostemata) showing achiasmatic meiosis // Entomol. News. 1993. V. 104. P. 83–87.

Gassner G. Synaptonemal complex in the achiasmatic spermatogenesis of *Bolbe nigra* Giglio-Tos (Mantodea) // Chromosoma. 1969. V. 26. P. 22–34.

Gethman R.C. Crossing over in males of higher Diptera (Brachycera) // J. Hered. 1988. V. 79. P. 344–350.

Giribet G., Carranza S., Bagui J. *et al*. First molecular evidence for the existence of a Tardigrada + Arthropoda Clade // Mol. Biol. Evol. 1996. V. 13. № 1. P. 76–84.

Grell K.G. Untersuchungen über die Fortpflanzung und Sexualität der Foraminiferen. II. *Rubratella intermedia* //Arch. Protistenk. 1958. V. 102. P. 291–308.

Grozeva S., Nokkala S. Achiasmatic male meiosis in *Cimex* sp. (Heteroptera, Cimicidae) // Caryologia. 2002. V. 55. N 3. P. 189–192.

Grozeva S., Simov N., Nokkala S. Achiasmatic male meiosis in three *Micronecta* species (Heteroptera: Nepomorpha: Micronectidae) // Comp. Cytogenet. 2008. V. 2. № 1. P. 73–78.

Haldane J.B.S. Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals // J. Genet. 1922. V. 12. P. 101–109.

Halkka O. Recombination in six homopterous families // Evolution. 1964. V. 18. P. 81–88.

Hughes-Schrader S. Meiosis without chiasmata in diploid and tetraploid spermatocytes of the mantid *Callimantis antillarum* Saussure // J. Morph. 1943. V. 73. P. 111–141.

Huxley J. Sexual difference of linkage in *Gammarus chevreuxi* // J. Genet. 1928. V. 20. P. 145–156.

Ito M., Takegami M.H., Noda S. Achiasmate meiosis

in the *Fritillaria japonica* group. II. Formation of synaptonemal complexes in microsporocytes // Jap. J. Genet. 1983. V. 58. P. 377–381.

Ituarte S., Papeschi A.G. Achiasmatic male meiosis in *Tenagobia* (*Fuscagobia*) *fuscata* (Stål) (Heteroptera, Corixoidea, Micronectidae) // Genetica. 2004. V. 122. P. 199–206.

John B. Myth and mechanisms of meiosis // Chromosoma. 1976. V. 54. P. 295–325.

John B. Meiosis. Melbourn: Cambridge University Press, 1990. 396 p.

John B., Lewis K.R. Chromosome structure in *Periplaneta americana* // Heredity. 1960. V. 15. P. 47–54.

Jones G.H. Chiasmata // Meiosis / Ed. P.B. Moens. Orlando: Academic Press, 1987. P. 213–244.

Keyl H.-S. Beobachtungen über die ♂-Meiose der Muschel *Sphserium corneum* // Chromosoma. 1956. V. 8. P. 12–17.

Keyl H.-S. Zur Karyologie der Hydrachnellen (Acarina) // Chromosoma. 1957. V. 8. P. 719–729.

Kral H., Musilova J., Stahlavsky F. *et al*. Evolution of the karyotype and sex chromosomes systems in basal clades of araneomorph spiders (Araneae: Araneomorphae) // Cromosome Res. 2006. V. 14. P. 859–880.

Kuznetsova V.G., Grozeva S., Nokkala S. New cytogenetic data on Nabidae (Heteroptera: Cimicomorpha), with a discussion of karyotype variation and meiotic patterns, and their taxonomic significance // Eur. J. Entomol. 2004. V. 101. P. 205–210.

Kuznetsova V.G., Grozeva S., Sewlal J.N., Nokkala S. Cytogenetic characterization of the endemic of Trinidad, *Arachnocoris trinitatus* Bergroth: the first data for the tribe Arachnocorini (Heteroptera: Cimicomorpha: Nabidae) // Folia Biol. (Krakow). 2007. V. 55. № 1/2. P. 17–26.

Kuznetsova V.G., Maryańska-Nadachowska A. Autosomal polyploidy and male meiotic pattern in the bug family Nabidae (Heteroptera) // J. Zool. Syst. Evol. Res. 2000. V. 38. P. 87–94.

Le Calvez J. Recherches sur les Foraminifères. II. Place de la méiose et sexualité // Arch. Zool. Exptl. Genet. 1950. V. 87. P. 211–244.

Lenormand T. The evolution of sex dimorphism in recombination // Genetics. 2003. V. 163. P. 811–822.

Lewis K.R., John B. Bivalent structure in *Periplaneta americana* // Nature. 1957. V. 179. P. 973.

Marec F., Traut W. Synaptonemal complexes in female and male meiotic prophase of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera) // Heredity. 1993. V. 71. P. 394–404.

Mayer G.F. A possible correlation between the submicroscope structure of meiotic chromosomes and crossing-over // III. Reg. Conf. on Electron Microscopy in Prague. 1964. P. 461–462.

Noda S. Achiasmate meiosis in the *Fritillaria japonica* group. I. Different modes of bivalent formation in the two sex mother cells // Heredity. 1975. V. 34. P. 373–380.

Nokkala S., Kuznetsova V.G., Maryanska-Nadachowska A., Nokkala C. Holocentric chromosomes in meiosis. I. Restriction of the number of chiasmata in bivalents // Chromosome Res. 2004. V. 12. P. 733–739.

Nokkala S., Nokkala C. Achiasmatic male meiosis in two species of *Saldula* (Saldidae, Hemiptera) // Hereditas. 1983. V. 99. P. 131–134.

Nokkala S., Nokkala C. Achiasmatic male meiosis in the Heteropteran genus *Nabis* (Nabidae, Hemiptera) // Hereditas. 1984. V. 101. P. 31–35.

Nokkala S., Nokkala C. Achiasmatic male meiosis of collochore type in the heteropteran family Miridae // Hereditas. 1986a. V. 105. P. 193–197.

Nokkala S., Nokkala C. Achiasmatic male meiosis in *Anthocoris nemorum* (L.) (Anthocoridae, Hemiptera) // Hereditas. 1986b. V. 105. P. 287–289.

Nokkala S., Grozeva S. Male meiosis of achiasmatic type in *Myrmedobia coleoptrata* (Fn.) (Heteroptera, Microphysidae) // Caryologia. 2000. V. 53. № 1. P. 5–8.

Nur U. A modified Comstockiella chromosome system in the olive scale insect *Parlatoria oleae* (Coccoidea: Diaspididae) // Chromosoma. 1965. V. 17. P. 104–120.

Oakley H.A. Meiosis in *Mesostoma ehrenbergii ehrenbergii* (Turbellaria, Rhabdocoela). II. Synaptonemal complexes, chromosome pairing and disjunction in achiasmate oogenesis // Chromosoma. 1982. V. 87. P. 133–147.

Oakley H.A. Meiosis in *Mesostoma ehrenbergii ehrenbergii* (Turbellaria, Rhabdocoela) 3: Univalent chromosome segregation during the first meiotic division in spermatocytes // Chromosoma. 1985. V. 91. P. 95–100.

Oakley H.A., Jones G.H. Meiosis in *Mesostoma ehrenbergii* (Turbellaria, Rhabdocoela). I. Chromosome pairing, synaptonemal complexes and chiasma localization in spermatogenesis // Chromosoma. 1982. V. 85. P. 311–322.

Oliver J.H. Cytogenetics of mites and ticks // Annu. Rev. Entomol. 1977. V. 22. P. 407–429.

Poggio M.G., Bressa M.J., Papeschi A.G. *et al*. Insects found in birds' nests from Argentina: cytogenetic studies in Cimicidae (Hemiptera) and its taxonomical and phylogenetic implications // Zootaxa. 2009. № 2315. P. 39–46.

Rasmussen S.W. The meiotic prophase in *Bombyx mori* females analyzed by three-dimensional reconstruction of synaptonemal complexes // Chromosoma. 1976. V. 54. P. 245–293.

Rasmussen S.W. Meiosis in *Bombyx mori* females // Philos. Trans. Roy Soc. Lond. B Biol. Sci. 1977. V. 277. P. 343–350.

Rego A., Marec F. Telomeric and interstitial telomeric sequences in holokinetic chromosomes of Lepidop-

tera: Telomeric DNA mediates association between postpachytene bivalents in achiasmatic meiosis of females // Chromosome Res. 2003. V. 11. P. 681–694.

Rodrıguez Gil S.G., Mola L.M., Papeschi A.G., Scioscia C.L. Cytogenetic heterogeneity in common haplogyne spiders from Argentina (Arachnida, Araneae) // J. Arachnology. 2002. V. 30. P. 47–56.

Sanso A.M., Wulff A.F. Meiotic irregularities in *Alstroemeria andina var. venustula* (Alstroemeriaceae) // Bot. Studies. 2007. V. 48. P. 311–317.

Schneider M.C., Zacaro A.A., Pinto-da-Rocha R. *et al*. Complex meiotic configuration of the holocentric chromosomes: the intriguing case of the scorpion *Tityus bahiensis* // Chromosome Res. 2009a. V. 17. № 7. P. 883–898.

Schneider M.C., Zacaro A.A., Pinto-da-Rocha R. *et al*. A comparative cytogenetic analysis of 2 Bothriuridae species and overview of the chromosome data of scorpions // J. Hered. 2009b. V. 100. № 5. P. 545–555.

Scholl H. Ein Beitrag zur Kenntnis der Spermatogenese der Mallophagen // Chromosoma. 1955. V. 7. P. 271–274.

Schrader F. The chromosomes cycle in *Protortonia primitiva* (Coccidae) and a consideration of the meiotic division apparatus in the male // Z. Wiss. Zool. 1931. V. 138. P. 386–408.

Serrano J. Male achiasmatic meiosis in Caraboidea (Coleoptera, Adephaga) // Genetica. 1981. V. 57. P. 131–137.

Shanahan C.M. Cytogenetics of Australian scorpions. I. Interchange polymorphism in the family Buthidae // Genome. 1989a. V. 32. P. 882–889.

Shanahan C.M. Cytogenetics of Australian scorpions. II. Chromosome polymorphism in species of *Urodacus* (family Scorpionidae) // Genome. 1989b. V. 32. P. 890–900.

Sharma G.P., Parshad R., Sehgal P. Meiosis without chiasmata in *Periplaneta americana* // Nature. 1956. V. 178. P. 1004–1005.

Sharma G.P., Parshad R., Sehgal P. Cytological analysis of the male meiosis in *Periplaneta americana* // J. Genet. 1959. V. 56. P. 1–7.

Sloane M.A., Sunnucks P., Wilson A.C.C. Microsatellite isolation, linkage group identification and determination of recombination frequency in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) // Genet. Res. Camb. 2001. V. 77. P. 251–260.

Spence J.M., Blackman R.L. Inheritance and meiotic behaviour of a *de novo* chromosome fusion in the aphid *Myzus persicae* (Sulzer) // Chromosoma. 2000. V. 109. P. 490–499.

Stahlavsky F., Kral H. Karyotype analysis and achiasmatic meiosis in pseudoscorpions of the family Chthoniidae (Arachnida: Pseudoscorpiones) // Hereditas. 2004. V. 140. P. 49–60.

Stys P., Kerzhner I. The rank and nomenclature of higher taxa in recent Heteroptera // Acta Entomol. Bohem. 1975. V. 72. P. 65–79.

Suomalainen E. Achiasmatische Oogenese bei Trichopteren // Chromosoma. 1966. V. 18. P. 201–207.

Suomalainen E. On the sex chromosome trivalent in some Lepidoptera females // Chromosoma. 1969. V. 28. P. 298–308.

Suomalainen E., Cook M.L., Turner R.G.J. Achiasmatic oogenesis in Heliconiinae butterflies // Hereditas. 1973. V. 74. P. 302–304.

Tombesi M.L., Papeschi A.G. Meiosis in *Haematopinus suis* and *Menacanthus stramineus* (Phthiraptera, Insecta) // Hereditas. 1993. V. 119. P. 31–38.

Tombesi M.L., Papeschi A.G., Mola A.M. Spermatogenesis in *Bovicola limbata* Gervais, 1844 and *B. caprae* Gurlt, 1843 (Phthiraptera, Ischnocera) // Cytologia. 1999. V. 64. P. 25–27.

Traut W. A study of recombination, formation of chiasmata and synaptonemal complexes in female and male meiosis of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera) // Genetica. 1977. V. 47. P. 135–142.

Ullerich F.H. Achiasmatische Spermatogenese bei der Scorpionsfliege *Panorpa* (Mecoptera) // Chromosoma. 1961. V. 12. P. 215–232.

Viera A., Santos J.L., Page J. *et al*. DNA double-strand breaks, recombination and synapsis: the tyming of meiosis differs in grasshoppers and flies // EMBO Rep. 2004. V. 5. № 4. P. 385–391.

Welsch B. Synaptonemal complex and Chromosomenstruktur in der achiasmatischen Spermatogenese von *Panorpa communis* // Chromosoma. 1973. V. 43. P. 19–74.

White M.J.D. Chiasmatic and achiasmatic meiosis in African Eumastacid grasshoppers // Chromosoma. 1965a. V. 16. P. 271–307.

White M.J.D. Sex chromosomes and meiotic mechanisms in some African and Australian mantids // Chromosoma. 1965b. V. 16. P. 521–547.

White M.J.D. Animal Cytogenetics and Evolution. Cambridge Univ. Press, 1973. 961 p.

White M.J.D. Chromosomal repatterning – regularities and restrictions // Genetics. 1975. V. 79. P. 63–72.

Wolf K.W., Novak K., Marec F. Chromosome structure in spermatogenesis of *Anabolia furcata* (Trichoptera) // Genome. 1992. V. 35. № 1. P. 46–52.

ACHIASMATIC MEIOSIS: A REVIEW

V.G. Kuznetsova[1], S. Grozeva[2]

[1] Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia,
e-mail: karyo@zin.ru;
[2] Institute of Zoology of Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria,
e-mail: sgrozeva@yahoo.com

Summary

Literature data on achiasmatic meiosis are reviewed. Protozoan, plant, and invertebrate taxa in which meiosis has been found are listed. Independent and repeated origin of achiasmatic meiosis in the evolution of living organisms is shown. However in some groups this pattern is a good taxonomic marker allowing us to establish relationships and recognize monophyletic groups. Association of achiasmatic meiosis with heterogametic sex, presence of the synaptonemal complex in the majority of cases and its role as a structure providing for correct segregation of homologous chromosomes in the meiotic anaphase in the absence of chiasmata and crossing over, diversity of types of achiasmatic meiosis, and its evolutionary significance are discussed.

Key words: meiosis, heterogametic sex, chiasmata, synaptonemal complex, collochores, Protozoa, plants, invertebrates.

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПАРИВАНИЯ И РЕКОМБИНАЦИИ ХРОМОСОМ В МЕЙОЗЕ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ ПОЛЕВОК РОДА *MICROTUS* (ARVICOLINAE, RODENTIA)

П.М. Бородин[1, 2], Е.А. Башева[1], Ф.Н. Голенищев[3], О.А. Дашкевич[2], И.Н. Картавцева[4], М.А. Потапов[5], Г.Р. Сакаева[2], А.А. Торгашева[1], Л.В. Фрисман[4, 6]

[1] Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: borodin@bionet.nsc.ru;
[2] Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия;
[3] Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия;
[4] Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток, Россия;
[5] Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия;
[6] Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан, Россия

Целью данной работы был анализ спаривания и рекомбинации хромосом в мейозе у самцов 4 видов полевок рода *Microtus* (*M. mujanensis*, *M. maximowiczii*, *M. rossiaemeridionalis* и *M. gregalis*). Исследование было проведено на цитологических препаратах с использованием электронной и флуоресцентной микроскопии после иммуноокрашивания белка мисматч репарации MLH1, который надежно маркирует точки кроссинговера. Были обнаружены существенные межвидовые различия в частоте рекомбинации. Наиболее низкая частота кроссинговера обнаружена у *M. gregalis* (17,7 ± 0,2 точек рекомбинации на клетку), наиболее высокая – у *M. rossiaemeridionalis* (27,8 ± 0,2); *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* продемонстрировали промежуточные значения (21,9 ± 0,1 и 23,4 ± 0,1 соответственно). Исследованные виды также различались по характеру спаривания половых хромосом в мейозе. У *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* X- и Y-хромосомы синаптировали и рекомбинировали в коротком псевдоаутосомном районе. У *M. rossiaemeridionalis* и *M. gregalis* половые хромосомы сближались на стадии зиготены, совместно перемещались на периферию, образуя половое тельце, но не вступали ни в синапсис, ни в рекомбинацию.

Ключевые слова: мейоз, хромосомы, синапсис, рекомбинация, *Microtus*.

Статья посвящается Ие Ивановне Кикнадзе, которая открыла для нас – ее студентов – удивительный мир живой клетки

Введение

По числу видов род серые полевки *Microtus* Schrank (1798) является одним из самых многочисленных среди млекопитающих. Он включает около 65 видов, населяющих различные биотопы палеарктической и неарктической зоны (Wilson, Reeder, 2005). Процесс видообразования в пределах данного рода происходил, по-видимому, очень быстро – в течение последних 500–700 тысяч лет (Chaline *et al*., 1999). Он сопровождался значительной экологической, морфологической, кариотипической и молекулярно-генетической дивергенцией (Jaarola *et al*., 2004). Благодаря этим особенностям род *Microtus* представляет собой крайне интересную модель для исследования процесса микро- и макроэволюции.

В данной работе мы попытались использовать эту модель для изучения эволюции синапсиса и рекомбинации хромосом в мейозе.

Возникновение, поддержание и эволюционная роль рекомбинации являются предметами жаркой дискуссии (Lenormand, Otto, 2000; Coop, Przeworski, 2007). Особый интерес вызывают сравнительный анализ рекомбинационных характеристик геномов млекопитающих и выявление эволюционных факторов и молекулярных и клеточных механизмов, обеспечивающих эти различия. Одни авторы видят в этих различиях адаптивный смысл (Otto, Barton, 1997), другие считают их нейтральными (Dumont, Payseur, 2008). Однако качество данных, на которых базируются эти дискуссии, вызывает ряд сомнений.

1. Сравнительно-эволюционный анализ рекомбинации в основном базируется на данных, полученных при генетическом картировании. Такой подход часто дает смещенные оценки частоты рекомбинации. Длины генетических карт, оцененные по частоте кроссинговера между отдельными маркерами, могут быть как завышенными за счет суммирования коротких интервалов, так и заниженными за счет недостатка информативных маркеров.

2. Довольно большой объем данных для сравнительного анализа частот рекомбинации был накоплен при подсчете общего числа хиазм на стадии диакинеза–метафазы 1 мейоза. Эти данные, однако, базируются, как правило, на очень малом числе клеток и особей и часто ошибочны.

3. При анализе эволюции рекомбинации, как правило, используется случайный набор видов, не сбалансированный ни по происхождению, ни по экологии.

В настоящее время разработаны цитологические методы, которые позволяют надежно локализовать точки кроссинговера на пахитенных хромосомах млекопитающих. Эти методы базируются на использовании меченных флуорохромами антител к SCP3, белку боковых элементов синаптонемного комплекса, и MLH1, эукариотическому гомологу бактериального белка мисматч репарации. Было показано, что MLH1 входит в состав зрелых рекомбинационных узелков. Число и распределение точек локализации MLH1 в пахитенных клетках точно соответствуют числу и распределению хиазм в диакинезе мейоза (Anderson *et al*., 1999; Lynn *et al*., 2002; Codina-Pascual *et al*., 2006). Установлено, что частота рекомбинации между двумя сцепленными генами, оцененная на основе частоты точек локализации MLH1 между FISH-пробами к этим генам, совпадает с оценкой частоты кроссинговера между ними, полученной в генетическом эксперименте (Froenicke *et al*., 2002).

Данный подход был успешно применен для анализа частоты и распределения точек кроссинговера у ряда видов млекопитающих: человека (Oliver-Bonet *et al*., 2005; Sun *et al*., 2005), мыши (Anderson *et al*., 1999; Froenicke *et al*., 2002), собаки (Basheva *et al*., 2008), кошки (Borodin *et al*., 2007), норки (Borodin *et al*., 2009) и обыкновенной бурозубки (Borodin *et al*., 2008).

Целью данной работы был анализ спаривания и рекомбинации хромосом в мейозе у самцов 4 видов полевок рода *Microtus* Schrank, 1798 (*M. mujanensis* Orlov et Kovalskaja, 1975, *M. maximowiczii* Schrenk, 1893, *M. rossiaemeridionalis* Ognev, 1924 (=*M. epiroticus* Ongrias, 1966; = *M. subarvalis* Mejer, Orlov, Skholl, 1972) и *M. gregalis* Pallas, 1778) с использованием иммунофлуоресцентной и электронной микроскопии. Данные виды относятся к разным филогенетическим линиям рода *Microtus*. Виды *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* являются близкородственными видами подрода *Alexandromys* и принадлежат к азиатской филогенетической линии. *M. rossiaemeridionalis* является представителем большой группы видов-двойников, входящей в состав подрода *Microtus*. *M. gregalis* – единственный ныне живущий представитель подрода *Stenocranius*, азиатского по происхождению, и занимает базальное положение в роде *Microtus* (Wilson, Reeder, 2005).

Материалы и методы

В работе использованы следующие половозрелые животные: 4 самца *M. mujanensis* (рождены в виварии Зоологического института РАН от родителей, отловленных в Республике Бурятия в точке с координатами 56 °20'N, 114 °53'E), 1 самец *M. maximowiczii* (рожден в виварии Зоологического института РАН от родителей, отловленных в Забайкальском крае в точке с координатами 51 °40'N, 116 °47'E), 3 самца *M. rossiaemeridionalis* и 4 самца *M. gregalis*, от-

ловленных в Новосибирской области в точке с координатами 53 °44'N, 77 °52'E. Распластанные препараты сперматоцитов были приготовлены из семенников по методике Петерса с соавт. (Peters *et al*., 1997). Препараты для электронно-микроскопического анализа окрашивали азотнокислым серебром (Howell, Black, 1980) и анализировали на микроскопе JEM100 (Jeol, Япония) при 80 кВ.

Окрашивание для иммунофлуоресцентного анализа проводили по методике Андерсон с соавт. (Anderson *et al*., 1999). Препараты инкубировали 2 ч при 37 °C с поликлональными антителами кролика против белка боковых элементов СК SCP3 (Abcam, Великобритания) – при разведении 1 : 500, моноклональными антителами мыши против белка MLH1 (Abcam, Великобритания) – при разведении 1 : 50 и антителами человека против центромерных белков ACA (Antibodies Incorporated, США) – при разведении 1 : 100 в фосфатно-солевом буфере (PBS), содержащем 3 % бычьего сывороточного альбумина (Sigma-Aldrich, США). Препараты отмывали три раза по 5 мин в PBS и инкубировали 40 мин при 37 °C с антителами осла против иммуноглобулинов кролика, конъюгированными с флуоресцентной меткой Cy3 (Jackson Laboratories, США) в разведении 1 : 200, антителами козы против иммуноглобулинов мыши, конъюгированными с флуоресцентной меткой FITC (Jackson Laboratories, США) в разведении 1 : 400 и антителами козы против иммуноглобулинов человека, конъюгированными с флуоресцентной меткой FITC (Vector Laboratories, США) в разведении 1 : 100 согласно стандартному протоколу. Препараты отмывали в PBS, затем в дистиллированной воде, высушивали и наносили 15 мкл раствора антифэйда Vectashield с красителем DAPI (Vector Laboratories, США) для окрашивания ДНК и предотвращения гашения флуоресценции.

Микроскопический анализ проводили в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН. Препараты анализировали на микроскопе Axioplan 2 (ZEISS, Германия), снабженном CCD видеокамерой CV M300 (JAI Corporation, Япония), набором комплектов фильтров CHROMA и программным обеспечением для обработки изображений ISIS4 (MetaSystems GmbH, Германия). Яркость и контраст изображений редактировали с использованием пакета PaintShopPro 7.0.

Для анализа отбирали ядра сперматоцитов на стадии пахитены, содержащие полные наборы полностью синаптированных аутосомных бивалентов и XY-бивалент. Учитывали количество сигналов MLH1 на каждом биваленте. Статистические расчеты производили с использованием пакета программ STATISTICA. Все данные в тексте и таблице представлены в виде средних значений и стандартных ошибок (M ± SE).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены микрофотографии распластанных препаратов сперматоцитов исследованных видов после иммуноокрашивания.

В табл. 1 приведены цитогенетические, рекомбинационные и синаптические характеристики исследованных видов. Оценки частоты рекомбинации получены на очень малых выборках. Однако ранее на других видах млекопитающих было показано, что индивидуальная вариация (Sun *et al*., 2005) и межпопуляционные различия (Borodin *et al*., 2008) по частоте кроссинговера пренебрежимо малы по сравнению с межвидовыми различиями (Dumont, Payseur, 2008).

Исследованные нами виды полевок различаются по частоте рекомбинации. Наиболее низкая частота кроссинговера обнаружена у *M. gregalis* (17,7 ± 0,2 точек рекомбинации на клетку), наиболее высокая у *M. rossiaemeridionalis* (27,8 ± 0,2). Два близкородственных вида, *M. mujanensis* и *M. maximowiczii*, продемонстрировали промежуточные значения (21,9 ± 0,1 и 23,4 ± 0,1 соответственно). В целом среднее число рекомбинационных событий на геном у исследованных видов было пропорционально гаплоидному числу хромосом. У *M. gregalis* и *M. rossiaemeridionalis* эти два значения практически совпадали, а у *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* число кроссоверов лишь незначительно превышало гаплоидное число хромосом. Примечательно, что у всех видов число рекомбинационных событий на геном было несколько ниже гаплоидного числа плеч аутосом. Это еще раз показывает, что распространенное мнение о необходимости наличия хотя бы одной хиазмы на плечо не подтверждается фактами, по крайней мере на млекопитающих. Довольно высокий про-

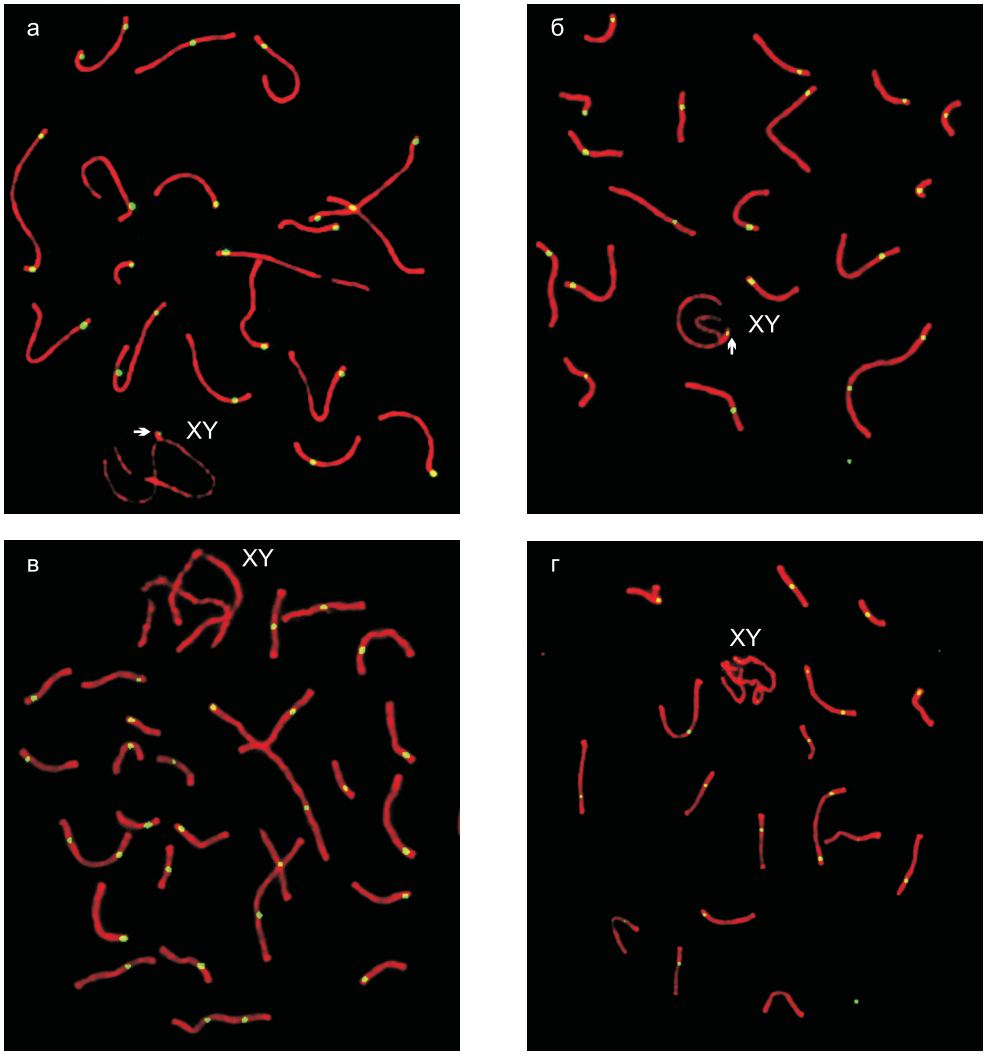


Рис. 1. Микрофотографии распластанных препаратов сперматоцитов исследованных видов после иммуноокрашивания с использованием антител к белкам SCP3 (красный сигнал) и MLH1 (зеленый сигнал).

Стрелками показаны точки связывания MLH1 в районе спаривания полового бивалента. а – *M. mujanensis*; б – *M. maximowiczii*; в – *M. rossiaemeridionalis*; г – *M. gregalis*.

цент безобменных плеч был обнаружен при анализе рекомбинации у обыкновенной бурозубки и человека (Sun *et al*., 2006; Borodin *et al*., 2008).

Близкое совпадение числа рекомбинационных событий на геном и гаплоидного числа хромосом у исследованных видов показывает, что функция рекомбинации у полевок сводится к образованию в среднем одной хиазмы на бивалент, необходимой и достаточной для нормальной сегрегации гомологов. Можно полагать, что рекомбинационный процесс у данной группы видов не вносит существенного вклада в генерацию генетического разнообразия.

По-видимому, отбор на снижение общего уровня рекомбинации привел к полному прекращению кроссинговера в псевдоаутосомном районе половых хромосом у ряда видов рода *Microtus*.

У *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* мы наблюдали нормальный синапсис X- и Y-хромосом (рис. 2, а). Они сближались в зиготене, образовывали синаптонемный комплекс между дистальным прителомерным районом X-хромосомы и всем коротким плечом Y-хромосомы. Хотя размер района спаривания был очень мал у обоих видов (0,70 ± 0,01 мкм и 0,53 ± 0,01 мкм у *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* соответствен-

Таблица 1

Цитогенетические, рекомбинационные и синаптические характеристики 4 видов рода *Microtus*

Вид	№ животных	№ клеток		Гаплоидное число хромосом	Гаплоидное число плеч аутосом	Среднее (M ± SE) число сайтов связывания MLH1 на ядро	Доля клеток, содержащих синаптированные X- и Y-хромосомы
		ЭМ[1]	ИМ[2]				
M. gregalis	4	70	45	18	25	17,7 ± 0,2	0
M. rossiaemeridionalis	3	70	65	27	27	27,8 ± 0,2	0
M. maximowiczii	1	50	204	21	27	21,9 ± 0,1	0,94
M. mujanensis	4	100	229	19	24	23,4 ± 0,1	0,96

[1] ЭМ – электронная микроскопия; [2] ИМ – иммунофлуоресцентная микроскопия.

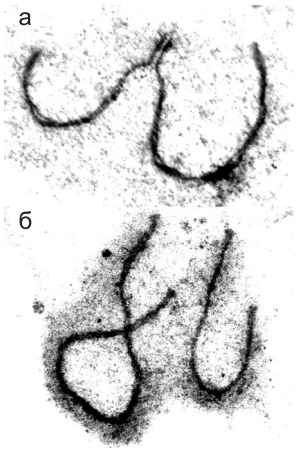


Рис. 2. Электронные микрофотографии половых хромосом в пахитенных ядрах.

M. mujanensis (а) и *M. gregalis* (б). Окрашивание азотнокислым серебром.

но), в нем в 70–80 % клеток мы наблюдали одиночные сигналы MLH1 (рис. 1, а, б). У обоих видов точки связывания MLH1 в районе спаривания X- и Y-хромосом возникали в ранней пахитене и исчезали в течение средней пахитены, в то время как на аутосомных бивалентах сигналы обнаруживались до наступления диплотены. Сходная асинхронность между аутосомными и половыми бивалентами в связывании MLH1 была обнаружена на мыши (Anderson *et al*., 1999). По этой причине мы наблюдали сигналы MLH1 в районе спаривания половых хромосом не во всех исследованных клетках.

У *M. gregalis* и *M. rossiaemeridionalis* половые хромосомы сближались на стадии зиготены, совместно перемещались на периферию, образуя половое тельце, но не вступали ни в синапсис, ни в рекомбинацию (рис. 1, в, г, рис. 2, б).

Ранее регулярный асинапсис половых хромосом в профазе мужского мейоза был обнаружен у многих других видов рода *Microtus*: у всех исследованных представителей подродов *Microtus sensu stricto* (включая *M. rossiaemeridionalis* и родственные виды), *Agricola* и *Terricola* (Ashley *et al*., 1989; Carnero *et al*., 1991; Jimenez *et al*., 1991; Ashley, Fredga, 1994; Borodin *et al*., 1995; Megias-Nogales *et al*., 2003). Было показано, что у данных видов существует ахиазматический механизм сегрегации половых хромосом у самцов (Fuente *et al*., 2007). Некоторое время считалось, что это свойство всего рода *Microtus*. Однако затем было показано, что у самцов *M. oeconomus* и двух родственных видов, принадлежащих к азиатской филогенетической линии, наблюдается нормальный синапсис половых хромосом (Ashley, Fredga, 1994; Borodin *et al*., 1995; Borodin *et al*., 1997; Mekada *et al*., 2001), хотя оставалось неизвестным, происходит ли при этом рекомбинация. Исследованные нами *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* также принадлежат к данной линии (Jaarola *et al*., 2004), и поэтому неудивительно, что мы обнаружили у них нормальное спаривание X- и Y-хромосом. Более того, мы показали, что у данных видов половые хромосомы рекомбинируют в районе спаривания.

Этот факт можно было бы рассматривать как подтверждение высказанной нами ранее гипотезы о том, что нормальный синапсис, присущий полевкам азиатской филогенетической линии,

является предковым свойством, а утрата этого свойства произошла у общего предка всех остальных представителей рода *Microtus* (Borodin *et al*., 1995; Borodin *et al*., 1997).

Однако обнаружение асинапсиса у *M. gregalis* ставит эту гипотезу под сомнение. Большинство специалистов полагают, что данный вид занимает базальное положение в роде *Microtus* (Jaarola *et al*., 2004). Более того, среди неарктических представителей рода *Microtus* нами недавно были обнаружены как «синаптические», так и «асинаптические» виды. Это заставляет нас отказаться от гипотезы об однократном, монофилетическом возникновении асинапсиса половых хромосом у «асинаптических» видов рода *Microtus*. По-видимому, механизм нерекомбинационного сближения и ахиазматического расхождения X- и Y-хромосом возник у общего предка целой группы родов подсемейства Arvicolinae. Это создало предпосылки для дальнейшей утраты синапсиса половых хромосом у отдельных представителей данного подсемейства.

Благодарности

Авторы признательны Центру коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН за предоставление доступа к микроскопическому оборудованию. Работа выполнена при финансовой поддержке программы интеграционных исследований СО РАН и ДВО РАН, Российского фонда фундаментальных исследований, программ РАН «Происхождение и эволюция биосферы» и «Биоразнообразие и динамика генофондов человека, животных, растений и микроорганизмов» и федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Литература

Anderson L.K., Reeves A., Webb L.M. *et al*. Distribution of crossing over on mouse synaptonemal complexes using immunofluorescent localization of MLH1 protein // Genetics. 1999. V. 151. P. 1569–1579.

Ashley T., Fredga K. The curious normality of the synaptic association between the sex chromosomes of two arvicoline rodents: *Microtus oeconomus* and *Clethrionomys glareolus* // Hereditas. 1994. V. 120. P. 105–111.

Ashley T., Jaarola M., Fredga K. Absence of synapsis during pachynema of the normal sized sex chromosomes of *Microtus arvalis* // Hereditas. 1989. V. 111. P. 295–304.

Basheva E.A., Bidau C.J., Borodin P.M. General pattern of meiotic recombination in male dogs estimated by MLH1 and RAD51 immunolocalization // Chromosome Res. 2008. V. 16. P. 709–719.

Borodin P.M., Basheva E.A., Zhelezova A.I. Immunocytological analysis of meiotic recombination in the American mink (*Mustela vison*) // Anim. Genet. 2009. V. 40. P. 235–238.

Borodin P.M., Karamysheva T.V., Belonogova N.M. *et al*. Recombination map of the common shrew, *Sorex araneus* (Eulipotyphla, Mammalia) // Genetics. 2008. V. 178. P. 621–632.

Borodin P.M., Karamysheva T.V., Rubtsov N.B. Immunofluorescent analysis of meiotic recombination and interference in the domestic cat // Cell and Tissue Biol. 2007. V. 1. P. 503–507.

Borodin P.M., Rogatcheva M.B., Koyasu K. *et al*. Pattern of X-Y chromosome pairing in the Japanese field vole, *Microtus montebelli* // Genome. 1997. V. 40. P. 829–833.

Borodin P.M., Sablina O.V., Rodionova M.I. Pattern of X-Y chromosome pairing in microtine rodents // Hereditas. 1995. V. 123. P. 17–23.

Carnero A., Jimenez R., Burgos M. *et al*. Achiasmatic sex chromosomes in *Pitymys duodecimcostatus*: mechanisms of association and segregation // Cytogenet. Cell Genet. 1991. V. 56. P. 78–81.

Chaline J., Brunet-Lecomte P., Montuire S. *et al*. Anatomy of the arvicoline radiation (Rodentia): palaeogeographical, palaeoecological history and evolutionary data // Ann. Zool. Fenn. 1999. V. 36. P. 239–267.

Codina-Pascual M., Campillo M., Kraus J. *et al*. Crossover frequency and synaptonemal complex length: their variability and effects on human male meiosis // Mol. Hum. Reprod. 2006. V. 12. P. 123–133.

Coop G., Przeworski M. An evolutionary view of human recombination // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. P. 23–34.

Dumont B.L., Payseur B.A. Evolution of the genomic rate of recombination in mammals // Evolution. 2008. V. 62. P. 276–294.

Fuente R. de la, Parra M.T., Viera A. *et al*. Meiotic pairing and segregation of achiasmate sex chromosomes in eutherian mammals: the role of SYCP3 protein // PLoS Genet. 2007. V. 3. P. e198.

Froenicke L., Anderson L.K., Wienberg J. *et al*. Male mouse recombination maps for each autosome identified by chromosome painting // Amer. J. Hum. Genet. 2002. V. 71. P. 1353–1368.

Howell W.M., Black D.A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method // Experientia. 1980. V. 36. P. 1014–1015.

Jaarola M., Martinkova N., Gunduz I. *et al*. Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 2004. V. 33. P. 647–663.

Jimenez R., Carnero A., Burgos M. *et al*. Achiasmatic giant sex chromosomes in the vole *Microtus cabrerae* (Rodentia, Microtidae) // Cytogenet. Cell Genet. 1991. V. 57. P. 56–58.

Lenormand T., Otto S.P. The evolution of recombination in a heterogeneous environment // Genetics. 2000. V. 156. P. 423–438.

Lynn A., Koehler K.E., Judis L. *et al*. Covariation of synaptonemal complex length and mammalian meiotic exchange rates // Science. 2002. V. 296. P. 2222–2225.

Megias-Nogales B., Marchal J.A., Acosta M.J. *et al*. Sex chromosomes pairing in two Arvicolidae species: *Microtus nivalis* and *Arvicola sapidus* // Hereditas. 2003. V. 138. P. 114–121.

Mekada K., Harada M., Lin L.K. *et al*. Pattern of X-Y chromosome pairing in the Taiwan vole, *Microtus kikuchii* // Genome. 2001. V. 44. P. 27–31.

Oliver-Bonet M., Turek P.J., Sun F. *et al*. Temporal progression of recombination in human males // Mol. Hum. Reprod. 2005. V. 11. P. 517–522.

Otto S.P., Barton N.H. The evolution of recombination: removing the limits to natural selection // Genetics. 1997. V. 147. P. 879–906.

Peters A.H., Plug A.W., van Vugt M.J. *et al*. A drying-down technique for the spreading of mammalian meiocytes from the male and female germline // Chromosome Res. 1997. V. 5. P. 66–68.

Sun F., Oliver-Bonet M., Liehr T. *et al*. Variation in MLH1 distribution in recombination maps for individual chromosomes from human males // Hum. Mol. Genet. 2006. V. 15. P. 2376–2391.

Sun F., Trpkov K., Rademaker A. *et al*. Variation in meiotic recombination frequencies among human males // Hum. Genet. 2005. V. 116. P. 172–178.

Wilson D.E., Reeder D.M. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press, 2005. In 2 vol. (XXXV, 2142 p.).

IMMUNOFLUORESCENCE AND ELECTRON MICROSCOPIC ANALYSIS OF MEIOTIC CHROMOSOME PAIRING AND RECOMBINATION IN FOUR SPECIES OF VOLES (GENUS *MICROTUS*; ARVICOLINAE, RODENTIA)

P.M. Borodin[1, 2], E.A. Basheva[1], F.N. Golenischev[3], O.A. Dashkevich[2], I.N. Kartavtseva[4], M.A. Potapov[5], G.R. Sakaeva[2], A.A. Torgasheva[1], L.V. Frisman[4, 6]

[1] Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: borodin@bionet.nsc.ru;
[2] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;
[3] Zoological Institute RAS, Sankt-Petersburg, Russia;
[4] Institute of Biology and Soil Science FEB RAS, Vladivostok, Russia;
[5] Institute of Systematics and Ecology of Animals, SB RAS, Novosibirsk, Russia;
[6] Institute of Complex Analysis of Regional Problems FEB RAS, Birobidzhan, Russia

Summary

Chromosome pairing and recombination in male meiosis were analyzed by immunofluorescence and electron microscopy in four species of voles of the genus *Microtus* (*M. mujanensis*, *M. maximowiczii*, *M. rossiaemeridionalis* и *M. gregalis*). The study was carried out in cytological smears using immunofluorescence staining of the mismatch repair protein (MLH1), which reliably marks recombination sites. Significant interspecies differences in recombination rate were observed. The lowest recombination frequency was detected in *M. gregalis* (17,7 ± 0,2 recombination sites per cell) and the highest, in *M. rossiaemeridionalis* (27,8 ± 0,2), *Microtus mujanensis* and *M. maximowiczii* showed intermediate values: 21,9 ± 0,1 and 23,4 ± 0,1, respectively. The species studied also differed in the pattern of sex chromosome pairing in meiosis. The X and Y chromosomes of *M. mujanensis* и *M. maximowiczii* paired and recombined in a short pseudo-autosomal region. The sex chromosomes of *M. rossiaemeridionalis* and *M. gregalis* aligned at zygotene; moved together at the nuclear periphery, forming a sex vesicle; but neither paired nor recombined.

Key words: meiosis, chromosomes, synapsis, recombination, *Microtus*.

АНАЛИЗ *IN SILICO* СТРУКТУРНОЙ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РАЗЛИЧИЙ СОМАТИЧЕСКИХ И МЕЙОТИЧЕСКИХ ФОРМ КОГЕЗИНОВ SCC3/SA/STAG

Т.М. Гришаева, С.Я. Дадашев, Ю.Ф. Богданов

Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, e-mail: tmgrishaeva@rambler.ru

Методами биоинформатики проведено сравнительное исследование белков когезинового комплекса 10 видов организмов, используемых в качестве модельных для изучения молекулярных механизмов митоза и мейоза. Эти белки скрепляют сестринские хроматиды после репликации ДНК, они частично различаются в соматических (SCC3, SA1/2, STAG1/2) и генеративных (REC11, STAG3) клетках, делящихся путем митоза и мейоза, и играют существенную роль в различиях механизмов этих типов клеточного деления.

Обе соматические формы стромалинов млекопитающих – STAG1 и STAG2 – отличаются друг от друга и от мейотического паралога STAG3 по всем изученным параметрам, особенно по вторичной структуре. Для выполнения добавочных функций в мейозе когезиновые белки STAG3 приобретают структурные особенности в N- и C-концевых участках молекулы, что отличает их от ранее изученных нами мейотических когезинов REC8.

Ключевые слова: эукариоты, мейоз, когезиновые белки SCC3/SA/STAG, консервативные мотивы, анализ *in silico*.

Введение

Важным процессом, предшествующим любому клеточному делению (митозу или мейозу), является возникновение тесной связи (когезии) между сестринскими хроматидами. Когезия необходима для удержания сестринских хроматид на экваторе веретена во время метафазы и для правильной ориентации и расхождения хромосом (Samara *et al*., 2000; Haering *et al*., 2002; Revenkova, Jessberger, 2005, 2006; Valdeolmillos *et al*., 2007). Когезия сестринских хроматид формируется с участием мультипротеиновых комплексов – когезинов. В функции когезинов входят также поддержание рекомбинационной репарации и обеспечение целостности хромосом при облучении ионизирующей радиацией (Valdeolmillos *et al*., 2007).

В установлении когезии участвует 14 разных белков (Jones, Sgouros, 2001). Ядро когезинового комплекса составляют четыре белка: SMC1, SMC3, SCC1 (называемый также RAD21) и SCC3. Ортологи SCC3 называются стромалинами (Stromalin antigen protein SA или STAG) (Pezzi *et al*., 2000). У всех изученных позвоночных и у дрозофилы имеется по два и более представителя стромалинов.

В профазе I мейоза белки когезинового сердечника («кора») хромосом служат каркасом для «монтажа» на них белков рекомбинации и специфичных для мейоза белков синаптонемного комплекса (Pelttari *et al*., 2001; Eijpe *et al*., 2003). Часть когезиновых белков является общей для митоза и мейоза. Другая часть заменяется в мейозе сходными, но не идентичными белками-паралогами (Revenkova, Jessberger, 2005, 2006). У дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* вместо SCC3 в мейозе появляется REC11, у млекопитающих вместо STAG1 и STAG2 появляется STAG3. Белки SCC3/STAG охарактеризованы не так подробно, как, например, SMC. Изучена сравнительная локализация SA/STAG на хромосомах (Prieto *et al*., 2001; Kitajima *et al*., 2003; Chelysheva *et al*., 2005; Revenkova, Jessberger, 2005, 2006; Valdeolmillos *et al*., 2007). Результаты молекулярного анализа описаны в очень

немногих работах (Pezzi *et al*., 2000; Lara-Pezzi *et al*., 2004). Отмечены сходство первичной структуры белков STAG в области N- и C-концевых доменов и наличие двух сигналов ядерной локализации (NLS_BP) (Losada *et al*., 2000; Jones, Sgouros, 2001; Haering *et al*., 2002). Лишь немногие исследователи уделили должное внимание весьма интересному факту – наличию двух соматических форм стромалинов у позвоночных и немногих беспозвоночных животных (Losada *et al*., 2000; Samara *et al*., 2000), однако до сих пор не было ясно, в чем различие их структуры и функции, а также в чем отличие этих форм от мейотического паралога.

Мы ранее сравнили *in silico* другие компоненты когезинового комплекса – RAD21 и REC8 (паралоги SCC1) (Гришаева и др., 2007). В ходе этого исследования мы выявили, что мейотический белок REC8 у всех изученных нами объектов, от дрожжей до человека, отличается от своего соматического паралога бóльшим разнообразием мотивов даже внутри функционального когезинового домена. По-видимому, белок REC8 является эволюционно более молодым.

В настоящем исследовании мы поставили задачу найти структурную основу функциональных различий мейотической и двух соматических форм когезинового белка STAG у млекопитающих. Но прежде чем сравнивать мейотические формы STAG с соматическими, необходимо понять, насколько сильно отличаются друг от друга сами соматические когезины. Мейотические формы выявлены только у млекопитающих, а соматические (SSC3/SA – ортологи STAG1/2) известны у широкого круга объектов. Для сравнительного анализа соматических когезинов мы выбрали 10 модельных объектов, от дрожжей до человека, представляющих разные таксоны эукариот. С помощью трех методов биоинформатики мы сначала исследовали консервативность когезиновых белков SCC3/SA/STAG, а затем, основываясь на полученной информации, сравнивали соматические и мейотические формы STAG у млекопитающих.

Материалы и методы

В работе были использованы база данных и программное обеспечение NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/): NCBI BLAST – для поиска гомологичных аминокислотных последовательностей в протеомах изучаемых организмов и NCBI CDART (Conserved Domain Architecture Tool) – для выявления функциональных доменов белков. Для того чтобы определить набор и последовательность консервативных мотивов в белковых молекулах, использовали программу MEME (Multiple Em for Motif Elicitation, http://meme.sdsc.edu/meme/website/intro.html). Рисунок, суммирующий результаты работы программы MEME, схематичен, поскольку длина мотивов на рисунке лишь приблизительно отражает их истинные размеры (в условных единицах). На рис. 1 и 2 одни и те же мотивы обозначены разными цифрами, поскольку получены в ответ на запросы в разное время.

Для изучения распределения статического электрического заряда вдоль молекул когезиновых белков была привлечена программа «Mobile portal – charge» из пакета Mobile Pasteur (http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/MobylePortal/portal.py?form=charge/). Параметры: ширина окна – 25, остальные – по умолчанию. Вероятность формирования α-спиральной вторичной структуры (coiled coil) аминокислотными последовательностями изучаемых белков оценивали с помощью программы «COILS – Prediction of Coiled Coil Regions in Proteins» (http://www.ch.embnet.org/software/COILS_form.html). Параметры: ширина окна – 28, остальные – по умолчанию.

Нами были исследованы компоненты мейотического когезинового комплекса млекопитающих – STAG3 (табл.). Для каждого вида в базе данных содержались сведения лишь об одном белке. Был также исследован их аналог у дрожжей *S. pombe* – Rec11 Sp. Для сравнения были изучены белки соматического когезинового комплекса тех же видов, являющиеся ортологами STAG3 – SA1 и SA2, STAG1 и STAG2, а также Psc3 (далее SCC3 Sp) дрожжей *S. pombe*.

Для позвоночных в базе данных аннотировано от 2 до 11 изоформ каждого белка. Из них мы отобрали для дальнейшего анализа полноразмерные копии. У быка *Bos taurus* не была аннотирована полноразмерная форма SA1. Наш поиск ортологов человеческого стромалина в протеоме *Bos taurus* также не дал результата, поэтому в дальнейшем исследовании была ис-

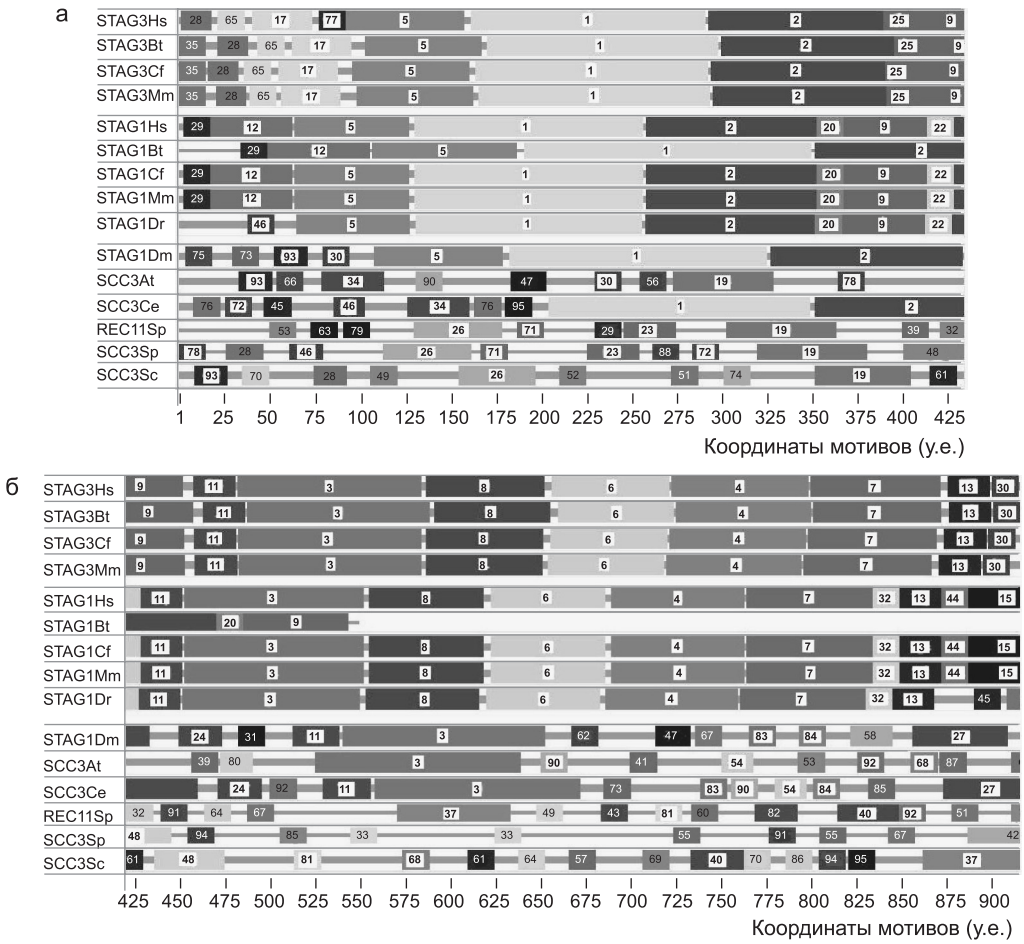


Рис. 1. Консервативные мотивы в N- и C-половинах (а и б соответственно) молекул когезиновых белков эукариот: дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* (Sp), дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), нематоды *Caenorhabditis elegans* (Ce), растения *Arabidopsis thaliana* (At), насекомого *Drosophila melanogaster* (Dm), рыбы *Danio rerio* (Dr) и млекопитающих – мыши *Mus musculus* (Mm), собаки *Canis lupus familiaris* (Cf), быка *Bos taurus* (Bt), человека *Homo sapiens* (Hs).

У.е. – условные единицы длины, использованные программой MEME. Выделены номера повторяющихся мотивов.

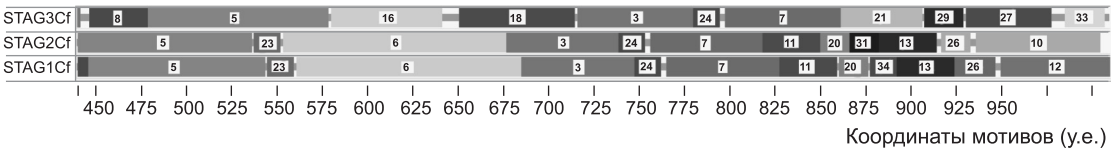


Рис. 2. Консервативные мотивы в C-концевых фрагментах когезинов млекопитающих – соматических STAG1/2 и мейотического STAG3 – на примере собаки *C. lupus familiaris* (Cf).

пользована укороченная изоформа STAG1-1 Bt. Мы исследовали также белки SCC3 ряда модельных объектов: *Saccharomyces cerevisiae*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* (STAG1 Dm) и рыбы *Danio rerio* (STAG1 Dr). Кроме того, в протеомах дрозофилы и рыбы мы обнаружили изоформы SA, отличные от соматических (см. табл.), и предположили, что они могут быть ортологами STAG3 млекопитающих.

Таблица

Исследованные компоненты когезинового комплекса:
соматические SCC3/STAG1/STAG2 и мейотические REC11 и STAG3

Объект	Обозначение белка	ID белка (NCBI)	Аннотация NCBI	Размер (аминокислотные остатки)
S. cerevisiae	SCC3 Sc	EDN61467	Субъединица когезинового комплекса	1150
S. pombe	SCC3 Sp	o13816	Субъединица когезина psc3 (гомолог SCC3)	962
S. pombe	REC11 Sp	AAC49663	Rec11	923
C. elegans	SCC3 Ce	NP_506193	SCC дрожжей (субъединица митотического конденсина), член семейства гомологов (scc-3)	1096
A. thaliana	SCC3 At	NP_566119	SCC3 (белок 3 когезии сестринских хроматид)	1098
D. melanogaster	STAG1 Dm	CAA74654	Ядерный белок SA	1116
D. melanogaster	STAG2 Dm	NP_001097473	Стромалин-2 CG13916-PB, изоформа B	949
D. melanogaster	STAG3 Dm	NP_477268	Стромалин CG3423-PA	1127
D. rerio	STAG1 Dr	XP_692120	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 1	1266
D. rerio	STAG2 Dr	XP_686812	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 2, изоформа 2	1269
D. rerio	STAG3 Dr	CAQ13493	Новый белок, похожий на стромальный антиген 1 позвоночных (STAG1)	1251
M. musculus	STAG1 Mm	NP_033308	Стромальный антиген 1	1258
M. musculus	STAG2 Mm	CAM20006	Стромальный антиген 2	1268
M. musculus	STAG3 Mm	CAA06669	stag3	1240
C. lupus familiaris	STAG1 Cf	XP_542794	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 1, изоформа 1	1258
C. lupus familiaris	STAG2 Cf	XP_549232	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 2, изоформа 2	1268
C. lupus familiaris	STAG3 Cf	XP_546960	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 3	1234
B. taurus	STAG1 Bt	XP_612779	Предсказанный: похожий на ядерный белок SA-1, неполный	546
B. taurus	STAG2 Bt	XP_001249706	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 2, изоформа 1	1268
B. taurus	STAG3 Bt	XP_593416	Предсказанный: похожий на стромальный антиген 3	1240
H. sapiens	STAG1 Hs	NP_005853	Стромальный антиген 1	1258
H. sapiens	STAG2 Hs	CAI40991	Стромальный антиген 2	1268
H. sapiens	STAG3 Hs	CAB59367	Стромальный антиген 3 (STAG3)	1225

Результаты

Различие мейотической и двух соматических форм когезинов STAG по набору и последовательности консервативных мотивов

Прежде чем сравнивать мейотические и соматические формы стромалинов, мы должны были понять, насколько консервативны эти белки в ряду модельных объектов от дрожжей до человека. Для всесторонней оценки когезинов SCC3/SA/STAG мы использовали три параметра (см. раздел «Материалы и методы»).

У всех изученных нами когезиновых белков присутствовал когезиновый функциональный домен (у низших эукариот – IRR1, у других организмов – как этот домен, так и меньший по размеру домен STAG). При исследовании набора и последовательности консервативных мотивов внутри домена IRR1 с помощью программы MEME мы обнаружили, что у дрожжей, арабидопсиса и нематоды нет никакого сходства по набору консервативных мотивов с другими объектами. У дрозофилы и позвоночных выявлен одинаковый набор мотивов. Он одинаков для всех белков STAG, в том числе мейотических, что важно для ответа на вопрос, поставленный в данной работе (см. Введение). Таким образом, по набору консервативных мотивов внутри домена IRR1 соматические и мейотические формы когезиновых белков не отличаются. Далее мы сравнили по этому параметру целые молекулы SCC3/STAG у всех 10 объектов (рис. 1).

Обнаружено, что у дрожжей *S. pombe* белки REC11 и SCC3 имеют мало общих (консервативных) мотивов и отличаются от белка SCC3 другого вида дрожжей – *S. cerevisiae*. В белках арабидопсиса, нематоды и дрозофилы имеются отдельные мотивы, характерные для позвоночных животных. У высших эукариот начиная с рыбы (Dr) и кончая человеком (Hs) прослеживается общий блок консервативных мотивов разной величины (от 15 до 165 условных единиц) в составе всех белков STAG. Этот блок намного превышает по размеру когезиновый домен.

При сравнении мейотической и соматических форм когезинов млекопитающих выявлен ряд отличий внутри консервативного блока – замена и вставки мотивов в средней части молекулы (рис. 1, а, правая часть). Вне этого консервативного блока также выявлены структурные особенности для мейотической и двух соматических форм стромалинов. С-концевые фрагменты были различными у всех трех форм (рис. 2), и на этом уровне исследования это единственное отличие двух соматических стромалинов млекопитающих друг от друга. Исключением является рыба *D. rerio*, у которой N-концевые фрагменты STAG2 и STAG1 значительно отличаются друг от друга (данные не приведены). N-концевые отрезки всех исследованных соматических форм стромалинов млекопитающих были сходны между собой и отличались от мейотических STAG3 как по величине, так и по набору консервативных мотивов (рис. 1).

Аминокислотные последовательности всех мотивов приведены в двух дополнительных html-файлах (Supplement по адресу http://www.vigg.ru/?cat_id=190), полученных нами как результат работы программы MEME. В файле MAST-STAG1,3, SCC3 содержится информация о наборе и последовательности консервативных мотивов во всех изученных белках SCC3/SA, а также STAG1 и STAG3. Во втором файле (MAST-STAG1,2,3) приведена аналогичная информация обо всех изученных белках STAG и нескольких SCC3.

Распределение электростатического заряда вдоль молекул стромалина выявляет сходство соматических форм и отличие их от мейотической

Найденные нами различия между соматическими и мейотическими формами когезиновых белков STAG по набору консервативных мотивов сами по себе не позволяют объяснить довольно серьезную смену функции мейотических когезинов по сравнению с соматическими (см. Введение). С целью поиска структурной основы функциональных различий мы исследовали распределение зарядов вдоль молекул белков-стромалинов.

Как и в первой части работы, мы сначала выявили, насколько консервативны когезины SCC3/STAG по распределению зарядов при переходе от низших эукариот к высшим. Все белки SCC3 дрожжей и STAG1 дрозофилы име-

ли свою уникальную картину распределения заряда. В то же время белки STAG1 и кандидаты в STAG3 дрозофилы и рыбы *D. rerio* (см. табл.) были очень схожи, что может свидетельствовать об отсутствии мейотической формы STAG у этих объектов.

У всех изученных представителей млекопитающих распределение заряда оказалось практически идентичным внутри каждой группы белков: STAG1, STAG2 и STAG3. При этом обе соматические формы стромалина были сходными по этому показателю (рис. 3). Мейотическая форма отличалась наличием двух пиков положительного заряда вместо одного в N-концевом фрагменте белка, а также менее выраженными пиками отрицательного заряда в средней части молекулы.

Три формы стромалинов млекопитающих различаются по вторичной структуре

Мы также проанализировали вторичную структуру всех изученных белков (вероятность формирования α-спирали аминокислотными последовательностями, рис. 4, 5). Характерной особенностью когезинов SCC3/SA/STAG (за исключением белков арабидопсиса) было наличие ярко выраженного α-спирального участка в начальном фрагменте молекулы между 200 и 400 аминокислотными остатками (у арабидопсиса этот пик смещен к центру молекулы). У млекопитающих все белки STAG четко разделились по вторичной структуре на три группы – STAG1, STAG2 и STAG3 (рис. 5) – с очень высоким сходством в пределах групп. Можно сделать вывод о том, что вторичная структура стромалинов является надежным диагностическим параметром для идентификации мейотических форм STAG.

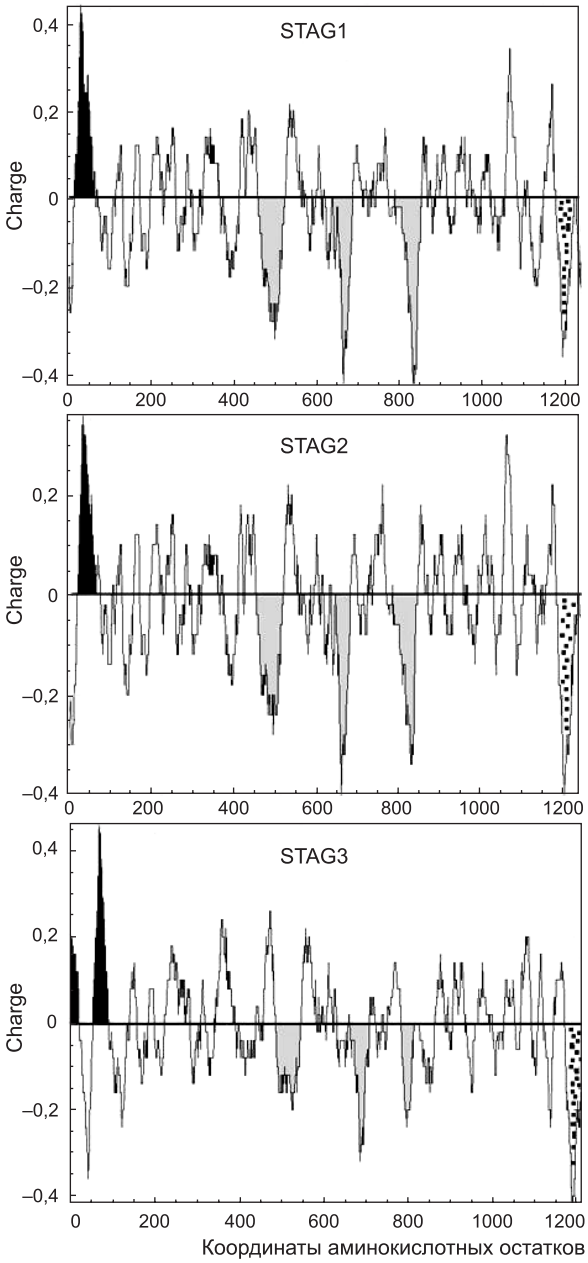


Рис. 3. Распределение электростатического заряда (Charge) вдоль молекул когезиновых белков на примере STAG1, STAG2 и STAG3 собаки *C. lupus familiaris*.

Черным цветом выделены характеристические пики положительного заряда, серым – отрицательного, точками – С-концевые пики.

Обсуждение

Первым этапом нашей работы было изучение консерватизма когезиновых белков SCC3/SA/STAG. Ранее на основе исследования первичной структуры белка было показано, что у человека, мыши, дрозофилы и арабидопсиса сходство ортологов SCC3/STAG составляет лишь 25 % (Jones, Sgouros, 2001), в то время как STAG1 и 2 у человека и мыши совпадают на 99 % (Pezzi *et al.*, 2000). Одни исследователи говорили о консерватизме компонентов когезиновых комплексов – от дрожжей до человека (Losada *et al.*, 2000), другие отмечали сходство N- и С-концевых фрагментов белков SCC3/STAG (Haering *et al.*, 2002), третьи – консерватизм

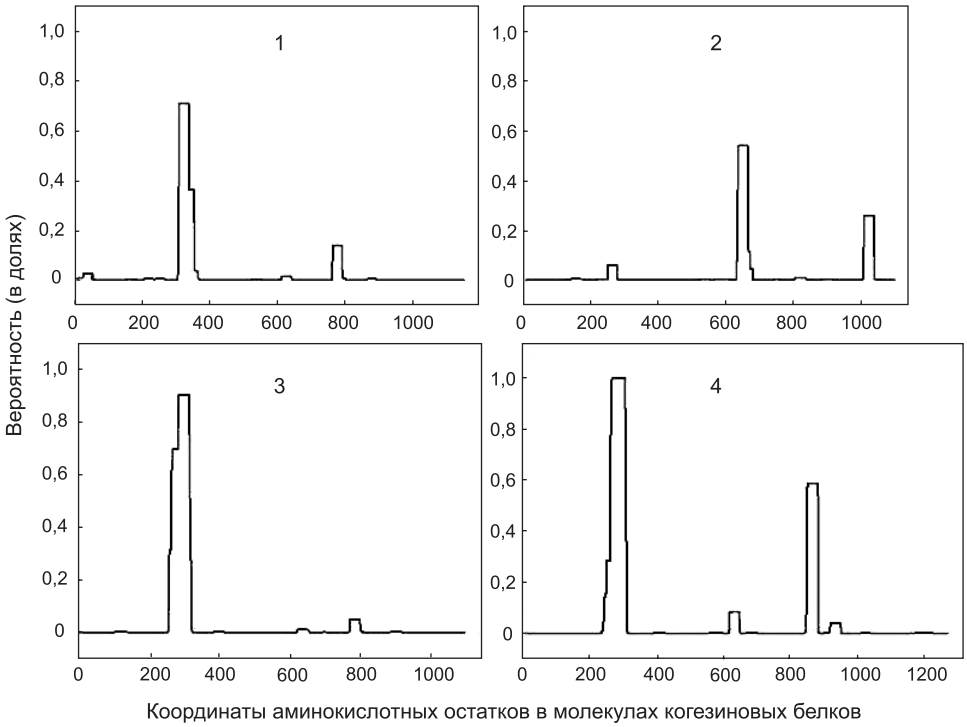


Рис. 4. Вероятность формирования вторичной (α-спиральной) структуры в молекулах белков SCC3 *S. cerevisiae* (1), SCC3 *A. thaliana* (2), SCC3 *C. elegans* (3) и STAG1 *D. rerio* (4).

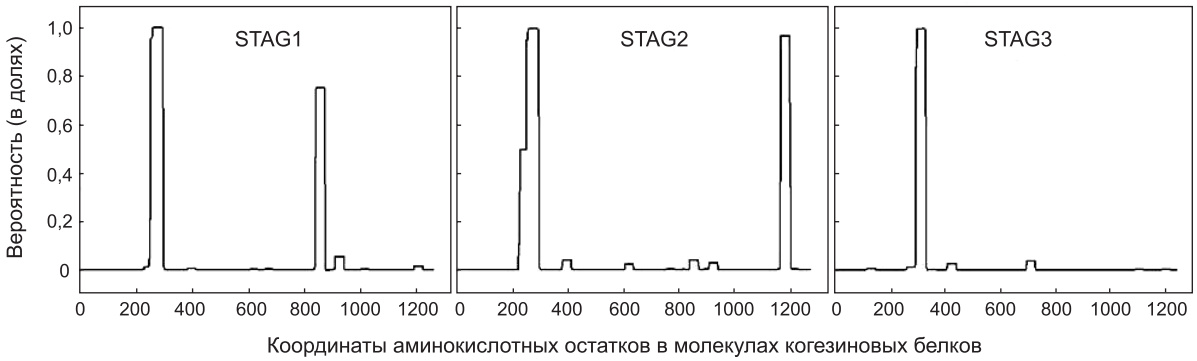


Рис. 5. Вероятность формирования вторичной (α-спиральной) структуры в молекулах белков STAG1, STAG2 и STAG3 млекопитающих на примере собаки (*C. lupus familiaris*).

только N-концевого участка (Losada *et al*., 2000; Pezzi *et al*., 2000). В то же время отмечалось и наибольшее расхождение аминокислотных последовательностей именно в N- и C-концевых фрагментах (Pezzi *et al*., 2000).

Наши данные свидетельствуют о том, что у дрожжей и высших эукариот наблюдается весьма малое сходство консервативных мотивов даже внутри функционального домена. Эта черта отличает когезины SCC3/STAG от другой пары компонентов когезинового комплекса RAD21/REC8 (Гришаева и др., 2007). У дрозофилы, нематоды и арабидопсиса присутствуют некоторые мотивы, характерные для позвоночных. Что касается последних, то у них обнаружен общий блок консервативных мотивов, превосходящий по размерам функциональный домен IRR1, в составе всех белков STAG.

При сравнении мейотической и соматических форм STAG нами обнаружены некоторые незначительные различия внутри блока. Что касается N- и C-концевых фрагментов исследованных

белков STAG, то соматические формы отличаются от мейотической как по величине, так и по набору консервативных мотивов. В литературе подобных сведений практически нет, кроме количественной оценки сходства двух форм когезинов у человека – 45 % (Pezzi *et al*., 2000). Однако информации о мотивах недостаточно для понимания того, как структура когезинов может определять их функции, поэтому мы предприняли два дополнительных исследования.

Дополнительные исследования по распределению заряда вдоль молекул когезиновых белков подтвердили данные, полученные нами при анализе консервативных мотивов, о малом сходстве SCC3 между собой и с белками STAG и о различии N-концевых фрагментов мейотической и соматической форм белков STAG у млекопитающих (рис. 3). Кроме того, необходимо отметить, что в центральной части молекулы размеры и профиль пиков отрицательного заряда также различны для белков STAG1/2 и STAG3, что может отражать небольшие вставки и замены мотивов внутри консервативного блока.

Наиболее интересными, на наш взгляд, являются результаты, полученные нами при оценке вторичной структуры сравниваемых белков. Короткий, но ярко выраженный фрагмент α-спирали присутствует в начальном участке всех изученных когезинов – от SCC3 до STAG, включая мейотические STAG3 (рис. 4, 5). Этот α-спиральный участок входит в функциональный домен STAG, который, видимо, является высококонсервативным. Так, при сравнении трех форм STAG у человека и мыши (Pezzi *et al*., 2000) был обнаружен консервативный домен между 296 и 381-м аминокислотными остатками, т. е. непосредственно за выявленным нами α-спиральным участком. Исключением является лишь арабидопсис, у которого α-спиральный участок расположен в центральной части молекулы.

Нам удалось выявить структурную основу функциональных различий двух соматических форм STAG позвоночных. Из литературы известно, что в соматических тканях у млекопитающих и лягушки *Xenopus laevis* доминирует SA2 – ортолог STAG2 (его количество в клетках в три раза больше, чем белка SA1), тогда как в яйцах лягушки обнаружено десятикратное преобладание SA1 (ортолога STAG1) (Losada *et al*., 2000). У кузнечика и дрозофилы исследования проводили на SA1, что может косвенно свидетельствовать о его преобладании у этих объектов (Valdeolmillos *et al*., 2007). Известно также, что два вида соматических когезинов никогда не выделяются в составе одного комплекса (Samara *et al*., 2000). Именно когезиновый белок SA2 у высших эукариот служит объектом фосфорилирования, что обеспечивает первый этап диссоциации когезинов из хромосомы в раннем мейозе (Hauf *et al*., 2005). Отмечено также, что STAG2 у человека может являться транскрипционным активатором, связываясь с факторами транскрипции и с гетерохроматиновым белком Swi6, паралогом HP1 (Lara-Pezzi *et al*., 2004). Изучение вторичной структуры белков STAG млекопитающих позволило нам выявить четкие отличия двух соматических форм друг от друга (рис. 5).

Вторичная структура мейотических когезинов STAG3 отличает их от обеих соматических форм. α-спиральная конфигурация необходима как раз для белок-белкового взаимодействия (Shoeman, Traub, 1993). Молекулы SCC3/SA/STAG совместно с SCC3/RAD21 замыкают когезиновое кольцо, состоящее из SMC1 и SMC3 (Haering *et al*., 2002). Именно SCC3/SA/STAG играет ключевую роль в ряде процессов, проходящих с участием когезинового комплекса. Прежде всего, это раннее освобождение когезинов из хромосомных плеч в профазе митоза (по поводу мейоза пока не все понятно). Кроме того, это активация транскрипции, взаимодействие с некоторыми инсуляторами и другие явления (Barbero, 2009). Есть данные о том, что после S-фазы клеточного цикла каждая хроматида может быть окружена своими когезиновыми кольцами, которые при установлении когезии сестринских хроматид соединяются попарно через молекулы SCC3/SA/STAG. Стабилизация «димера» из двух колец может осуществляться дополнительными белками WARL/Rad61 и Pds5, также взаимодействующими с SCC3 (Zhang, 2008; Skibbens, 2009).

Мейотический когезиновый белок STAG3, локализующийся на плечах мейотических хромосом (Kitajima *et al*., 2003), взаимодействует с REC8 и SMC1α (Revenkova, Jessberger, 2006), причем REC8 является мейотическим паралогом SCC1/RAD21 и основой формиро-

вания мейотических хромосомных осей (Eijpe *et al*., 2003). Вероятно, появление в мейозе белка REC8, замыкающего когезиновое кольцо, требует адекватной замены «вспомогательного» партнера. Кроме того, возможно, STAG3 играет решающую роль в организации мейоз-специфичной оси хромосомы в прелептотене (Prieto *et al*., 2002).Такой оси нет в хромосомах соматических клеток. В мейозе замена RAD21 на REC8 и появление новых партнеров – белков синаптонемного комплекса – неминуемо должны были привести к изменениям в структуре белков STAG3 по сравнению с соматическими ортологами STAG1/2. Мы надеемся, что нам удалось выявить эти отличия.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Биоразнообразие», подпрограмма «Генофонды и генетическое разнообразие».

Литература

Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. Мейотические когезины Rec8 и их митотические ортологи Rad21: сравнение *in silico* // Молекуляр. биология. 2007. Т. 41. С. 743–745. (Grishaeva T.M., Dadashev S.Ia., Bogdanov Iu.F. Meiotic Rec8 cohesins and their mitotic Rad21 orthologs: *in silico* comparison // Mol. Biol. 2007. (Mosk). V. 41. P. 743–745).

Barbero J.L. Cohesins: chromatin architects in chromosome segregation, control of gene expression and much more // Cell. Mol. Life Sci. 2009. V. 66. P. 2025–2035.

Chelysheva L., Diallo S., Vezon D. *et al*. AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis // J. Cell Sci. 2005. V. 118. P. 4621–4632.

Eijpe M., Offenberg H., Jessberger R. *et al*. Meiotic cohesin REC8 marks the axial elements of rat synaptonemal complexes before cohesins SMC1 and SMC3 // J. Cell Biol. 2003. V. 160. P. 657–670.

Haering C.H., Lowe J., Hochwagen A., Nasmyth K. Molecular architecture of SMC proteins and the yeast cohesin complex // Mol. Cell. 2002. V. 9. P. 773–788.

Hauf S., Roitinger E., Koch B. *et al*. Dissociation of cohesin from chromosome arms and loss of arm cohesion during early mitosis depends on phosphorylation of SA2 // PLoS Biol. 2005. V. 3. P. e69.

Jones S., Sgouros J. The cohesin complex: sequence homologies, interaction networks and shared motifs // Genome Biol. 2001. V. 2. P. Research0009.1–0009.12.

Kitajima T.S., Yokobayashi S., Yamamoto M., Watanabe Y. Distinct cohesin complexes organize meiotic chromosome domains // Science. 2003. V. 300. P. 1152–1155.

Lara-Pezzi E., Pezzi N., Prieto I. *et al*. Evidence of a transcriptional co-activator function of cohesin STAG/SA/Scc3 // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 6553–6559.

Losada A., Yokochi T., Kobayashi R., Hirano T. Identification and Characterization of SA/Scc3p subunits in the *Xenopus* and human cohesin complexes // J. Cell Biol. 2000. V. 150. P. 405–416.

Pelttari J., Hoja M-R., Yuan L. *et al*. A meiotic chromosomal core consisting of cohesin complex proteins recruits DNA recombination proteins and promotes synapsis in the absence of an axial element in mammalian meiotic cells // Mol. Cell. Biol. 2001. V. 21. P. 5667–5677.

Pezzi N., Prieto I., Kremer L. *et al*. STAG3, a novel gene encoding a protein involved in meiotic chromosome pairing and location of STAG3-related genes flanking the Williams-Beuren syndrome deletion // FASEB J. 2000. V. 14. P. 581–592.

Prieto I., Suja J.A., Pezzi N. *et al*. Mammalian STAG3 is a cohesin specific to sister chromatid arms in meiosis I // Nat. Cell Biol. 2001. V. 3. P. 761–766.

Prieto I., Pezzi N., Buesa J.M. *et al*. STAG2 and Rad21 mammalian mitotic cohesins are implicated in meiosis // EMBO reports. 2002. V. 3. P. 543–550.

Revenkova E., Jessberger R. Keeping sister chromatids together: cohesins in meiosis // Reproduction. 2005. V. 130. P. 783–790.

Revenkova E., Jessberger R. Shaping meiotic prophase chromosomes: cohesins and synaptonemal complex proteins // Chromosoma. 2006. V. 115. P. 235–240.

Samara I., Vorlaufer E., Gieffers C. *et al*. Characterization of vertebrate cohesion complexes and their regulation in prophase // J. Cell Biol. 2000. V. 151. P. 749–761.

Shoeman R.L., Traub P. Assembly of intermediate filaments // BioEssays. 1993. V. 15. P. 605–611.

Skibbens R.V. Establishment of sister chromatid cohesion // Curr. Biol. 2009. V. 19. P. R1126–R1132.

Supplement: http://www.vigg.ru/?cat_id=190 или сразу по адресам http://www.vigg.ru/get_file.php?id=589 и http://www.vigg.ru/get_file.php?id=590.

Valdeolmillos A.M., Viera A., Page J. *et al*. Sequential loading of cohesin subunits during the first meiotic prophase of grasshoppers // PLoS Genet. 2007. V. 3. P. e28.

Zhang N., Kuznetsov S.G., Sharan S.K. *et al*. A handcuff model for the cohesin complex // J. Cell Biol. 2008. V. 183. P. 1019–1031.

IN SILICO ANALYSIS OF THE STRUCTURAL BASE OF FUNCTIONAL DIFFERENCES BETWEEN SOMATIC AND MEIOTIC FORMS OF COHESINS SCC3/SA/STAG

T.M. Grishaeva, S.Ya. Dadashev, Yu.F. Bogdanov

Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia,
e-mail: tmgrishaeva@rambler.ru

Summary

We performed the first bioinformatical comparison of components of the cohesin complex in 10 eukaryotic species conventionally used as model organisms for studying the molecular bases of mitosis and meiosis. Cohesin proteins connect sister chromatids after DNA replication. They are partially different in somatic cells (SCC3, SA1/2, STAG1/2) and generative cells (REC11, STAG3), which undergo mitosis and meiosis, respectively. Cohesins play a significant role in the difference between these division types.

Both somatic forms of mammalian stromalins, STAG1 and STAG2, differ from one another and from their meiotic paralog, STAG3, in all parameters studied, particularly, in secondary structure. To be able to perform additional functions in meiosis, cohesin STAG3 proteins acquire specific structural features at their N- and C-ends, and this is their difference from meiotic REC8 cohesins formerly studied by us.

Key words: eukaryotes, meiosis, SCC3/SA/STAG cohesin proteins, conserved motifs, *in silico* study.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПЬЮТЕРНОЙ СИСТЕМЫ ANDCell ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ И АНАЛИЗА АССОЦИАТИВНЫХ СЕТЕЙ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЗАИМОСВЯЗИ МИОПИИ И ГЛАУКОМЫ

О.А. Подколодная[1], Е.Э. Яркова[1], П.С. Деменков[1], О.С. Коновалова[3], В.А. Иванисенко[1], Н.А.Колчанов[1, 2]

[1] Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: opodkol@bionet.nsc.ru;
[2] Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия;
[3] Тюменский филиал ЕЦ МНТК «Микрохирургия глаза», Тюмень, Россия

Использование компьютерной системы ANDCell, базы знаний и фактов, экстрагированных в автоматическом режиме из рефератов публикаций PubMed, позволило провести реконструкцию ассоциативной сети, представляющей молекулярно-генетические взаимосвязи между белками, генами, метаболитами и молекулярными процессами, ассоциированными с миопией и глаукомой. Эта сеть содержала около 200 различных белков и генов и более чем 2000 взаимодействий между ними, включая белки и гены, ассоциированные одновременно с открытоугольной глаукомой и миопией. Редукция сети и дальнейший анализ молекулярно-генетических путей, представленных в ней, позволили выявить ряд потенциальных генов-кандидатов для генотипирования одновременно миопии и открытоугольной глаукомы.

Ключевые слова: автоматический анализ текстов, ассоциативные сети, миопия, глаукома.

Введение

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – это хроническое полиэтиологическое заболевание, развитие которого определяется большим количеством факторов риска. Формирование ПОУГ начинается с метаболических и структурных изменений в тканях глазного яблока, трудно фиксируемых особенно на ранних стадиях развития патологии (Нестеров, 2000; Алексеев, Самусенко, 2004). В патогенезе первичной глаукомы тесно связано множество факторов, приводящих к развитию характерных для этого заболевания нарушений зрительных функций и атрофии зрительных волокон с экскавацией диска зрительного нерва (Волков, 2001). Среди большого числа факторов риска развития глаукомы одно из важных мест занимает миопия. Риск глаукомы у пациентов с миопией в 2–3 раза выше, чем у лиц с немиопической рефракцией, вне зависимости от других факторов риска глаукомы (Mitchell *et al*., 1999). Более того, показано, что миопия является очень важным фактором риска у пациентов с ПОУГ и нормальным внутриглазным давлением (Grocott *et al*., 2001). Наличие ассоциации между этими двумя патологиями в возрастной группе старше 40 лет является общепризнанным фактом (Ponte *et al*., 1994; Wong *et al*., 2003; Saw *et al*., 2005). Эпидемиологические данные свидетельствуют о наличии повышенного риска ПОУГ у пациентов с высокой и средней степенью миопии (Loyo-Berríos, Blustein, 2007). Поиск путей, обеспечивающих ассоциацию между двумя патологиями, будет способствовать лучшему пониманию механизмов совместного их развития, а также созданию новых методов диагностики, профилактики и лечения этих заболеваний.

В настоящей статье представлен результат применения системы ANDCell (Associative

Networks Discovery in Cells) (Деменков и др., 2008) для исследования механизмов сочетанного развития двух патологий глаза – миопии и глаукомы. Данная система позволяет реконструировать ассоциативные сети, описывающие взаимосвязи между молекулярно-биологическими, биохимическими, клеточными, физиологическими и другими объектами и процессами. Она может быть использована для решения широкого круга задач в области молекулярной биологии, биотехнологии, фармакологии, биомедицины и образования.

Компьютерная система ANDCell

Система ANDCell (Деменков и др., 2008) разработана для автоматической экстракции фактов и знаний о взаимосвязях между белками, генами, метаболитами, микроРНК, клеточными компонентами, молекулярными процессами и их ассоциациях с заболеваниями из текстов научных публикаций и баз данных. Информация о взаимосвязях, экстрагированная с использованием методов компьютерного лингвистического анализа текстов (методы text-mining), содержится в базе знаний системы ANDCell (сети первого уровня).

Было разработано более 2000 правил или шаблонов для экстракции из текстов семантических взаимосвязей между биологическими объектами различных классов. Разработанные шаблоны представляют собой регулярные выражения, описывающие порядок встречаемости различных концептов в предложении, на основании которого делается вывод о факте взаимоотношений двух или более биологических объектов, описанных в данном предложении. Рассматривались следующие типы взаимоотношений:

– физические взаимодействия между белками, белками и низкомолекулярными соединениями, белками и ДНК и др. Результатом таких взаимодействий служит образование молекулярных комплексов;

– биохимические процессы и реакции, включая превращения низкомолекулярных веществ и постранслляционные модификации белков и др.;

– регуляция экспрессии генов, а также регуляция стабильности и активности белков;

– ассоциативные связи между белками, генами, низкомолекулярными соединениями и заболеваниями.

Рассмотрим пример шаблона для экстракции информации из текста о взаимосвязи гена с заболеванием: ***regulation***-*of*-**disease**-*by*-**organism-gene**.

Здесь курсивом отмечены группы слов-связок, жирным шрифтом указаны группы названий объектов. Среди слов-связок выделяются категории, определяющие семантику взаимосвязи (показаны жирным курсивом), а также имеющие формальное синтаксическое значение, такие, как of, by и др. Например, с помощью этого шаблона из предложения «***Suppression*** *of* **acute lymphoblastic leukemia** *by* the **human** wild-type **p53 gene**» может быть извлечена информация о влиянии гена *p53* человека на заболевание acute lymphoblastic leukemia. В этом предложении слово ***Suppression*** входит в состав словаря «***regulation***», а **acute lymphoblastic leukemia** – входит в состав словаря заболеваний «**disease**» и т. д.

В качестве источника научных публикаций использовалась база данных PubMed. Кроме информации, полученной при анализе текстов, база знаний системы ANDCell также содержит данные, извлеченные из более 20 молекулярно-биологических баз данных (SWISS-Prot, Entrez Gene, PubChem, Intact, OMIM, Gene Ontology, PharmGKB и др.). Объем базы знаний составляет более 5 млн фактов. Для представления знаний используется модель ассоциативной семантической сети. Ассоциативная сеть представляет собой граф, вершины которого соответствуют различным объектам, описанным в онтологии системы ANDCell, а ребра – взаимосвязям между ними. Визуализация ассоциативных сетей осуществляется с помощью программы ANDVisio.

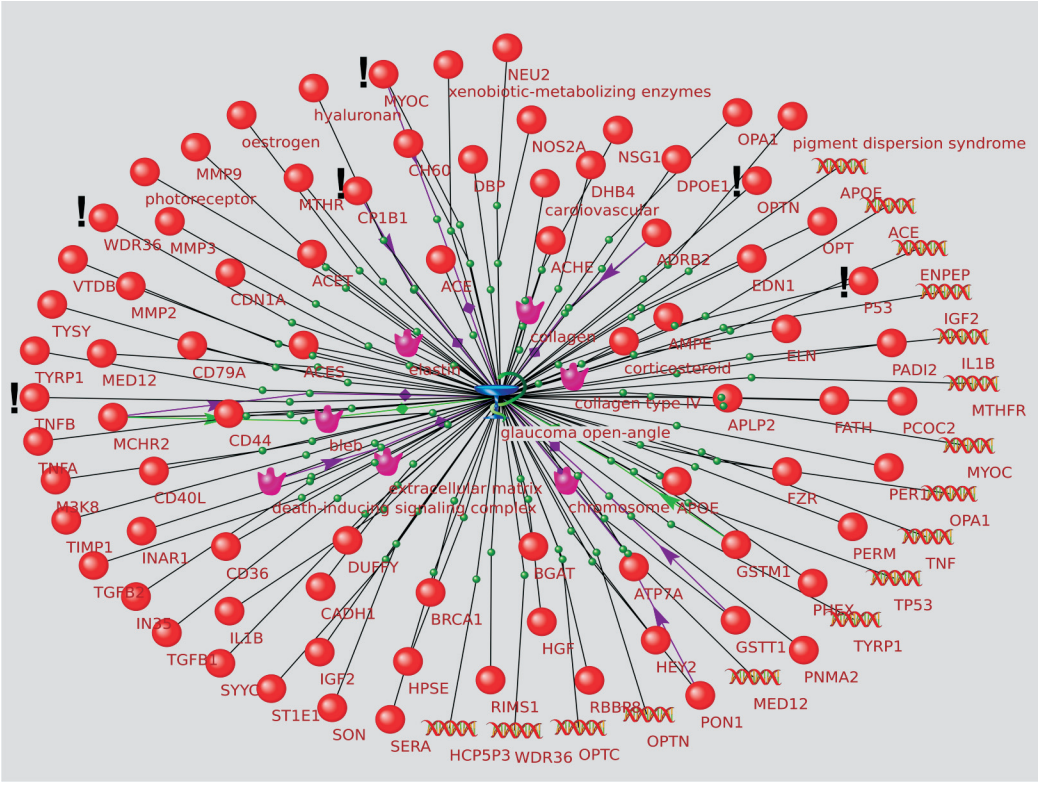
Реконструкция ассоциативных сетей знаний и фактов по миопии и глаукоме

Целью данного исследования был поиск молекулярно-генетических путей, нарушения в которых могут приводить к совместному возникновению двух заболеваний – открытоугольной глаукомы и миопии. На первом этапе исследования было необходимо выявить гены и белки человека, мутации и нарушения в работе

которых ассоциированы с открытоугольной глаукомой, а также миопией. Для этого с помощью программы ANDVisio были построены ассоциативные сети, включающие все белки и гены человека, ассоциированные с этими двумя заболеваниями, представленные в базе знаний системы ANDCell. На рис. 1 представлена сеть ассоциаций ПОУГ с различными белками и генами человека. Выявлено 74 ассоциации ПОУГ с различными белками и белковыми комплексами, 15 ассоциаций с генами и 5 с клеточными компонентами и структурами. Отметим, что данная сеть содержит наряду с генами и белками, ассоциация которых с глаукомой описана в большом количестве публикаций, и такие, связи которых с данной патологией посвящены единичные публикации.

Из генов, ассоциация которых с глаукомой в достаточной мере изучена, назовем, прежде всего, ген *MYOC*, кодирующий белок миоцилин. Миоцилин – секретируемый белок с неизвестной функцией. Показано, что он играет важную роль в развитии и нормальном функционировании глаза. *MYOC* экспрессируется в тканях глаза, в том числе и в трабекулярной сети и цилиарном теле, которые играют важнейшую роль в регуляции внутриглазного давления, повышение которого является одним из патогенетических факторов развития ПОУГ (Kwon *et al*., 2009). В различных этнических группах выявлено более 70 мутаций гена *MYOC* (Gong *et al*., 2004). Показана ассоциация ряда мутаций в кодирующей части гена *MYOC* с первичной открытоугольной глаукомой. Отмечают, что формирование глаукомы у носителей таких мутаций зависит от факторов внешней среды, а также сочетания с мутациями в других локусах. (Gong *et al*., 2004).

Другой ген, присутствующий в этой сети, ассоциация которого с глаукомой также хо-



– белки; – гены; – клеточные компоненты; – заболевания;

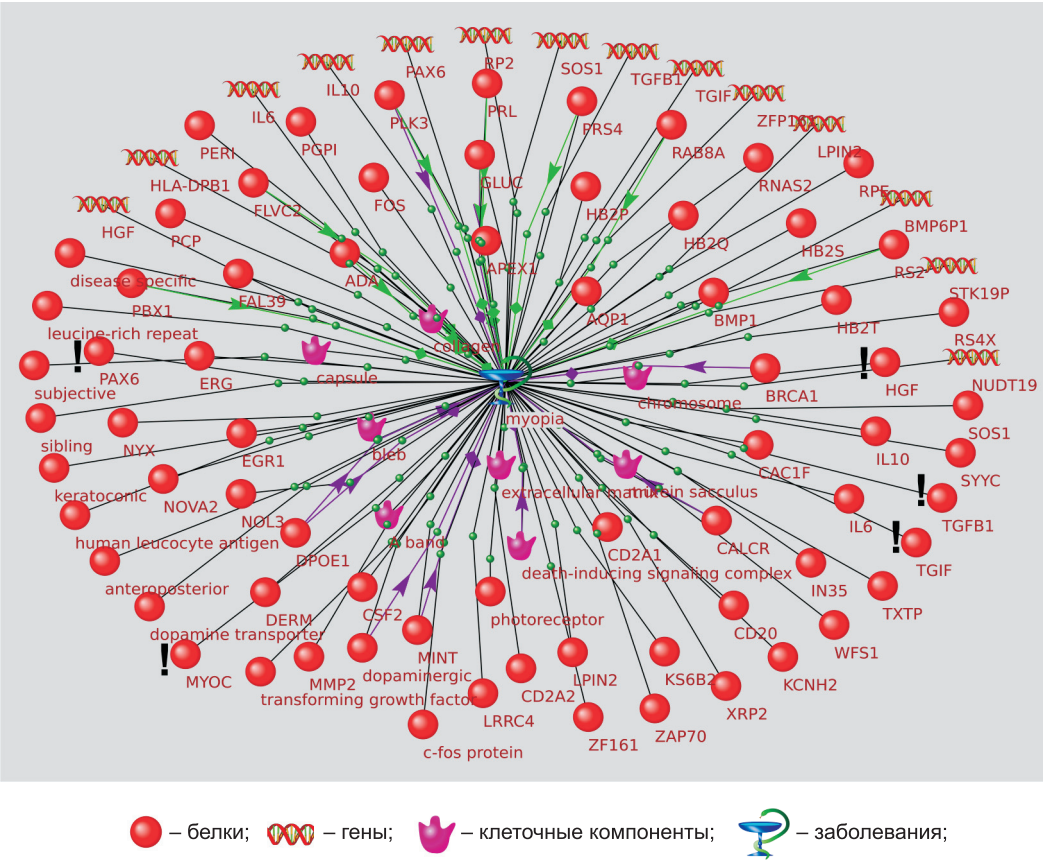
Рис. 1. Ассоциативные сети связей первичной открытоугольной глаукомы с генами, белками и клеточными компонентами.

! – белки, гены которых ассоциированы с данной патологией.

рошо известна, – *OPTN*, кодирующий белок оптиневрин. Так же, как и *MYOC*, этот ген экспрессируется в клетках трабекулярной сети. Он реагирует увеличением экспрессии на стимулы, приводящие к повышению внутриглазного давления, такие, как TNFα и дексаметазон (Vittitow, Borrás, 2002). Выявлены мутации гена *OPTN*, ассоциированные с первичной открытоугольной глаукомой (Sarfarazi, Rezaie, 2003). Высказывается мнение, что одновременное присутствие мутаций в генах *OPTN*, *MYOC* и ряда других увеличивает риск развития глаукомы (Funayama *et al*., 2004; Fan *et al*., 2005). Среди представленных в сети белков и генов, ассоциация которых с глаукомой описана в различных популяциях и этнических группах, можно также отметить ген *APOE*, кодирующий аполипопротеин E (Fan *et al*., 2005; Al-Dabbagh *et al*., 2009), *p53* (p53) (Lin *et al*., 2002), *CYP1B1* (Kumar *et al*., 2007), *WDR36* (Monemi *et al*., 2005).

В данной сети, кроме того, представлены и такие гены и белки, ассоциации которых с ПОУГ изучена в меньшей степени. Нарушения в их функционировании, вероятно, могут также вносить некоторый вклад в развитие открытоугольной глаукомы. Представленные в данной сети гены и белки могут быть объединены в некоторые функциональные группы. Например, факторы роста (HGF, IGF2 и др.), белки и гены, задействованные в иммунном ответе (PERM, IL1B и др.), металлопротеиназы (MMP2, MMP3, MMP9), белки внеклеточного матрикса (коллагены и эластины др.), транскрипционные факторы, белки, обеспечивающие протекание апоптоза (BRCA1, TNFα и др.), и ряд других.

Аналогичная сеть, построенная для демонстрации ассоциаций миопии с белками и генами, представлена на рис. 2. Выявлены 63 ассоциации с белками, 15 с генами, 5 с клеточными компонентами и структурами. Здесь так же, как



– белки; – гены; – клеточные компоненты; – заболевания;

Рис. 2. Ассоциативные сети связей миопии с генами, белками и клеточными структурами.

! – белки, гены которых ассоциированы с данной патологией.

и в ассоциативной сети глаукомы, можно выделить гены, ассоциация которых с миопией изучена в значительной степени, это, прежде всего, гены *HGF* и *PAX6*. Ген *HGF* кодирует один из полифункциональных цитокинов – фактор роста гепатоцитов. Белок HGF секретируется мезенхимальными клетками и действует как мультифункциональный цитокин на клетки, главным образом, эпителиального происхождения, регулирует их рост, подвижность и морфогенез, активируя тирозинкиназный каскад после связывания со своим рецептором. HGF и его рецептор играют важную роль во множестве физиологических и патологических процессов, протекающих в тканях глаза. В гене *HGF* был выявлен ряд полиморфизмов, ассоциированных с риском миопии высоких степеней в китайской и умеренной в европейской популяциях (Han *et al*., 2006; Yanovitch *et al*., 2009).

Ген *PAX6* кодирует транскрипционный фактор PAX6. Данный транскрипционный фактор важен для развития глаза, носа, а также центральной нервной системы и поджелудочной железы. Полиморфизмы и мутации гена *PAX6* ассоциированы с целым рядом патологий глаза, в том числе и с предрасположенностью к миопии (Hewitt *et al*., 2007; Tsai *et al*., 2008; Ng *et al*., 2009).

Можно также отметить представленные в этой сети гены *MYOC*, *TGF1B*, *TGIF*, ассоциация с миопией которых показана в некоторых исследованиях (Tang *et al*., 2007; Pertile *et al*., 2008; Zha *et al*., 2009). Так же, как и в ассоциативной сети глаукомы, в этой сети можно обнаружить и такие гены и белки, связь которых с данной патологией менее изучена. Заметим, что они могут быть объединены в схожие функциональные группы, хотя состав этих групп несколько различается (рис. 2). Особо отметим, что некоторые из генов и белков, в частности MYOC, MMP2, TGFB1, BRCA1, SYYC, HGF, обнаруживаются в обеих ассоциативных сетях. С некоторой степенью вероятности можно предположить, что нарушения их функционирования будут способствовать одновременному развитию этих двух патологий. Гены, присутствующие в обеих ассоциативных сетях, представляют определенный интерес как возможные гены-кандидаты для генотипирования этих заболеваний или экспрессионного профилирования.

Реконструкция ассоциативных сетей потенциальных механизмов взаимосвязи миопии и глаукомы

Следующим шагом нашей работы была реконструкция сети молекулярных взаимодействий между генами и белками человека, ассоциированными с открытоугольной глаукомой, с одной стороны, и миопией – с другой стороны. В сеть включаются не только объекты, непосредственно ассоциированные с патологией (сети первого уровня), но и молекулярно-генетические объекты, которые ассоциированы с ними (сети более высоких уровней). Построение таких сетей позволяет выявить длинные цепочки молекулярных взаимодействий, которые могут соединять две патологии. Построенная нами сеть 4-го уровня содержит около 200 различных белков и генов, ассоциированных с открытоугольной глаукомой и миопией, и более чем 2000 взаимодействий между ними. С помощью фильтров, встроенных в программу ANDVisio, эта сеть была редуцирована таким образом, что в ней остались только самые значимые объекты и связи между ними (рис. 3, а). Чтобы проследить отдельные регуляторные пути, ассоциированные одновременно с открытоугольной глаукомой и миопией, мы использовали модуль Pathway Discovery компьютерной системы ANDCell. Этот модуль позволяет прослеживать отдельные метаболические, сигнальные и другие пути различной длины, включающие заданные объекты, объединенные связями определенного типа и направления.

На рис. 3, б представлен результат работы модуля Pathway Discovery, демонстрирующий один из возможных путей ассоциаций открытоугольной глаукомы и миопии. Этот путь связывает миопию (myopia) и глаукому (glaucoma) через белок PAX6, ген *OLFM3*, его белковый продукт NOE3, а также белок MYOC.

Рассмотрим ассоциации, присутствующие в этом пути, более детально.

1. [**myopia – PAX6**]. Эта ассоциация была рассмотрена в предыдущем разделе данной статьи.

2. [**PAX6 – OLFM3**]. Транскрипционный фактор PAX6 активирует транскрипцию гена *OLFM3*, обеспечивая увеличение его экспрессии (Grinchuk *et al*., 2005).

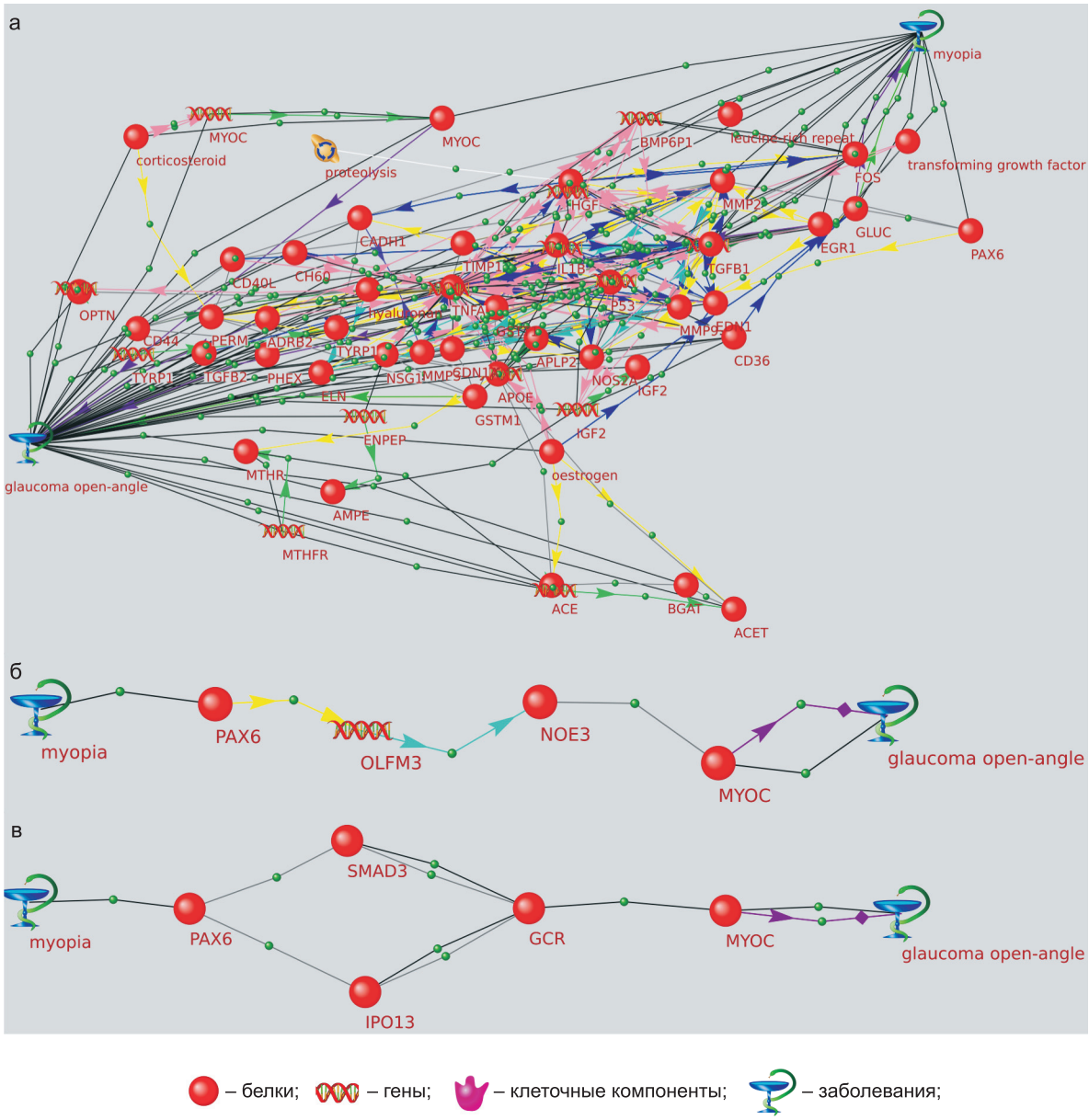


Рис. 3. Молекулярно-генетические пути, ассоциированные с открытоугольной глаукомой и миопией.

а – наиболее значимые взаимодействия между генами и белками человека, ассоциированными с открытоугольной глаукомой и миопией; б – пример пути, направленного от миопии к глаукоме; в – пример пути с нечетко определенным типом и направлением взаимодействий.

3. [**OLFM3 – NOE3**]. В результате активации транскрипции гена *OLFM3* повышается уровень его белкового продукта олфактомедина-3 (на схеме указан его синоним NOE3).

4. [**NOE3 – MYOC**]. Белки NOE3 (олфактомедин-3) и **MYOC** способны образовывать гетеродимерные комплексы.

5. [**MYOC – glaucoma**]. Эта ассоциация была рассмотрена в предыдущем разделе данной статьи.

Белок олфактомедина-3 (NOE3) так же, как и миоцилин (MYOC), демонстрирует высокий уровень экспрессии в трабекулярной сети. Как олфактомедин-3, так и миоцилин обнаруживаются в структурах аппарата Гольджи и являются секретируемыми белками (Torrado *et al*., 2002). Оба белка способны образовывать комплексы, функция которых не известна, но, вероятно, они могут быть важны в развитии и функционировании различных структур глаза.

С-терминальные домены миоцилина и олфактомедина-3, проявляющие высокую степень гомологии, играют важную роль в образовании гетеродимерных комплексов этих белков друг с другом. Следует отметить, что большая часть мутаций гена *MYOC*, ассоциированных с глаукомой, локализуется именно в этом домене (Fingert *et al*., 1999). Мутации гена *MYOC* приводят к сниженной секреции клеткой как самого белка, так и нормального белка миоцилина в трансгенных исследованиях, а также его гетеродимерного партнера олфактомедина-3 (Torrado *et al*., 2002).

Очевидно, нарушения функциональности или уровня экспрессии транскрипционного фактора PAX6, полиморфизмы которого ассоциированы с миопией, способны приводить к нарушению нормальной экспрессии олфактомедина-3. Сочетание этого эффекта с наличием мутаций белка MYOC может способствовать усилению его влияния на развитие глаукомы факторами, способствующими развитию миопии.

Второй пример работы модуля Pathway Discovery представляет путь с нечетко определенным направлением и типом взаимодействий, объединяющий миопию и глаукому через те же белки PAX6 и MYOC с добавлением ряда других белков (рис. 3, в).

1. [**myopia – PAX6**]. Эта ассоциация была рассмотрена ранее.

2. [**PAX6 – IPO13**]. Транспорт в ядро транскрипционного фактора Pax6 обеспечивает ядерный транспортер импортин 13 (IPO13).

3. [**IPO13 – GCR**]. Ядерный транспортер импортин 13 (IPO13) обеспечивает транспорт в ядро транскрипционного фактора GCR.

4. [**GCR – IPO13**]. GCR усиливает экспрессию IPO13.

5. [**GCR – MYOC**]. GCR усиливает экспрессию MYOC.

6. [**GCR – SMAD**]. GCR подавляет активность транскрипционного фактора SMAD.

7. [**SMAD – PAX6**]. SMAD подавляет активность транскрипционного фактора PAX6.

8. [**MYOC – glaucoma**]. Эта ассоциация была рассмотрена ранее.

Рассмотрим этот путь более подробно. Импортин 13, член семейства Kap ß, обеспечивает транспорт в ядро транскрипционных факторов Pax6 и GCR (Ploski *et al*., 2004; Tao *et al*., 2006). Следовательно, функциональность белка IPO13 и его экспрессия определяют уровень этих транскрипцонных факторов в ядре и, в определенной мере, проявление их эффектов. В то же время экспрессия IPO13 является глюкокортиоид-индуцибельной (Zhang *et al*., 2000). Таким образом, между GCR и IPO13 существует положительная обратная связь и нарушение любого из этих двух звеньев будет порождать патологический порочный круг, когда, например, ингибирование IPO13 будет приводить к блокированию поступления GCR в ядро, снижению эффектов глюкокортикоидов и дальнейшему снижению экспрессии самого IPO13. Прослеживая этот путь в направлении открытоугольной глаукомы, можно отметить, что *MYOC*, кодирующий белок миоцилин, также является глюкокортикоид-индуцибельным геном, следовательно, GCR должен влиять на его уровень экспрессии. Известно, что открытоугольная глаукома ассоциирована не с изменениями уровня экспрессии миоцилина, а, скорее, с нарушением его функциональности (Kwon *et al*., 2009). Однако можно отметить, что сочетание нарушения в любом из звеньев этого круга, способствующего увеличению экспрессии IPO13 или GCR, с наличием полимофизмов гена *MYOC*, ассоциированных с развитием глаукомы, приведет к более тяжелому протеканию патологического процесса, так как будет способствовать усиленной экспрессии дефектного белка миоцилина и накоплению его нерастворимых форм в клетках трабекулярной сети, ганглиозных клетках сетчатки и астроцитах, что в конечном итоге приводит к дистрофическим изменениям клеток и их апоптозу, явлениям, сопровождающим развитие глаукомы (Liu, Vollrath, 2004; Kwon *et al*., 2009).

Второй фрагмент этого пути связан с белком SMAD3, который может выступать в двух ролях: как транскрипционный фактор и как модулятор активности транскрипционных факторов. В случае ассоциации SMAD3 и GCR он проявляется как транскрипционный фактор, в случае ассоциации с PAX6 – как модулятор транскрипционной активности. Известно, что GCR может физически взаимодействовать с SMAD3 и подавлять его трансактивационную функцию (Song *et al*., 1999). Однако в данном пути не представлен фрагмент, в котором

SMAD3 выступал бы как транскрипционный фактор, поэтому для выяснения его вклада, вероятно, требуется расширение сети. Ассоциация SMAD3 и PAX6 в данном пути определяется способностью модулятора транскрипции SMAD3 блокировать DNA-связывающий домен фактора PAX6, тем самым подавлять его эффекты (Grocott *et al*., 2007). Подчеркнем, что в результате можно ожидать снижения экспрессии соответствующих генов мишеней PAX6, в том числе и самого гена *PAX6*, который также входит в число мишеней этого фактора (Grocott *et al*., 2007). Следовательно, нарушение функциональности или снижение экспрессии SMAD3 может проявляться в сверхэкспрессии генов-мишеней транскрипционного фактора PAX6, что должно приводить к серьезным морфологическим и функциональным дефектам, поскольку PAX6 является мультифункциональным регулятором дифференцировки и пролиферации тканей, проявляющим свои эффекты как в эмбриональном, так и во взрослом состоянии организма. Отметим, что хотя анализ данного пути не выявил прямого влияния развития одной патологии на появление другой, однако нам удалось выявить в этом пути звенья, которые могут быть ассоциированы с обеими патологиями. Это позволяет предложить элементы данного пути IPO13 и GCR и SMAD3 в качестве потенциальных генов-кандидатов для генотипирования глаукомы и миопии.

Заключение

Использование компьютерной системы ANDCell для реконструкции и анализа ассоциативных сетей является перспективным подходом в исследовании потенциальных молекулярных механизмов взаимосвязей между различными заболеваниями (Aman *et al*., 2007; Ivanisenko *et al*., 2007; Yarkova *et al*., 2007). Эти же подходы успешно применялись для анализа протеомных данных в исследовании молекулярно-генетических особенностей протеома бактерий *H. pylori*, вызывающих рак желудка (Momynaliev *et al*., 2008). Использование системы ANDCell в данной работе позволило выявить ряд молекулярно-генетических путей, нарушения в которых могут приводить к совместному возникновению двух заболеваний – открытоугольной глаукомы и миопии. Эта система оказалась полезным инструментом при выявлении потенциальных генов-кандидатов для генотипирования открытоугольной глаукомы и миопии, что может служить основой для проведения экспериментальных исследований с целью установления реального вклада мутаций в тех или иных генах в патогенез этих заболеваний. Такие исследования позволят расширить существующий на данный момент список генов человека, ассоциированных с миопией и открытоугольной глаукомой, что необходимо для расширения возможностей диагностики этих заболеваний и создания новейших методов для их лечения. Кроме того, предложенные в данной работе гены-кандидаты могут быть использованы для создания микрочипов, позволяющих проводить массовый анализ экспрессионных профилей определенных тканей в норме и при патологии.

Благодарности

Работа частично поддержана Государственным контрактом № 02.514.11.4123, грантами поддержки ведущих научных школ НШ-335.2008.1, НШ-2447.2008.4, программами РАН 22.8, 22.29, 15.2, интеграционными проектами СО РАН № 111, 119.

Литература

Алексеев В.Н., Самусенко И.А. Клинико-морфологические изменения в переднем отрезке глаза при экспериментальной глаукоме // Глаукома. 2004. № 1. С. 3–7.

Волков В.В. Глаукома при псевдонормальном давлении. М., 2001. 275 с.

Деменков П.С., Аман Е.Э., Иванисенко В.А. Associative Network Discovery (AND) – компьютерная система для автоматической реконструкции сетей ассоциативных знаний о молекулярно-генетических взаимодействиях // Вычислительные технологии. 2008. Т. 13. № 2. С. 15–19.

Нестеров А.П. Первичная открытоугольная глаукома: патогенез и принципы лечения // Клиническая офтальмология. 2000. Т. 1. № 1. С. 47–50.

Al-Dabbagh N.M., Al-Dohayan N., Arfin M., Tariq M. Apolipoprotein E polymorphisms and primary glaucoma // Mol. Vis. 2009. V. 15. P. 912–919.

Aman E.E., Demenkov P.S., Nemiatov A., Ivanisenko V.A. Associative network discovery (AND) – Software

package for automated reconstruction of molecular-genetic association networks // Proc. of the 3rd Moscow Conf. on Computational Molecular Biology. Moscow, Russia, 2007. P. 33–34.

Fan B.J., Wang D.Y., Fan D.S. *et al*. SNPs and interaction analyses of myocilin, optineurin, and apolipoprotein E in primary open angle glaucoma patients // Mol. Vis. 2005. V. 11. P. 625–631.

Fingert J.H., Heon E., Liebmann J.M. *et al*. Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations // Hum. Mol. Genet. 1999. V. 8. P. 899–905.

Funayama T., Ishikawa K., Ohtake Y. *et al*. Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in Japanese patients with glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004. V. 45. № 12. P. 4359–4367.

Gong G., Kosoko-Lasaki O., Haynatzki G.R., Wilson M.R. Genetic dissection of myocilin glaucoma // Hum. Mol. Genet. 2004. V. 13. R91–R102.

Grinchuk O., Kozmik Z., Wu X., Tomarev S. The Optimedin gene is a downstream target of Pax6 // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. № 42. P. 35228–35237.

Grocott T., Frost V., Maillard M. *et al*. Refractive error and glaucoma // Acta Ophthalmol. Scand. 2001. V. 79. C. 560–566.

Grocott T., Frost V., Maillard M. *et al*. The MH1 domain of Smad3 interacts with Pax6 and represses autoregulation of the Pax6 P1 promoter // Nucl. Acids Res. 2007. V. 35. P. 890–901.

Han W., Yap M.K., Wang J., Yip S.P. Family-based association analysis of hepatocyte growth factor (HGF) gene polymorphisms in high myopia // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2006. V. 47. № 6. P. 2291–2299.

Hewitt A.W., Kearns L.S., Jamieson R.V. *et al*. PAX6 mutations may be associated with high myopia // Ophthalmic Genet. 2007. V. 28. № 3. P. 179–182.

Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Aman E.E. *et al*. Associative network and protein structure discovery: a software complex for facilitating search of targets for drugs, drug design, and evaluation of molecular toxicity // Proc. of the 3rd Intern. Conf. «Basic Science for Medicine». Novosibirsk, Russia, 2007. P. 92.

Kumar A., Basavaraj M.G., Gupta S.K. *et al*. Role of CYP1B1, MYOC, OPTN, and OPTC genes in adult-onset primary open-angle glaucoma: predominance of CYP1B1 mutations in Indian patients // Mol. Vis. 2007. V. 30. № 13. P. 667–676.

Kwon Y.H., Fingert J.H., Kuehn M.H., Alwar W.L.M. Primary open-angle glaucoma // N. Engl. J. Med. 2009. V. 360. P. 1113–1124.

Lin H.-J., Chen W.-C., Tsai F.-J., Tsai S.-W. Distributions of p53 codon 72 polymorphism in primary open angle glaucoma // Brit. J. Ophthalmol. 2002. V. 86. P. 767–770.

Liu Y., Vollrath D. Reversal of mutant myocilin non-secretion and cell killing: implication for glaucoma // Hum. Mol. Genet. 2004. V. 13. P. 1193–1204.

Loyo-Berríos N.I., Blustein J.N. Primary-open glaucoma and myopia: a narrative review // WMJ. 2007. V. 106. P. 85–95.

Mitchell P., Hourihan F., Sandbach J., Wang J.J. The relationship between glaucoma and myopia: the Blue Mountains Eye Study // Ophthalmology. 1999. V. 106. P. 2010–2015.

Momynaliev K.T., Kashin S.V., Chelysheva V.V. *et al*. Functional divergence of *Helicobacter pylori* related to early gastric cancer // J. Proteome Res. 2010. V. 9. № 1. P. 254–267.

Monemi S., Spaeth G., DaSilva A. *et al*. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1 // Hum. Mol. Genet. 2005. V. 14. P. 725–733.

Ng T.K., Lam C.Y., Lam D.S. *et al*. AC and AG dinucleotide repeats in the PAX6 P1 promoter are associated with high myopia // Mol. Vis. 2009. V. 15. P. 2239–2248.

Pertile K.K., Schäche M., Islam F.M. *et al*. Assessment of TGIF as a candidate gene for myopia // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008. V. 49. № 1. P. 49–54.

Ploski J.E., Shamsher M.K., Radu A. Paired-type homeodomain transcription factors are imported into the nucleus by karyopherin 13 // Mol. Cell Biol. 2004. V. 24. № 11. P. 4824–4834.

Ponte F., Giuffre G., Giammanco R., Dardanoni G. Risk factors of ocular hypertension and glaucoma. The casteldaccia eye study // Doc. Ophthalmol. 1994. V. 85. P. 203–210.

Sarfarazi M., Rezaie T. Optineurin in primary open angle glaucoma // Ophthalmol. Clin. North. Am. 2003. V. 6. P. 529–541.

Saw S.M., Gazzard G., Shih-Yen E.C., Chua W.H. Myopia and associated pathological complications // Ophthal. Physiol. Opt. 2005. V. 25. P. 381–391.

Song C.Z., Tian X., Gelehrter T.D. Glucocorticoid receptor inhibits transforming growth factor-beta signaling by directly targeting the transcriptional activation function of Smad3 // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. № 21. P. 11776–11781.

Tang W.C., Yip S.P., Lo K.K., Ng P.W. *et al*. Linkage and association of myocilin (MYOC) polymorphisms with high myopia in a Chinese population // Mol. Vis. 2007. V. 13. P. 534–544.

Tao T., Lan J., Lukacs G.L. *et al*. Importin 13 regulates nuclear import of the glucocorticoid receptor in airway epithelial cells // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2006. V. 35. № 6. P. 668–680.

Torrado M., Trivedi R., Zinovieva R. *et al*. Optimedin: a novel olfactomedin-related protein that interacts with myocilin // Hum. Mol. Genet. 2002. V. 11. № 11.

P. 1291–1301.

Tsai Y.-Y., Chiang C.-C., Lin H.-J. *et al*. A PAX6 gene polymorphism is associated with genetic predisposition to extreme myopia // Eye. 2008. V. 22. P. 576–581.

Vittitow J.L., Borrás T. Expression of optineurin, a glaucoma-linked gene, is influenced by elevated intraocular pressure // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002. V. 298. P. 67–74.

Wong T.Y., Klein B.E., Klein R. *et al*. Refractive errors, intraocular pressure, and glaucoma in a white population // Ophthalmology. 2003. V. 110. P. 211–217.

Yanovitch T., Li Y.J., Metlapally R. *et al*. Hepatocyte growth factor and myopia: genetic association analyses in a Caucasian population // Mol. Vis. 2009. V. 15. P. 1028–1035.

Yarkova E.E., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. ANDcell: a computer system for automated extraction of knowledge about molecular genetic interactions and regulations from PubMed abstracts and their representation as semantic association networks // Proc. of the VI Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure, Novosibirsk, 2008 (BGRS'2008). Novosibirsk, Russia, 2008. P. 260.

Zha Y., Leung K.H., Lo K.K. *et al*. TGFB1 as a susceptibility gene for high myopia: a replication study with new findings // Ophthalmol. 2009. V. 127. № 4. P. 541–548.

Zhang C., Sweezey N.B., Gagnon S. *et al*. A novel karyopherin-β homolog is developmentally and hormonally regulated in fetal lung // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2000. V. 22. № 4. P. 451–459.

APPLICATION OF THE ANDCELL COMPUTER SYSTEM TO RECONSTRUCTION AND ANALYSIS OF ASSOCIATIVE NETWORKS DESCRIBING POTENTIAL RELATIONSHIPS BETWEEN MYOPIA AND GLAUCOMA

O.A. Podkolodnaya[1], E.E. Yarkova[1], P.S. Demenkov[1], O.S. Konovalova[3], V.A. Ivanisenko[1], N.A. Kolchanov[1,2]

[1] Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: opodkol@bionet.nsc.ru;
[2] Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;
[3] Eye Microsurgery Complex Rosmedtekhnologii, Ekaterinburg Branch, Tyumen Office

Summary

The ANDCell computer system includes a database of knowledge and facts extracted automatically from PubMed. Application of this system allowed reconstruction of an associative network, which represents molecular relationships among proteins, genes, metabolites, and molecular processes associated with myopia and glaucoma. This network contains over 200 proteins and genes and more than 2000 interactions between them, including proteins and genes associated with both open-angle glaucoma and myopia. Reduction of this network and further analysis of molecular pathways revealed candidate genes for simultaneous genotyping of myopia and open angle glaucoma.

Key words: Automated text-mining, associative networks, myopia, glaucoma.

РЕДКОЕ СОЧЕТАНИЕ ДВУХ НОВЫХ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ИНТРОНЕ 16 ГЕНА РЕЦЕПТОРА РИАНОДИНА *RYR1* У СВИНЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ПОРОДЫ

Н.С. Юдин[1], С.П. Князев[2], Р.Б. Айтназаров[1], И.В. Куликов[3], В.Ф. Кобзев[1], Е.В. Игнатьева[1], С.В. Никитин[1], В.И. Ермолаев[1]

[1] Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;
[2] Новосибирский государственный аграрный университет, кафедра разведения и кормления животных, Новосибирск, Россия;
[3] Государственное учреждение НИИ терапии Сибирского отделения РАМН, Новосибирск, Россия

Замена 1843C>T в экзоне 17 гена рецептора рианодина *RYR1* в гомозиготном состоянии вызывает у свиней синдром индуцируемой стрессом или галотаном злокачественной гипертермии, который приводит к значительным экономическим потерям в свиноводстве. У свиней кемеровской породы злокачественная гипертермия встречается с частотой более 40 %, при этом у них выявлена низкая частота мутации 1843C>T.

Целью работы был поиск новых мутаций в экзоне 17 и фланкирующих его участках интронов гена *RYR1* у свиней кемеровской породы. У всех изученных животных мутация 1843C>T отсутствовала. В интроне 16 обнаружены два новых однонуклеотидных полиморфизма (ОНП), 18359T>C и 18361A>G, с частотой редкого аллеля 0,225 и 0,083 соответственно. Замена 18359T>C может быть причиной злокачественной гипертермии, поскольку приводит к нарушению потенциального сайта связывания транскрипционного фактора CTCF, а также может находиться в неравновесии по сцеплению с еще неизвестной мутацией, являющейся причиной формирования патологического фенотипа. Сочетание двух ОНП, разделенных одним нуклеотидом, в интроне гена, выявленных с разной частотой у представителей одной популяции, даже в хорошо изученном геноме человека, встречается очень редко.

Ключевые слова: свинья, злокачественная гипертермия, ген *RYR1*, однонуклеотидный полиморфизм.

Введение

В 1991 г. была описана нуклеотидная замена цитидина на тимидин в экзоне 17 гена *RYR1* рецептора рианодина, который кодирует экспрессирующийся в скелетных мышцах белок кальциевого канала (Fujii *et al*., 1991). Эта замена в 1843-й позиции кДНК (1843C>T) приводит к замене аргинина на цистеин в позиции 615 полипептида (R615C) и в гомозиготном состоянии вызывает у свиней синдром индуцируемой стрессом или галотаном злокачественной гипертермии (Malignant Hyperthermia Syndrome, MHS), также называемый свиным стресс-синдромом (Porcine Stress Syndome, PSS) (Ogawa *et al*., 2004). Поскольку эта мутация также ассоциирована с высоким содержанием более постного мяса в туше, интенсивная селекция в последние десятилетия заметно повысила частоту этой мутации в популяциях свиней (Andersson, Georges, 2004). В результате животные с высоким содержанием мяса часто характеризуются низкой устойчивостью к стрессу, следствием чего является ухудшение качества свинины, замедление роста у поросят, снижение репродуктивных показателей и иммунного статуса (Князев и др., 1998).

Широко применявшийся в мясном свиноводстве до последнего времени галотановый тест не позволял выявить гетерозиготных

носителей мутации. После внедрения метода ДНК-диагностики идентификация таких животных стала возможной и получила широкое распространение в селекционных программах свиноводства по уменьшению генетического груза свиного стресс-синдрома (Ibeagha-Awemu *et al*., 2008).

Однако несмотря на высокую общую корреляцию оценок частоты рецессивного аллеля по результатам галотанового теста и генотипирования ДНК, в некоторых породах они не совпадают. У свиней кемеровской породы, в которой не проводили направленную селекцию против галотан-чувствительности, более 15 лет назад С.П. Князевым и др. (1998) была обнаружена высокая частота MHS и крайне низкая частота мутации 1843C>T. Это позволило авторам высказать предположение о существовании у этих животных неизвестной мутации другого нуклеотида гена *RYR1*. В отличие от свиньи, для которой известна лишь одна патологическая мутация, у человека выявлено 178 мутаций гена *RYR1*, ассоциированных с MHS и другими наследственными миопатиями (Robinson *et al*., 2006). «Горячие точки» мутаций у человека сосредоточены в трех областях – с 2 по 17, с 39 по 46 и с 85 по 103 экзоны.

Целью работы был поиск новых мутаций в экзоне 17 и фланкирующих его участках интронов гена *RYR1* у свиней кемеровской породы.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы крови 60 свиней кемеровской породы (госплемзавод «Юргинский», Кемеровская область). Геномную ДНК выделяли стандартным методом протеолитической обработки с последующей экстракцией фенол-хлороформом. Амплификацию фрагмента гена *RYR1* проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 75 мМ ТрисHCl (pH 9,0), 20 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 0,01 %-й твин, 1,5 мМ $MgCl_2$, по 200 мкМ каждого dNTP, по 1 мкМ каждого праймера, 2,5 ед. активности *Taq*-полимеразы («Сибэнзим», Новосибирск) и 0,5–1 мкг ДНК в течение 34 циклов (94 °C – 1 мин, 64 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин) с предварительной денатурацией при 94 °C – 3 мин. В работе использовали праймеры 5′-TCCAGTTTGCCACAGGTCCTACCA-3′ (прямой) и 5′-ATTCACCGGAGTGGAGTCTCTGAG-3′ (обратный). Праймеры фланкировали фрагмент размером 660 п.н., включавший часть интрона 16 (445 п.н.), весь экзон 17 (134 п.н.) и часть интрона 17 (81 п.н.) гена *RYR1*.

Специфичность продукта ПЦР оценивали методом гель-электрофореза в 4 %-м полиакриламидном геле с окраской бромистым этидием и последующей визуальной идентификацией в ультрафиолете. Секвенирование ДНК проводили на праймерах, использованных для амплификации, с применением набора ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя. Продукты реакции анализировали на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Нуклеотидную последовательность в гене *RYR1* нумеровали согласно последовательности GenBank Z49778. Распознавание сайтов связывания транскрипционных факторов проводили с помощью программы TESS (Schug, 2008). Оценку частоты сочетаний ОНП проводили с использованием данных проекта Hapmap, доступ к которым осуществляли через геномный браузер UCSC (http://genome.ucsc.edu/) (версия генома человека на март 2006 г.) и базу данных dbSNP (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez).

Результаты

У всех 60 изученных животных отсутствовала как мутация 1843C>T, так и описанные ранее ОНП в экзоне 17 в позициях 1878 (Fujii *et al*., 1991) и 1851 (Beja-Pereira *et al*., 2001) на кДНК. Обнаружены два ранее неизвестных ОНП в интроне 16 гена *RYR1* – 18359T>C и 18361A>G (рис. 1). Частота редкого мутантного аллеля для ОНП 18359T>C и 18361A>G составляла 0,225 и 0,083 соответственно (табл. 1). Наблюдаемое распределение генотипов соответствует равновесию Харди–Вайнберга как для ОНП 18359T>C (χ^2 = 0,001, df = 2), так и для ОНП 18361A>G (χ^2 = 0,496, df = 2).

Мутации в двух соседних нуклеотидах, безусловно, – редкое событие. Поэтому мы оценили как часто такие сочетания ОНП встречаются в геноме наиболее изученного в плане генети-

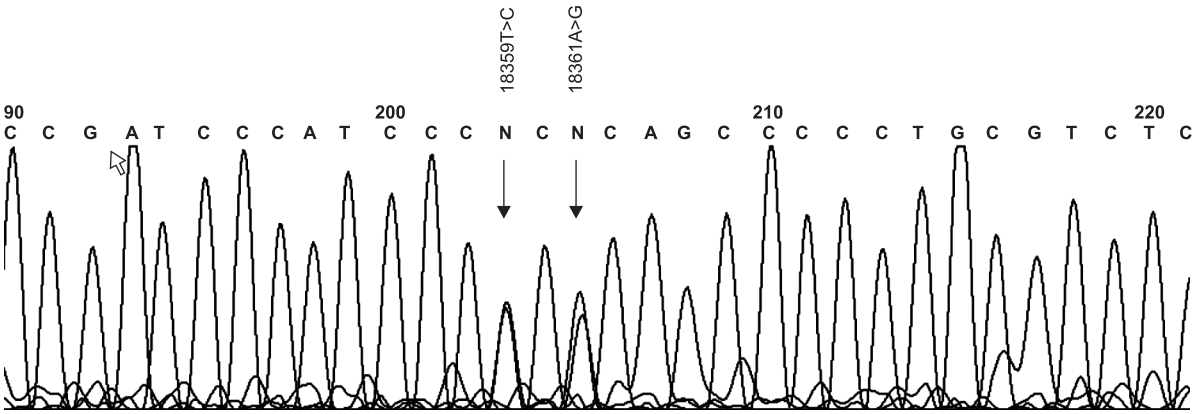


Рис. 1. Типичная секвенограмма фрагмента интрона 16 гена *RYR1*.

Стрелками обозначены позиции новых ОНП.

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей двух новых ОНП в интроне 16 гена *RYR1* у свиней кемеровской породы

ОНП	Генотипы, %			Аллели, %	
	NN	Nn	Nn	N	n
18359T>C	36 (0,600)	21 (0,35)	3 (0,050)	93 (0,775)	27 (0,225)
18361A>G	50 (0,833)	10 (0,167)	0 (0,000)	110 (0,917)	10 (0,083)

Примечание. N и n – распространенный и редкий аллель ОНП соответственно.

ческого разнообразия вида эукариот – человека (табл. 2). Оказалось, что среди 58128 ОНП, генотипированных на 22-й хромосоме человека в четырех популяциях в рамках программы Hapmap, аналогичное сочетание (два ОНП в интроне гена, разделенные одним нуклеотидом, различающиеся по частоте в одной и той же популяции) встречается лишь в 15 случаях (0,03 %). По-видимому, подобное сочетание ОНП в геноме свиньи также является очень редким событием.

Известно, что интроны генов могут содержать сайты связывания белков транскрипционных факторов, взаимодействие которых с ДНК усиливает либо ослабляет транскрипционную активность генов. Для того, чтобы оценить потенциальный эффект обнаруженных ОНП, нами проведено распознавание потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов на участке ДНК, включающем оба ОНП. Обнаружено, что замена тимидина на цитидин в позиции 18359 приводит к нарушению потенциального сайта связывания транскрипционного фактора CTCF (нормальная последовательность CCCTC, мутантная – CCCCC, консенсус CCCTC), который экспрессируется в мышечной ткани (Ohlsson *et al*., 2009).

Обсуждение

Полученные результаты хорошо согласуются с полученными 15 лет назад С.П. Князевым с соавт. (1998) оценками частоты мутации в позиции кДНК 1843C>T у свиней юргинской популяции кемеровской породы. В 1995 г. авторы не обнаружили у 66 основных хряков-производителей аллель T, а частота этого аллеля среди поросят с 1993 по 1995 гг. снизилась в 3 раза: с 4,1 до 1,3 %. ОНП в позициях 1851 и 1878 кДНК были описаны лишь в двух публикациях у свиней пород алентеджано (Beja-Pereira *et al*., 2001) и пьетрен (Fujii *et al*., 1991) в Западной Европе. Кемеровская порода филогенетически никак не связана с этими породами и выведена в результате скрещивания местных сибирских скороспелых свиней с завезенными из европей-

Таблица 2

Сочетания двух ОНП в интроне гена, разделенных одним нуклеотидом, различающихся по частоте в одной и той же популяции проекта Hapmap на 22-й хромосоме человека

№	Ген	1-й ОНП		2-й ОНП		Популяция
		Идентификатор	Позиция	Идентификатор	Позиция	
1	*BCR*	rs5759673	23617555	rs3788359	23617557	Африка
2	*CRYBB1*	rs5761627	27004298	rs2071859	27004300	Европа, Африка, Китай, Япония
3	*EMID1*	rs2239833	29620562	rs132389	29620564	Африка
4	*EMID1*	rs738435	29641739	rs5763094	29641741	Африка
5	*LARGE*	rs9609772	33768875	rs9621687	33768877	Европа, Китай, Япония
6	*LARGE*	rs16992583	33980719	rs9609828	33980721	Европа
7	*LARGE*	rs2253085	34245401	rs5999121	34245403	Африка
8	*CSF2RB*	rs1534879	37328966	rs4339047	37328968	Африка, Китай, Япония
9	*EP300*	rs3818120	41523770	rs3818121	41523772	Китай, Япония
10	*CYB5R3*	rs8190443	43024499	rs8190442	43024501	Африка
11	*PARVB*	rs6006491	44522310	rs1535009	44522312	Африка
12	*NUP50*	rs2673086	45579731	rs2075953	45579733	Китай
13	*ATXN10*	rs6007152	46144505	rs17573516	46144507	Европа, Африка
14	*ATXN10*	rs5765613	46162998	rs9626441	46163000	Китай, Япония
15	*PPARA*	rs4253711	46595033	rs4253712	46595035	Европа, Африка, Китай, Япония

ской части бывшего СССР хряками крупной белой, беркширской, крупной черной и других пород (Гудилин и др., 2003). Низкая частота и отсутствие гомозигот по редкому аллелю ОНП 18361A>G свидетельствуют о его более молодом эволюционном возрасте. Наблюдаемое разнообразие генотипов соответствует существованию трех гаплотипов: TA, CA и CG. Отсюда можно предположить, что наблюдаемое сочетание ОНП возникло в результате двух независимых мутаций и маркирует «горячую точку» мутационного процесса.

ОНП 18359T>C потенциально может воздействовать на уровень экспрессии мРНК гена *RYR1*, вызывая нарушение потенциального сайта связывания транскрипционного фактора CTCF, что может повлиять на проявление синдрома MHS у свиней. При 5-балльной оценке силы реагирования поросят в галотановом тесте (от 1 балла при полном расслаблении скелетной мускулатуры до 5 баллов при очень сильном ее напряжении) многие критерии свидетельствуют о том, что только реакции в 3–5 баллов можно отождествлять с галотан-положительной реакцией, а в 1–2 балла – с галотан-отрицательной (Князев и др., 1998). Кемеровская порода свиней характеризуется широким спектром выраженности реакции у отдельных животных. При высокой общей доле галотан-чувствительных свиней (40,6 %) процент особей с сильной (3–5 баллов) реакцией составляет лишь 7,6 % (Князев и др., 1998). Не исключено, что разная степень реакции свиней на галотан связана с разными генотипами животных по ОНП 18359T>C. Некоторые уже известные мутации, по-видимому, также могут вызывать злокачественную гипертермию у человека посредством нарушения уровня транскрипции мРНК гена *RYR1* (Robinson *et al*., 2006).

Возможно также, что ОНП 18359T>C находится в неравновесии по сцеплению с еще неизвестной мутацией, являющейся причиной формирования патологического фенотипа у свиней кемеровской породы. В пользу этой гипотезы говорит высокая частота этого полиморфизма. Хотя частота особей с сильной галотан-чувствительностью (7,6 %) (Князев и др., 1998) несколько превышает ожидаемую

по закону Харди–Вайнберга частоту гомозигот C/C по нашим данным (5,1 %), эти различия объясняются промежутком времени в 15 лет, прошедшим с первого исследования. Показано, что в ходе селекции на общую крепость животных у кемеровской породы со временем снижается доля свиней с высокой экспрессивностью галотан-чувствительности (Князев и др., 1998). Для поиска истинной «причинной» мутации необходимо ресеквенировать другие районы гена *RYR1*. Наши данные также не отвергают гипотезу (Князев и др., 1998), что причиной MHS-PSS у свиней в некоторых случаях могут быть мутации в других генах.

У свиньи известно 19 ОНП в локусе *RYR1* (Fujii *et al.*, 1991; Beja-Pereira *et al.*, 2001). Полученные нами данные дополняют этот список двумя новыми впервые выявленными ОНП и могут быть использованы при генетическом анализе хозяйственно важных признаков у свиней. Следует отметить, что в плане ОНП маркеров свинья остается крайне малоизученным объектом. В базе данных dbSNP на январь 2010 г. имеется информация всего лишь о 8512 ОНП в геноме свиньи *Sus scrofa*, в то время как для крупного рогатого скота *Bos taurus* их число составляет 2210641, для человека *Homo sapiens* (при сопоставимом размере генома) – 25003333. В 2009 г. компания Illumina (США) выпустила в продажу биочип PorcineSNP60 для генотипирования более 60 тыс. ОНП свиньи, однако подробная информация по ним пока не внесена в общедоступные базы данных (Ramos *et al.*, 2009).

Таким образом, у свиней кемеровской породы отсутствует полиморфизм ДНК в экзоне 17 гена *RYR1*. Поиск новых мутаций выявил два ранее неизвестных ОНП в интроне 16: 18359T>C и 18361A>G. Полиморфизм 18359T>C потенциально может влиять на уровень экспрессии мРНК гена *RYR1*, а также находиться в неравновесии по сцеплению с неизвестной мутацией, являющейся причиной злокачественной гипертермии/свиного стресс-синдрома.

Сочетание двух ОНП, разделенных одним нуклеотидом, в интроне гена, с сильно различающейся частотой в одной и той же популяции даже в хорошо изученном геноме человека встречается очень редко, а для домашней свиньи такое явление, обнаруженное в настоящей работе, представляется уникальным.

Исследование поддержано грантом подпрограммы «Динамика генофондов» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов» и проектом № 29 программы РАН «Биологическое разнообразие».

Литература

Гудилин И.И., Дементьев В.Н., Тараканов Е.А. и др. Кемеровская порода свиней. Новосибирск: Редакционно-полиграфическое объединение СО РАСХН, 2003. 388 с.

Князев С.П., Жучаев К.В., Гарт В.В., Хардге Т. Проблемы дискордантности и косегрегации экспрессии галотан-чувствительности свиней с мутацией 1843 C-T в локусе *RYR1* рецептора рианодина // Генетика. 1998. Т. 34. № 12. С. 1648–1654.

Andersson L., Georges M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits // Nat. Rev. Genet. 2004. V. 5. P. 202–212.

Beja-Pereira A., Bento P., Ferrand N., Brenig B. Genetic polymorphism of the 17th Exon at the Porcine RYR1 locus: a new variant in a local Portuguese pig breed demonstrated by SSCP analysis // J. Anim. Breed. Genet. 2001. V. 118. P. 271–274.

Fujii J., Otsu K., Zorzato F. *et al*. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia // Science. 1991. V. 253. P. 448–451.

Ibeagha-Awemu E.M., Kgwatalala P., Ibeagha A.E., Zhao X. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig // Mamm. Genome. 2008. V. 19. P. 226–245.

Ogawa Y. Dysregulation of the gain of CICR through ryanodine receptor1 (RyR1): the putative mechanism underlying malignant hyperthermia // Adv. Exptl. Med. Biol. 2007. V. 592. P. 287–294.

Ohlsson R., Lobanenkov V., Klenova E. Does CTCF mediate between nuclear organization and gene expression? // BioEssays. 2009. V. 32. P. 37–50.

Ramos A.M., Crooijmans R.P., Affara N.A. *et al.* Design of a high density SNP genotyping assay in the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology // PLoS One. 2009. V. 4. P. e6524.

Robinson R., Carpenter D., Shaw M.A. *et al*. Mutations in RYR1 in malignant hyperthermia and central core disease // Hum. Mutat. 2006. V. 10. P. 977–989.

Schug J. Using TESS to predict transcription factor binding sites in DNA sequence // Curr. Protoc. Bioinformatics. 2008. Chapter 2:Unit 2.6.

A RARE COMBINATION OF TWO NEW SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN INTRON 16 OF THE *RYR1* GENE IN THE KEMEROVO PIG BREED

N.S. Yudin[1], S.P. Knyazev[2], R.B. Aitnazarov[1], I.V. Kulikov[3], V.F. Kobzev[1], E.V. Ignatieva[1], S.V. Nikitin[1], V.I. Ermolaev[1]

[1] Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;
[2] Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia;
[3] Institute of Internal Medicine, SB RAMS, Novosibirsk, Russia

Summary

The homozygous state for the 1843C>T substitution in exon 17 of the ryanodine receptor gene *RYR1* causes the stress- or halothane-induced malignant hyperthermia syndrome in pigs, which leads to notable economic losses in pork production. Malignant hyperthermia was found among pigs of Kemerovskaya breed at a frequency more than 40 %, while they had a low frequency of 1843C>T mutation. The aim of this study was to scan the 17th exon and flanking regions of introns of the *RYR1* gene in Kemerovskaya breed pigs for unknown mutations. The 1843C>T mutation was absent from all animals under study. Two new single nucleotide polymorphisms (SNPs), 18359T>C and 18361A>G, were identified in the 16th intron with minor allele frequencies: 0,225 and 0,083, respectively. The 18359T>C substitution can cause malignant hyperthermia by abolishing the potential binding site of the CTCF transcription factor. It also can be in linkage disequilibrium with an unknown mutation causative of the pathological phenotype. A combination of two SNPs, separated by one nucleotide, in an intron of a gene, which occur in representatives of one population at different frequencies, is a very rare phenomenon even in the well-studied human genome.

Key words: pig, malignant hyperthermia, *RYR1* gene, single nucleotide polymorphism.

НОВАЯ ФОРМА МИСКАНТУСА КИТАЙСКОГО (ВЕЕРНИКА КИТАЙСКОГО *MISCANTHUS SINENSIS* ANDERS.) КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

В.К. Шумный, С.Г. Вепрев, Н.Н. Нечипоренко, Т.Н. Горячковская, Н.М. Слынько, Н.А. Колчанов, С.Е. Пельтек

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: peltek@bionet.nsc.ru

Интродуцирована в условиях Западной Сибири дальневосточная популяция мискантуса китайского (Miscanthus sinensis Andersson). Выделена форма с измененной структурой корневой системы, образующая длинные побеги с ростовыми почками, которая быстро колонизирует почвенное пространство, создавая сплошную и ровную (без кочек) плантацию мискантуса. Показано, что используя обычные агротехнологии, можно получать 10–15 тонн сухой биомассы с гектара в год с содержанием высококачественной целлюлозы около 40 %.

Ключевые слова: целлюлоза, лигнин, биомасса, целлюлозосодержащее сырье, мискантус китайский, вегетативное размножение растений.

В настоящее время промышленное значение имеют лишь два источника целлюлозы – хлопок и древесная биомасса. Хлопок представляет собой почти чистую целлюлозу и не требует сложной обработки. Древесная масса содержит 40–44 % целлюлозы (/www.chemport.ru/chemical_encyclopedia). В качестве альтернативного целлюлозосодержащего сырья могут использоваться растения с относительно низким содержанием лигнина, в которых основная масса структурных элементов представлена целлюлозой. Введение в культуру видов растений, дающих высокие урожаи биомассы с высоким содержанием целлюлозы, выращиваемых традиционными методами сельского хозяйства, может оказаться весьма перспективным способом вовлечения новых источников высококачественной целлюлозы для многоцелевого использования. В мире проводятся исследования по оценке богатых целлюлозой растений как перспективных источников сырья для химической промышленности и производства энергии (Heaton *et al*., 2008).

В базе данных IENICA (Interactive European Network for Industrial Crops and their Application) – CROPS DATABASE (www.ienica.net/cropsdatabase.htm) находятся сведения о более чем 90 родах и видах растений, которые являются перспективными и активно изучаются как источники сырья для химической и топливно-энергетической промышленности. Все это травянистые растения, пригодные для возделывания традиционными методами сельскохозяйственного производства. Повышенное внимание к такому типу растений вполне оправданно, так как большинство из них размножаются семенами, могут возделываться в традиционных сельскохозяйственных регионах и обладают высокой скоростью накопления целлюлозосодержащей биомассы в стеблях. Среди них всем известные виды: пшеница, овес, кукуруза, крапива, конопля, подсолнечник, лен и т. д. В последнее время список видов-кандидатов активно пополняется.

Одним из нетрадиционных видов является *Miscanthus sinensis* (Andersson) – мискантус китайский или Веерник китайский. В англоязычной литературе его заслуженно называют elephant grass. Растения действительно гигантские, до 3 м высотой. Мискантус – род

многолетних травянистых растений семейства мятликовых. К роду *Miscanthus* относят более 20 видов, распространенных от тропической и Южной Африки до Восточной и Юго-Восточной Азии. В России на Дальнем Востоке встречается 3 вида: мискантус сахароцветковый (*Miscanthus sacchariflorus*), мискантус краснеющий (*Miscanthus purpurascens*), мискантус китайский (*Miscanthus sinensis*) (Открытый иллюстрированный атлас …., http://www.plantarium.ru/page/view/item/41884.html_).

Систематика рода не устоявшаяся и постоянно подвергается пересмотру. Определение хромосомных чисел у различных видов не упрощает ситуации: 4 вида из 14 изученных представляют собой анизоплоидные популяции (смесь растений различной плоидности, вероятно, от диплоидов – 38 хромосом, до гексаплоидов – 114 хромосом), у 3 видов зафиксировано различное число хромосом в соматических клетках, в том числе у *Miscanthus sinensis* (Andersson): 35, 36, 38, 40, 41, 42, 57 (Хромосомные числа …, 1969).

В настоящее время мискантус китайский (Веерник китайский) получил широкое распространение как декоративное растение. Создано множество форм и сортов, некоторые из них достаточно экзотичны, например, формы с полосатыми листьями. В большинстве случаев мискантус привлекателен как элемент живых изгородей, а его метелка – как элемент зимних букетов. Веерник китайский в связи с хорошей урожайностью сухой биомассы, засухоустойчивостью и зимостойкостью активно рассматривается как сырьевой источник целлюлозы. Действительно, по данным IENICA – CROPS DATABASE (вероятно, для формы *giganteus*, используемой в Европе), его продуктивность составляет 11,7–25,3 т сухой биомассы с гектара в год. В Дании зафиксирован сбор 44 т сухой биомассы/га/год. Результаты определения химического состава подтверждают содержание целлюлозы в пределах 44 %, лигнина 17 %, гемицеллюлозы 24 % (www.ienica.net/cropsdatabase.htm, Dohleman, Long, 2009).

Размножение и выращивание мискантуса. Общие принципы размножения и выращивания мискантуса в настоящее время хорошо разработаны для условий Европы и США. Существующие формы мискантуса китайского семян не завязывают и их размножение возможно только корневищами. Корневища достаточно короткие (5–10 см), образуются в течение вегетации, зимуют, а весной дают новые побеги. В результате происходит медленная колонизация пространства с образованием сильно разросшихся кочек. Рассадку проводят весной отдельными короткими корневищами, обычно размещая их рядами с широкими междурядьями (60–75 см). Мискантус нетребователен к почвам, но на плантации необходимо внесение полной нормы минеральных удобрений. Максимальная продуктивность посадок достигается на 3–4-й год, после чего ежегодный урожай биомассы сохраняется до 15–20 лет (www.ienica.net/cropsdatabase.htm).

Новая форма, мискантуса китайского (*Miscanthus sinensis*). Перспективность вида как источника целлюлозы стимулировала поиск новых форм, подходящих к агропромышленным технологиям в условиях Западной Сибири.

Более 10 лет тому назад экспедиция Института цитологии и генетики СО РАН, работавшая на Дальнем Востоке по заданию академика В.К. Шумного (группа В.А. Годовиковой) при участии известного ботаника из ДВО РАН академика П.Г. Горового, исследовала популяции растений мискантуса китайского на побережье Тихого океана. Первые образцы этих популяций были привезены в г. Новосибирск, размножены, и в Институте цитологии и генетики СО РАН начались популяционно-генетические и селекционные исследования этого вида и пополнение коллекции дальневосточных образцов. В результате выделена необычная форма с очень длинными корневищами, которые быстро колонизируют почвенное пространство, и создается сплошная ровная плантация мискантуса. При укладке таких длинных корневищ в борозды с междурядьями 60 см на третий год плантация мискантуса представляла собой сплошные заросли растений высотой 2–2,5 м (рис. 1). В последующие годы плотность стеблей стабилизировалась на уровне 200–220 на м^2. Корневища образовали в почве на глубине 5–20 см сплошную сеть, их длина составила 60–65 м/м^2. Дальнейшее изучение образования корневищ показало, что за сезон они вырастают до метра и более, кроме того, вдоль них закладываются почки, которые и обеспечивают сплошное отрастание новых побегов. Такой способ раз-

Рис. 1. Июньские всходы мискантуса после посадки во второй половине мая, слева; 8-летняя плантация мискантуса в августе, справа, Новосибирск, 2008.

множения позволяет существенно упростить рассадку растений: во-первых, корневища легко отделить друг от друга; во-вторых, они легко укладываются в борозды сплошной лентой.

Для анализа продуктивности опытных плантаций проводили пробные укосы. Выход соломы составил в среднем по годам 10–15 т с гектара. Солома хорошего качества, с содержанием целлюлозы, пригодной для многоцелевого использования, около 40 %. Полученные нами показатели сравнимы с данными из IENICA – CROPS DATABASE для европейских форм мискантуса (см. выше), но они получены для условий юга Западной Сибири при более коротком вегетационном периоде и перезимовках в резко континентальном климате. Кроме того, плантация со сплошным размещением растений позволяет проведение агротехнических мероприятий только в ранневесенний период (май) – внесение удобрений с последующим поверхностным рыхлением почвы.

Изучение биологии новой формы мискантуса показало, что возможно создание агропромышленной технологии производства целлюлозосодержащего сырья как альтернативного источника целлюлозы многоцелевого назначения. Ясно, что необходимо сделать оценку эффективности агропромышленного способа производства целлюлозосодержащего сырья сравнительно с традиционной вырубкой лесов.

Эффективность агропромышленной технологии производства целлюлозы. Нами показано, что новая форма мискантуса китайского и предложенная технология ее выращивания способна в условиях Западной Сибири дать урожай сухой биомассы (целлюлозосодержащее сырье) на уровне 10–15 т/га/год. Для формирования многолетней устойчиво функционирующей плантации (на 15–20 лет) необходимо 2–3 года. Лесные массивы накапливают биомассу десятилетиями, 100–140 лет – это нормальный возраст спелого леса. Легко сравнить эффективность накопления сухой биомассы лесами разных пород и при агропромышленном выращивании мискантуса как технической культуры (см. рис. 2).

Эффективность накопления сухой биомассы плантацией мискантуса рассчитана для 20-летнего цикла, причем скашивание начинается со второго года после посадки и производится ежегодно. После 20 лет вегетации плантация уничтожается и закладывается новая. Расчет сделан исходя из минимальной продуктивности мискантуса в условиях Западной Сибири (10 т/га/год), начиная с третьего года существования плантации. Продуктивность плантации второго года принята 5 т/га/год. Таким образом, за 20 лет продуктивность плантации мискантуса составит 185 т с гектара.

Плантации мискантуса существенно превосходят по эффективности накопления биомассы лучшие леса умеренной зоны Евроазии (рис. 2). Можно рассчитать среднегодовой прирост биомассы по принятой нами схеме возделывания мискантуса в сравнении со справочными данными для лесов Iа бонитета (Справочник …, 1954) (табл.).

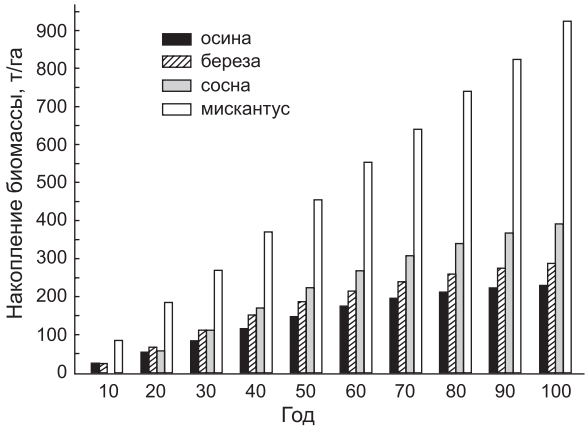


Рис. 2. Накопление биомассы при производстве мискантуса в сравнении с основными древесными породами Iа бонитета.

Расчеты продуктивности лесных пород взяты для лесов Iа бонитета, т. е. самых лучших (Справочник …, 1954). Период в 100 лет соответствует 5 полным агротехническим циклам мискантуса.

В целом по России средний запас древесной биомассы на 1 га в спелых и перестойных лесах, возможных для эксплуатации, колеблется от 75 т до 175 т, но следует учесть, что более половины всех лесов России произрастает на вечномерзлотных почвах Сибири и Дальнего Востока. Это обусловливает их низкую продуктивность. Лишь 55 % площади этих лесов представляют интерес для эксплуатации. Из этих 55 % многие лесные массивы отдаленны и труднодоступны (Леса …, 2005). В социальном плане агропромышленная технология производства целлюлозосодержащего сырья имеет несомненные преимущества.

Мискантус является технической культурой, и отводить под его плантации плодородные пахотные земли нет необходимости. Нетребовательность к почвам – его безусловное преимущество. Только в Новосибирской области из севооборота за последние годы выведено более 1 млн га. Эти земли не оправдывают себя при возделывании на них зерновых культур. При наличии минеральных удобрений на них с успехом можно развернуть производство культуры мискантуса.

Таким образом, можно сделать вывод о перспективности организации агропромышленного производства целлюлозосодержащего сырья на основе технологии выращивания технической культуры мискантуса китайского как дополнительного источника высококачественной целлюлозы. Несомненно, что набор подобных технических культур должен расширяться. Необходимы поиск и изучение нетрадиционных для земледелия видов с целью разработки технологий их выращивания и переработки.

Таблица

Среднегодовой прирост биомассы при производстве мискантуса и в лесах Iа бонитета

Мискантус, т/га	Сосна, т/га	Береза, т/га	Осина, т/га	Среднее по России, т/га*
9,3	3,6	3,4	2,7	0,6

* Ежегодный средний прирост древесины в лесах России, покрытых лесной растительностью (Леса …, 2005).

Проведенные в условиях Новосибирской области исследования популяции мискантуса китайского позволяют сделать следующие выводы.

1. Популяция обладает высокой зимостойкостью в условиях Западной Сибири в отличие от видов мискантуса, используемых в европейских странах.

2. Мискантус китайский является многолетним злаком и начиная с третьего года культивирования может ежегодно на протяжении 20 лет продуцировать на одном поле до 10–15 т/га сухой биомассы, что соответствует 4–6 т/га чистой целлюлозы высокого качества.

Благодарности

Работа выполнена в рамках междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН № 73.

Литература

/www.chemport.ru/ chemical_encyclopedia.

IENICA (Interactive European Network for Industrial Crops and their Application) – CROPS DATABASE [www.ienica.net/cropsdatabase.htm]

Heaton E.A., Dohleman F.G., Long S.P. Meeting US biofuel goals with less land: the potential of Miscanthus // Global Change Biol. 2008. V. 14. P. 2000–2014.

Хромосомные числа цветковых растений / Под ред. А.А. Федорова. АН СССР. Ботанический ин-т им.

В.Л.Комарова. Л.: Наука, 1969. С. 541.
Dohleman F.G., Long S.P. More productive than maize in the midwest: how does miscanthus do it? // Plant Physiol. 2009. V. 150. № 4. P. 2104–2115.
Справочник работника лесного хозяйства. Минск: Изд-во АН БССР, 1954. С. 468–509.
Леса России 2005 // Рос. лесная газета. 2006. Март. № 8/10. С. 138–140.

A NEW VARIETY OF CHINESE SILVER GRASS (*MISCANTHUS SINENSIS* ANDERS.) IS A PROMISING SOURCE OF CELLULOSIC MATERIAL

V.K. Shumny, S.G.Veprev, N.N. Nechiporenko, T.N. Goryachkovskaya, N.M. Slynko, N.A. Kolchanov, S.E. Peltek

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: peltek@bionet.nsc.ru

Summary

The Far East population of Chinese silver grass (*Miscanthus sinensis* Anderss.) was introduced in West Siberia. A variety with altered root system structure was isolated that formed long shoots with leader buds. This variety rapidly colonizes soil to form contiguous and even bed without tussocks. With common agricultural operations, the yield of dry biomass containing about 40 % cellulose is 10–15 t/ha dry mass.

Key words: cellulose, lignin, biomass, cellulosic biomass, Miscanthus sinensis, vegetative reproduction of plants.

ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ, НЕСУЩИХ ГЕНЫ АЦИЛ-ЛИПИДНЫХ ДЕСАТУРАЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

И.М. Герасименко[1], Л.А. Сахно[1], И.С. Головач[1], Е.М. Кищенко[1], Я.Р. Синдаровская[1], Х.Р. Шимшилашвили[2], Ю.В. Шелудько[1], И.В. Голденкова-Павлова[2]

[1] Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина, e-mail: ysheludko@ukr.net;
[2] Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, e-mail: irengold@vigg.ru

Увеличение степени ненасыщенности остатков жирных кислот в клеточных мембранах является одним из механизмов адаптации растений к понижению температуры. Гетерологическая экспрессия генов десатураз жирных кислот, которые определяют образование двойных связей в углеводородных цепочках, позволяет изменить состав жирных кислот мембран и повысить холодоустойчивость растений. С целью изучения механизмов холодовой адаптации и получения растений с новыми признаками была проведена генетическая трансформация как модельных объектов (теплолюбивого *Nicotiana tabacum* и холодостойкого *Arabidopsis thaliana*), так и ценных сельскохозяйственных видов (*Latuca sativa*, *Brassica napus*) генами ацил-липидных десатураз *des*C (Δ9) *Synechococcus vulcanus* и *des*A (Δ12) *Synechocystis* sp. PCC 6803. Слияние генов десатураз в одной рамке считывания с репортерным геном термостабильной лихеназы *Clostridium thermocellum* позволило отобрать линии табака и арабидопсиса, в которых происходит экспрессия целевых генов.

Ключевые слова: десатуразы жирных кислот, *Synechocystis*, *Synechococcus*, термостабильная лихеназа *Clostridium thermocellum*, генетическая трансформация, *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis thaliana*, *Latuca sativa*, *Brassica napus*, холодоустойчивость.

Введение

Исследование механизмов устойчивости растений к неблагоприятным абиотическим факторам и создание новых устойчивых форм ценных сельскохозяйственных видов приобретают особое значение в условиях глобальных климатических изменений и увеличивающегося загрязнения окружающей среды. Увеличение степени ненасыщенности остатков жирных кислот в клеточных мембранах является одним из механизмов адаптации растений к понижению температуры (Iba, 2002; Sakamoto, Murata, 2002). Введение дополнительных двойных связей в углеводородные цепочки липидного бислоя приводит к уменьшению температуры фазового перехода из жидкокристаллического в твердое состояние и обеспечивает необходимую текучесть мембран при пониженных температурах (Los, Murata, 2004; Guschina, Harwood, 2006). Образование двойных связей в остатках жирных кислот катализируют десатуразы жирных кислот (Лось, 2001). Эти ферменты распространены во всех группах живых организмов, они обнаружены у всех исследованных объектов за исключением некоторых видов бактерий, например *Escherichia coli* (Лось, 2001).

Хорошо изучены ацил-липидные десатуразы цианобактерий, которые используют в качестве субстрата жирные кислоты в составе липидов (Лось, 2001). В геноме *Synechocystis* sp. PCC 6803 присутствуют четыре гена, кодирующие эти ферменты. Каждая десатураза специфически вводит двойную связь в определенное положение по отношению к карбоксильному (Δ) или метильному концу (ω) углеводородной цепи жирной кислоты. Первую двойную связь в положении Δ9 вводит десатураза DesC, вторую – в положении Δ12 моноеновых жирных кислот – десатураза DesA. Известно, что основную роль

в адаптации к холоду цианобактерий играет десатураза DesA (Δ12), а нарушение генов *des*D и *des*B не влияет на устойчивость клеток к низким температурам (Лось, 2001). Доказательства ведущей роли моно- и диеновых жирных кислот в адаптации к холоду были получены и в опытах с растениями (Iba, 2002).

Гетерологическая экспрессия генов ацил-липидных десатураз цианобактерий в растениях позволяет изменить состав жирных кислот мембран и повысить холодоустойчивость. Примеры создания трансгенных растений, экспрессирующих гены ацил-липидных десатураз Δ9 и Δ12 цианобактерий, приведены в недавних публикациях (Ishizaki-Nishizawa *et al*.,1996; Попов и др., 2005, 2006; Maali *et al*., 2007, Демин и др., 2008).

С целью изучения механизмов холодовой адаптации и получения растений с новыми признаками нами была проведена генетическая трансформация как модельных объектов (теплолюбивого *Nicotiana tabacum* и холодостойкого *Arabidopsis thaliana*), так и ценных сельскохозяйственных видов (*Lactuca sativa*, *Brassica napus*) генами ацил-липидных десатураз *des*C (Δ9) *Synechococcus vulcanus* и *des*A (Δ12) *Synechocystis* sp. PCC 6803. Для трансформации мы использовали как векторные конструкции с нативными генами десатураз, так и конструкции, в которых гены десатураз находились в одной рамке считывания с репортерным геном термостабильной лихеназы *Clostridium thermocellum* (Голденкова и др., 2002). Анализ полученных растений подтвердил эффективность использования лихеназы в качестве репортера в составе гибридных генов для детекции экспрессии целевого трансгена в полученных линиях растений.

Материалы и методы

Растительный материал

Для генетической трансформации были использованы асептические растения табака (*Nicotiana tabacum*) сорта Wisconsin и рапса (*Brassica napus*) сортов Магнат и Обрий, которые выращивали *in vitro* на агаризованной питательной среде MS (Murashige, Skoog, 1962). Семена салата (*Lactuca sativa*) сорта Одесский кучерявец проращивали в асептических условиях *in vitro* на агаризованной питательной среде MS (Murashige, Skoog, 1962). Растения *Arabidopsis thaliana* (экотип Columbia) выращивали в теплице.

Генетические конструкции

Нативные и гибридные гены ацил-липидных десатураз *des*C *S. vulcanus* и *des*A *Synechocystis* sp. PCC 6803, слитые в одной рамке считывания с геном термостабильной лихеназы *Clostridium thermocellum*, были помещены под контроль промотора 35S РНК CaMV в генетические конструкции pBISN-*des*C, pBISN-*des*A, pBISN-*des*C-*lic*BM3 и pBISN-*des*A-*lic*BM3, содержащие ген *npt*II в качестве селективного. Получение и анализ вышеупомянутых генетических векторов описаны в недавних публикациях (Maali *et al*., 2007; Маали и др., 2007). Ген *des*C под контролем промотора 35S РНК CaMV и терминатора нопалинсинтазы был помещен в генетическую конструкцию pCB141, содержащую селективный ген *bar* под контролем промотора нопалинсинтазы и терминатора октопинсинтазы (на основе вектора pICH5290 (Marillonnet *et al*., 2005).

Генетическая трансформация

Для проведения генетической трансформации был использован штамм GV3101 *Agrobacterium tumefaciens*. Клетки наращивали в жидкой среде LB (Маниатис и др., 1984). Листовые экспланты растений табака, рапса и семидневных проростков салата культивировали совместно с суспензией агробактерий. Экспланты табака и салата помещали на среды для регенерации (табак – MS (Murashige, Skoog, 1962), содержащая 1 мг/л бензиламинопурина (БАП) и 0,1 мг/л нафтилуксусной кислоты (НУК) (Horsch *et al*., 1984)); салат – B5 (Gamborg *et al*., 1968), содержащая 25 г/л сахарозы, 3 мг/л кинетина, 0,5 мг/л НУК). Экспланты рапса первоначально культивировали на среде для каллусогенеза (MS (Murashige, Skoog, 1962), содержащая 2 мг/л 2,4-D, 1 мг/л НУК, 0,1 мг/л кинетина, 0,1 мг/л БАП), затем переносили на среду для регенерации (MS (Murashige, Skoog, 1962), содержащую 2 мг/л БАП, 1 мг/л зеатина, 1 мг/л НУК,

1 мг/л гиббереллoвой кислоты, 1 мг/л абсцизовой кислоты) (Сахно и др., 2008). Для отбора растений-трансформантов в питательные среды добавляли канамицин в концентрации 100 мг/мл (при трансформации с использованием генетических конструкций pBISN-desC, pBISN-desA, pBISN-desC-licBM3 и pBISN-desA-licBM3) или фосфинотрицин в концентрации 5 мг/л (при трансформации с использованием генетической конструкции pCB141). Генетическую трансформацию арабидопсиса проводили методом погружения соцветий в суспензию агробактерий. Собранные семена проращивали на питательной среде MS (Murashige, Skoog, 1962), содержащей канамицин в концентрации 50 мг/л. Устойчивые проростки пересаживали в грунт и выращивали в теплице.

Анализ растительной ДНК

Растительную ДНК выделяли, используя цетилтриметиламмоний бромид (The analysis …, 2006). Концентрацию выделенной ДНК определяли, измеряя оптическую плотность раствора при длине волны 260 нм с помощью спектрофотометра BioPhotometer (Eppendorf, Германия).

Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Реакционная смесь общим объемом 10 мкл содержала 1 мкг растительной ДНК, 0,5 единиц активности ДНК-полимеразы *Taq* (Helicon, Россия) и соответствующий реакционный буфер, 0,5 мМ нуклеозидтрифосфатов и праймеры: licBM3-1 (gtcgtaaatacgcctttt gttgca) и licBM3-2 (gttaggatagtattttacatattcg) для амплификации фрагмента гена *lic*BM3 длиной 642 п.о. в концентрации 0,5 мкМ каждый; desA-1 (gttgacaccaacggtaacgcc) и desA-2 (ccagttaaaggtgcgctcgtaa) для амплификации фрагмента гена *des*A длиной 949 п.о. в концентрации 0,25 мкМ каждый; desC-1 (cctcaattggggctttgtcttc) и desC-2 (aactgtaccttggcggcaaga) для амплификации фрагмента гена *des*C длиной 777 п.о. в концентрации 0,25 мкМ каждый; virD1-1 (atgtcgcaaggcag taagccca) и virD1-2 (ggagtctttcagcatggagcaa) для амплификации фрагмента гена *vir*D1 длиной 432 п.о. в концентрации 0,25 мкМ каждый; act-1 (tttgctggagatgatgc) и act-2 (cttgaatggcgacatac) для амплификации фрагмента гена актина табака длиной 351 п.о. в концентрации 0,5 мкМ каждый. Амплификацию проводили в следующих условиях: 5 мин 94 °С; 30 циклов (30 сек 94 °С; 45 сек 60 °С; 45 сек 72 °С); 5 мин 72 °С.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1 %-м агарозном геле, используя 1х буфер TAE (Маниатис и др., 1984), и визуализировали с помощью бромистого этидия. В качестве маркера размера ДНК использовали O'GeneRuler 100 bp DNA Ladder Plus или O'GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Fermentas, Литва).

Экстракция суммарных растворимых белков и определение активности термостабильной лихеназы

Свежую или замороженную жидким азотом ткань растирали в ступке с 50 мМ Tris-HCl (pH = 8,0) буфером (для экстракции 1 г ткани использовали 2–4 мл буфера). Экстракт центрифугировали при 10000 × g в течение 10 мин и отбирали надосадочную жидкость.

Качественное определение активности термостабильной лихеназы проводили методом чашечноuо теста. В чашки Петри заливали 2 %-ю агарозу, содержащую 50 мМ Tris/HCl (pH 8,0) и 0,05 % лихенана (Megazyme, Ирландия). В подготовленные лунки помещали по 20 мкл растительных экстрактов. Чашки инкубировали при температуре 65 °С в течение 1 часа, окрашивали в 0,5 %-м растворе Конго красного (Sigma, США) в течение 15 минут и отмывали в 1 М растворе NaCl до появления светлых пятен в области гидролиза лихенана.

Результаты

Генетическая трансформация растений табака

Генетическая трансформация растений табака была проведена с помощью векторных конструкций pBISN-*des*C, pBISN-*des*A, pBISN-*des*C-*lic*BM3 и pBISN-*des*A-*lic*BM3, которые несут нативные и гибридные гены ацил-липидных десатураз *des*C *S. vulcanus* и *des*A *Synechocystis* sp. PCC 6803, слитые в одной рамке считывания с геном термостабильной лихеназы *Clostridium thermocellum*, под контролем промотора 35S РНК CaMV. После регенерации устойчивых

растений на питательной среде, содержащей канамицин, присутствие в них перенесенных генов было доказано методом ПЦР (рис. 1, а). Для того чтобы исключить ложноположительные сигналы, обусловленные агробактериальным загрязнением, была проведена ПЦР с праймерами для амплификации фрагмента гена virD1 штамма GV3101 *Agrobacterium tumefaciens*. В результате было отобрано 5 растений, несущих нативный ген *des*C–Δ9-десатураза; 5 растений с нативным геном *des*A–Δ12-десатураза; 19 растений с гибридным геном *des*C-*lic*BM3–Δ9-десатураза, слитая с лихеназой, и 5 растений, содержащих гибридный ген *des*A-*lic*BM3–Δ12-десатураза, слитая с лихеназой. Семена, полученные путем самоопыления растений, несущих гибридный ген *des*C-*lic*BM3, были пророщены, и присутствие в полученных растениях целевых генов было доказано методом ПЦР (рис. 1, б).

В растениях, трансформированных гибридными генами десатураз, слитыми с термостабильной лихеназой, была проверена активность репортерного белка. В 11 из 19 растений с геном *des*C-*lic*BM3 и в 3 из 5 растений с геном *des*A-*lic*BM3 термостабильная лихеназа была активна (рис. 2). Повторная проверка активности репортерного белка, проведенная через 6 месяцев, показала, что в одной из трех линий, несущих гибридный ген *des*A-*lic*BM3, экспрессия трансгена отсутствовала.

Растения табака двух линий, экспрессирующие гибридный ген *des*A-*lic*BM3, были использованы для повторной генетической трансформации с помощью векторной конструкции pCB141, несущей нативный ген *des*C под контролем 35S промотора вируса мозаики цветной капусты. Устойчивые растения, регенерировавшие на среде с фосфинотрицином, были проверены методом ПЦР. Наличие двух целевых генов было показано для всех 20 отобранных растений (рис. 1, в). Шесть из них были использованы для проверки активности в составе гибридного белка термостабильной лихеназы, которая была показана во всех случаях.

Генетическая трансформация растений арабидопсиса

После генетической трансформации арабидопсиса с помощью векторных конструкций pBISN-*des*C-*lic*BM3 и pBISN-*des*A-*lic*BM3 было отобрано 4 растения, несущих гибридный ген *des*C-*lic*BM3–Δ9-десатураза, слитая с лихеназой, и 16 растений, несущих гибридный ген *des*A-*lic*BM3–Δ12-десатураза, слитая с лихеназой (рис. 3, а, б). Активность термостабильной лихеназы в соста-

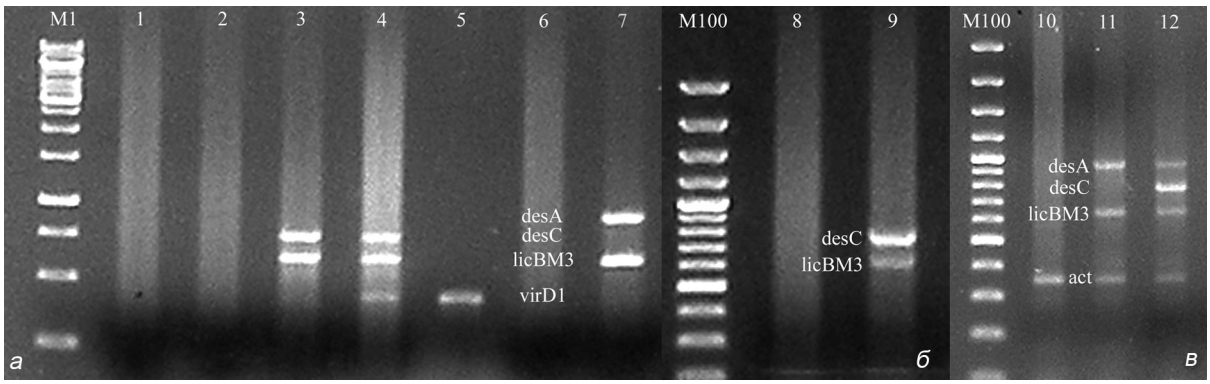


Рис. 1. Детекция гибридных генов десатураз в растениях табака методом ПЦР.

а – с использованием 4 пар праймеров для амплификации фрагментов генов *lic*BM3, *des*C, *des*A и *vir*D1; б) с использованием 2 пар праймеров для амплификации фрагментов генов *lic*BM3 и *des*C; в – с использованием 4 пар праймеров для амплификации фрагментов перенесенных генов *lic*BM3, *des*C, *des*A и гена актина табака. M1 – маркер размера ДНК (1 kb); M100 – маркер размера ДНК (100 bp); 1, 6, 8, 10 – ДНК нетрансформированных растений; 2–4 – ДНК растений, трансформированных геном *des*C-*lic*BM3 (2 – нетрансгенное растение; 3 – растение, несущее целевой ген; 4 – растительный материал, содержащий агробактерии); 5 – ДНК *Agrobacterium tumefaciens*; 7 – ДНК растения, трансформированного геном *des*A-*lic*BM3; 9 – ДНК растения, полученного в результате самоопыления первичного трансформанта, несущего ген *des*C-*lic*BM3; 11 – ДНК растения, трансформированного геном *des*A-*lic*BM3; 12 – ДНК растения трансформированного генами *des*A-*lic*BM3 и *des*C.

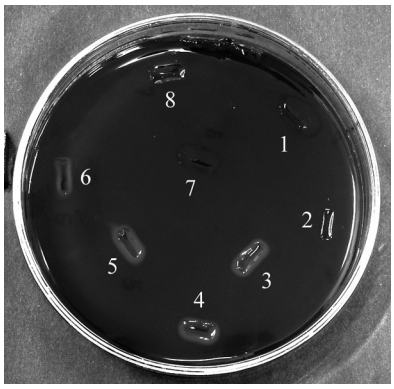


Рис. 2. Определение активности термостабильной лихеназы в растениях табака и салата.

1 – нетрансформированное растение табака; 2 – растение табака, несущее неактивный ген *des*C-*lic*BM3; 3 – растение табака, несущее активный ген *des*C-*lic*BM3; 4–6 – растения табака, несущие активный ген *des*C-*lic*BM3; 7 – нетрансформированное растение салата; 8 – растение салата, несущее неактивный ген *des*A-*lic*BM3.

ве гибридного белка была продемонстрирована для всех проверенных растений (4 с геном *des*C-*lic*BM3 и 10 с геном *des*A-*lic*BM3).

Генетическая трансформация растений салата

Генетическая трансформация растений салата была проведена с помощью векторных конструкций pBISN-*des*C-*lic*BM3 и pBISN-*des*A-*lic*BM3, которые несут гибридные гены ацил-липидных десатураз *des*C и *des*A, слитые с геном термостабильной лихеназы. После регенерации устойчивых растений на питательной среде, содержащей канамицин, присутствие в них перенесенных генов и отсутствие агробактериального загрязнения было доказано методом ПЦР (рис. 3, в). Ни в одном из полученных 5 растений не удалось выявить активность репортерного белка (рис. 2).

Генетическая трансформация растений рапса

Генетическая трансформация растений рапса была проведена с помощью векторных конструкций pBISN-*des*C-*lic*BM3 и pBISN-*des*A-*lic*BM3. После регенерации устойчивых растений на питательной среде, содержащей канамицин, присутствие в них перенесенных генов и отсутствие агробактериального загрязнения были доказаны методом ПЦР. В результате было отобрано 1 растение сорта Обрий, несущее ген *des*C-*lic*BM3, и 9 растений сорта Магнат с геном *des*A-*lic*BM3 (рис. 3, г, д). Тест на активность лихеназы был проведен с 4 растениями. Ни в одном из них не удалось обнаружить активность репортерного белка.

Обсуждение

Одной из основных проблем генетической инженерии растений является невысокий уровень экспрессии (Streatfield, 2007) или замолкание перенесенных генов (Дорохов, 2007). Использование трансляционного слияния целевого и репортерного белков значительно облегчает процедуру отбора наиболее продуктивных трансформантов, а также позволяет контролировать экспрессию трансгенов в ходе дальнейших экспериментов. Это особенно важно, если непосредственное тестирование активности целевых белков затруднено присутствием аналогичных ферментативных активностей

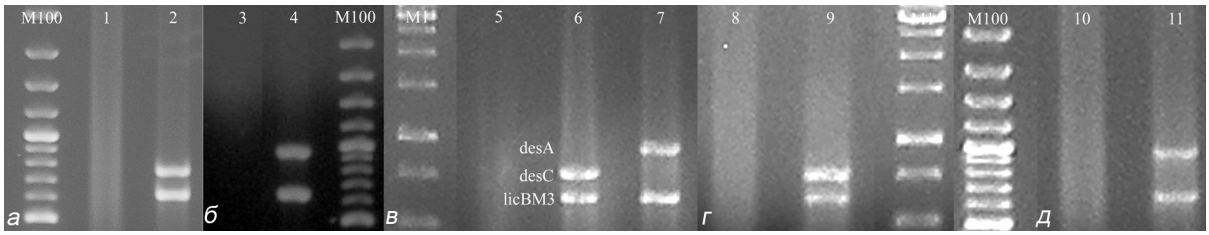


Рис. 3. Детекция гибридных генов десатураз методом ПЦР в растениях.

а, б – арабидопсиса; в – салата; г, д – рапса. M1 – маркер размера ДНК (1 kb); M100 – маркер размера ДНК (100 bp); 1, 3, 5, 8, 10 – ДНК нетрансформированных растений; 2, 6, 9 – ДНК растений, трансформированных геном *des*C-*lic*BM3; 4, 7, 11 – ДНК растений, трансформированных геном *des*A-*lic*BM3.

растения-хозяина, как в случае с десатуразами жирных кислот, которые встречаются практически во всех живых организмах (Лось, 2001). Использованная нами в качестве репортера лихеназа *Clostridium thermocellum* обеспечивает высокую специфичность анализа благодаря своей термостабильности (Голденкова и др., 2002), а также, как было показано ранее, не препятствует проявлению ферментативной активности ацил-липидных десатураз *Synechocystis* (Маали и др., 2007; Maali *et al*., 2007). В результате нами были отобраны растения модельных видов *Nicotiana tabacum* и *Arabidopsis thaliana*, которые экспрессируют гибридные гены ацил-липидных десатураз *des*C (Δ9) *S. vulcanus* и *des*A (Δ12) *Synechocystis*. Впервые были получены растения табака, несущие два гена ацил-липидных десатураз цианобактерий.

Была успешно проведена генетическая трансформация гибридными генами десатураз сельскохозяйственно ценных видов *Latuca sativa* и *Brassica napus*. Для выяснения причины отсутствия активности репортерного белка в полученных растениях требуются дополнительные исследования. Наиболее вероятными объяснениями представляются посттранскрипционное замолкание перенесенных генов (Дорохов, 2007) и/или низкий уровень трансляции транскрипта, обусловленный наличием редких для растения-хозяина кодонов (Streatfield, 2007).

Новизна и актуальность выполненной работы заключаются в создании модельной базы для исследования физиологических, генетических и молекулярно-биологических характеристик высших растений, которые экспрессируют гены ацил-липидных десатураз цианобактерий с различной субстратной специфичностью, являющиеся функционально гомологичными растительным генам. Полученные растения табака и арабидопсиса являются удобными моделями для изучения механизмов адаптации растений к абиотическим стрессам. Важным аспектом работы является доказательство эффективности использования конструкций с гибридным геном, включающим в качестве репортера термостабильную лихеназу, для детекции трансгенных растений с высоким уровнем экспрессии функционального целевого трансгена. На сегодняшний момент существуют только отдельные публикации, показывающие перспективность применения такого подхода для изучения физиологических характеристик трансгенных растений и/или селекции высокопродуктивных линий (см., например, Голденкова-Павлова и др., 2007; Abdeev *et al*., 2009). В ближайшее время будут проведены дальнейшие исследования для оценки физиологических характеристик полученных трансгенных растений в условиях холодового стресса.

Благодарности

Работа выполнялась в рамках совместного российско-украинского проекта «Изучение механизмов устойчивости высших растений к абиотическим стрессам благодаря гетерологической экспрессии генов цианобактерий», грант РФФИ 2008-2009 № 08-04-90410_укр (тема № II-16-09, номер гос. регистрации УНТЦ 0108U003265).

Литература

Голденкова-Павлова И.В., Мирахорли Н., Маали А.Р. и др. Экспериментальные модели для создания трансгенных растений, устойчивых к стрессовым факторам // Цитология и генетика. 2007. Т. 41. № 3. С. 44–49.

Голденкова И.В., Мусийчук К.А., Пирузян Э.С. Репортерная система, основанная на термостабильности лихеназы *Clostridium thermocellum*, для изучения регуляции экспрессии генов в клетках про- и эукариотических организмов // Молекуляр. биология. 2002. Т. 36. Вып. 4. С. 868–876.

Демин И.Н., Дерябин А.Н., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Введение гена *des*A Δ12-ацил-липидной десатуразы цианобактерии повышает устойчивость растений картофеля к окислительному стрессу, вызванному гипотермией // Физиол. растений. 2008. Т. 55. Вып. 5. С. 710–720.

Дорохов Ю.Л. Умолкание генов у растений // Молекуляр. биология. 2007. Т. 41. Вып. 4. С. 579–592.

Лось Д.А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Усп. биол. химии. 2001. Т. 41. С. 163–198.

Маали Р., Шимшилашвили Х.Р., Пчелкин В.П. и др. Сравнительное изучение экспрессии нативного и гибридного гена ацил-липидной Δ^9-десатуразы в бактерии *Escherichia coli* // Генетика. 2007. Т. 43. Вып. 2. С. 1–7.

Маниатис Т., Фрич Е.Ф., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 521с.

Попов В.Н., Кипайкина Н.В., Астахова Н.В., Труно-

ва Т.И. Особенности окислительного стресса растений табака, трансформированных геном *des*C Δ9-ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanus*, при гипотермии // Физиол. растений. 2006. Т. 53. Вып. 4. С. 525–529.

Попов В.Н., Орлова И.В., Кипайкина Н.В. и др. Влияние трансформации табака геном Δ9-ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanus* на устойчивость растений к низкой температуре // Физиол. растений. 2005. Т. 52. Вып. 5. С. 747–750.

Сахно Л.А., Гочева Е.А., Комарницкий И.К., Кучук Н.В. Стабильная экспрессия беспромоторного гена *bar* в трансформированных растениях // Цитология и генетика. 2008. Т. 42. Вып. 1. С. 16–22.

Abdeev R.M., Abdeeva I.A., Bruskin S.S. *et al*. Bacterial thermostable beta-glucanases as a tool for plant functional genomics // Gene. 2009. V. 436. P. 81–89.

Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Exptl. Cell Res. 1968. V. 50. P. 151–158.

Guschina I.A., Harwood J.L. Mechanisms of temperature adaptation in poikilotherms // FEBS Letters. 2006. V. 580. P. 5477–5483.

Horsch R.B., Fraley R.T., Rogers S.G. *et al*. Inheritance of functional foreign genes in plants // Science. 1984. V. 223. P. 496–498.

Iba K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. 2002. V. 53. P. 225–245.

Ishizaki-Nishizawa O., Fujii T., Azuma M. *et al*. Low-temperature resistance of higher plants is significantly enhanced by a nonspecific cyanobacterial desaturase // Nature Biotechnol. 1996. V. 14. P. 1003–1006.

Los D.A., Murata N. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals // Biochim. Biophys. Acta. 2004. V. 1666. P. 142–157.

Maali A.R., Goldenkova-Pavlova I.V., Pchelkin V.P. *et al*. Acyl-lipid Δ12-desaturase of the cyanobacterium increases the unsaturation degree in transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) // Biologija. 2007. V. 53. P. 4–7.

Marillonnet S., Thoeringer C., Kandzia R. *et al*. Systemic *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transfection of viral replicons for efficient transient expression in plants // Nat. Biotechnol. 2005. V. 23. P. 718–723.

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.

Sakamoto T., Murata N. Regulation of the desaturation of fatty acids and its role in tolerance to cold and salt stress // Curr. Opin. Microbiol. 2002. V. 5. P. 206–210.

Streatfield S.J. Approaches to achieve high-level heterologous protein production in plants // Plant Biotechnol. J. 2007. V. 5. P. 2–15.

The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms / Eds M. Querci, M. Jermini, G. Van der Eede. Luxembourg: Office for Official Publ. of the European Communities, 2006. 229 p.

RAISE OF PLANTS POSSESSING GENES FOR ACYL-LIPID DESATURASES FROM THE CYANOBACTERIA

I.M. Gerasymenko[1], L.O. Sakhno[1], I.S. Golovach[1], O.M. Kishchenko[1], Y.R. Sindarovska[1], C.R. Shimshilashvili[2], Y.V. Sheludko[1], I.V. Goldenkova-Pavlova[2]

[1] Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS, Kiev, Ukraine, e-mail: ysheludko@ukr.net;
[2] N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia, e-mail: irengold@vigg.ru

Summary

The elevated level of membrane fatty acid desaturation is one of the chilling adaptation mechanisms in plants. Fatty acid desaturases are enzymes that introduce double bonds into fatty acyl chains. Heterologous expression of desaturase genes alters membrane fatty acid composition and enhances chilling tolerance of plants. In order to study chilling tolerance mechanisms and to obtain plants with novel features, we have carried out genetic transformation of model objects (chilling-sensitive *Nicotiana tabacum* and chilling-resistant *Arabidopsis thaliana*) and agricultural species (*Latuca sativa* and *Brassica napus*) with acyl-lipid desaturase genes *des*C (Δ9) и *des*A (Δ12) of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. Translational fusion of the desaturase genes with a reporter gene coding for thermostable lichenase from *Clostridium thermocellum* allowed selection of tobacco and *Arabidopsis* plants that expressed the target genes.

Key words: fatty acid desaturases, *Synechocystis*, thermostable lichenase from *Clostridium thermocellum*, genetic transformation, *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis thaliana*, *Latuca sativa*, *Brassica napus*, chilling tolerance.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ Т-ДНК-ВСТРОЙКИ У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ЛИНИИ NU 21

Д.Б. Логинова, В.К. Шумный, Е.В. Дейнеко

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия,
e-mail: loginova@bionet.nsc.ru, shumny@bionet.nsc.ru, deineko@bionet.nsc.ru

Проведен анализ особенностей организации Т-ДНК-встройки у трансгенных растений табака с мозаичным проявлением экспрессии маркерного гена *nptII*. Установлено, что встройка экзогенной ДНК в геноме растений линии Nu 21 имеет сложную структуру и организована в виде двух предположительно полноразмерных копий (Т-ДНК1 и Т-ДНК2), ориентированных «голова к хвосту», и одной усеченной копии между ними, расположенной в обратной ориентации к полноразмерным копиям. Между усеченной копией Т-ДНК и Т-ДНК2 выявлен дополнительный фрагмент ДНК, организованный в виде двух повторов размером 33 пн каждый, расположенных в прямой ориентации относительно друг друга.

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum*, инактивация экспрессии генов, прямые и инвертированные повторы.

Введение

В ядерном геноме трансгенных растений фрагменты экзогенных ДНК могут быть представлены в виде как одно-, так и многокопийных встроек, организованных в виде кластеров трансгенов (Kim *et al*., 2003; Sallaud *et al*., 2003; Scarn *et al*., 2006). Наличие множественных копий в составе инсерции оказывает влияние на уровень и стабильность экспрессии чужеродных генов. Как правило, трансгенные растения с одной копией Т-ДНК на геном характеризуются стабильным уровнем экспрессии (Hobbs *et al*., 1993), тогда как у трансгенных растений с множественными тандемно организованными копиями наблюдается нестабильная экспрессия гетерологичных генов (Muskens *et al*., 2000; Ma *et al*., 2002).

Трансгенные растения со сложными тандемно организованными копиями чужеродных генов могут быть удобными моделями для изучения механизмов регуляции экспрессии генов. Так, у трансгенных растений со сложноорганизованными инсерциями, состоящими из нескольких сцепленных между собой копий Т-ДНК (в прямой или обратной ориентации), инактивация трансгенов регистрируется как на транскрипционном (Mette *et al*., 1999; Fisher *et al*., 2008), так и на посттранскрипционном уровнях (Kanno *et al*., 2000; Дорохов, 2007; Chapman, Carrington, 2007). Оба механизма запускаются гомолого-зависимым действием коротких интерферирующих РНК (киРНК) (Brodersen, Voinnet, 2006; Дорохов, 2007). Известны случаи инактивации трансгенов на уровне соматических тканей одного органа трансгенного растения (Kilby *et al*., 1992; Davies *et al*., 1997; Leeuwen *et al*., 2001).

Ранее среди независимо полученных трансформантов табака нами было выделено растение Nu 21, характеризующееся мозаичным проявлением маркерного гена *nptII*. Появление белых пятен на листовых пластинках 4–6-недельных растений линии Nu 21, культивируемых на селективной среде с антибиотиком канамицином, свидетельствовало о нарушении экспрессии *nptII*-гена в этих участках (Маренкова и др., 2007).

Установлено, что среди потомков первого и второго поколений, полученных от самоопыления исходного растения Nu 21, две Т-ДНК-копии, интегрированные в геном этого растения, на-

следуются сцепленно. Причины такого дифференциального инактивирования трансгена в различных клетках одного органа все еще остаются неясными. В связи с этим целью данной работы послужило выявление особенностей организации Т-ДНК-инсерций у растений линии Nu 21.

Материалы и методы

Исходным материалом послужили T_4-потомки от самоопыления растения Nu 21, полученного ранее методом агробактериальной трансформации табака (*Nicotiana tabacum* L., SR1). В растительный геном табака Nu 21 была перенесена Т-ДНК генетической конструкции pC27-*nuclS* с маркерным геном неомицинфосфотрансферазы II (*nptII*) *E. coli* и целевым геном секреторной эндонуклеазы *Serratia marcescens* под управлением двунаправленного MAS-промотора гена маннопинсинтазы Ti плазмиды *A. tumefaciens* (Маренкова и др., 2007). Растения данной линии характеризовались мозаичным проявлением экспрессии гена *nptII*, что фенотипически проявлялось как чередование зеленых (устойчивых к канамицину) и неокрашенных (белых, неустойчивых к канамицину) секторов на листовых пластинках растений, растущих на селективной среде с антибиотиком канамицином.

Выделение геномной ДНК из листьев табака проводили по стандартной методике (Murray, Thompson, 1980) с модификациями. Для определения нуклеотидного состава в области Т-ДНК плазмиды pC27-*nuclS* использовали последовательности, полученные методом ПЦР, с праймерами: nucl3 5′-GGATCCTTCTGATGGTGGAGTTCG-3′, pMAS_L 5′-CGGTGACGCCATTTC-3′, Ti-pl_p_L 5′-TTTCTAATGCTGCCCCG-3′, npt1 5′-CGACGTTGTCACTGAAGCG-3′, nuclS L 5′-CATATTGTTGTTAAAGCGC-3′ (рис. 1). Для определения ориентации Т-ДНК-копий относительно друг друга в геномной ДНК исследуемых растений линии Nu 21 использовали праймеры: pTi_p2_L 5′-GATCCATGTAGATTTCCCGG-3′, npt_p2_R 5′-CCGAGACGCCTATGATCG-3′ (рис. 1). Для определения нуклеотидной последовательности между копиями Т-ДНК в геноме растений были сконструированы праймеры: npt_p3_R 5′-TGCCCCGAGAATTATGC-3′, TDNA_left_end 5′-CGACGGATCGTAATTTGTCG-3′ (рис. 1). ПЦР проводили в конечном объеме 15 мкл с использованием набора Taq PCR Master Mix Kit («Quiagen», США) согласно протоколу производителя с добавлением 1,5 мкл 10 мкМ праймеров («Биосан», Россия) и 20–50 нг матрицы ДНК. Амплификацию осуществляли в следующем режиме: денатурация 3 мин при 95 °С, 35 циклов денатурация при 94 °С в течение 20 сек, отжиг праймеров при 58 °С в течение 20 сек; элонгация 1,2 мин при 72 °С. Очистку ПЦР-фрагментов осуществляли с использованием набора GenElute PCR Clean-up Kit («Sigma», США). Реакции секвенирования проводили с использованием «ABI PRISM Big Dye Terminator v 3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit» согласно инструкции производителя. Анализ продуктов реакции проводили в Межинститутском центре секвенирования ДНК (ИХБиФМ, СО РАН).

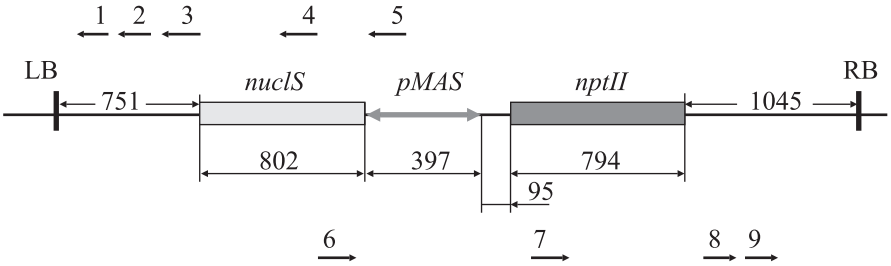


Рис. 1. Схема Т-области генетической конструкции pC27-*nuclS* (растение Nu 21) с праймерами для ПЦР и секвенирования: 1 – pTi_p2_L; 2 – TDNA_left_end; 3 – Ti-pl_p_L; 4 – nucl3; 5 – pMAS_L; 6 – nuclS L; 7 – npt1; 8 – npt_p2_R; 9 – npt_p3_R; *nuclS* – ген секреторной эндонуклеазы *S. marcescens*; *nptII* – ген неомицинфосфотрансферазы II *E. coli*; *pMAS* – двунаправленный промотор гена маннопинсинтазы Ti-плазмиды *A. tumefaciens*; LB, RB – повторы, ограничивающие Т-область Ti-плазмиды *A. tumefaciens*; цифрами указаны длины фрагментов в нп.

Результаты

На рис. 1 представлена схема Т-области генетической конструкции pC27-*nuclS*, построенная нами с учетом результатов секвенирования. По базе данных DDBJ (http://blast.ddbj.nig.ac.jp) с использованием метода BLAST установлено, что гены в составе Т-ДНК анализируемой плазмиды имеют гомологию более 99 % с соответствующими генами из базы данных: длина последовательности гена секреторной эндонуклеазы *S. marcescens* составила 802 пн, последовательности MAS-промотора гена маннопинсинтазы Ti-плазмиды *A. tumefaciens* – 397 пн, последовательности гена *nptII E. coli* – 794 пн. Некодирующая область между правой границей области *pMAS* и левой границей гена *nptII* имеет длину 95 пн. На расстоянии 751 пн от последовательности гена *nuclS* и 1045 пн от гена *nptII* располагаются LB и RB (левый и правый повторы, окаймляющие Т-область Ti-плазмиды *A. tumefaciens*) длиной по 25 пн. Участки нуклеотидных последовательностей, расположенные между геном *nuclS* и последовательностью LB, а также между геном *nptII* и последовательностью RB, гомологичны некодирующим районам Ti плазмиды pTi15955 *A. tumefaciens* (X00493) (рис. 1).

На основании полученных данных были сконструированы праймеры, комплементарные левому и правому концевым районам последовательности Т-ДНК (рис. 1). Для определения ориентации Т-ДНК копий относительно друг друга была проведена ПЦР с праймерами, каждая комбинация которых была подобрана так, что фрагменты могли быть амплифицированы только при определенной ориентации Т-ДНК копий: с праймерами pTi_p2_L – ориентация «хвост к хвосту»; с праймерами pTi_p2_L и npt_p2_R – «голова к хвосту»; с праймерами npt_p2_R – «голова к голове».

На рис. 2 представлены результаты ПЦР анализа с тремя вышеперечисленными типами праймеров для двух произвольно взятых растений (дорожки 2–4 и 5–7 соответственно) линии Nu 21. Как видно из представленных данных, продукты ПЦР с праймерами pTi_p2_L и npt_p2_R, соответствующие размеру ожидаемого фрагмента порядка 2300 пн, выявлялись только на дорожках 3 и 6, что свидетельствовало о том, что копии Т-ДНК располагаются одна за другой и имеют ориентацию «голова к хвосту». Продукты амплификации геномных ДНК с соответствующими парами праймеров на дорожках 2 и 4 для одного растения и на дорожках 5 и 7 – для другого растения линии Nu 21 свидетельствовали о том, что предполагаемые типы ориентаций Т-ДНК-встроек («хвост к хвосту» и «голова к голове») не подтвердились.

На рис. 3 представлена схема организации Т-ДНК встройки в геноме растений линии Nu 21, составленная с учетом данных секвенирования. Методом BLAST по базе данных DDBJ (http://blast.ddbj.nig.ac.jp) установлено наличие усеченной копии Т-ДНК между двумя предположительно полноразмерными копиями. Усеченная копия Т-ДНК располагалась в обратной ориентации к полноразмерным

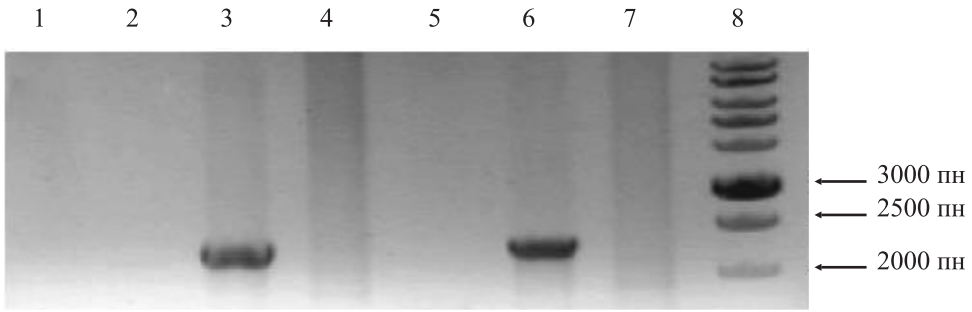


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, амплифицированных с геномной ДНК двух (дорожки 2–4 и 5–7) произвольно взятых растений линии Nu 21 с праймерами, комплементарными границам Т-ДНК последовательности: 1 – отрицательный контроль (без добавления матрицы ДНК); 2 и 5 – с праймерами pTi_p2_L; 3 и 6 – с праймерами pTi_p2_L и npt_p2_R; 4 и 7 – с праймерами npt_p2_R; 8 – маркер молекулярного веса 1кб («Медиген», Россия).

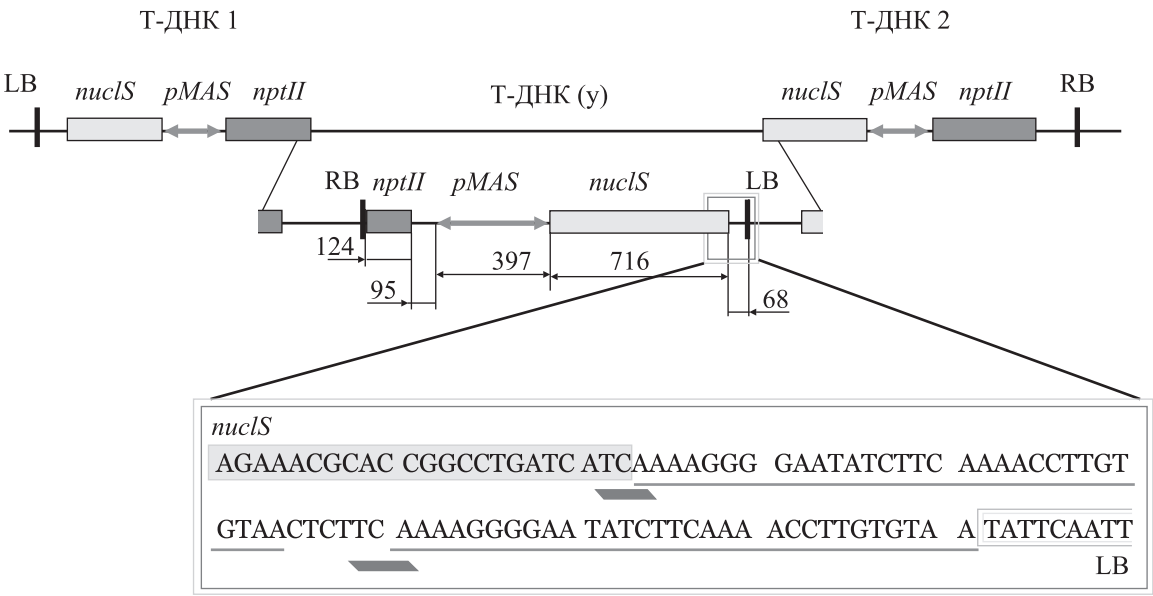


Рис. 3. Схема расположения копий Т-ДНК в геноме растений линии Nu 21.

nuclS – ген секреторной эндонуклеазы *S. marcescens*; *nptII* – ген неомицинфосфотрансферазы II *E. coli*; *pMAS* – двунаправленный промотор гена маннопинсинтазы Ti-плазмиды *A. tumefaciens*; LB, RB – повторы, ограничивающие Т-область Ti-плазмиды *A. tumefaciens*; тонкой линией подчеркнута последовательность 31 нп повторенной последовательности, жирной линией выделена область микрогомологии.

Т-ДНК-копиям. Последовательность нуклеотидов *pMAS* усеченной копии составила 397 пн, что соответствовало полученным ранее результатам для последовательности Т-ДНК плазмиды pC27-*nuclS*. Между правой границей области *pMAS* и левой границей гена *nptII* выявлена некодирующая область длиной 95 пн, гомологичная некодирующей области, выявленной у pC27-*nuclS*. Последовательности генов *nptII* и *nuclS* усеченной копии имели длину 124 пн и 715 пн соответственно, в то время как в Т-ДНК плазмиды pC27-*nuclS* длина данных генов составила 794 пн и 802 пн. Усеченная копия Т-ДНК при встраивании утратила часть гена *nuclS*, большую часть гена *nptII*, а также прилежащие к ним последовательности, включая LB и RB (рис. 3). Установлено, что интеграция первой копии Т-ДНК (условно обозначена Т-ДНК1) произошла с потерей большей части RB (23 пн из 25 пн), LB Т-ДНК2 в геноме растений составляла 17 пн вместо 25 пн.

Между LB Т-ДНК2 и последовательностью усеченного гена *nuclS* выявлен дополнительный фрагмент размером 68 пн. Нуклеотидный состав данного фрагмента представлен на рис. 3 в виде выделенного сегмента. Как видно из представленного рисунка, последовательность содержит повторенные фрагменты размером 31 пн в прямой ориентации относительно друг друга, разделенные 6 пн.

При сравнительном анализе нуклеотидных составов 68 пн дополнительного фрагмента и последовательности рядом расположенного усеченного гена *nuclS* выявлено наличие пары нуклеотидов TC в начале каждого повторенного фрагмента. Полученные результаты позволили скорректировать длину повторенных фрагментов до 33 пн, из чего следует, что первый повтор перекрывается с геном *nuclS*, образуя область микрогомологии длиной 2 пн.

Обсуждение

Известно, что встраивание Т-ДНК в геном растений происходит путем негомологичной (незаконной) рекомбинации. При таком механизме интеграции фрагментов экзогенной ДНК в растительный геном необходимо наличие коротких (1–8 пн) участков гомологии между нуклеотидными последовательностями на

концах Т-ДНК и геномной ДНК (Mayerhofer *et al*., 1991), поэтому выявленный нами фрагмент размером 68 пн, расположенный между LB Т-ДНК2 и последовательностью усеченного гена *nuclS*, мог быть образован растительной ДНК. Методом BLAST по базе данных DDBJ найдена гомология этой дополнительной последовательности ДНК с участками генов и межгенными участками ДНК различных растений (ячмень, люцерна, кукуруза, виноград, томат), однако протяженность гомологичных участков не превышала 19 пн. Следовательно, предположение о растительном происхождении последовательности ДНК между усеченной копией Т-ДНК и Т-ДНК2 оказалось несостоятельным.

В результате ошибок в процессе интеграции фрагментов чужеродных ДНК в растительном геноме выявлены встройки множественных, тесно сцепленных копий гетерологичных генов (Jakowitsch *et al*., 1999; Wang, Waterhouse, 2000; Zhang *et al*., 2008), усеченных фрагментов Т-ДНК (Jakowitsch *et al*., 1999; Zhang *et al*., 2008). Часто такие ошибки сопровождаются перестройками на правой или/и левой границах Т-ДНК с образованием делеций, прямых и инвертированных дупликаций (Windels *et al*., 2003; Muller *et al*., 2007).

Известны случаи встраивания в геном трансгенного растения дополнительных последовательностей ДНК, образованных растительной и/или плазмидной ДНК (Windels *et al*., 2003; Zhang *et al*., 2008; Gambino *et al*., 2009). Если Т-ДНК встраивалась в район повторов геномной ДНК, то такие встройки часто сопровождались образованием дополнительных фрагментов растительной ДНК (Iglesias *et al*., 1997). Дополнительные последовательности могли быть образованы в результате дупликации фрагмента растительной ДНК в районе интеграции (Windels *et al*., 2003; Muller *et al*., 2007) или в результате встраивания векторной последовательности вместе с Т-ДНК (Windels *et al*., 2003; Gambino *et al*., 2009). Следует подчеркнуть, что выявленная нами последовательность размером 68 пн, прилежащая к Т-ДНК2 и усеченной копии Т-ДНК, не имела гомологии с векторной последовательностью плазмиды, и ее происхождение до сих пор остается неясным.

Механизм негомологичной рекомбинации при интеграции фрагментов экзогенных ДНК в ядерный геном растения включает репарацию одно- или двуцепочечного разрывов (Mayerhofer *et al*., 1991). Образование дополнительного фрагмента в процессе интеграции Т-ДНК посредством синтеза по матрице случайной ДНК-цепи, основанного на микрогомологии последовательности Т-ДНК и геномной ДНК растения, описано в работе В. Горбуновой и А. Леви (Gorbunova, Levy, 1997). Сложные по составу дополнительные фрагменты могут быть образованы переключением репаративной достройки ДНК-цепи на новую матрицу, имеющую участок микрогомологии от 1 до 16 пн (Gorbunova, Levy, 1997). Данная модель могла бы объяснить образование сложной дополнительной ДНК-последовательности, имеющей область микрогомологии длиной 2 пн (рис. 3) у трансгенных растений линии Nu 21. Однако на основании данной модели невозможно объяснить интеграцию в растительный геном нескольких сцепленных между собой Т-ДНК-копий.

Для объяснения встраивания множественных копий Т-ДНК в геноме трансгенных растений (например, двух копий Т-ДНК в прямой ориентации и одной усеченной с обеих сторон копии, расположенной между ними в обратной ориентации) предложена модель совместной интеграции (коинтеграции) копий Т-ДНК (Krizkova, Hrouda, 1998). В основе данной модели положены инвазия одноцепочечной Т-ДНК с образованием разрыва одной из цепей растительной ДНК и репаративная репликация встраиваемой ДНК. Однако данная модель может лишь частично объяснить образование сложноорганизованной встройки у трансгенных растений линии Nu 21. Возможно, интеграция сложной встройки в геном трансгенного растения Nu 21 могла произойти в результате сочетания описанных выше механизмов.

На основании проделанной работы установлено, что встройка экзогенной ДНК в геноме растений линии Nu 21 имеет сложную структуру и организована в виде двух предположительно полноразмерных копий Т-ДНК и одной усеченной копии между ними, расположенной в обратной к ним ориентации. Между усеченной копией Т-ДНК и Т-ДНК2 выявлен дополнительный фрагмент, организованный в виде двух повторов размером 33 пн каждый, расположенных

в прямой ориентации относительно друг друга. Полученные нами данные об особенностях организации Т-ДНК-встройки у растений линии Nu 21 дают основания предположить, что нестабильность экспрессии *nptII*-гена у исследуемых растений линии Nu 21 могла быть связана с возможным участием коротких интерферирующих РНК, запускающих процесс метилирования данного гена. В усеченной Т-ДНК-копии терминирующая последовательность *nptII*-гена отсутствует, вследствие чего может быть транскрибирована длинная молекула РНК, способная к образованию шпильки, что служит сигналом для образования киРНК и инактивации экспрессии *nptII*-гена. Однако причины «сбоев» в запускании такого механизма инактивирования *nptII*-гена, проявляющихся в мозаичном характере распределения белых и зеленых секторов на листовых пластинках растений линии Nu21, все еще остаются неясными.

Итак, линия Nu 21 трансгенных растений табака с мозаичным проявлением *nptII*-гена в составе сложноорганизованной инсерции (две предположительно полноразмерные копии и усеченная копия Т-ДНК между ними) представляет удобную модель для изучения механизмов дифференциального инактивирования трансгена в различных клетках одного и того же органа растения, что послужит предметом наших дальнейших исследований. Полученные нами данные о составе нуклеотидной последовательности области Т-ДНК исходной плазмиды pC27-*nuclS* и районов Т-ДНК у растений линии Nu 21 позволят в дальнейшем провести анализ статуса метилирования и определение возможного механизма инактивации маркерного гена *nptII*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-08-04-00954а.

Литература

Дорохов Ю.Л. Умолкание генов у растений // Молекуляр. биология. 2007. Т. 41. № 4. С. 579–592.

Маренкова Т.В., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Мозаичный характер проявления гена *nptII* у трансгенных растений табака линии Nu21 // Генетика. 2007. Т. 43. №7. С. 943–954. (Marenkova T., Deineco E., Shumny V. Mosaic expression pattern of the *nptII* gene in transgenic tobacco plants Nu 21 // Russ. J. Genet. V. 43. № 7. P. 780–790.)

Brodersen P., Voinnet O. The diversity of RNA silencing pathways in plants // Trends Genet. 2006. V. 22. № 5. P. 268–280.

Chapman E.J., Carrington J.C. Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. P. 884–896.

Davies G.J., Sheikh M.A., Ratcliffe O.J. *et al*. Genetics of homology-dependent gene silencing in *Arabidopsis*: a role for methylation // The Plant J. 1997. V. 12. P. 791–804.

Fischer U., Kuhlmann M., Pecinka A. *et al*. Local DNA features affect RNA-directed transcriptional gene silencing and DNA methylation // Plant J. 2008. V. 53. № 1. P. 1–10.

Gambino G., Chitarra W., Fatemeh M. *et al*. Characterization of T-DNA insertions in transgenic grapevines obtained by Agrobacterium-mediated transformation // Mol. Breed. 2009. V. 24. № 3. P. 305–320.

Gorbunova V., Levy A.A. Non-homologous DNA end joining in plant cells is associated with deletions and filler DNA insertions // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 22. P. 4650–4657.

Hobbs S.L.A., Warkentin T.D., DeLong C.M.O. Transgene copy number can be positively or negatively associated with transgene expression // Plant Mol. Biol. 1993. V. 21. P. 17–26.

Iglesias V.A., Moscone E.A., Papp I. *et al*. Molecular and cytogenetic analyses of stably and unstably expressed transgene loci in tobacco // The Plant Cell. 1997. V. 9. P. 1251–1264.

Jakowitsch J., Papp I., Moscone E.A. *et al*. Molecular and cytogenetic characterization of a transgene locus that induces silencing and methylation of homologous promoters in trans // Plant J. 1999. V. 17. P. 131–140.

Kanno T., Naito S., Shimamoto K. Post-transcriptional gene silencing in cultured rice cells // Plant Cell Physiol. 2000. V. 41. P. 321–326.

Kilby N.J., Leyser H.M.O., Furner I.J. Promoter methylation and progressive transgene inactivation in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. 1992. V. 20. P. 103–112.

Kim S-R., Lee J., Jun S-H., Park S. *et al*. Transgene structures in T-DNA-inserted rice plants // Plant Mol. Biol. 2003. V. 52. P. 761–773.

Krizkova L., Hrouda M. Direct repeats of T-DNA integrated in tobacco chromosome: characterization of junction regions // Plant J. 1998. V. 16. P. 673–680.

Leeuwen W. van, Ruttink T., Borst-Vrenssen A.W.M. *et al*. Characterization of position-induced spatial and temporal regulation of transgene promoter activity in plants // J. Exp. Bot. 2001. V. 52. P. 949–959.

Ma C., Mitra A. Intrinsic direct repeats generate consistent post-transcriptional gene silencing in tobacco //

Plant J. 2002. V. 31. № 1. P. 37–49.
Mayerhofer R., Koncz-Kalman Z., Nawrath C. *et al*. T-DNA integration: a mode of illegitimate recombination in plants // EMBO J. 1991. V. 10. P. 697–704.
Mette M.F., Van der Winden J., Matzke M.A. *et al*. Production of aberrant promoter transcripts contributes to methylation and silencing of unlinked homologous promoters in trans // EMBO J. 1999. V. 18. № 1. P. 241–248.
Muller A.E., Atkinson R.G., Sandoval R.B., Jorgensen R.A. Microhomologies between T-DNA ends and target sites often occur in inverted orientation and may be responsible for the high frequency of T-DNA-associated inversions // Plant Cell Rep. 2007. V. 26. P. 617–630.
Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucl. Acids Res. 1980. V. 8. P. 4321–4325.
Muskens M., Vissers A., Mol J. *et al*. Role of inverted DNA repeats in transcriptional and post-transcriptional gene silencing // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. P. 243–260.
Sallaud C., Meynard D., Boxtel J. van *et al*. Highly efficient production and characterization of T-DNA plants for rice (*Oryza sativa* L.) functional genomics // Theor. Appl. Genet. 2003. V. 106. P. 1396–1408.
Scarn M., Eike M.C., Meza T.J. *et al*. An inverted repeat transgene with a structure that cannot generate double-stranded RNA, suffers silencing independent of DNA methylation // Transgenic Res. 2006. V. 15. P. 489–500.
Wang M.B., Waterhouse P.M. High-efficiency of a β-glucuronidase gene in rice is correlated with repetitive transgene structure but is independent of DNA methylation // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. P. 67–82.
Windels P., De Buck S., Van Bockstaele E. *et al*. T-DNA integration in Arabidopsis chromosomes. Presence and origin of filler DNA sequences // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 2061–2068.
Zhang J., Cai L., Cheng J. Transgene integration and organization in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genome // Transgenic Res. 2008. V. 17. P. 293–306.

FEATURES OF T-DNA INSERT ORGANIZATION IN TRANSGENIC TOBACCO-PLANTS, LINE NU 21

D.B. Loginova, V.K. Shumny, E.V. Deineko

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: loginova@bionet.nsc.ru, shumny@bionet.nsc.ru, deineko@bionet.nsc.ru

Summary

Features of T-DNA insert organization in transgenic tobacco-plant line Nu 21 showing marker gene *nptII* mosaic expression were analyzed. It was found that the insert of exogenous DNA in the Nu 21 genome is complex. It consists of two presumably full-size T-DNA copies, T-DNA1 and T-DNA2, which have the «head to tail» orientation. A T-DNA copy truncated at both ends was detected between the two full-size copies. The truncated copy is oriented opposing the other copies. It is separated from T-DNA2 by two 33-bp long tandem repeats.

Key words: *Nicotiana tabacum*, inactivation of genes expression, tandem and inverted repeats.

ВКЛАД ГЕНОТИП-СРЕДОВЫХ ЭФФЕКТОВ В ФОРМИРОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ИНБРЕДНЫХ И АУТБРЕДНЫХ РАСТЕНИЙ

В.В. Сюков, Е.В. Мадякин, Д.В. Кочетков

ГНУ Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова РАСХН, Безенчук, Россия, e-mail: samniish@samtel.ru

Высказано и обосновано предположение об эпигенетическом характере взаимодействия «генотип–среда». При оценке генетических варианс у разновозрастных потомков это взаимодействие фиксируется как эпистатические эффекты. Показана на инбредном (яровая мягкая пшеница) и аутбредном (гибридная кукуруза) объектах закономерность более низкого уровня вклада генотип-средовых эффектов в формирование количественных признаков у гибридов по сравнению с гомозиготными формами. Учитывая в значительной степени эпигенетический характер взаимодействия «генотип–среда», эту закономерность можно объяснить с позиций гипотезы «эпигенетического баланса».

Ключевые слова: взаимодействие «генотип–среда», эпигенетическая изменчивость, эпистаз, эпигенетический баланс, пшеница, кукуруза.

Введение

В структуре фенотипической изменчивости количественных признаков, с которой имеет дело селекционер, особое место занимает взаимодействие генотип–среда. Еще Н.И. Вавилов (1935) указывал на наличие сортовых различий у пшеницы по экологической пластичности, что давало большой простор в этом отношении для селекционной работы, и на необходимость изучения природы этих различий. Но, если в отношении специфической адаптивности или устойчивости к стрессовому воздействию определенного фактора внешней среды в зоне таксономического (видового, родового) экстремума и субэкстремума (морозо-, жаростойкость, засухо-, солеустойчивость, устойчивость к болезням и т. д.) можно говорить об определенных физиологических и генетических механизмах адаптивности, то механизмы экологической адаптивности в широком смысле слова как способности генотипа к широкой норме реакции на комплекс факторов среды известны нам довольно поверхностно (Кильчевский, Хотылева, 1997). В то же время известно, что среднее значение признака и чувствительность к среде находятся под самостоятельным генетическим контролем и относительно независимы (Caligari, Mather, 1975; Connoly, Jinks, 1975; Hill, 1975; Jinks *et al.*, 1977; Jinks, Pooni, 1982; Драгавцев и др., 1984; Кильчевский, Хотылева, 1997; Dorn, Schmitt, 1997). C.R. Landry с соавт. (2006) на 6 штаммах дрожжевых грибов в трех экологических условиях нашли 221 транскрипт, ответственный за взаимодействие «генотип–среда». Позже на том же объекте для 2 штаммов и 109 рекомбинантов от скрещивания этих штаммов на двух фонах углеродистого питания выявлено 1555 генетических сцеплений для 1382 транскриптов, которые показывали существенное генотип-средовое взаимодействие (Smith, Kruglyak, 2008). Y. Li с соавт. (2006) на *Caenorhabditis elegans* на фоне двух температурных режимов выявили 197 генетических сцеплений, ответственных за подобные взаимодействия.

По M. Rutter с соавт. (2006), «genotype-environment interplay» – это общий термин, который покрывает несколько расходящихся понятий с различным содержанием. Во-первых, это взаимодействие специфических идентифицированных генов и определенных стрессовых условий среды, т. е. специфическая адаптив-

ность, которая не является объектом нашего рассмотрения. Во-вторых, это так называемые генотип-средовые корреляции, все три типа которых (пассивная, реактивная и активная, Plomin *et al*., 1977) относятся к поведенческим функциям человека и не свойственна количественным признакам растений.

К третьему виду генотип-средовых эффектов относятся изменения экспрессии генов под влиянием факторов среды, вызванные эпигенетическими механизмами. При этом имеются в виду такие эпигенетические изменения, которые передаются по наследству. Впервые подобные феномены были выявлены A. Durrant (1958, 1962). Он обнаружил, что некоторые сорта льна на фонах минерального питания способны были приобретать передаваемые по потомству новообразования, сходные или идентичные ранее выявленным парамутациям (Brink, 1956, 1960). Такие же изменения были обнаружены позже у табака (Hill, 1967; Hill, Perkins, 1969). G.M. Evans (1968) обнаружил связь «средовых» изменений с изменениями в содержании ДНК. Ныне выявлены биохимические механизмы (метилирование цитозиновых оснований, ацетилирование гистонов), относящиеся к транскрипционному типу подавления экспрессии генов (Chang, Whitelaw, 2004; Корочкин, 2006), а также обнаружены микро-РНК, определяющие посттранскрипционное регулирование активности генов (Катохин и др., 2006).

Однако эпигенетический характер имеют и генотип-средовые эффекты, связанные с изменением экспрессии генов в процессе индивидуального развития и формирования ценозов без закрепления этих эффектов в потомстве. Так, A.H. Paterson с соавт. (1991) на томатах выявили, что для одного и того же признака в разных экологических условиях проявляются разные QTL (quantitative trait loci). Аналогичные результаты получены M.C. Ungerer с соавт. (2003) на арабидопсисе и A. Börner с соавт. (2002) и Ю.В. Чесноковым и др. (2008) на пшенице. Эти данные хорошо вписываются в концепцию В.А. Драгавцева (Драгавцев, Аверьянова, 1983а, б; Драгавцев и др., 1984) переопределения генетических формул, основанную на представлениях о сложной эколого-генетической организации количественных признаков, ведущую роль в которой играет система регуляторных генов.

Логично предположить, что подобного рода эпигенетическое перераспределение экспрессии регуляторных генов при классическом количественно-генетическом анализе разновозрастных потомков будет статистически конституироваться как эпистатическое взаимодействие.

В этой связи следует оговорить, что в науке существуют две различающиеся интерпретации термина «эпистаз». Первое понятие (биологический эпистаз) введено Бэтсоном (Batson, 1909) и определено как подавление действия одной аллели другой, неаллельной первой. J.B. Holland (2001) определил механизмы действия биологического эпистаза как взаимодействие энзимов – продуктов соответствующих аллелей, которое в фенотипе проявляется как дупликатный эпистаз (в каждом из двух локусов одна из аллелей обеспечивает равноценный биохимический эффект и отсутствие обоих энзимов одновременно проявляется как эпистаз), комплементарный эпистаз (аллели двух локусов неравноценны, нужный биохимический эффект достигается лишь при наличии обоих энзимов) и сложный эпистаз (биохимический эффект достигается при взаимодействии определенной пары аллелей двух локусов).

Второе понятие – статистический эпистаз – как любое неаллельное взаимодействие генов ввел R.A. Fisher (1918). M.J. Wade с соавт. (2001), сравнивая понятия «эпистаз» в двух теоретических традициях эволюционной генетики, генетики популяций и количественной генетики, показали, как независимость действия гена (представленная мультипликативной моделью популяционной генетики) может отличаться от отсутствия эпистаза в представлении количественной генетики. Они делают вывод о прямой аналогии статистического эпистаза взаимодействию генотип-среда.

При использовании молекулярных маркеров на кукурузе (Blanc *et al*., 2006) и арабидопсисе (Juengei *et al*., 2005; Malmberg *et al*., 2006) выявлено значительное количество QTL-QTL эпистатических взаимодействий по самым разным признакам. Причем величина эпистатических (т. е. генотип-средовых) взаимодействий примерно в два раза превышает аддитивные эффекты. При этом следует заметить, что еще в конце 1950-х–начале 1960-х гг. было выявлено на дрозофиле (Parsons, 1959) и домашней птице (Hull *et al*.,

1963), что эффекты генотип-средовых взаимодействий у гетерозигот неизменно ниже, чем у гомозиготных родительских форм.

Мы поставили целью проверить эту закономерность на аутбредном (кукуруза) и инбредном (пшеница) растительных объектах. Ранее нами (Сюков, 2006) в контрастных условиях на яровой пшенице была выявлена закономерность увеличения доли эпистатических эффектов в детерминации количественных признаков в зависимости от увеличения нагрузок факторов среды, лимитирующих рост и развитие растений.

Методика

Большинство руководств по вариационной статистике мерой вклада отдельных эффектов в фенотипическую изменчивость считают сумму квадратов отклонений от средней ($SSY = SSA + SSB + SSA/B + SSP + SSZ$, где A – первый фактор, B – второй фактор, A/B – взаимодействие, P – повторения, Z – ошибка) в двухфакторном дисперсионном комплексе (Плохинский, 1978). Однако, учитывая, что мерой изменчивости количественного признака в популяциях является дисперсия ($\sigma^2_{ph} = \sigma^2_g + \sigma^2_e + \sigma^2_{g/e}$; Falconer, 1981), целесообразнее использовать параметры χ^2, представляющие из себя математические ожидания соответствующих дисперсий, рассчитываемых на основе структуры средних квадратов отклонений ($\chi^2_g = \frac{ms_A - ms_Z}{n \cdot c}$; $\chi^2_e = \frac{ms_B - ms_Z}{n \cdot r}$; $\chi^2_{g/e} = \frac{ms_{A/B} - ms_Z}{n \cdot r}$; $\chi^2_z = ms_Z$, где n – количество повторений, c – количество экологических точек, r – количество генотипов; Рокицкий, 1973). Учитывая, что возведение отклонений в квадрат является способом их модулизации и что подобная цель достигается возведением вообще в любую четную степень, для возвращения критерия изменчивости в исходную единичную степень с целью использования в качестве меры вклада отдельных эффектов в фенотипическую изменчивость мы применяли показатель χ.

В качестве инбредного объекта исследований были взяты сорта яровой мягкой пшеницы Прохоровка, Тулайковская 5, Тулайковская 10, Тулайковская 100, Тулайковская золотистая, Тулайковская остистая и Юго-Восточная 2, которые испытывались в 8 экологических средах. Опыты закладывали на полях Самарского НИИСХ им. Н.М. Тулайкова в 2006–2008 гг. на двух фонах (по паровому и зерновому предшественникам). Площадь делянки 25 м^2, повторность – трехкратная. Посев проводился сеялкой СН-10Ц, уборка – селекционным комбайном Sampo 130. С каждой делянки рендомизированно отбирался пробный сноп с площади 1 м^2. Анализу подвергалось по 50 продуктивных стеблей. По всем признакам проводился однофакторный дисперсионный анализ. По признакам, различия между вариантами по которым были достоверны, проводился двухфакторный дисперсионный анализ (фактор А – сорта, фактор В – годы × фоны).

В качестве аутбредного объекта был взят набор 16 гибридов кукурузы группы спелости ФАО 200–250 селекции различных учреждений России. Опыт закладывался в восьми экологических точках (Самарский НИИСХ – Самарская область, ВНИИ кукурузы и ООО ИПА Агрофирма «Отбор» – Кабардино-Балкария, Филиал «Поволжская селекционно-опытная станция» ГНУ ВНИИОЗ – Волгоградская область, ФГНУ «Россорго» – Саратовская область, Краснодарский НИИСХ и НПСФ «НИКАС» – Краснодарский край, Воронежский филиал ВНИИК – Воронежская область). Площадь делянки 10 м^2, повторность трехкратная. Посев проводился сеялкой «Hege-95».

Вычленение генотипических, средовых и генотип-средовых эффектов проводился по приведенному выше алгоритму. Подсчеты проводились на персональном компьютере с использованием пакета программ «Agros-2.09».

Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, по всем изучавшимся признакам доля генотипа в формировании фенотипа яровой пшеницы примерно одинакова и равна 10,0–15,5 %. По двум признакам (количество зерен в колосе и высота растения) доля эффектов взаимодействия «генотип/среда» значительно ниже, чем генотипические и особенно средовые вклады. По этим признакам отбор может быть эффективным в локальных условиях при наличии контрастных по фенотипу рекомбинантов в гибридных популяциях. Оба эти признака в конкретном спектре флюкту-

Таблица 1

Эффекты (χ) и доля влияния (%) генотипа, среды и взаимодействия «генотип/среда» на формирование количественных признаков у яровой мягкой пшеницы

Источник варьирования	Урожай зерна, г/м^2		Количество зерен в колосе		Масса зерна с колоса, г		Высота растения, см		Длина верхнего междоузлия, см	
	χ	%	χ	%	χ	%	χ	%	χ	%
Сорта (А)	8,24	10,0	0,51	11,0	0,026	11,5	1,97	15,5	1,21	11,3
Условия среды (В)	30,7	37,1	1,67	35,9	0,059	25,8	5,88	46,4	3,60	33,5
Взаимодействие (А × В)	24,8	30,0	0,15	3,3	0,050	21,7	0,74	5,8	3,42	31,8
Ошибка (Z)	18,7	22,9	2,31	49,8	0,094	41,0	4,09	32,3	2,52	23,4

ирующих факторов среды по шкале напряженности селектируемых признаков должны быть отнесены к средненапряженным.

Три признака (урожай зерна, масса зерна с колоса и длина верхнего междоузлия) имеют существенные нагрузки эффектов генотип-средового взаимодействия (в 2–3 раза превышающих вклад генотипа) и поэтому относятся к относительно напряженным признакам, отбор по которым может быть эффективным лишь вдоль специального экологического вектора (Сюков и др., 2008).

В отличие от пшеницы в экспериментах с гибридной кукурузой по большинству признаков достоверных эффектов генотип-средовых взаимодействий отмечено не было. По признакам «урожай зерна» и «количество дней до выноса нитей» межсортовые различия вносили значительно больший вклад в формирование фенотипа, нежели все изучавшиеся количественные признаки у инбредного объекта (табл. 2). Генотип-средовая составляющая у кукурузы по этим признакам была менее значима, чем межсортовая. По признаку «уборочная влажность зерна» соотношение генотипической и генотип-средовой составляющей было аналогичным таковому у большинства количественных признаков, наблюдаемых у инбредной культуры. Однако вклад взаимодействия «генотип–среда» все же вдвое ниже, чем у пшеницы.

То есть в целом подтверждается отмеченная ранее на животных объектах (Parsons, 1959; Hull *et al*., 1963) тенденция к неизменно более низкому уровню вклада генотип-средовых эффектов в формирование количественных признаков у гибридов по сравнению с гомозиготными формами. Учитывая в значительной степени эпигенетический характер взаимодействия «генотип–среда», эту закономерность можно объяснить с позиций гипотезы «**эпигенетического баланса**».

Суть этой гипотезы заключается в том, что в любой конкретной совокупности факторов среды генофонд популяции реализует определенную совокупность транскрибируемых последовательностей и регуляторных генов, обес-

Таблица 2

Эффекты (χ) и доля влияния (%) генотипа, среды и взаимодействия «генотип/среда» на формирование количественных признаков у кукурузы

Источник варьирования	Урожай зерна, г/м^2		Уборочная влажность зерна, %		Количество дней до выноса нитей	
	χ	%	χ	%	χ	%
Сорта (А)	0,2927	23,2	0,6437	8,4	0,8533	16,4
Условия среды (В)	0,3320	26,3	5,0904	66,0	3,0680	58,5
Взаимодействие (А × В)	0,2500	19,8	1,1420	14,8	0,5309	10,1
Ошибка (Z)	0,3887	30,7	0,8342	10,8	0,7884	15,0

печивающих оптимальную физиологическую целостность ценоза во времени и пространстве с наименьшими энергетическими затратами. Такое состояние системы «генотип–среда» мы называем эпигенетическим балансом. При инициации изменения любого из элементов эпигенотипа (совокупности факторов внешней среды или генетической среды) происходит индукция экспрессии дополнительных транскриптонов, обеспечивающих формирование нового эпигенетического баланса. Поскольку в гетерозиготных гибридах уже реализована часть эпигенетической изменчивости, то эта часть не будет зафиксирована в статистике χ как мере взаимодействия «генотип–среда».

Ясно, что не по всем количественным признакам эта закономерность будет работать одинаково успешно. Проявление этой тенденции будет зависеть как от направления и широты изменчивости экологического фактора, так и от специфики генотипической вариабельности изучаемого объекта. Например, низкое значение статистики χ по признаку «высота растения» у яровой пшеницы может определяться высокой долей аддитивной вариабельности в локусе RhtB1. Три сорта (Тулайковская 5, Тулайковская 100 и Прохоровка) несут высокоэкспрессивную аллель RhtB1b, остальные – RhtB1a.

Таким образом, полевые эксперименты на гетерозиготном аутбредном растительном объекте (гибриды кукурузы) в сравнении с инбредным гомозиготным объектом подтверждают закономерность более низкого уровня вклада генотип-средовых эффектов в формирование количественных признаков у гибридов по сравнению с гомозиготными формами. Учитывая в значительной степени эпигенетический характер взаимодействия «генотип–среда», эту закономерность можно объяснить с позиций гипотезы «эпигенетического баланса».

Литература

Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы // Теоретические основы селекции растений. Т. 2. М.; Л., 1935. С. 3–214.

Драгавцев В.А., Аверьянова А.Ф. Механизмы взаимодействия генотип–среда и гомеостаз количественных признаков растений // Генетика. 1983а. Т. 19. № 11. С. 1806–1810.

Драгавцев В.А., Аверьянова А.Ф. Переопределение генетических формул количественных признаков в разных условиях среды // Генетика. 1983б. Т. 19. № 11. С. 1811.

Драгавцев В.А., Цильке Р.А., Рейтер Б.Г. и др. Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири. Новосибирск, 1984. 230 с.

Катохин А.В., Кузнецова Т.Н., Омельянчук Н.А. Ми-РНК – новые регуляторы активности генов у эукариот // Информ. вестник ВОГиС. 2006. Т. 10. № 2. С. 241–272.

Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Экологическая селекция растений. Минск: Тэхналогія, 1997. 372 с.

Корочкин Л.И. Что такое эпигенетика // Генетика. 2006. Т. 42. № 9. С. 1156–1164.

Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. М.: Изд-во МГУ, 1978. 265 с.

Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйш. шк., 1973. 320 с.

Сюков В.В. Генетическое обоснование выбора фонов при отборе по количественным признакам // Проблемы интенсификации и экологизации земледелия России: Матер. науч.-практ. конф. 14–15 июня 2006 г. Рассвет, 2006. С. 458–462.

Сюков В.В., Захаров В.Г., Кривобочек В.Г. и др. Метод отбора генотипов яровой мягкой пшеницы на гомеоадаптивность: Метод. указания. Самара, 2008. 18 с.

Чесноков Ю.В., Почепня Н.В., Бернер А. и др. Эколого-генетическая организация количественных признаков растений и картирование локусов, определяющих агрономически важные признаки у мягкой пшеницы // Докл. РАН. 2008. Т. 418. № 5. С. 693–696.

Batson W. Mendel's principles of heredity / Ed. W. Batson. Cambridge, 1909.

Blanc G., Charcosset A., Mangin B. *et al*. Connected populations for detecting quantitative trait loci and testing for epistasis: an application in maize // Theor. Appl. Genet. 2006. V. 113. № 2. P. 206–224.

Börner A., Schumann E., Fürste A. *et al*. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. 2002. V. 105. P. 921–936.

Brink R.A. A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible // Genetics. 1956. V. 41. P. 872–889.

Brink R.A. Paramutation and chromosome organization // Quart. Rev. Biol. 1960. V. 35. P. 120–137.

Caligari P.D.S., Mather K. Genotype × environment interaction. III. Interactions in *Drosophila melanogaster* // Proc. R. Soc. Lond. 1975. B. 191. P. 387–411.

Connoly V., Jinks I.L. The genetical architecture of general and specific environmental sensitivity //

Heredity. 1975. V. 35. P. 2. P. 249–259.
Chang S., Whitelaw E. Epigenetic germline inheritance // Curr. Opin. Genet. and Developm. 2004. V. 14. P. 692–696.
Dorn L.A., Schmitt J. Do plasticity genes exist or not? // Progr. Abstr. of 6th Congr. Eur. Soc. Evol. Biol. Arnehm, 24–28 Aug., 1997. Wageningen, 1997.
Durrant A. The environmental induction of heritable changes in Linum // Heredity. 1962. V. 17. P. 27–61.
Durrant A. Environmental conditioning of flax // Nature. 1958. V. 181. P. 928–929.
Evans G.M. Nuclear changes in flax // Heredity. 1968. V. 23. P. 25–28.
Falconer D.S. Introduction to quantitative genetics. 2nd ed. N.Y.: Longman Sci. Techn., 1981. 438 p.
Fisher R.A. The correlations between relatives on the supposition of Mendelian inheritance // Trans. Roy. Soc. Edinbourg, 1918. V. 52. P. 399–433.
Hill J. The environmental induction of heritable changes in *Nicotiana rustica*: Parental and selection lines // Genetics. 1967. V. 55. P. 735–754.
Hill J., Perkins J.M. The environmental induction of heritable changes in *Nicotiana rustica*: effect of genotype-environment interactions // Genetics. 1969. V. 61. P. 661–675.
Hill J. Genotype–environment interactions – a challenge for plant breeding // J. Agric. Sci. 1975. V. 85. P. 3. P. 477–498.
Holland J.B. Epistasis and plant breeding // Plant Breed. Rev. 2001. V. 21. P. 27–92.
Hull P., Gove R.S., Slen S.B., Crawford R.D. A comparison of the interaction, with two types of environment, of pure strains or strain crosses of poultry // Genet. Res. 1963. V. 4. P. 370–381.
Jinks J.L., Jayasekara N.E.M., Boughey H. Joint selection for both extremes of mean performance and of sensitivity to a macroenvironmental variable. I. Single seed descent // Heredity. 1977. V. 39. P. 3. P. 345–355.
Jinks J.L., Pooni H.S. Determination of the environmental sensitivity of selection lines of *Nicotiana rustica* by the selection environment // Heredity. 1982. V. 49. P. 3. P. 291–294.
Juengei T.E., Son S., Stowe K.A., Simms E.L. Epistasis and genotype-environment interaction for quantitative trait loci affecting flowering time in *Arabidopsis thaliana* // Genetica. 2005. V. 123. № 1/2. P. 87–105.
Landry C.R., Oh J., Hartl D.L., Cavalieri D. Genome-wide scan reveals that genetic variation for transcriptional plasticity in yeast is biased towards multi-copy and dispensable genes // Gene. 2006. V. 366. P. 343–351.
Li Y., Alvarez O.A., Gutteling F.W. *et al*. Mapping determinants of gene expression plasticity by genetical genomics in *C. elegans* // PLOS Genet. 2006. V. 2. e222.
Malmberg R.L., Held S., Waits A., Mauricio R. Epistasis for fitness-related quantitative traits in *Arabidopsis thaliana* grown in the field and the greenhouse // Genetics. 2006. V. 171. № 4. P. 2013–2027.
Parsons P.A. Genotypic-environmental interactions for various temperatures in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1959. V. 44. № 6. P. 1325–1333.
Paterson A.H., Damon S., Hewitt J.D. *et al*. Mendelian factors ungerlying quantitative traits in tomato: Comparison across species, generations, and environments // Genetics. 1991. V. 127. P. 181–197.
Plomin R., DeFries J.C., Loehlin J.C. Genotypic-environmental interactions and correlation in the analysis of human behavior // Psychol. Bull. 1977. V. 84. № 2. P. 309–322.
Rutter M., Moffitt T.E., Caspi A. Gene-environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects // J. Child Psychol. Psychiatry. 2006. V. 47. № 3/4. P. 226–261.
Smith E.N., Kruglyak L. Gene-environment interaction in yeast gene expression // PLOS Biol. 2008. V. 6. № 4. e83.
Ungerer M.C., Halldorsdottir S.S., Purugganon M.D., Mackay T.F. Genotype-environmental interactions at quantitative trait loci affecting inflorescence development in *Arabidopsis thaliana* // Genetics. 2003. V. 165. P. 353–365.
Wade M.J., Winther R.G., Agrawal A.F., Goodnight C.J. Alternative definitions of epistasis: dependence and interaction // Trends Ecol. Evol. 201. V. 16. № 9. P. 498–504.

THE CONTRIBUTION OF GENOTYPE-ENVIRONMENTAL EFFECTS TO THE FORMATION OF QUANTITATIVE TRAITS IN INBRED AND OUTBRED PLANTS

V.V. Syukov, E.V. Madyakin, D.V. Kochetkov

Samara Scientific Research Institute of Agriculture, Bezenchuk, Russia,
e-mail: samniish@samtel.ru

Summary

The assumption about the epigenetic nature of the genotype–environment interaction is made and proven. When genetic variances in descendants of various ages are analyzed, this interaction manifests itself as epistasis. Study of inbred (common spring wheat) and outbred (hybrid maize) forms shows that ther contribution of genotype–environmental factors to quantitative traits in hybrids is less than in homozygous forms. With regard to the substantially epigenetic nature of the genotype–environment interaction, this trend can be explained in terms of the epigenetic balance hypothesis.

Key words: «genotype–environment» interaction, epigenetical variability, epistasis, epigenetical balance, wheat, corn.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ПРОЯВЛЕНИИ ГЕТЕРОЗИСА

Е.В. Мадякин, В.В. Сюков

ГНУ Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова РАСХН, Безенчук, Россия, e-mail: samniish@samtel.ru

Дан анализ генетических концепций гетерозиса. Сделан вывод о решающем вкладе в формирование этого явления эпигенетической изменчивости. Проведены исследования на кукурузе, подтверждающие гипотезу эпигенетического баланса. Выявлены сигнальные признаки, детерминация которых, по-видимому, полностью или частично определяется транскриптонами, активизирующимися как в ответ на гибридизацию, так и в ответ на изменение нагрузок факторов внешней среды (вес початка, высота растения, количество листьев, количество стеблевых узлов). Из признаков продуктивности, ОКС по которым в наибольшей степени коррелирует с реакцией сигнальных признаков на сроки сева, отмечены диаметр початка и количество рядов зерен в початке.

Ключевые слова: кукуруза, гетерозис, эпигенетическая изменчивость, эпигенетический баланс, комбинационная способность, сроки сева.

Введение

По определению Ф. Добржанского гетерозис – это более высокие по сравнению с родителями адаптивность, плодовитость, жизнеспособность и устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам у гибридов F_1 (Dobzhansky, 1950). В сельскохозяйственном смысле F_1 должен превосходить лучшего родителя. Гетерозис – это одно из наиболее ярко проявляющихся и широко использующихся на практике биологических явлений. Однако, несмотря на то что этому явлению уделялось на протяжении последних ста лет много внимания, относительно биохимических и генетических механизмов возникновения гетерозиса в гибридном потомстве окончательно точка не поставлена. Наиболее популярны теории доминирования и сверхдоминирования. Концепция комплементарного взаимодействия благоприятных доминантных факторов и подавления вредных рецессивных гомозигот связана с именами C.B. Davenport (1908), A.B. Bruce (1910), F. Keebl (1910), C.J. Pellow (1910), D.E. Jones (1917). Эта теория до сих пор очень популярна и находит согласованные подтверждения в популяционно-генетических исследованиях (Спрэг, 1987), в том числе и с использованием современных молекулярно-генетических методов (Xiao *et al*., 1994).

Одновременно с концепцией доминирования родилась альтернативная теория сверхдоминирования (East, 1908; Shull, 1908; East, Hayes, 1912). У этой теории не было серьезной генетико-статистической базы. Однако выдвинутая E.M. East (1936) гипотеза о дивергентных аллелях, каждый из которых вносит вклад в формирование физиологического базиса гибридного индивида, позволила теории сверхдоминирования стать достаточно популярной. Иногда эти представления определяются как теория так называемого физиологического гетерозиса (Астауров, 1968; Навроцька и др., 2005). Многочисленные примеры работы однолокусного гетерозиса на горохе, кукурузе, томатах приведены в работах В.К. Шумного. Показаны конкретные биохимические механизмы работы внутрилокусных коадаптационных генетических блоков (Шумный и др., 1982).

Дальнейшее свое развитие эта теория нашла в гипотезе трансгрессивного расщепления (Riseberg *et al*., 1999). Так, проанализировав 3252 QTL по 749 признакам в 96 опытах на

диких и культурных популяциях, L.H. Riseberg с соавт. (2003) установили, что 63,6 % локусов имели хотя бы одну антагонистическую пару QTL (т. е. QTL родителей с эффектами в противоположных направлениях). Этот тип генетических взаимодействий присущ более растениям, чем животным. Антагонистические эффекты характерны более для внутривидовых, чем межвидовых скрещиваний и для морфологических, чем физиологических классов.

Правда, анализируя многочисленные свидетельства в пользу теории сверхдоминирования, R.W. Allard (1999) сводит их к неаллельным взаимодействиям. Он вводит понятие «псевдосверхдоминирование», или «комплементарное доминирование», которое связано с переходом у перекрестноопыляющихся культур от аутбридинга к инбридингу. В результате гомозиготизации вредные аллели элиминируются, а в гибриде F_1 от скрещивания инбредных линий мы получаем сложение эффектов отдельных аллелей различных локусов, которые в детерминации одного сложного признака представляются как один локус. Таким образом, как бы наводится мостик между теорией сверхдоминирования и третьей, менее обсуждаемой, гипотезой, предполагающей, что гетерозис может явиться результатом эпистатического взаимодействия (Goodnight, 1999; Stuber, 1999). C.W. Stuber с соавт. (1992) показали существенное влияние на проявление гетерозиса у кукурузы псевдосверхдоминирования. Используя современные молекулярно-генетические методы, N.H. Syed, Z.J. Chen (2005) на рендомизированных изогенных линиях от скрещивания двух экотипов арабидопсиса с использованием 446 известных молекулярных маркеров также обнаружили большой вклад в гетерозис эпистаза. Z.-K. Li с соавт. (2001) на рисе при анализе взаимодействия QTL, используя карту сцепления 182 маркерных генов (RFLP), констатировали, что основную (> 90 %) долю QTL, связанных с гетерозисом, определяли эффектами эпистаза и сверхдоминирования.

Однако уже J.M. Lerner (1954) и K. Mather (1955) предположили, что явление гетерозиса не может быть объяснено лишь какой-то одной из вышеназванных гипотез. Окончательно эта точка зрения была оформлена как теория генетического баланса Н.В. Турбиным (Турбин, 1961; Турбин, Хотылева, 1967). В формулировке В.Г. Конарева (1991) «гетерозисное состояние возникает, во-первых, как следствие межаллельных, межгенных и других взаимодействий, которые в функциональном отношении могут быть представлены как процессы стимулирования и ингибирования работы генов и генетических систем, во-вторых, как эффект компенсации, взаимодополнений в генетических системах гибридного организма». Таким образом, в рамках теории генетического баланса следовало бы рассматривать и выдвинутую В.А. Струнниковым (1974) теорию компенсационного комплекса генов, и гипотезу ядерно-цитоплазматического гетерозиса (Kihara, 1979; Семенов и др., 2005), и митохондриального гетерозиса (McDaniel, Sarkissian, 1966; Sarkissian, Srivastava, 1971; McDaniel, Frankel, 1986).

Кроме разного рода межгенных и цитогенных взаимодействий, рядом исследователей показано, что проявление гетерозиса связано с условиями внешней среды (Wellhausen, 1952; Lloyd, 1980; Chapman *et al.*, 2000). Более того, M.R. Dudash (1990) выявил, что гетерозис сильнее проявляется в более суровых условиях, т. е. проявляется та же закономерность, которая нами показана в виде увеличения доли эпистатических эффектов в детерминации количественных признаков в зависимости от увеличения нагрузок факторов среды, лимитирующих рост и развитие растений (Сюков, 2006). По М.М. Рахман и В.А. Драгавцеву (1990), механизм гетерозиса сводится к переопределению генетических формул количественного признака, т. е. к смене спектров генов, детерминирующих компоненты сложного признака при смене лимитирующих факторов внешней среды.

Еще R.P. Wagner и H.K. Mitchell (1955) предположили, что в снятии генетического блокирования, в устранении репрессирующих факторов заключается одно из основных биохимических объяснений гетерозиса. В последнее время все больше накапливается данных в пользу точки зрения о том, что эффект гетерозиса связан с регуляторными механизмами активности генетического аппарата клетки. Большинство данных в пользу эпигенетической природы гетерозиса получены на естественных и синтетических аллополиплоидах арабидопсиса (Wang *et al.*, 2004; Grant-Downton, Dickinson, 2006), табака

(Kovarik *et al*., 2008), хлопчатника (Adams *et al*., 2003), на тополе (Zhang, Adams, 2007). R.T. Grant-Downton, H.G. Dickinson (2006) на арабидопсисе доказали, что вызванные гибридизацией эпигенетические изменения имеют ярко выраженный адаптационный характер. По их мнению, эта модель работает практически на всех растениях. H.-Y. Zhang с соавт. (2008) на рисе показали, что возможный механизм гетерозиса – это взаимодействие между экспрессией транскриптонов и промоторами цис-регулирующих факторов. H. Shaked с соавт. (2001), K. Kashkush с соавт. (2002) на аллотетраплоидах эгилопсов (*Ae. longissima*, umbellulata, sharonensis) и пшениц-однозернянок (*T. urarthu*, monococcum) выявили многочисленные эпигенетические изменения как реакцию на гибридизацию. Большинство этих изменений, связанных с метилизацией цитозинов, восстанавливались в последующих поколениях. Для интерпретации результатов многочисленных исследований L. Comai с соавт. (2003) вводят термин «геттером» – элемент ДНК, являющейся частью гетерохроматина. В результате гибридизации происходят потеря эпигенетического подавления родительского гетерома и, как результат, – геномная неустойчивость. Эта концепция перекликается с выдвинутой нами гипотезой эпигенетического баланса (Сюков и др., 2009). В.Г. Шахбазов (1975), B. Milborrow (1998), анализируя биофизические механизмы формирования гетерозиса, пришли к заключению о существовании эволюционно предопределенных генетических механизмов, ограничивающих энергетическую активность системы (уровень энтропии) не на максимуме возможностей, а на некоем энергетическом оптимуме. При гибридизации, считают они, эти ограничения снимаются. Мы считаем, что этот механизм работает шире. Уровень энергетического оптимума в сложившейся динамической системе «идеотип–паратип» мы и называем эпигенетическим балансом. Снятие ограничений на функционирование всех потенциальных транскриптонов может происходить при нарушении любой из сторон эпигенотипа – идеотипа (совокупности всех генетических факторов ядра и цитоплазмы) и паратипа (совокупности факторов среды). Если эта концепция верна, то можно найти некие сигнальные признаки, детерминация которых полностью или частично определяется транскриптонами, активизирующимися как в ответ на гибридизацию, так и на изменение нагрузок факторов внешней среды. Проверке этой гипотезы и посвящено данное исследование.

Материал и методика

В качестве исходного материала были взяты 8 раннеспелых инбредных линий кукурузы селекции Самарского НИИСХ (Б 204, Б 223, Б 228-3, Б 250, Б 296, Б 332, Б 338 и Б 405) и французская скороспелая линия F_2. Гибридизацию по полной диаллельной схеме между инбредными линиями проводили принудительным методом. Оценку комбинационной способности по первой модели B. Griffing (1956) проводили по В.Г. Вольф и др. (1980).

Для создания искусственного экологического градиента проводили посев инбредных линий в два срока: сверхранний (температура почвы на глубине 10 см – 6–7 °С) и оптимальный (температура почвы на глубине 10 см – 12–14 °С). Индекс реакции количественного признака на изменение среды определяли по формуле:

$$I = \frac{X_i - X_0}{X_0},$$

где X_i и X_0 – значения признака соответственно при раннем и оптимальном сроках сева.

Опыты закладывали вручную в 2006 г. на экспериментальной базе Самарского НИИСХ. Учитывали следующие количественные признаки: высота растения, см (В), количество стеблевых узлов (КУ), количество листьев (КЛ), количество початков на растении (КП), вес початка, г (ВП), диаметр початка, см (ДП), длина початка, см (Д), количество рядов зерен в початке (РЗ), количество зерен в ряду (КЗ), масса 1000 зерен, г (МЗ).

Подсчеты проводились на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ «Agros-2.09».

Результаты и обсуждение

При анализе связи реакции набора инбредных линий кукурузы на экологический градиент, формируемый сроками сева, с общей комбинационной способностью этих линий по результатам диаллельного теста, можно выделить две группы количественных признаков. Первая груп-

па, объединяющая количественные признаки продуктивности, характеризуется отсутствием корреляции I/ОКС (табл. 1). Следует отметить, что основная масса этих признаков характеризуется незначительными эффектами генотип-средовых взаимодействий, свидетельством чего являются высокие положительные корреляции (0,443–0,843) между числовыми рядами, формируемыми при разных сроках сева. Лишь по признакам «количество початков на растение» и «масса 1000 зерен» отмечены недостоверные корреляции (0,174 и 0,054). Не исключено, что при формировании более напряженного экологического градиента, крайние точки которого будут инициировать значительную эпигенетическую изменчивость, картина может измениться.

Вторая группа признаков, которую мы условно назвали сигнальными признаками, характеризуется положительной связью I/ОКС (табл. 2). Наиболее эпигенетически пластичными при этом являются признаки «количество листьев» и «количество стеблевых узлов». Они отличаются незначительными корреляциями между датами при раннем и оптимальном сроке сева (0,250–0,320) и достоверными положительными корреляциями I/ОКС. Признаки «вес початка» и «высота растения» высоконаследуемы (корреляция между числовыми рядами по срокам сева 0,670–0,537), и это приближает их к признакам первой группы.

Таким образом, выявлена группа признаков, по которым мы можем ожидать равнонаправленные эпигенетические сдвиги в ответ как на изменение экологического градиента, так и на гибридизацию, что вписывается в выдвигаемую нами гипотезу эпигенетического баланса.

В сформированной нами экспериментальной схеме формирования экологического градиента мы можем прогнозировать комбинационную способность инбредных линий лишь по двум признакам – диаметру початка и количеству рядов зерен в початке, корреляции ОКС которых с индексами реакции на среду сигнальных признаков близки к достоверным (табл. 3).

Из набора изучавшихся инбредных линий высокие положительные индексы по всем сигнальным признакам и, соответственно, высокие эффекты ОКС по признакам продуктивности (кроме массы 1000 зерен) имеет Б-250, которая широко используется в качестве отцовской формы при создании раннеспелых простых и тройных гибридов кукурузы в Самарском НИИСХ.

Таким образом, анализ литературы и полевых экспериментов на кукурузе дает основание использовать однотипность эпигенетической реакции генотипов на гибридизацию и изменение напряженности факторов внешней среды для феногенетического прогнозирования комбинационной способности у инбредных линий.

Таблица 1

Реакция инбредных линий кукурузы на срок сева (I), ОКС по количественным признакам продуктивности и корреляция I/ОКС

Линия	КП		ДП		Д		РЗ		КЗ		МЗ	
	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС
Б 228-3	0,03	–0,038	0,08	–0,146	0,000	–0,400	0,000	–1,03	–0,119	0,710	0,036	–1,03
Б 204	–0,06	–0,010	–0,07	0,111	0,008	0,680	–0,071	1,66	–0,036	1,510	0,304	–23,53
Б 223	–0,21	0,055	0,00	–0,153	0,137	–0,120	–0,033	–1,93	–0,089	–2,280	0,000	30,40
F_2	0,09	–0,002	0,04	–0,010	0,007	–0,230	–0,081	0,33	–0,075	–0,180	–0,231	–9,60
Б 296	0,22	0,012	–0,05	–0,003	–0,007	–0,030	0,000	–0,23	–0,034	0,220	0,000	1,83
Б 332	0,03	–0,002	0,06	0,154	0,092	0,720	–0,026	0,23	0,030	0,070	–0,038	21,11
Б 338	0,25	0,005	0,05	–0,067	0,025	0,040	–0,083	–0,37	–0,112	–0,660	0,333	13,61
Б 250	–0,10	0,019	0,07	0,147	–0,100	–0,030	0,079	1,43	0,060	0,390	0,043	–26,03
Б 405	–0,07	–0,038	–0,03	–0,032	0,074	–0,620	0,079	–0,09	0,132	0,220	–0,185	–6,75
R (I/ОКС)	0,147		–0,015		0,044		0,090		0,268		–0,039	

Таблица 2

Реакция инбредных линий кукурузы на срок сева,
ОКС по сигнальным признакам и корреляция I/ОКС

Линия	ВП		В		КЛ		КУ	
	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС	I	ОКС
Б 228-3	–0,182	–6,87	–0,078	4,860	–0,130	0,056	–0,143	0,057
Б 204	0,111	13,42	0,014	2,020	–0,114	–0,066	–0,099	–0,036
Б 223	0,093	–10,94	–0,077	–2,770	–0,125	0,063	–0,127	0,057
F_2	–0,091	–5,58	–0,108	–8,530	–0,107	–0,459	–0,128	–0,457
Б 296	0,263	0,42	0,104	–0,100	–0,010	0,091	–0,034	0,107
Б 332	0,102	15,49	0,063	0,180	0,000	–0,052	–0,031	–0,050
Б 338	–0,026	–5,65	–0,004	–0,030	–0,032	–0,130	–0,036	–0,143
Б 250	0,366	6,63	0,066	4,420	0,107	0,613	0,118	0,600
Б 405	0,138	–6,94	0,012	–0,050	–0,095	–0,116	–0,095	–0,136
R (I/ОКС)	0,425		0,457		0,677		0,734	

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между индексами отзывчивости (I) сигнальных признаков
и ОКС признаков продуктивности

Коррелирующие признаки	КП	ДП	Д	РЗ	КЗ	МЗ
Вес початка	0,401	0,582	0,207	0,428	0,045	–0,267
Высота растения	0,043	0,656	0,409	0,461	0,322	–0,168
Количество листьев	0,268	0,646	0,246	0,463	0,105	–0,210
Количество стеблевых узлов	0,272	0,648	0,233	0,524	0,132	–0,308

Литература

Астауров Б.Л. О так называемом физиологическом гетерозисе // Гетерозис: теория и практика. Л., 1968. С. 215–238.

Вольф В.Г., Литун П.П., Хавелова А.В., Кузьменко Р.И. Методические рекомендации по применению математических методов для анализа экспериментальных данных по изучению комбинационной способности. Харьков, 1980. 76 с.

Конарев В.Г. Гетерозис, его сущность и прогнозирование // Использование гетерозиса у овощных и бахчевых культур: Сб. тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Л., 1991. Т. 145. С. 12–19.

Навроцька В., Салов О., Шахбазов В. Прояви ефекту фізіологічного гетерозису в лініях шовковичного шовкопряда // Вісник Львів. університету. Серія біологічна, 2005. Вип. 39. С. 60–65.

Рахман М.М., Драгавцев В.А. Новые подходы к прогнозированию гетерозиса у растений // С.-х. биология. 1990. № 1. С. 3–12.

Семенов О.Г., Njoka F.M., Артамонов В.Д. Ядерно-цитоплазматический гетерозис у яровых гибридов пшеницы (*T. aestivum* L.) и проблема его сохранения в поздних поколениях // Матер. междунар. конф., посвящ. 60-летию ГБС им. Н.В. Цицина. Пущино, 2005. С. 451–453.

Спрэг Дж.Ф. Гетерозис кукурузы: теория и практика // Гетерозис: Пер. с англ. М.: Агропромиздат, 1987. С. 71–97.

Струнников В.А. Возникновение компенсационного комплекса генов – одна из причин гетерозиса // Общ. биология. 1974. Т. 35. № 5. С. 666–677.

Сюков В.В. Генетическое обоснование выбора фонов при отборе по количественным признакам // Проблемы интенсификации и экологизации земледелия России: Матер. науч.-практ. конф. 14–15 июня 2006. Рассвет, 2006. С. 458–462.

Сюков В.В., Мадякин Е.В., Кочетков Д.В. Вклад генотип-средовых эффектов в формирование количественных признаков у инбредных и аутбредных растений // Информ. вестник ВОГиС. 2010. Т. 14. № 1. С. 141–147.

Турбин Н.В. Гетерозис и генетический баланс // Гетерозис. Минск, 1961. С. 3–35.

Турбин Н.В., Хотылева Л.В. Гетерозис // Цитология и генетика. 1967. № 6. С. 36–49.

Шахбазов В.Т. Некоторые биофизические проявления и механизмы эффекта гетерозиса у растений // Гетерозис сельскохозяйственных растений, его физиолого-биохимические и биофизические основы. М.: Колос, 1975. С. 3–14.

Шумный В.К., Соколов В.А., Вершинин А.В. Гетерозис и механизмы сверхдоминирования // Гетерозис. Минск: Наука и техника, 1982. С. 109–141.

Adams K.L., Cronn R., Percifield R., Wendel J.F. Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organspecific reciprocal silencing // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. № 8. P. 4649–4651.

Allard R.W. History of plant population genetics // Ann. Rev. Genetics. 1999. V. 33. P. 1–278.

Bruce A.B. The Mendelian theory of heredity and the argumentation of vigor // Science. 1910. V. 32. № 10. P. 627–628.

Chapman S.C.M., Cooper M., Butler D.G., Henzell R.G. Genotype by environment interactions affecting grain sorghum. I. Characteristics that confound interpretation of hybrid yield // Austr. J. Agric. Res. 2000. V. 51. P. 197–207.

Comai L., Madlung A., Joseffson C., Tygai A. Do the different parental «heteromes» cause genomic shock in newly formed allopolyploids? // Philos. Transactions of the Royal Soc. London, 2003. Ser. B. V. 358. № 1434. P. 1149–1155.

Davenport C.B. Degeneration, albinism and inbreeding // Science. 1908. V. 28. P. 454–455.

Dobzhansky T. Genetics of natural populations. XIX. Origin of heterosis through natural selection in populations *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1950. V. 35. P. 288–302.

Dudash M.R. Relative fitness of selfed and outcrossed progeny in a self-compatible, protandrous species, *Sobatia angularis* L. (Gentianaceae): a comparison in three environments // Evolution. 1990. V. 44. P. 1129–1139.

East E.M. Inbreeding in corn // Rept. Conn. Agric. Exptl. Sta. 1908. P. 419–428.

East E.M., Hayes H.K. Heterozygosis in evolution and in plant breeding // US Bur. Land Industr. Bull. 1912. № 203. P. 1–58.

East E.M. Heterosis // Genetics. 1936. V. 21. P. 375–397.

Goodnigh C.J. Epistasis and heterosis // The genetics and exploitation of heterosis in crops. Madison, 1999. P. 59–67.

Grant-Downton R.T., Dickinson H.G. Epigenetics and its implications for plant biology. 2. The «Epigenetic Epiphany»: epigenetics, evolution and Beyond // Ann. Bot. 2006. V. 97. № 1. P. 11–27.

Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems // Austral. J. Biol. Sci. 1956. V. 9. № 4. P. 463–493.

Jones D.E. Dominance of linked as a means of accounting for heterosis // Genetics. 1917. V. 2. P. 466–479.

Keebl F., Pellow C.J. The mode of inheritance of stature and time of flowering in peas // Genetics. 1910. V. 1. P. 41–56.

Kihara H. Nucleo-cytoplasmic hybrids and nucleo-cytoplasmic heterosis // Seiken Ziho. 1979. V. 27/28. P. 5–13.

Kovarik A., Dadejova M., Lim Y.K. *et al*. Evalution of rDNA in Nicotiana allopolyploids: A potential link between rDNA homogenization and epigenetics // Ann. Bot. 2008. V. 101. № 6. P. 815–823.

Kashkush K., Feldman M., Levy A.A. Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allopolyploid // Genetics. 2002. V. 160. № 4. P. 1651–1659.

Lerner J.M. Genetic homeostasis. N.Y.: J.Willey and Sons Inc., 1954. 138 p.

Li Z.-K., Luo L.J., Mei H.W. *et al*. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice // Genetics. 2001. V. 158. № 3. P. 1737–1753.

Lloyd D.G. Demographic factors and mating patterns in angiosperms // Demography and Evolution in Plant Populations. Blackwell: Oxford, 1980. P. 67–88.

McDaniel R.G., Sarkissian I.V. Heterosis: complementation by mitochondria // Science. 1966. V. 152. P. 1640.

McDaniel R.G., Frankel R. Biochemical and physiological basis of heterosis // Critical Reviews in Plant Science, 1986. V. 4. I. 3. P. 227–246.

Mather K. The genetical basis of heterosis // Proc. Roy. Soc. 1955. V. 144. № 915. P. 143–150.

Milborrow B. A biochemical mechanism for hybrid vigour // J. Exp. Bot. 1998. V. 49. P. 1063–1071.

Riseberg L.H., Archer M.A., Wayne R.K. Transgressive segregation, adaptation and speciation // Heredity. 1999. V. 83. P. 363–372.

Riseberg L.H., Widmer A., Arutz A., Burke J. The genetic architecture necessary for transgressive segregation in common in natural and domesticated populations // Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Series B. 2003. V. 358. № 1434. P. 1141–1147.

Sarkissian I.V., Srivastava H.K. Mitochondrial polymorphism III. Heterosis, complementation, and spectral properties of purifield cytochrome oxidase of wheat // Biochem. Genet. 1971. V. 5. № 1. P. 57–63.

Shaked H., Kashkush K., Ozkan H. *et al*. Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and

reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat // Plant Cell. 2001. V. 13. № 8. P. 1749–1759.
Shull J.H. A pure-line method of corn breeding // Amer. Breeders Assoc. Rep. 1908. № 4. P. 296–301.
Stuber C.W. Heterosis in plant breeding // Plant. Breed. Rev. 1999. V. 12. P. 227–251.
Stuber C.W., Lincoln S.E., Wolff D.W. *et al*. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers // Genetics. 1992. V. 132. P. 832–838.
Syed N.H., Chen Z.J. Molecular marker genotypes, heterozygosity and genetic interactions explain heterosis in Arabidopsis thaliana // Heredity. 2005. V. 94. P. 295–304.
Wagner R.P., Mitchell H.K. Genetics and Metabolism. John Wiley and Sons, Inc., N.Y., 1955. 444 p.
Wang J., Tian L., Madlung A. *et al*. Stochastic and epigenetic changes of gene expression in Arabidopsis polyploids // Genetics. 2004. V. 167. P. 1961–1973.
Wellhausen E.I. Heterosis in a new population // Heterosis. Imes: Iowa St. Col. Press, 1952. P. 418–450.
Xiao J.H., Li J., Yuca L.P., Tanksley S.D. Dominance is the major genetic basis of heterosis in rice as revelated by QTL analysis using molecular markers // Genetics. 1994. V. 140. P. 745–754.
Zhang H.-Y., He H., Chen L.-B. *et al.* A genome-wide transcription analysis reveals a close correlation of promoter INDEL polymorphism and heterotic gene expression in rice hybrids // Mol. Plant. 2008. V. 1. № 5. P. 720–731.
Zhang Y., Adams K.L. Extensive allelic variation in gene expression in populus F_1 hybrids // Genetics. 2007. V. 177. № 4. P. 1987–1996.

EPIGENETIC EFFECTS IN HETEROSIS

E.V. Madyakin, V.V. Syukov

Samara Scientific Research Institute of Agriculture, Bezenchuk, Russia,
e-mail: samniish@samtel.ru

Summary

Genetic concepts of heterosis are considered. It is inferred that this phenomenon is largely determined by epigenetic variability. Studies performed in maize confirmed the epigenetic balance hypothesis. Distinguishing marks were found that are wholly or partially determined by transcriptons induced by crossing and by environmental load variations: Ear weight, plant height, number of leaves, and number of stem nodes. Ear diameter and the number of grain rows in the ear are productive traits showing the closest association between general combinational ability and the dependence of the distinguishing marks on sowing time.

Key words: maize, heterosis, epigenetic variability, epigenetic balance, combinational ability, sowing time.

ТЕТРАПЛОИДНАЯ РОЖЬ: ЭНДОГЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПСЕВДОСОВМЕСТИМОСТИ

И.С. Попова, В.К. Шумный

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: shumny@bionet.nsc.ru

Для тетраплоидной озимой ржи предложена формальная оценка эндогенной изменчивости псевдосовместимости (ПСС) – варьирования озерненности при самоопылении между колосьями одного растения. Выделено два класса эндогенной изменчивости: узкая и широкая и в зависимости от класса эндогенной изменчивости и уровня ПСС – четыре фенотипа растений. Введено понятие структуры популяций по эндогенной изменчивости признака. Показаны широкая изменчивость структуры популяций по годам и тесная связь между ней и средними для популяций значениями ПСС. Обсуждаются причины эндогенной изменчивости и целесообразность ее изучения.

Ключевые слова: тетраплоидная озимая рожь, система размножения, псевдосовместимость, эндогенная изменчивость.

Генетически контролируемая самонесовместимость (СН) является одним из механизмов перекрестного опыления посевной ржи. Принудительное самоопыление в определенных географических условиях (Шумный, 1978; Попова, 2009) или при определенных параметрах температуры и влажности воздуха в фитотроне (Gertz, Wricke, 1991) приводит к заметному ослаблению СН – псевдосовместимости (ПСС). Показано, что экспериментальное удвоение числа хромосом не разрушает самонесовместимость, однако по сравнению с диплоидной тетраплоидная рожь характеризуется относительно большей склонностью к ПСС (Lundqvist, 1957).

Эндогенная изменчивость – это варьирование органов или свойств в пределах индивидуума (Мамаев, 1972. С. 17). Она описана на разных уровнях морфофизиологической организации растения, вплоть до размеров пыльцевых зерен в пределах пыльника и пыльников (Бейліс-Вирова, 1963; Овчинников, Шиханова, 1964). У диплоидной ржи И.М. Суриков (1991) обнаружил наличие четкой тенденции возрастания самофертильности от основания к середине и последующего ее падения к верхушке колоса.

Эндогенная изменчивость – это по сути различные способы проявления в онтогенезе одного и того же растения (генотипа) в меняющихся условиях внешней среды. Ее определяют как «норму реакции» (Ушаков, 1978; Смирнов, Соснихина, 1984; Магомедмирзаев, 1990) и как пластичность организма. В основе пластично-сти лежат физиологические реакции. Отмечается, что если продолжительность воздействия среды на признак много меньше одного вегетационного цикла, то любые фенотипические модификации суть проявление пластичности, изменяющейся от растения к растению. Понятие пластичности одинаково применимо к изменчивости между растениями и к изменчивости признака между повторяющимися элементами растения. Широта изменчивости определяется эпигенетическим ландшафтом, который сам по себе генетически детерминирован (Bredshaw, 1965). Не исключают, что развитие однозначных количественных признаков метамерных органов (суть повторяющихся признаков) может зависеть и от протекающих в онтогенезе растений автоволновых эпигенетических процессов (Кызласов, 1988).

Изучение закономерностей внутрипопуляционной изменчивости рекомендуют начинать именно с оценки амплитуды эндогенной изменчивости (Мамаев, 1972; Ушаков, 1978).

Данные позволяют получить представление о разнообразии норм реакции растений и расширить круг методов анализа генотипической составляющей в общей фенотипической изменчивости признака (признаков) (Драгавцев, 1969; Фолконер, 1985).

У посевной ржи при едином генетическом контроле со стороны главных локусов СН по уровню озерненности при самоопылении иногда наблюдаются разительные различия между колосьями одного растения. В прикладной генетике интерес к этому типу изменчивости возникает в связи с вопросами о наследуемости ПСС, схемах поддержания в сортах генетически обусловленной доминантной короткостебельности, а также при создании исходного материала для сортов-синтетиков и выборе селекционного материала для длительного хранения. Целью работы было изучить феноменологию эндогенной изменчивости псевдосовместимости у тетраплоидной ржи. В доступной литературе соответствующие данные не обнаружены.

Материал и методы

Объектом исследования были сорта и формы тетраплоидной озимой ржи, созданные совместно Институтом растениеводства и селекции (СибНИИРС) СО РАСХН и Институтом цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН (г. Новосибирск). Эксперименты выполнены на селекционно-генетической станции ИЦиГ в пригороде Усть-Каменогорска (Восточно-Казахстанская область).

Для стимуляции кущения и удобства изоляции применили ручной широкорядный посев. Использовали два типа изоляторов: отдельные колосья закрывали пергаментными изоляторами, растения – изоляторами из бязи. В вертикальном положении изолированные колосья поддерживались с помощью системы шпалер. Конструкция опор для матерчатых изоляторов была позаимствована у В.И. Худоерко (Украинский НИИ растениеводства, селекции и генетики им. В.Я. Юрьева, г. Харьков). Рядом с растением втыкали стержень из проволоки-катанки, на который надевали специально изготовленное кольцо. Побеги растения заводили в кольцо и закрывали матерчатым изолятором, который сверху над кольцом, а снизу вместе со стеблями и стержнем стягивали шпагатом. Кольцо на стержень крепилось таким образом, что по мере необходимости оно вместе с изолятором могло свободно передвигаться по стержню. Под один изолятор помещали все или некоторое число (но не менее пяти) колосьев растения. Подседы и слабые побеги удаляли.

При анализе экспериментального материала учитывали число изолированных растений, колосьев, цветков и завязавшихся семян. Псевдосовместимость колоса определяли двояко: либо числом завязавшихся семян, либо долей (%) цветков с зерновками по отношению к числу изолированных; ПСС растения – только долей цветков с зерновками к числу всех цветков на изолированных колосьях. Каждый год характеризовался одной тетраплоидной популяцией, объединяющей выборки растений из разных сортов и форм.

Неизбежно возник вопрос о критериях оценки эндогенной изменчивости. В экспериментах по изучению генетики самонесовместимости у посевной ржи применяют так называемую «границу отсечения». Разными авторами в разные периоды изучения СН в качестве границы отсечения предлагались 5, 10, 15, 20 %-е и иные уровни озерненности при самоопылении (Смирнов, Соснихина, 1984; Суриков, 1991). В частности, предполагалось, что 20 %-й уровень ПСС можно рассматривать в качестве условной границы, разделяющей растения родительского поколения в отношении способности давать I_1 с двумя различными характеристиками распределений по самофертильности (Суриков, 1991). Однако И.М. Суриков высказал, очевидно, общее мнение о некоторой условности границ отсечения. Тем не менее выраженность эндогенной изменчивости ПСС мы формализовали именно в соответствии с границами отсечения: 20 % для колосьев и 10 % для растений. В наших экспериментах среднестатистический колос озимой тетраплоидной ржи содержал 64–66 цветков. Следовательно, в колосе 20 %-му уровню озерненности соответствовало примерно 13 зерновок. Выделили 4 типа растений. В колосьях первого и второго типов растений число зерен при самоопылении варьировало от 0 до 13, но у растений первого типа ПСС была ниже, а второго типа – выше 10 %-го уровня. В колосьях третьего и четвертого типов растений

число зерен варьировало от 0 и до максимально возможного в пределах колоса, но у растений третьего типа ПСС была ниже, а у растений четвертого типа – выше 10 %-го уровня. Первый и второй типы растений отнесли к классу узкой эндогенной изменчивости, третий и четвертый – к классу широкой эндогенной изменчивости. Соотношением четырех типов растений обозначили структуру популяции по эндогенной изменчивости ПСС.

Можно было бы выделить еще один тип растений: с изменчивостью ПСС между колосьями от 14 зерновок и выше. Опыт показал, что в «нормальных» условиях внешней среды доля таких растений составляла менее одного процента, но существенно возрастала с повышением средних значений ПСС. Возможны иные принципы и критерии оценки эндогенной изменчивости, но использование границ отсечения позволяет унифицировать процедуру классификации.

Результаты

Эндогенная изменчивость ПСС присутствовала в каждой из изученных популяций. Из данных литературы следует, что у диплоидной ржи при увеличении числа колосьев, изолируемых на одном растении, завязывается больше семян (Бондарь, 1973; Кобылянский, 1982) и существенно снижается доля самостерильных растений, вплоть до их полного исчезновения при клонировании (Суриков, 1991). Аналогичные тенденции выявлены нами и у тетраплоидной ржи. Растения, у которых не завязалось ни одной зерновки, встречались крайне редко, но не были обнаружены и растения, озерненность которых при самоопылении соответствовала бы таковой у растений в производственных посевах тетраплоидной ржи.

Из табл. 1 видно, что средний уровень ПСС и структура популяций по эндогенной изменчивости признака варьировали по годам. Доля растений первого типа колебалась от 12,4 до 71,8 %; второго – от 0 до 13,5 %; третьего – от 0 до 12,1 % и четвертого типа – в пределах 19,8–79,8 %. Своеобразие структуры популяций состояло в относительно низкой частоте растений второго и третьего типов. Наибольший вклад в изменчивость структуры популяций делали растения первого и четвертого типов.

В последнем столбце табл. 1 показано отношение числа растений с узкой к числу растений с широкой эндогенной изменчивостью. Видно, что соотношение двух классов эндогенной изменчивости достаточно четко коррелировало со среднегодовым уровнем ПСС. В 1980 г. была выявлена относительно низкая псевдосовместимость (6,5 %), и ей соответствовала самая высокая доля растений первого типа (71,8 %). С другой стороны, в 1977 и 1996 гг. ПСС превысила 20 %-й уровень или была близка ему, частота растений четвертого типа составила соответственно 71 и 80 %. Коэффициент ранговой корреляции между средним для года значением ПСС и долей растений четвертого типа составил 0,93, а растений с широкой эндогенной изменчивость – 0,95 (при $n = 16$ и $P_{0,95} - \chi^2 = 0,50$). Иными словами, структура популяций по эндогенной изменчивости определяла среднее популяционное значение ПСС.

Отсюда следует, что по среднему значению ПСС с достаточной долей вероятности можно составить представление об особенностях эндогенной изменчивости признака в конкретной популяции.

В пределах изолятора не представляется возможным определить дату цветения каждого колоса. Правда, такие наблюдения затруднительны и при изоляции одиночных колосьев, поскольку рожь характеризуется взрывным и порционным цветением. Поэтому в одном из экспериментов в 1992/1993 г. мы ограничились тем, что на изоляторах, закрывавших одиночные колосья, отмечали лишь дату изоляции, а сам изолятор надевали в момент выхода колоса из обертки флагового листа. Для того чтобы продлить срок цветения ржи до конца июня, осенью 1992 г. рожь высеяли на 10 дней позже принятых сроков сева.

По данным Восточно-Казахстанской сельскохозяйственной опытной станции, в непосредственной близости к которой были расположены посевы ржи, средняя температура воздуха в первой, второй и третьей декадах июня составила 16,8°, 16,0° и 21,0 °С при средней многолетней соответственно 16,4°, 18,0° и 19,0 °С.

Следовательно, июнь 1993 г. характеризовался вполне «нормальным» температурным режимом. Соответственно и уровень ПСС в 1993 г. оказался относительно низким (7,6 %, табл. 1).

Таблица 1

Динамика эндогенной изменчивости псевдосовместимости (ПСС) в популяциях тетраплоидной озимой ржи

Год	ПСС в среднем за год, % (Попова, Шумный, 2008)	Изучено растений, шт.	Частота четырех типов растений, %				Отношение числа растений с узкой к числу растений с широкой эндогенной изменчивостью
			Узкая эндогенная изменчивость (0–13 зерновок в колосе)		Широкая эндогенная изменчивость (0 > 13 зерновок в колосе)		
			Тип 1: ПСС ≤ 10%	Тип 2: ПСС > 10%	Тип 3: ПСС ≤ 10%	Тип 4: ПСС > 10%	
1977	26,2	241	12,4	6,2	10,4	71,0	0,2
1978	10,0*	273	55,7	2,9	5,9	35,5	1,4
1979	11,3	153	52,3	2,6	3,9	41,2	1,2
1980	6,5	465	71,8	3,9	4,5	19,8	1,2
1981	15,7	128	39,0	1,6	3,1	56,2	0,7
1986	14,2	127	22,8	0	0	77,2	0,3
1987	11,0	111	48,6	3,6	5,4	42,3	1,1
1988	11,7	297	35,0	0,3	11,1	53,5	0,5
1989	10,9	199	60,8	5,5	11,6	22,1	2,0
1991	8,2	360	69,7	3,0	7,2	20,0	2,7
1992	8,0	265	58,1	3,4	12,1	26,4	1,6
1993	7,6	320	65,6	7,5	6,6	20,3	2,7
1994	9,0	170	63,5	3,5	7,6	25,3	2,0
1996	19,0	89	13,5	4,5	2,2	79,8	0,2
1997	9,9	116	52,6	3,4	5,2	38,8	1,3
1998	12,0	52	34,6	13,5	3,8	48,1	0,9

* ПСС только данной выборки растений.

У колосьев, изолированных в интервале с 11 по 25 июня, средние значения ПСС изменялись от 2,5 до 9,4 % (табл. 2). При небольшой выборке колосьев колебания средних значений ПСС по датам изоляции ожидаемы и допустимы. Некоторое повышение псевдосовместимости в конце июня совпало с повышением средней температуры воздуха в конце третьей декады. В этом эксперименте ПСС (7,0 %) практически соответствовала средней оценке признака по всему экспериментальному материалу (табл. 1) и, кроме того, уровень ПСС и частота растений третьего и четвертого типов (26,9 %) были, по сути, идентичны данным 1980 г. (6,5 % и 24,3 % соответственно).

Тем интереснее результаты самоопыления отдельных раскустившихся растений. Табл. 3 демонстрирует наблюдавшуюся в эксперименте широкую изменчивость между растениями по проявлению эндогенной изменчивости признака. У растений четвертого типа (№ 294, 320/1 и 320/2) не обнаружили четкой связи между датой изоляции и выраженностью ПСС: в разные дни июня в колосьях завязалось от 5 до 31 зерновки. Широкую изменчивость числа семян наблюдали и между одновременно изолированными колосьями в пределах растения. Так, у растения № 294 в колосьях, изолированных 11 июня, завязалось 7, 12 и 31 зерновка. Растение 250/4 оказалось самонесовместимым, т. е. относилось к числу так называемых растений-«упрямцев».

Из года в год неизменными были: конструкция бязевых изоляторов, методика изоляции и набор тетраплоидных форм. Следовательно, причины, которые могли бы влиять на выраженность ПСС и уровень ее эндогенной изменчивости, были одни и те же, за исключением

Таблица 2

Псевдосовместимость тетраплоидной ржи в зависимости от даты изоляции колосьев; г. Усть-Каменогорск, июнь 1993 г. (ПСС, %)

Дата	Изолировано колосьев, шт.	ПСС, %	Число цветков в колосе, в среднем
11	73	5,9	69,1
15	32	6,7	71,6
16	19	2,5	70,0
17	33	5,7	67,8
18	20	8,6	70,6
19	37	8,8	68,4
20	29	5,4	68,1
21	28	7,1	69,0
22	38	7,7	70,2
23	12	7,1	72,0
24	23	8,6	65,4
25	24	9,4	68,2
Всего	368	7,0	69,1

меняющихся факторов окружающей среды. Повышение или понижение среднего значения ПСС – это сдвиг всей популяции в пределах нормы реакции, но, очевидно, каждому растению был присущ свой уровень устойчивости к действию факторов внешней среды.

Обсуждение

По мнению И.М. Сурикова (1991), возможное время влияния условий внешней среды на самонесовместимость посевной ржи следует отнести на период опыление–рост пыльцевых трубок–оплодотворение.

Условия прохождения растениями вегетативных стадий не оказывают влияния на выраженность ПСС. С другой стороны, А.А. Краснюк полагал, что «главными губительными факторами в плодоношении», в том числе и при самоопылении, являются не только определенный режим температуры и влажности воздуха в период колошения и цветения ржи, но и недостаток влаги в предпосевной и посевной периоды (Краснюк, 1936. С. 19). Эксперименты по самоопылению

Таблица 3

Псевдосовместимость (число зерновок в колосе) колосьев, изолированных в разные дни июня в 1993 г.

Дата	Зерновок (шт.) в колосьях у растений (№)								
	250/1	250/4	294	299/3	306/1	306/3	316/1	320/1	320/2
11	2; 7; 13	0; 0; 0	7; 12; 31	0; 2; 3; 5	1; 2	0; 3; 5; 10; 14; 17	9; 2	5; 7	
15	4; 8		22		0; 8	0; 1; 3			30
16	5	0; 0; 0	29						
17		0; 0; 0	18; 26	0	0; 1; 2	1; 2; 18; 19			
18	0		29	11		8			31
19	4; 8	0	17	4; 14		3; 13	1	19	
20	–	0; 0		5; 8; 12	5		0; 2; 3	17	
21				4	3; 4; 5		0	15; 19; 23	
22		0			1; 4	1	1; 3		15; 31; 23
23				3	4	0; 0; 2			6; 22; 29
24	4				1; 1			14; 15	24
25	2			4	5	2	0; 8		
Изучено колосьев	11	13	9	13	17	21	11	9	9
цветков	704	804	624	984	1260	1432	752	628	656
ПСС, %	8,1	0	30,6	7,6	3,7	8,5	3,9	21,3	32,2

диплоидной озимой ржи выполнялись автором в Саратове, а в засушливых условиях Саратовской области, как известно, существенное влияние на состояние посевов зерновых оказывают осенне-зимние запасы влаги.

У посевной ржи «совместимое» пыльцевое зерно начинает прорастать уже через 90 секунд после оседания на рыльце. При несовместимом опылении пыльцевое зерно не прорастает либо формирует очень короткую пыльцевую трубку, которая не вздувается и не лопается (Heslop-Harrison, 1979). В относительно недавно предложенной молекулярно-генетической модели осуществления реакции самонесовместимости предполагается, что у посевной ржи СН сигнальная система расположена в пыльцевом зерне; рыльце играет относительно пассивную роль. Начальный этап – «узнавание» пыльцевого зерна – имеет место преимущественно перед формированием пыльцевой трубки. Растворимые S- и Z-специфические генные продукты пестика действуют как сигнальные молекулы (лиганды?). Их объединение с S – Z партнерами на поверхности несовместимого пыльцевого зерна, возможно, внеклеточными доменами протеинкиназы, запускает процесс фосфорилирования в пыльцевом зерне. Одновременно в качестве вторичного посредника в пыльцевое зерно извне через верапамил-зависимые кальциевые каналы поступают свободные ионы кальция. Инициируется каскадный сигнальный путь, ведущий в итоге к передаче внешнего сигнала на геном. Предполагается, что в реакции отторжения несовместимых пыльцевых зерен принимают участие не только аллели главных локусов СН (S и Z), но и локусы в хромосомах 3R, 5R и 6R (Wehling *et al*., 1995).

Ионы кальция играют важную физиологическую, регуляторную и сигнальную роли в процессе полового размножения растений (Ge *et al*., 2007). Их активность зависит от факторов окружающей среды и буферных систем клетки. Известно, что под влиянием определенного диапазона температур в клетках происходят различной глубины конформационные изменения, которые могут существенным образом повлиять на процесс узнавания специфических сигналов, усиливая или ослабляя их. Изменение экспрессии белков в структуре плазматических мембран может сопровождаться значительными отклонениями в трансмембранном транспорте Ca^{2+}. Молекулярные механизмы экспрессии локусов СН и генов-модификаторов не ясны и поныне, но в генеративной сфере, согласно предлагаемой модели, к ослаблению СН могут вести сбои в любом звене цепи событий, ответственных за реакцию самонесовместимости.

Озимая рожь кустится преимущественно осенью, но не исключено продолжение процесса и ранней весной (Кобылянский, 1982). В отклоняющихся от нормы температурном и световом режимах наибольшей изменчивостью обладают второй, пятый и седьмой этапы органогенеза. На втором этапе органогенеза формируется основа вегетативной сферы растений, и именно в этот период закладывается физиологическая неоднородность побегов однолетнего злака (Куперман, 1973). Все морфофизиологические изменения осуществляются в верхушечной меристеме конуса нарастания побегов. Показано, что апикальная меристема травянистых растений подвержена сильному влиянию факторов внешней среды, что куст травянистого растения является гетерогенной структурой и что степень разнообразия побегов определяется местом и временем заложения, формирования и их функционирования в общей системе растения (Куперман, 1973; Юсуфов, 1978; Батыгин, 1986; Магомедмирзаев, 1990). Важную роль играют механизмы транспорта пластических веществ и проведения биоэлектрических импульсов (Юсуфов, 1978; Батыгин, 1986). В принципе это стратегия физиолого-биохимических адаптивных реакций. Неравномерное распределение энергетических ресурсов между побегами растения может быть одной из причин изменчивости экспрессии генов-модификаторов и как следствие – формирования эндогенной изменчивости ПСС. Если это так, тогда основа эндогенной изменчивости признака формируется уже на первых этапах органогенеза и в оценке влияния условий внешней среды на СН справедливы обе точки зрения: и А.А. Краснюка, и И.М. Сурикова. Можно допустить, что на фоне возможной стохастичности процессов онтогенетического развития каждому растению тетраплоидной ржи присущ свой диапазон морфофизиологического разнообразия побегов.

Присутствие генов-модификаторов признается фактически всеми исследователями

систем размножения у растений, однако суждения относительно их природы крайне неоднозначны (Lundqvist, 1958; Вайсман, 1984; Смирнов, Соснихина, 1984; Суриков, 1991). Предполагается, что гены-модификаторы характеризуются пороговым эффектом; могут сегрегировать более или менее независимо от главных локусов СН с образованием новых специфических комбинаций; число аллелей локусов СН в популяции может быть небольшим, но число специфичностей – высоким за счет сегрегации генов-модификаторов. Н.Я. Вайсман (1984) приводит данные литературы о сложных отношениях между главными локусами СН и генами-модификаторами (минорными генами). Наибольшая доля изменчивости по ПСС определяется их аддитивным взаимодействием, но выявлены доминирование, эпистаз и иные типы взаимодействия. Неизменно то, что эффект самих генов-модификаторов зависит от условий окружающей среды.

Реакция СН у тетраплоидной ржи менее, чем у диплоидной, защищена от влияния факторов внешней среды (Lundqvist, 1957, 1958). А. Лундквист, не отрицая присутствия генов-модификаторов и неоднозначной реакции разных аллелей локусов СН на самоопыление, некоторое ослабление СН объяснил эффектом «разбавления», т. е. снижением количества вещества, вырабатываемого одной парой S-Z аллелей при увеличении числа специфичностей в тканях тетраплоидных растений. Применительно к молекулярно-генетической модели СН это можно было бы определить как ослабление специфического сигнала.

Полагают, что многие гены и генные комплексы старше видов, с которыми мы имеем дело в текущее время (Шепард, 1970). Таксономия рода *Secale* все еще неопределенна. Число диких видов, выделяемых в пределах рода, зависит от критериев, используемых при классификации. В понимании В.Д. Кобылянского (1982) в плиоцене обособились наиболее древние виды ржи: *Secale montanum* Guss (рожь горная, перекрестноопыляющийся вид) и *S. silvestre* Host. (рожь лесная, самоопылитель). Гибридизация названных видов дала начало новому виду – *S. iranicum* (рожь иранская, самоопылитель). Предполагается, что рожь посевная (*S. cereale* L.) возникла как гибрид между рожью горной и иранской. Правда, рожь иранская как самостоятельный вид могла развиваться параллельно с *S. montanum* Guss и *S. silvestre* Host. Из данных литературы следует, что в гибридном потомстве видов, неодинаковых по системе размножения, порою не наблюдается полного поглощения одной системы размножения другой (например, *Triticale* (Симинел, Кильчевская, 1984)). Может быть так, что в систему генов-модификаторов посевной ржи включились «реликтовые» гены, привнесенные видами-самоопылителями, если, конечно, эти гены не потеряли активность путем гетерохроматизации либо иным способом.

Эндогенную изменчивость СН у тетраплоидной озимой ржи можно объяснить множеством причин. Среди них: сегрегация генов-модификаторов; физиологическая неоднородность генеративных побегов однолетнего злака, динамика цветения колоса и колосьев одного растения; особенности суточной ритмики цветения и опыления; возраст цветков; возможное физиологическое разнообразие пыльцевых зерен и рылец пестиков (Львова, 1950); цитологические аномалии при формировании гамет; реакция пыльцевых зерен на факторы окружающей среды; случайные причины. Даже ветры, обычные в июне для окрестностей Усть-Каменогорска, могли бы влиять на режим опыления тетраплоидного растения – на соотношение авто- и гейтеногамии. Однако многолетнее изучение показало, что в проявлении узкой и широкой эндогенной изменчивости наблюдается некоторая закономерность (табл. 1). Рассмотрим два крайних варианта. При сравнительно низком среднем значении ПСС (1980 г.) в популяции присутствовало около 20 % растений с широкой эндогенной изменчивостью и относительно высокой озерненностью. С другой стороны, в условиях, которые стимулировали проявление достаточно высоких значений ПСС (1977 – 26,2 %; 1996 – 19,0 %), в тетраплоидных популяциях были выявлены растения первого типа (соответственно 12,4 и 13,5 %). Иными словами, в том и другом случаях имелись растения, у которых главную роль в определении уровня ПСС играли факторы «внутренней среды обитания», т. е. индивиды, генетически склонные к относительно высокой и низкой псевдосовместимости и соответственно к широкой и узкой эндогенной изменчивости. Данные 1993 г.

подтверждают эти наблюдения. Из данных табл. 3 видна интересная особенность растений четвертого типа. При колосе с самым высоким числом семян, как правило, имелась своеобразная «группа поддержки», т. е. колосья также с относительно большим числом зерновок, но все же более низким, чем у главенствующего колоса. Эта особенность растений четвертого типа может служить хорошим ориентиром при выборе желательных растений.

Возможно тогда, когда условия вегетации близки к исторически типичным для вида, у озимой ржи преобладают растения с низким уровнем ПСС и узкой эндогенной изменчивостью, но четче проявляется генотипическая компонента псевдосовместимости. И наоборот иные параметры температуры и влажности воздуха способствуют повышению модификационной изменчивости СН (Шумный, 1978; Gertz, Wricke, 1991; Попова, 2009). Ряд данных, к сожалению, небольшой, позволяет предположить, что в Евразии неким рубежом для проявления заметной модификационной изменчивости СН являются природные условия районов, расположенных вблизи 50° с.ш. Так, в г. Усть-Каменогорске (49°52′) (Восточно-Казахстанская область) такой феномен выявлен главным образом у тетраплоидной озимой ржи (Попова, Шумный, 2008). В г. Саратове (51°33′) (Поволжье) в отдельные годы наблюдали достаточно высокие значения ПСС у диплоидной озимой ржи (Краснюк, 1936). Для г. Харькова (49°52′) (Украина) показаны весьма низкие значения ПСС (Бондарь, 1973), но предполагается, что в сортовых посевах диплоидной озимой ржи присутствуют высокосамофертильные растения (Деревянко, Здрилько, 1982). Несколько южнее 50 параллели – в Леоне (42°52′), (Испания) – обнаружен заметный уровень самоопыления в полевых посевах диплоидной озимой ржи (Vaquero *et al*., 1989).

Полезен ли анализ эндогенной изменчивости признака? В пределах растений автофертильных линий озимой диплоидной ржи была выявлена следующая изменчивость озерненности колосьев: 0 – 17,9 %; 0 – 29,5 %; 0 – 47,9 %; 0 – 63,6 %. Авторы отметили, что «данные по варьированию автофертильности в пределах растения заставляют относиться с осторожностью к оценке тех растений, у которых был изолирован всего один колос» (Смирнов, Соснихина, 1984. С. 138). Следовательно, помимо указанных выше преимуществ анализа эндогенной изменчивости (Драгавцев, 1969; Фолконер, 1985), изоляция нескольких колосьев в пределах растения и данные относительно эндогенной изменчивости снижают риск ошибочного суждения относительно склонности растения к ПСС. В процессе изучения деревьев хвойных пород была выявлена интересная закономерность – уровень индивидуальной изменчивости того или иного признака имел ту же размерность, что и уровень его эндогенной изменчивости (Мамаев, 1972. С. 259). Очевидно, растения четвертого типа могут быть использованы для определения масштаба изменчивости озерненности при самоопылении в конкретной популяции тетраплоидной озимой ржи.

Понятно, что методика самоопыления определяется задачей эксперимента. Для сравнительной оценки тетраплоидных популяций по ПСС можно ограничиться самоопылением 1–2 колосьев в пределах растения при статистически обоснованной выборке последних. С другой стороны, анализ эндогенной изменчивости полезен в работе по созданию и поддержанию самоопыленных потомств. Возможно, в районах, заметно модифицирующих СН, как, например, у тетраплоидной ржи в Усть-Каменогорске (Попова, Шумный, 2008), отбор исходных растений – родоначальников инбредных линий – желательнее вести при относительно низких популяционных значениях ПСС. С другой стороны, если известны погодные тренды географического пункта и если условия внешней среды в целом способствуют проявлению ПСС, то для поддержания самоопыленных потомств можно прибегнуть к такой процедуре, как изменение сроков сева. Однако этот вопрос требует отдельного анализа.

Псевдосовместимость проявляется только в эксперименте. Признак «спрятан в недрах» популяции и не является напрямую объектом действия естественного отбора, если только не затрагивается каким-либо «попутным транспортом». Предполагается, что модификации по генам, контролирующим систему размножения растений, играют не прямую приспособительную, а более важную роль – одного из факторов генотипической перестройки популяции.

Возможно, растения с лабильной системой СН – это мобилизационный резерв вида (Шумный, 1978).

Литература

Батыгин Н.Ф. Онтогенез высших растений. М.: Агропромиздат, 1986. 99 с.

Бейліс-Вирова Р.А. Історія індивідуального розвитку жита. Київ: Держсільгоспвидав УРСР, 1963. 140 с. (Бейлис-Выровая Р.А. История индивидуального развития ржи. Киев: Сельхозиздат УССР, 1963).

Бондарь В.Т. Наследование самофертильности у самоопыленных линий озимой ржи // Респ. межвед. темат. науч. сб. 1973. Вып. 24. С.73–76.

Вайсман Н.Я. Влияние генетических факторов и внешних условий на выражение признака несовместимости (псевдосовместимости) // Генетика сахарной свеклы. Новосибирск: Наука, 1984. С. 108–120.

Деревянко В.П., Здрилько А.Ф. Наследование признака самофертильности у озимой диплоидной ржи // Генетика. 1982. Т. 18. № 12. С. 1987–1994.

Драгавцев В.А. О возможности элиминации межиндивидуальной средовой компоненты дисперсии при оценке коэффициента повторяемости у растений // Генетика. 1969. Т. 5. № 2. С. 30–35.

Кобылянский В.Д. Рожь. Генетические основы селекции. М.: Колос, 1982. 270 с.

Краснюк А.А. Узкородственное разведение у ржи. М.: Изд-во ТСХА им. В.И. Ленина, 1936. 52 с.

Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Высш. шк., 1973. 255 с.

Кызласов В.Г. Соразмерность изменчивости количественных признаков пшеницы // Совершенствование селекционно-генетических и семеноводческих процессов зерновых и зернобобовых культур в Нечерноземье. М.: НИИСХ центр. районов Нечерноземной зоны, 1988. С. 68–74.

Львова И.Н. Некоторые вопросы цитофизиологии оплодотворения у злаков // Селекция и семеноводство. 1950. № 9. С. 11–23.

Магомедмирзаев М.М. Введение в количественную морфогенетику. М.: Наука, 1990. 226 с.

Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М.: Наука, 1972. 283 с.

Овчинников Н.Н., Шиханова Н.М. Закономерности отногенеза однолетних культурных злаков. М.: Наука, 1964.

Попова И.С. Феноменология псевдосовместимости у яровой диплоидной ржи из коллекции ВИР // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. СПб, 2009. Т. 166. С. 457–463.

Попова И.С., Шумный В.К. Тетраплоидная рожь: динамика псевдосовместимости // Информ. вестник ВОГиС. 2008. Т. 12. № 3. С. 378–385.

Симинел В.Д., Кильчевская О.С. Изменчивость морфобиологических признаков потомства тритикале под влиянием инбридинга и кроссбридинга // Результаты селекционно-генет. исслед. полевых культур. Кишинев: Штиинца, 1984. С. 5–19.

Смирнов В.Г., Соснихина С.П. Генетика ржи. Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. 261 с.

Суриков И.М. Несовместимость и эмбриональная стерильность растений. М.: Агропромиздат, 1991. 222 с.

Ушаков Б.П. Статистическая обработка экспериментальных данных и их интерпретация с позиции популяционной биологии // Журн. общ. биологии. 1978. Т. 39. № 4. С. 602–611.

Фолконер Д.С. Введение в генетику количественных признаков. М.: Агропромиздат, 1985. 485 с.

Шеппард Ф.М. Естественный отбор и наследственность. М.: Просвещение, 1970. 213 с.

Шумный В.К. Генетический контроль систем размножения у растений // Итоги науки и техники. Общая генетика. М.: ВИНИТИ, 1978. Т. 3. С. 74–91.

Юсуфов А.Г. Гомеостаз и регуляция у растений (к вопросу об эволюции онтогенеза) // Журн. общ. биологии. 1978. Т. 39. № 5. С. 657–670.

Bredshaw A.D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants // Adv. Genet. N.Y., London: Acad. Press, 1965. V. 13. P. 115–157.

Ge L.L., Tian H.Q., Russell S.D. Calcium function and distribution during fertilization in Angiosperms // Amer. J. Bot. 2007. V. 94. № 6. P. 1046–1060.

Gertz F., Wricke G. Inheritance of temperature-induced pseudocompatibility in rye // Plant Breeding. 1991. V. 107. P. 89–96.

Heslop-Harrison J. Aspects of the structure, cytochemistry and germination of the pollen of the rye // Ann. Bot. 1979. Suppl. 1. P. 1–47.

Lundqvist A. Self-incompatibility in rye. II. Genetic control in the tetraploid // Hereditas. 1957. Bd. 43. S. 467–511.

Lundqvist A. Self-incompatibility in rye. IV. Factors related to self-seeding // Hereditas. 1958. Bd. 44. № 2/3. S. 192–256.

Vaquero F., Vences F.J., Garcia P. *et al*. Mating system in rye: variability in relation to the population and plant density // Heredity. 1989. V. 62. P. 17–26.

Wehling P., Hackauf B., Wricke G. Characterization of the two-factor self-incompatibility system in *Secale cereale* L. // Adv. Plant Breeding: Suppl. J. Plant Breed / Ed. U. Kück, G.J. Wricke. Berlin: Verlag, 1995. V. 18. P. 157–166.

TETRAPLOID RYE: ENDOGENOUS PSEUDOCOMPATIBILITY VARIABILITY

I.S. Popova, V.K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: shumny@bionet.nsc.ru

Summary

Variation in seed set in selfed ears is proposed as an index of endogenous pseudocompatibility (PSC) variation in tetraploid winter rye. Selfing experiments were carried out in a field near Ust-Kamenogorsk (Kazakhstan). No less than five ears were isolated in each plant. We recognized two classes of endogenous variability, narrow and broad, and four plant phenotypes depending on the endogenous variability class and PSC level. The notion of population structure according to the endogenous variability of a trait is introduced. Broad variability of the population structure over years and close association between this variability and PSC values averaged over populations are shown. Causes of endogenous variability and advisability of its investigation are discussed.

Key words: tetraploid winter rye, reproductive system, pseudocompatibility, endogenous variability.

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ РОЗОВОЦВЕТКОВОЙ КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.) В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

С.О. Батурин[1], Л.Л. Кузнецова[2]

[1] Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: SO_baturin@mail.ru;
[2] Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время сортимент розовоцветковых земляник зарубежного и отечественного происхождения составляет не более 30 сортов. Зарубежные сорта предназначены преимущественно для выращивания в декоративных целях. В ИЦиГ СО РАН в 1999 г. начата работа по созданию розовоцветковых форм крупноплодной земляники двойного назначения (декоративного и ягодного), адаптированных для выращивания в сибирском регионе. Создан генофонд розовоцветковый земляники, насчитывающий 5 сортов европейской селекции, 36 отборных гибридов с хорошей зимостойкостью, урожайностью и высокодекоративными свойствами цветков. Все отобранные гибриды обладают способностью непрерывного цветения и плодоношения в течение летнего и осеннего периодов вегетации.

Ключевые слова: межродовая гибридизация, розовоцветковая земляника, *Fragaria* × *ananassa*, *Comarum palustre*, селекция, ремонтантность, всхожесть семян, сортовая однородность.

Посвящается светлой памяти
профессора Дмитрия Федоровича Петрова

Введение

Крупноплодная земляника (*Fragaria* × *ananassa* Duch., 2*n* = 8x = 56) представляет собой межвидовой гибрид между октоплоидными американскими видами *Fragaria chiloensis* и *Fragaria virginiana*, возникший спонтанно более 250 лет назад в Европе при совместном выращивании двух видов (Darrow, 1966). Длительный отбор в гибридных поколениях *F.* × *ananassa* привел к появлению современного сортимента крупноплодной земляники, насчитывающего более 3000 сортов. В настоящее время крупноплодная земляника является одним из лидеров среди ягодников по занимаемым площадям в мире. Популярность и востребованность этой ягодной культуры в России стимулировали исследования по улучшению утилитарных качеств европейских сортов, а именно зимостойкости, аромата ягод, скороплодности и других посредством отдаленной гибридизации. Однако поставленные цели до сих пор так и не были достигнуты ввиду низкой фертильности получаемых гибридов из-за несбалансированности геномов, а также проявления в потомстве нежелательных признаков «дикарей»: повышенного побегообразования, мелкоплодности, рыхлой мякоти плодов и др. (Шангин-Березовский, 1963; Сухарева, 1966; Кантор, 1983). Для преодоления этих негативных последствий отдаленной гибридизации у земляники Д.Ф. Петров и Т.П. Философова (1938) предложили новый селекционный прием – использование мичуринского метода «посредника» для получения фертильных отдаленных гибридов. Этот метод в дальнейшем был успешно реализован в работах Н.Б. Сухаревой (1966). Другой прием преодоления низкой фертильности межвидовых гибридов заключается в использовании элементов апомиксиса, например нередукции гамет (Петров, 1979). По мнению Д.Ф. Петрова и Н.Б. Сухаревой (1983), введение в генотип крупноплодной

земляники ценных свойств дикорастущих видов *Fragaria* через участие в гибридизации нередуцированных гамет этих видов открывает перспективы получения сортов, хорошо адаптированных к экстремальным условиям произрастания в сибирском регионе. По этой схеме были получены перспективные межвидовые октоплоидные гибриды с участием генома *Fragaria orientalis* ($2n = 4x = 28$) (Сухарева, 1987).

В прикладном аспекте более успешными оказались эксперименты по межродовым скрещиваниям (Ellis, 1962; Mabberley, 2002). Так, в начале 1960-х гг. прошлого столетия в результате межродовой гибридизации (*Fragaria* × *Comarum*) в генофонд крупноплодной земляники был введен признак «розовая окраска венчика». Розовую и близкие к ней тона окраски лепестков определяют пигменты, которые носят название антоцианинов. Так, у *Rosa chinensis* были обнаружены пигменты цианидин и пеларгонидин из группы антоцианидинов, а также флавонолы кемпферол и кверцетин (Cai *et al*., 2005). Данные о пигментном составе лепестков розовоцветковых образцов крупноплодной земляники в настоящее время отсутствуют, однако можно предположить наличие сходного пигментного состава у рода *Fragaria*, систематически близкого к роду *Rosa* (Mabberley, 2002).

Первые полученные розовоцветковые растения имели лишь декоративное назначение (Ellis, 1962; Khanizadeh, 2000; Mabberley, 2002). В настоящее время одним из современных перспективных направлений селекции крупноплодной земляники стало создание розовоцветковых сортов с ремонтантным типом плодоношения, которые имели бы ценность не только как декоративные, но и как ягодные культуры. Именно это двойное назначение делает розовоцветковые земляники особо привлекательными для использования их в ландшафтном дизайне (Кузнецова, 2008).

Розовоцветковые ремонтантные сорта крупноплодной земляники так же, как и ремонтантные сорта с белым венчиком, обычно рекомендуется выращивать в южных регионах, поскольку в Сибирском регионе они часто подмерзают в открытом грунте. Кроме того, розовоцветковая земляника, являясь, по сути, еще «сырым» селекционным материалом по причине межродового происхождения, часто формирует деформированные плоды из-за развития малого количества семянок на ягоде. Следствием этого является низкая урожайность, что вынуждает оригинаторов сорта рекомендовать его выращивание преимущественно в декоративных целях (Khanizadeh, 2000). Все эти недостатки современных сортов розовоцветковой земляники – подверженность вымерзанию, недоразвитие семянок на ягоде, посредственный вкус и другие – инициировали в ИЦиГ СО РАН разработку и реализацию селекционно-генетической программы по созданию урожайных розовоцветковых сортов крупноплодной земляники, адаптированных для выращивания в открытом грунте в условиях Западной Сибири.

Цель данной работы – проанализировать современное состояние селекции розовоцветковых форм крупноплодной земляники и ее возможности в Западной Сибири.

История создания розовоцветковой земляники

Первое упоминание о розовоцветковых образцах крупноплодной земляники приводится в работе J.R. Ellis (1962). Автору в результате межродовой гибридизации *Fragaria* × *ananassa* ($8x$) × *Comarum palustre* (*Potentilla palustris*) ($6x$) удалось получить 50 доживших до цветения гибридных сеянцев с $2n = 49$. Гибриды по внешним признакам больше соответствовали *Fragaria*. Большинство растений были безусыми. Окраска лепестков цветка у гибридов была розовой – промежуточной между окраской венчика исходных видов. Практически все цветки были полностью мужскостерильные, и лишь некоторые проявили слабую степень женской фертильности, поскольку после опыления пыльцой земляники смогли образовать плоды с 3–5 семянками. В результате обработки ($7x$) гибридов колхицином было получено несколько растений с $2n = 98$ с улучшенной фертильностью. На этих растениях развивались мелкие плоды с полноценными семянками (Ellis, 1962). В дальнейшем J.R. Ellis были проведены беккроссы с *F.* × *ananassa*, которые позволили получить гибриды с более низким числом хромосом. Из них выделены первые зарегистрированные сорта Pink Panda (синоним Frel) и Serenata ($2n = 58$). Поскольку рекуррентным родителем

при осуществлении возвратных скрещиваний выступала *F.* × *ananassa*, Pink Panda в настоящее время рассматривается как новый сорт земляники и относится к роду *Fragaria* (Leslie, 1995).

Сортимент розовоцветковой земляники

В настоящее время за рубежом основной прогресс в работе по созданию розовоцветковых сортов *F.* × *ananassa* достигнут в Канаде и Голландии (табл.).

В Канаде на сельскохозяйственной научной станции в Сен-Жан-сюр-Ришелье (провинция Квебек) усилиями селекционера Sh. Khanizadeh (2000) создан гибридный фонд розовоцветковой земляники. В дальнейшем из этого фонда были выделены два сорта, Rosaline [Fern × (SJ 9616 × Pink Panda)] и Roseberry [SJ 8518-11 × (SJ 9616 × Pink Panda)] (Khanizadeh *et al*., 2002).

В Голландии компанией «ABZ Seeds – Gourmet Strawberries» с 1996 г. проводятся работы по созданию новых сортов декоративной земляники в рамках особой селекционной программы с привлечением доноров розовой окраски венчика – сортов Pink Panda, Lipstick и Franor. Уникальность программы состоит в том, что созданные сорта розовоцветковой земляники предлагается воспроизводить из семян, а не укорененных розеток наземных столонов (Bentvelsen *et al*., 1997, 2006). В результате реализации программы появились сорта Pikan F_1, Florian F_1, Merlan F_1, Tarpan F_1, Roman F_1 и гибрид F_1-C 141 (табл.). Оригинаторами выделено несколько направлений использования декоративных розовоцветковых сортов. Так, сорта Pikan F_1, Merlan F_1, Tarpan F_1, Roman F_1 и гибрид F_1-C 141 являются растениями ампельного направления, т. е. предназначены для выращивания в подвесных корзинах, а сорт Florian F_1 более всего подходит для создания живописных групп в рокариях или контейнерах. Все эти сорта рекомендуются лишь для декоративного использования, хотя в рекламных проспектах упоминается о достаточно высоких вкусовых качествах плодов.

Результатом селекции розовоцветковых земляник в США и Германии стали несколько вегетативно размножаемых сортов. Так, в ботаническом саду «Heronswood» (г. Кингстон, США) создан декоративный сорт Gerald Straley (сеянец сорта Pink Panda), а в Германии – сорт Franor (Red Ruby, Samba) с более яркой, красно-пурпуровой окраской венчика, являющийся спортовой мутацией сорта Pink Panda.

Помимо указанных в табл. сортов и гибридов розовоцветковой земляники, в продаже за рубежом можно встретить такие сорта, как Viva rosa, Wildfire, Pretty In Pink, Dee Rose, Pink Spot и Fragoo F_1 (Appell, 2001). Однако сведений, касающихся их происхождения и регистрации, нам найти не удалось. Fragoo F_1 является даже не сортом, а охраняемой торговой маркой, распространяемой компанией Syngenta (США), и представляет собой серию гибридов, включающую и декоративную розовоцветковую землянику. Окраска цветков вышеупомянутых сортов и гибридов варьирует в диапазоне от светло- до темно-розовой, и использовать их рекомендуется в качестве почвопокровных растений. Сорта Viva Rosa и Wildfire также подходят и для выращивания в контейнерах и подвесных кашпо.

В России розовоцветковая земляника реализуется в виде семян сортов компании «ABZ Seeds – Gourmet Starwberries» – Флориан F_1, Роман F_1, Тарпан F_1, гибрид F_1-C141, а также семян сортов Лизонька, Всемирный дебют, Всемирный деликатес, Вечность. Поскольку последние 4 сорта розовоцветковой земляники не зарегистрированы в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию в Российской Федерации, не представляется возможным выяснить их происхождение.

Российские компании, реализующие семена сортов розовоцветковой земляники, рекомендуют выращивать ее не только как декоративную, но и как ягодную культуру. Нами был проведен анализ всхожести семян и сортовой однородности розовоцветковых сортов Лизонька, Вечность и Флориан F_1. Всхожесть семян оказалась довольно низкой: у сорта Лизонька – 16 %, Вечность – 46 % , Флориан F_1 – 50 %. По окраске венчика в семенном потомстве сортов Лизонька и Вечность имело место наличие двух фенотипических классов сеянцев – белоцветковые и розовоцветковые сеянцы. Данный факт свидетельствует о сортовой неоднородности (Батурин и др., 2010).

Таблица

Описание современных сортов декоративной розовоцветковой земляники

Название сорта	Страна-производитель	Оригинатор	Происхождение сорта	Год регистрации	Окраска венчика	Плоды	Назначение
‘Pink Panda’ (‘Frel’)	Англия	J. R. Ellis, компания	Межродовой гибрид *Fragria* × *ananassa* и *Comarum palustre*	1989	Розовая	Мелкие (2 см в диаметре), немногочисленные, посредственного вкуса	Почвопокровное, ампельное
‘Lipstick’	Голландия	J. R. Ellis(?)	*Fragaria ananassa* × *Comarum palustre*	Сорт не зарегистрирован	Ярко-розовая	Мелкие и немногочисленные, посредственного вкуса	Почвопокровное, ампельное для рокариев и контейнеров
‘Pikan’, ‘Florian’, ‘Merlan’, ‘Tarpan’, ‘Roman’, гибрид F_1-C141’	Голландия	G. Bentvelsen	Межлинейная селекция с участием сортов ‘Lipstick’, ‘Pink Panda’ и ‘Red Ruby’ в сочетании с возвратными скрещиваниями	1996	Розовая, темно-розовая, красновато-розовая	Сладкие, продолговатые, некрупные, немногочисленные	Почвопокровное, ампельное для рокариев и бордюров
‘Franor’ (‘Red Ruby’, ‘Samba’)	Германия	W. Bittner	Спорт сорта ‘Frel’	1998	Яркая, красно-пурпурная, венчик крупный	Немногочисленные, мелкие (5–10 г)	Почвопокровное, ампельное для рокариев и контейнеров
‘Serenata’	Англия	J. R. Ellis	Потомок от опыления селекционной линии пыльцой ‘Frel’	1994	Темно-розовая	Мелкие, вкус – сладкий с ароматом муската	Ампельное, почвопокровное
‘Gerald Straley’	США	Ботанический сад «Heronswood», г. Кингстон	Сеянец сорта ‘Pink Panda’	Сорт не зарегистрирован	Ярко-красная	Немногочисленные, мелкие	Ампельное, почвопокровное
‘Rosaline’	Канада	S. Khanizadeh	‘Fern’ × ‘Frel’	1996	Светло-розовая	Мелкие, ароматные	Ампельное
‘Roseberry’	Канада	S. Khanizadeh	‘Raritan’ × ‘Frel’	1996	Темно-розовая	Мелкие, ароматные	Ампельное, для рокариев
Гибриды: SJO9620-146, SJO9611-30, SJO9611-23	Канада	S. Khanizadeh	Отбор из серии возвратных скрещиваний розовоцветковых сеянцев с улучшенными белоцветковыми линиями	1995	Розовая, крупные цветки	Очень ароматные, средних размеров	Ампельное, гибриды SJO9620-146 и SJO9611-30 для бордюров

Основные направления селекции розовоцветковой земляники в Западной Сибири

В сибирском регионе работа по созданию генофонда розовоцветковой земляники ведется в г. Новосибирске с 1999 г. В качестве источника розовой окраски венчика первоначально был привлечен сорт Pink Panda (Батурин и др., 2001), а затем гибрид F_1-С 141 голландского происхождения (Bentvelsen, Bouw, 2006). В качестве экспериментальных методов получения розовоцветковых форм использовали сортолинейные скрещивания, инбридинг и скрещивание отборных гибридов. В настоящее время создана коллекция розовоцветковой земляники, насчитывающая 5 сортов европейской селекции и более 30 гибридов с различной вариацией розовой окраски венчика цветка, отобранных нами в результате селекционно-генетической программы. Ежегодно анализируется более 300 сеянцев в комбинациях скрещиваний с участием розовоцветковых родительских форм. Конечной целью проводимого анализа является создание розовоцветковой земляники двойного назначения, удовлетворяющего разнообразным запросам потребителей, преимущественно садоводов-любителей.

Селекционно-генетическая работа проводится в двух направлениях: 1) создание вегетативно размножаемых ремонтантных гибридов с декоративными свойствами цветка, способных давать хороший урожай достаточно крупных и вкусных плодов; 2) подбор родительских пар для скрещиваний, позволяющих получить достаточно однородное по декоративным свойствам цветка и качеству плодов семенное потомство, способное к непрерывному цветению и плодоношению в течение всего вегетационного периода.

Для реализации первого направления используются доноры зимостойкости, ремонтантности и хорошего вкуса плодов с белой окраской венчика: 96/10-78-4 [24г × Elin], № 5-11 (сеянец сорта Rubi), № 7-1 и № 7-9 – F_1 [96/10-78-4 × Крымская ремонтантная], № 02/5-1-5 и № 02/5-1-6 [сеянец № 98/4-17-6] и доноры с розовой окраской венчика – № 05/11-51-2 [96/10-78-4 × (58д × Pink Panda)], № 61-2 и № 61-3 (сеянцы С-141). Доноры получены в результате многолетнего отбора из генофонда коллекции гибридов и линий ИЦиГ СО РАН. Работа по второму направлению находится на начальном этапе – ведется анализ наследования и степени проявления розовой окраски венчика в различных схемах скрещиваний. Так, проводится скрещивание белоцветковых гибридов с розовоцветковыми, розовоцветковых гибридов различного происхождения друг с другом и самоопыление розовоцветковых образцов крупноплодной земляники. Получены предварительные данные, указывающие на дозовый эффект гена, отвечающего за проявление розовой окраски венчика цветка (Батурин, Кузнецова, 2007). Отобраны комбинации скрещиваний (№ 7-9 × № 61-2 и № 7-28 × № 61-2), при которых всхожесть семян достигает 80–90 % и выше. В 20 отобранных перспективных семьях сеянцы проявляют высокую зимостойкость: степень подмерзания у более чем 90 % растений составляет 0–1 балл по пятибалльной шкале, где 0 – нет признаков подмерзания, 5 – полная гибель всех тканей растения.

По декоративным качествам отбор среди розовоцветковых гибридов проводится в следующих направлениях: 1) с глубоко насыщенной розовой окраской венчика; 2) с нежно-розовой окраской лепестков; 3) с полумахровыми цветками различных оттеночных вариаций розового цветка. С учетом специфических условий Сибири особое внимание уделяется зимостойкости гибридов.

По результатам отбора создан гибридный фонд зимостойких розовоцветковых земляник, формирующих достаточно крупные ягоды, включающий в себя 19 перспективных гибридов с насыщенной розовой окраской венчика, в том числе 3 полумахровые формы (№ 80-57, № 80-134, № 80-149) из 5 комбинаций скрещиваний (№ 7-9 × № 61-2; № 7-1 × № 61-2; № 05/11-51-2 × № 61-2; № 5–11 × № 61-2; № 7-29 × № 61-3), а также 17 гибридов с нежно-розовой окраской цветков из трех комбинаций скрещивания (№ 58-2-1 × № 61-2; № 58-1-3 × № 61-1), в том числе 6 полумахровых (№ 80-80, № 80-104, № 80-115, № 80-135, № 91-19, № 122-11). Во всех отборах имеются растения с крупными цветками, достигающими в диаметре 4,5 мм, с равномерной, немозаичной окраской лепестка. Все отобранные гибриды стабильно сохраняют

окраску цветков в течение нескольких лет наблюдения. Условия выращивания не оказывают влияния на ее интенсивность.

Таким образом, селекция розовоцветковых земляник в Западной Европе и США преимущественно проводится в направлении коммерческого использования гибридных форм и сортов без опубликования их происхождения. Благодаря начатой в 1999 г. в ИЦиГ СО РАН селекционно-генетической программе по изучению розовоцветковых земляник создан генофонд, насчитывающий более чем 800 различных генотипов растений с хорошей зимостойкостью и высокодекоративными свойствами цветков. Отобрано 36 гибридов с оптимальным сочетанием декоративных свойств и имеющих при этом довольно крупные ягоды. Все отобранные гибриды обладают способностью непрерывного цветения и плодоношения в течение летнего и осеннего периодов вегетации.

Литература

Батурин С.О., Аполинарьева И.К., Петрук В.А. Оценка всхожести семян и сортовой однородности семенного потомства ремонтантных коммерческих сортов крупноплодной земляники (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2010. В печати.

Батурин С.О., Кузнецова Л.Л. Наследование розовой окраски венчика у полиплоидов земляники (*Fragaria* L.) // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук. праць. КиЇв, 2007. Т. 2. С. 16–20.

Батурин С.О., Сухарева Н.Б., Амброс Е.В. Розовоцветковая крупноплодная земляника – культура многопрофильного использования // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: Матер. IV междунар. симп. М., 2001. Т. 3. С. 29–31.

Кантор Т.С. Итоги селекционно-генетической работы по созданию хозяйственно-ценных сортов от инконгруентных скрещиваний *Fragaria* × *ananassa* Duch.× *Fragaria moschata* Duch. // Генетика. 1983. Т. XIX. № 12. P. 2050–2059.

Кузнецова Л.Л. Розовоцветковая земляника // Арт-ландшафт. 2008. Вып. 06/07. С. 14–17.

Петров Д.Ф. Генетические основы апомиксиса. Новосибирск, 1979. 277 с.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б. Отдаленная гибридизация и апомиксис в роде *Fragaria* и их значение для селекции земляники в Сибири // С.-х. биология. 1983. № 2. С. 59–65.

Петров Д.Ф., Философова Т.П. О получении при помощи мичуринского метода «посредника» трехвидового гибрида, заключающего в себе геномы трех разнохромосомных видов *Fragaria* // Биол. журнал. 1938. Т. VII. № 3. С. 527–536.

Сухарева Н.Б. Значение метода посредника в связи с использованием отдаленной гибридизации в селекции земляники: Дис. … канд. биол. наук. Кишинев, 1966. 195 с.

Сухарева Н.Б. Роль отдаленной гибридизации в формообразовании *Fragaria* // Проблемы апомиксиса и отдаленная гибридизация. Новосибирск, 1987. С. 168–182.

Шангин-Березовский Г.Н. Об отдаленной гибридизации у земляник // Тр. Ин-та генетики. 1963. № 30. P. 321–356.

Appell S.D. Belle of The Berries. 2001. Available at http: // www.bbg.org/gar2/topics/kitchen/2001su_fruitecouture.html

Bentvelsen G.C.M., Bouw E., Veldhuyzen van Zanten J.E. Breeding strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) from seed // Acta Hort. (ISHS). 1997. V. 1. № 439. P. 149–153.

Bentvelsen G.C.M., Bouw E. Breeding ornamental strawberries // Acta Hort. (ISHS). 2006. № 708. P. 455–457.

Darrow G.M. The Strawberry – History, Breeding and Physiology. N.Y.: Holt, Rinehart and Winston, 1966. 447 p.

Ellis J.R. *Fragaria-Potentilla* intergeneric hybridization and evolution in *Fragaria* // Proc. Linn. Soc. London. 1962. V. 173. P. 99–106.

Cai Y., Xing J., Sun M. *et al*. Phenolic antioxidants (hydrolyzable tannins, flavonols, and anthocyanins) identified by LC-ESI-MS and MALDI-QIT-TOF MS from *Rosa chinensis* flowers // J. Agric. Food Chem. 2005. 53(26). P. 9940–9948.

Khanizadeh S. New hardy day-neutral red flowering strawberry cultivars // Acta Hort. (ISHS). 2000. № 538. P. 779–780.

Khanizadeh S., Cousineau J., Deschênes M. *et al*. Roseberry and Rosalyne: two new hardy, day-neutral red flowering strawberry cultivars // Acta Hort. (ISHS). 2002. № 567. P. 173–174.

Leslie A.C. *Fragaria* // The European Garden Flora / Eds Cullen J. *et al*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1995. V. 4. P. 397–398.

Mabberley D.J. *Potentilla* and *Fragaria* (Rosaceae) reunited // Telopea. 2002. 9(4). P. 793–801.

ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES OF BREEDING PINK FLOWERING GARDEN STRAWBERRY (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.) IN WESTERN SIBERIA

S.O. Baturin[1], L.L. Kuznetsova[2]

[1] Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: baturin@bionet.nsc.ru,
[2] Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Summary

At present pink flowering strawberry assortment of foreign and domestic origin includes not more than 30 varieties. The foreign varieties are usually used for ornamental purposes. In 1999 a program on creation of pink flowering forms of garden strawberry with double purpose (for ornamental purposes and for fruit production) as well as forms adapted for growing in Siberian region was started at The Institute of Cytology and Genetics, SB RAS. The gene pool of pink flowering strawberry including 5 varieties of European selection, 36 winter-hardy and high-yielding hybrids with ornamental qualities of flowers was formed. All selected hybrids are day neutral strawberry varieties producing fruit in summer and in the fall.

Key words: Intergeneric hybridization, pink flowering strawberry, *Fragaria* × *ananassa*, *Comarum palustre*, breeding, day neutral strawberry, seed germination capacity, varietal uniformness.

100 ЛЕТ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА ДМИТРИЯ ФЁДОРОВИЧА ПЕТРОВА

Доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РСФСР Дмитрий Фёдорович Петров – известный советский биолог–цитолог и микробиолог, генетик и растениевод, организатор науки и педагог.

7 июля 1909 г. в г. Чарджоу (бывшая Закаспийская область, ныне Республика Туркменистан) в семье врача Федора Васильевича Петрова и его супруги Ольги Николаевны родился сын Дмитрий.

После окончания школы Дмитрий Петров поступил на отделение селекции и семеноводства агрономического факультета Ленинградского сельскохозяйственного института. По окончании института, в 1931 г., он поступил в аспирантуру Всесоюзного института растениеводства. В период с 1933 по 1938 гг. Д.Ф. Петров заведовал лабораторией цитологии в Центральной генетической лаборатории им. И.В. Мичурина в г. Мичуринске Тамбовской области. В 1935 г. он защитил диссертацию на тему «Цитологическое изучение кариотипических рентгеноаберрантов» и был удостоен ученой степени кандидата биологических наук.

С января 1939 г. он доцент кафедры генетики и селекции Воронежского госуниверситета. В 1941 г. Д.Ф. Петров защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук по теме «Значение аномальных явлений для восстановления плодовитости у стерильных гибридов», и в сентябре этого же года ему присваивается ученое звание профессора. В сентябре 1941 г. его избирают заведующим кафедрой. Шла война, и Д.Ф. Петров состоял в народном ополчении г. Воронежа. В июле 1942 г. вместе с университетом он эвакуировался в г. Елабугу, где Воронежский госуниверситет находился до 1943 г. После возвращения активно участвовал в восстановлении Воронежского госуниверситета.

После августовской сессии ВАСХНИЛ, в сентябре 1948 г., Д.Ф. Петров был освобожден от заведования кафедрой генетики и селекции и уволен из Воронежского госуниверситета «за разработку теории классической генетики и изложение основных положений менделевского наследования в лекциях и на практических занятиях».

В декабре 1948 г. приказом Президиума Академии медицинских наук СССР он был назначен на должность заведующего лабораторией селекции микроорганизмов Института эпидемиологии и микробиологии АН СССР им. Н.Ф. Гамалеи (г. Москва), где работал до 1950 г. Здесь под руководством Д.Ф. Петрова проводились исследования по селекции микроорганизмов. Одним из результатов этих работ было получение ауксотрофных мутантов бактерий, нашедших применение для количественного определения

аминокислот и обогащения кормов незаменимыми аминокислотами. Кроме того, был получен штамм бактерий, устойчивый к высокой концентрации цианидов и способный их окислять. На основе использования этой формы была разработана технология микробиологической очистки сточных вод золотоизвлекательных фабрик.

В феврале 1950 г. приказом Министерства здравоохранения СССР Д.Ф. Петров был переведен на должность профессора, заведующего кафедрой общей биологии Сталинградского медицинского института, где проработал до февраля 1955 г.

В 1955 г. ученым советом Ярославского медицинского института был избран по конкурсу на должность профессора, заведующего кафедрой общей биологии Ярославского медицинского института, где он проработал до июля 1958 г.

Дальнейшая его судьба была связана с Новосибирском – Сибирским отделением Академии наук. В июле 1958 г. Д.Ф. Петров был назначен в порядке перевода на должность заведующего лабораторией цитологии и апомиксиса Института цитологии и генетики СО АН СССР (г. Новосибирск). Однако здесь созданная им лаборатория цитологии и апомиксиса «не задержалась» и уже в 1959 г. была выделена в самостоятельное подразделение при Президиуме СО АН СССР. В 1960 г. лаборатория вошла в состав Центрального сибирского ботанического сада СО АН СССР, а в августе 1963 г. была переведена в Биологический институт СО АН СССР (ныне Институт систематики и экологии животных СО РАН). До 1986 г. Д.Ф. Петров был бессменным заведующим лабораторией цитологии и апомиксиса, а с октября 1986 г. и до конца своей

Апомиксис – от греческого *apo* – без, *mixis* – смешение. В широком смысле используется для обозначения бесполого размножения у организмов, у которых оно имеет вторичный характер и замещает утраченное половое размножение. В узком смысле термин «апомиксис» используется для обозначения образования семян у высших растений без полового процесса.

На эскпериментальном поле лаборатории цитологии растений и апомиксиса.

Слева направо: (?), Б.Е. Шарыпова (Жанкаксинова), Д.Ф. Петров, А.В. Рыжов, Т.Д. Бочкарева, А.В. Железнов.

На экспериментальном участке Биологического института СО АН СССР.

Слева направо: Л.И. Лайкова, Н.И. Белоусова, Н.В. Бурмакина, Д.Ф. Петров, А.В. Рыжов.

жизни состоял в должности старшего научного сотрудника–консультанта. В декабре 1986 г. заведующим лабораторией цитологии и апомиксиса был избран кандидат биологических наук Виктор Андреевич Соколов. В августе 1993 г. лаборатория цитологии и апомиксиса «вернулась» в Институт цитологии и генетики СО РАН в сильно сокращенном составе, и с 1 апреля 2009 г., не меняя своего названия на протяжении полувека, вновь сменила «прописку» – теперь она в составе Отдела молекулярной и клеточной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Признание и мировую известность Д.Ф. Петрову принесли работы по закреплению гетерозиса путем апомиксиса и по получению апомиктичных гибридов между кукурузой и трипсакум – ее отдаленным родственником. Д.Ф. Петров в своей лаборатории впервые в мире путем опыления тетраплоидной кукурузы ($2n = 4x = 40$) пыльцой тетраплоидного трипсакума ($2n = 4x = 72$) получил несколько 56-хромосомных межродовых гибридов ($2n = 56$, 20Zm + 36Td), два из которых экспрессировали признак апомиксиса, и потомки одного из них поддерживаются путем бесполосеменного размножения до настоящего времени, т. е. почти 50 лет. Несколько результатов, полученных при изучении апомиксиса у трипсакума и его гибридов с кукурузой, являются признанными мировыми достижениями, впервые полученными в основанной им лаборатории, как при участии Дмитрия Фёдоровича так и уже без него. Так, Л.И. Лайкова экспериментально доказала, что трипсакум имеет апомиксис *Antennaria*-типа, т. е. митотическую дипоспорию. Позднее в лаборатории было показано, что в силу факультативности апомиксиса у трипсакума и его гибридов с кукурузой можно наращивать число геномов сексуального родителя путем получения редких BIII-потомков и таким образом усиливать у них признак полового размножения. При таком подходе удалось создать обширную коллекцию межродовых гибридов с различным соотношением геномов культурного и дикого родителей, которая до сих пор используется для изучения различных аспектов бесполосеменного размножения. В 1995 г. лаборатория получила патент США «Апомиктичная кукуруза» на впервые созданные 39-хромосомные бесполосеменные гибриды (30Zm + 9Td). В 2000 г. путем получения большого числа гибридных семей F_1 от опыления диплоидной кукурузы пыльцой трипсакума и беккросированием их на кукурузу впервые в мире был показан независимый контроль признаков апомейоза и партеногенеза.

Конечно же лучшей памятью российским ученым, выдвинувшим идею закрепления гетерозиса путем апомиксиса и впервые получившим апомиктические межродовые гиб-

риды, было бы создание первого в мире коммерческого сорта растений, размножающихся бесполосеменным путем. Проблема создания такого сорта по силам лаборатории, созданной Дмитрием Фёдоровичем на основе имеющихся материалов, но это может быть осуществимо только при материальной поддержке и понимании значимости данной работы со стороны государства и общества.

Помимо исследований апомиксиса у межродовых гибридов кукурузы в лаборатории цитологии и апомиксиса проводились и другие работы, в частности эколого-географическое и цитологическое изучение некоторых партеногенетических видов насекомых, широко распространенных в Сибири (долгоносик, кузнечик, гороховая тля). Были продолжены работы по селекции микроорганизмов, проводимые Дмитрием Фёдоровичем еще в Москве, по микробиологической очистке бытовых и промышленных отходов, извлечению полезных рассеянных металлов из отвалов горнодобывающих и горнообогатительных предприятий.

Д.Ф. Петров на участке перспективного размножения гибрида кукурузы.

В лаборатории цитологии и апомиксиса был получен двойной межлинейный гибрид кукурузы «Северный 2», награжденный медалью ВДНХ. Совместно с Горьковским сельскохозяйственным институтом был выведен сорт дыни Горьковская (образец 310). Для суровых условий Сибири были созданы две формы озимой пшеницы с повышенной зимостойкостью – «Сибирская Ульяновка» и «Сибирячка», и особенно удачный мутант, полученный на основе сорта «Алабасская», – «Отрада Севера». К сожалению, судьба перспективной формы «Отрада Севера» по целому ряду обстоятельств сложилась печально и она более не высевается, хотя имела великолепный потенциал для Западно-Сибирского региона. Например, в частном фермерском хозяйстве Убинского района Новосибирской области, куда в 1996 г. были переданы последние 250 кг семян из фонда лаборатории, в 2002 г. на площади 18 га был получен урожай 55 ц/га, а сам фермер три года подряд признавался победителем на областных конкурсах!

Своими учителями в науке Д.Ф. Петров считал всемирно известного растениевода, селекционера, генетика и организатора науки академика АН СССР Н.И. Вавилова, выдающегося ботаника и цитолога члена-корреспондента АН СССР Г.А. Левитского и селекционера-практика академика ВАСХНИЛ И.В. Мичурина.

Здесь нелишне подчеркнуть, сколь великими были его учителя. Говорить о величии Н.И. Вавилова нет надобности. Хотелось бы подчеркнуть значительность вклада в мировую науку Г.А. Левитского. В 1922–1925 гг. он заведовал лабораторией Киевского института селекции, а в 1925–1941 гг. – лабораторией цитологии ВИПбиНК (ВИР, г. Ленинград). Г.А. Левитский заслуженно считается отцом мировой цитогенетики растений, и очень многие замечательные исследователи пришли в науку после знакомства с его работами. В частности, выдающийся американский генетик и эволюционист Д.Л. Стеббинс, будучи с гостевым визитом в ИЦиГ СО АН СССР в 1974 г., в беседе с В.А. Соколовым

говорил, что решил заняться эволюционной кариосистематикой после знакомства со статьями Левитского, восприняв его идеи.

В свою очередь Дмитрий Фёдорович оказался хорошим учеником. Именно в ВИР в 1930-е гг. С.М. Навашиным и Г.Д. Карпеченко была высказана идея о закреплении сложных признаков путем освоения бесполосеменного размножения, таким способом исключая рекомбинацию, сопутствующую половому процессу. И Дмитрий Фёдорович не только обратил на это внимание и запомнил, но и воспринял эту идею в качестве руководствующей! В 1960-е гг., когда во главе страны был Н.С. Хрущев, когда в СССР кукуруза стала «царицей полей», и потребовались сорта и гибриды для условий, в которых она никогда не возделывалась, а также технологии ее семеноводства, именно в это время Дмитрий Фёдорович круто меняет свою жизнь. Он оставляет спокойное место заведующего кафедрой в обжитом Ярославле и едет в Новосибирск с целью реализовать идею освоения апомиксиса в агротехнологиях. При этом он ставит задачу ни много ни мало создать апомиктичную кукурузу путем переноса генов, контролирующих этот признак, от ее дикого сородича трипсакума. Таким образом, была, по существу, объявлена первая в мире программа создания размножающегося бесполосеменным путем культурного растения.

Следует отметить, что уже с самого начала к этой работе было привлечено пристальное внимание зарубежных исследователей и семеноводческих компаний. Так, в 1972 г. А. Гробман, сотрудник компании «Нортроп Кинг», бывший с гостевым визитом в ИЦиГ СО РАН от МАГАТЭ, настоял на обязательном посещении лаборатории цитологии и апомиксиса Биологического института СО АН СССР специально для знакомства с проводимыми здесь работами по бесполосеменной кукурузе.

В 1978 г. после Генетического конгресса в Москве лабораторию цитологии и апомиксиса посетил активнейший исследователь апомиксиса Ив Савидан. И во время своего второго визита в Новосибирск в 1994 г. он отметил, что заняться получением апомиктичной кукурузы его подтолкнули работы Д.Ф. Петрова, с которыми он познакомился во время своего прошлого визита в Новосибирск после конгресса. До этого он исследовал бесполосеменное размножение у кормовых трав. Ив Савидан развил колоссальную энергию и проявил выдающиеся организаторские способности: наряду с действующей лабораторией во Франции, в международном центре пшеницы и кукурузы в Мексике (знаменитый CYMMIT – откуда Норман Борлауг осуществил зеленую революцию), он организовал специальный отдел по созданию апомиктичной кукурузы. Ив Савидан

Сотрудники лаборатории Д.Ф. Петрова на опытном поле в Академгородке, 1974 г.

Слева направо: Р.М. Позднякова, А.В. Железнов, М.Н. Хватова, Б.Ф. Юдин, Н.И. Белоусова, В.И. Геращенко.

Участники 2-го совещания по апомиксису. Новосибирск, Дом ученых, 1968 г.

Слева направо: ?, Н.И. Белоусова (Новосибирск), ?, В.П. Банникова (Киев), Л.С. Звержанская (Саратов), Т.В. Канделаки (Тбилиси), Л.И. Лайкова (Новосибирск), А.И. Гусева (Саратов), М.И. Зайцева (Саратов), А.А. Шолохова (Москва), А.И. Здрюйковская-Рихтер (Ялта), Е.Я. Мирошниченко (Новосибирск).

сумел заинтересовать перспективностью своего проекта множество фондов и получил деньги на оборудование, штаты и издание периодического ежегодника «Apomixis News Letters», что позволяло ему контролировать практически все исследования соответствующего направления в мире. С 1995 г., благодаря опять же инициативе Ива Савидана, стали проводиться регулярные Всемирные конференции по апомиксису. Число лабораторий, в которых проводились исследования по апомиксису в мире, стало возрастать. Образно говоря, начиная с 1990-х гг. волна экспериментальных исследований апомиксиса, поднятая Д.Ф. Петровым, превратилась в цунами. Необходимо еще раз подчеркнуть выдающиеся организаторские способности Ива Савидана. Он буквально «вырвал эстафету» у известного исследователя гаплоидии Нитцше, который ранее сделал попытку консолидации единичных исследователей апомиксиса в мире, основав в 1987 г. издание бюллетеня «Apomixis Information Service».

Еще один пример признания работ и научного авторитета Дмитрия Фёдоровича вспоминает В.А. Соколов. На первой конференции, посвященной апомиксису, был представлен постерный доклад лаборатории цитологии и апомиксиса, на котором была помещена и фотография надгробного памятника на могиле Дмитрия Фёдоровича. Живой классик апомиксиса Г. Ноглер долго и внимательно изучал постер и затем обратился к В.А. Соколову с просьбой. Он извинился за свой несовершенный английский, но для того чтобы как можно яснее донести смысл своей просьбы, он помог себе жестикуляцией: «После возвращения в Новосибирск посетите могилу профессора Петрова, встаньте перед ней и сделайте так», – и продемонстрировал глубокий поклон.

Д.Ф. Петров являлся куратором комплексной темы АН СССР, ВАСХНИЛ и министерства сельского хозяйства СССР «Апомиксис и его использование в селекции», входящей в проблему «Генетика и селекция культурных растений». Участвовал в организации 17-го Международного конгресса по садоводству (г. Москва, 1966), 9-го Международного конгресса по микробиологии (г. Москва, 1966), 2-го Всесоюзного совещания по проблемам апомиксиса у растений и животных (г. Новосибирск, 25–30 июня 1968 г.); 14-го Международного генетического конгресса (г. Москва, 1978). Активно участвовал в организации и проведении трех всесоюзных совещаний по проблемам апомиксиса (г. Саратов, 1966; г. Новосибирск, 1968; г. Тбилиси, 1971), двух съездов Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова, совещаний по проблемам отдаленной

гибридизации. До 1976 г. Дмитрий Фёдорович состоял членом защитного совета при Объединенном ученом совете по биологическим наукам Президиума СО АН СССР, а в период с 1976 по 1986 гг. был членом специализированного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук при ИЦиГ СО АН СССР.

Дмитрий Фёдорович воспитал более двух десятков учеников цитологов и генетиков растений, среди них: доктор биологическх наук Е.Г. Жиров, доктор сельскохозяйственных наук А.В. Железнов, кандидаты биологических наук Л.И. Лайкова, Н.Б. Сухарева, Н.Б. Железнова, М.Н. Хватова, Н.И. Белоусова, И.С. Родынюк, М.А. Шилова, Е.С. Фокина, В.Н. Лизнев, Л.А. Лукина, М. Меленков (Болгария), Л.С. Швецова-Иванова, Н.В. Бурмакина, Т.А. Носикова, Л.Н. Овчинникова, Л.А. Губанова, Т.П. Философова.

Д.Ф. Петров всю свою жизнь был связан с высшей школой. Он работал в Воронежском госуниверситете, Сталинградском и Ярославском мединститутах, с 1966 по 1976 гг., преподавал по совместительству в Новосибирском педагогическом институте – читал курс лекций по генетике на кафедрах зоологии и анатомии и физиологии человека и животных.

Д.Ф. Петров – автор более 200 научных публикаций (перечень которых приведен ниже). Среди них отметим его монографические издания «Селекция микробов» (1959 г.); «Микробы на службе сельскому хозяйству» (1965 г.); «Генетически регулируемый апомиксис» (1964 г.); «Цитологические основы наследственности» (1973 г.); «Апомиксис в природе и опыте» (1988 г.). Д.Ф. Петров – автор учебника «Биология с общей генетикой» и учебного пособия «Генетика с основами селекции» для вузов. Учебник «Биология с общей генетикой» для студентов медицинских институтов, написанный в соавторстве с П.Б. Гофман-Кадошниковым, в 1966 г. был награжден дипломом второй степени «За лучшую медицинскую книгу», а в 1970 г. был переведен на узбекский и румынский языки. В научно-популярной серии издательств «Колос» и «Наука» вышли его книги: в 1967 г. – «Генетика и сельское хозяйство. (Применение законов наследственности и изменчивости в семеноводстве и селекции растений)», и в 1976 г. – «Потомство без отцов. (Апомиксис и его значение для селекции)». Здесь необходимо отметить и то, что он был инициатором и ответственным редактором двух десятков сборников научных работ (коллективных монографий). Часть из них вышли как отдельные тома серийного издания трудов Биологического института СО АН СССР. В названиях сборников отражена широта научных проблем, которыми занимались Дмитрий Фёдорович и его коллеги. Начиная с 1963 г. под его редакцией вышло 6 сборников (работ) и монография, посвященные генетике и селекции микроорганизмов, а также 16 сборников статей, объединяющие полученные экспериментальные данные и освещающие теоретические вопросы в области изучения апомиксиса, гетерозиса, цитологии, генетики, селекции и эволюции. Для каждого сборника Дмитрием Фёдоровичем были написаны обстоятельные аналитические статьи, в которых он давал обзор современного состояния представленной тематики. Последний сборник под его редакцией «Проблемы апомиксиса и отдаленной гибридизации» вышел в 1987 г.

В 1979 г. Д.Ф. Петрову было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РСФСР». Д.Ф. Петров награжден медалями: «За доблестный труд в годы Великой Отечественной войны», «100-летие со дня рождения В.И. Ленина», «30-летие Победы в Великой Отечественной войне 1941–1945 г.». Д.Ф. Петров награжден дипломами и медалями ВДНХ (1 серебряная и 4 бронзовых).

Умер Д.Ф. Петров 9 мая 1987 г. в г. Новосибирске и погребен на южном кладбище Академгородка. На надгробии, согласно его завещанию, выгравирован фрагмент шахматной доски с шахматными фигурами – доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РСФСР Д.Ф. Петров был еще и мастером спорта по составлению шахматных задач этой умной и высокоинтеллектуальной игры. Он был участником трех личных чемпионатов СССР по шахматным композициям. С 1926 г. им опубликовано около 100 этюдов. На конкурсах он был удостоен 50 знаками отличия, в том числе, 8 первыми призами. Этот отпечаток его следа на Земле запечатлен в виртуальной реальности – в Интернете: достаточно набрать для поиска три ключевых слова: Петров Дмитрий Фёдорович.

Благодарности

Автор признателен ученикам Д.Ф. Петрова, бывшим и нынешним сотрудникам лаборатории цитологии и апомиксиса Н.И. Белоусовой, Т.П. Сорокиной, Л.И. Лайковой, А.В. Железнову и В.А. Соколову, а также сотрудникам библиотеки ИЦиГ СО РАН за помощь, оказанную при подготовке данной статьи.

Труды Д.Ф. Петрова

Петров Д.Ф., Горшков И.С. Цитогенетическое изучение некоторых гибридов и чистых форм *Rubus* // Тр. Центр. генет. лаборатории им. И.В. Мичурина. Мичуринск, 1934. Т. 2. С. 65–87.

Петров Д.Ф., Шашкин И.Н. К филогении *Fragaria orientalis* // Тр. Центр. генет. лаборатории им. И.В. Мичурина. Мичуринск, 1934. Вып. 2.

Петров Д.Ф. Редукционное деление у кариотипических аберрантов *Crepis capillaries* Wallr // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Сер. 2. 1935. № 8. С. 29–58.

Петров Д.Ф., Великанова Е.В. Кариология яблони // Тр. Центр. генет. лаборатории им. И.В. Мичурина. Мичуринск, 1937. Т. 2. С. 90–94.

Петров Д.Ф., Тукан Д.А. О гетерозиготности мужского пола у *Fragaria orientalis* Los. // Докл. АН СССР. 1937. Т. 16. № 9. С. 465–466.

Петров Д.Ф., Тукан Д.А. Цитологические данные о гибридах черной смородины с крыжовником // Селекция плодово-ягодных растений. Тр. Центр. генет. лаборатории им. И.В. Мичурина. Воронеж, 1937. С. 229–237.

Петров Д.Ф., Философова Т.П. Данные о числе хромосом и течении мейозиса у *Fragaria orientalis* // Селекция плодово-ягодных растений. Тр. Центр. генет. лаборатории им. И.В. Мичурина. Воронеж, 1937. С. 10–18.

Петров Д.Ф., Философова Т.П. О получении при помощи мичуринского метода «посредника» трехвидового гибрида, заключающего в себе геномы трех разнохромосомных видов *Fragaria* // Биол. журнал. 1938. Т. 7. № 3. С. 527–536.

Петров Д.Ф. О явлении факультативной псевдогамии у триплоидного сорта малины *Immar tragende* (*Rubus idaeus*) // Докл. АН СССР. 1939. Т. 22. № 6. С. 354–356.

Петров Д.Ф. Межвидовая и межродовая гибридизация плодово-ягодных растений // Усп. соврем. биологии. 1939. Т. 10. С. 280–305.

Петров Д.Ф. Генетическое и эволюционное значение анормальных типов развития зародышевого мешка // Журн. общ. биологии. 1942. Т. 3. № 2. С. 81–99.

Петров Д.Ф. Значение тетраспорического восьмиядерного зародышевого мешка для решения вопроса о происхождении покрытосеменных растений // Научные сообщения Воронежского гос. ун-та. 1. 1946. С. 102–106.

Петров Д.Ф. К вопросу о происхождении видов // Ботан. журнал. 1953. Т. 38. № 6. С. 853–862.

Петров Д.Ф. Значение апомиксиса для закрепления гетерозиса // Докл. АН СССР. 1957. № 112. С. 954–957.

Петров Д.Ф. О возможности использования апомиксиса для закрепления гетерозиса у линейных гибридов кукурузы // Всесоюз. совещ. по производству гибридных семян кукурузы. М.: Изд-во Министерства сельского хозяйства СССР, 1957. С. 173–176.

Петров Д.Ф. Селекция микробов / Под ред. и с предисловием В.Л. Рыжкова. М.: Медгиз, 1959. 277 с.

Петров Д.Ф., Граблева Т.И. Новый ауксотрофный штамм *Bacterium coli*, нуждающийся только в метионине // Докл. АН СССР. 1961. Т. 139. № 4. С. 964–986.

Петров Д.Ф. О некоторых возможностях разработки и применения селекционно-генетической теории И.В. Мичурина // Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. С. 3–6.

Петров Д.Ф. Генетически управляемый апомиксис и его значение для эволюции и селекции // Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. С. 7–34.

Петров Д.Ф., Железнова Н.В. Новый способ выделения андрогенных растений и некоторые возможности использования его в селекции кукурузы // Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. С. 68–72.

Петров Д.Ф., Лайкова Л.И., Довженко Л.И. К вопросу об экспериментальном получении устойчивого апомиксиса у кукурузы // Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. С. 51–67.

Петров Д.Ф., Сермяжко И.А. К вопросу о значении воздействия ионизирующей радиации на черенки для получения новых сортов яблони, устойчивых в условиях Сибири // Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. С. 75–83.

Петров Д.Ф. Генетически регулируемый апомиксис. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. 188 с.

Петров Д.Ф. Апомиксис и отдаленная гибридизация

// Цитология и селекция культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. С. 6–17.

Петров Д.Ф. Цитогенетическое изучение псевдогамии у малины // Цитология и селекция культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. С. 18–28.

Петров Д.Ф., Санкин Л.С., Крылова Г.В. Полиплоидные формы *Fragaria vesca* и *F. orientalis* // Цитология и селекция культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. С. 65–68.

Петров Д.Ф., Лизнев В.Н. Использование Х-лучей и нейтронов для улучшения гибридных сортов яблони // Цитология и селекция культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. С. 84–97.

Петров Д.Ф., Оробинский И.И., Шилова М.А. и др. Новый микробиологический метод получения лизина // Селекция микробов. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1964. С. 128.

Петров Д.Ф. Микробы на службе сельскому хозяйству. М.: Колос, 1965. 152 с.

Петров Д.Ф., Лизнев В.Н. Использование ионизирующей радиации для повышения морозоустойчивости гибридных сортов яблони // Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции. Тр. МОИП. Т. 23. / Ред. С.А. Валева, В.В. Сахаров, Б.Н. Сидоров, В.В. Хвостова (отв. ред.). М.: Наука, 1966. С. 246–251.

Гофман-Кадошников П.Б., Петров Д.Ф. Биология с общей генетикой. (Учебник для студентов медицинских институтов). М.: Медицина, 1966. 512 с.

Петров Д.Ф., Санкин Л.С., Сухарева Н.Б. Отдаленная гибридизация и полиплоидия у *Fragaria* // Докл. советских ученых к 17 Междунар. конгрессу по садоводству. М.: Колос, 1966. С. 204–211.

Петров Д.Ф. О некоторых новых достижениях цитологии и генетики и их значении для селекции растений // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1967. С. 3–7.

Петров Д.Ф. Генетика и сельское хозяйство. (Применение законов наследственности и изменчивости в семеноводстве и селекции растений). М.: Колос, 1967. 224 с. (Сер. Науч.-популяр. лит-ра).

Петров Д.Ф., Лизнев В.Н. О некоторых возможностях использования индуцированных мутаций и хромосомных аберраций у гибридных сортов в селекции яблони // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1967. С. 126–137.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Юрчиков Ю.Н. Цитогенетическое изучение гибридов между тетраплоидными формами кукурузы и трипсакум // Генетика. 1968. № 3. С. 58–71.

Петров Д.Ф., Лукина Л.А., Сухарева Н.Б., Санкин Л.С. Отдаленная гибридизация в роде *Fragaria* и некоторые возможности использования ее в селекции // Матер. Всесоюз. совещ. по отдаленной гибридизации животных и растений. М.: Колос, 1968. С. 158–164.

Петров Д.Ф. Цитологические особенности отдаленных гибридов у растений // Отдаленная гибридизация растений. Зерновые и зернобобовые культуры. М.: Колос, 1970. С. 91–100.

Петров Д.Ф. Генетика с основами селекции. (Учебное пособие для студентов биологических специальностей университетов). 2-е изд., доп. М.: Высш. школа, 1971. 411 с.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. и др. Наследование элементов апомиксиса у гибридов кукурузы с трипсакум // Докл. АН СССР, 1971. Т. 204. № 1. С. 961–963.

Петров Д.Ф. Ауксотрофные мутанты бактерий как продуценты аминокислот // Селекция и генетика микробов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1971. С. 3–21.

Петров Д.Ф., Граблева Т.И. Генетические и биохимические свойства мутанта *Bacterium coli* $П_{12}$ // Селекция и генетика микробов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1971. С. 52–21.

Петров Д.Ф., Горин В.Е. О некоторых новых возможностях селекции продуцента новобиоцина // Селекция и генетика микробов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1971. С. 66–71.

Петров Д.Ф. Апомиктическое размножение и полиплоидия // Полиплоидия и селекция. Минск: Наука и техника, 1972. С. 105–111.

Петров Д.Ф. Предисловие // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. С. 3–8.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Юрчиков Ю.Н. и др. О значении аутосинтеза и апомиксиса для повышения гибридов между кукурузой и трипсакум // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. С. 49–64.

Петров Д.Ф., Железнов А.В. К вопросу о цитоплазматической мужской стерильности у гречихи // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. С. 208–216.

Петров Д.Ф., Железнова Н.Б., Фокина Е.С. О некоторых особенностях селекции кукурузы в условиях Сибири // Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. С. 88–103.

Петров Д.Ф., Лизнев В.Н. О некоторых индуцированных мутантах яблони с повышенной морозоустойчивостью // Цитология и генетика

культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. С. 104–111.

Петров Д.Ф. Апомиксис у растений и животных и его значение для эволюции и селекции // Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. С. 3–18.

Белоусова Н.И., Петров Д.Ф., Яценко Р.М., Юрчиков Ю.Н. Экспериментальное получение апомиксиса // Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. С. 55–63.

Белоусова Н.И., Петров Д.Ф., Яценко Р.М., Юрчиков Ю.Н. Экспериментальное получение апомиксиса // Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. С. 3–18.

Петров Д.Ф., Железнова Н.Б., Лайкова Л.И. и др. О влиянии ионизирующей радиации на частоту появления апомиктических сеянцев у кукурузы // Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. С. 7–85.

Петров Д.Ф., Санкин Л.С., Сухарева Н.Б., Лукина Л.А. О редуцированной псевдогамии у автополиплоидной восточной земляники // Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. С. 88–95.

Петров Д.Ф. Цитологические основы наследственности. М.: Колос, 1973. 248 с.

Петров Д.Ф., Юдин Б.Ф. Гаплоидный апомиксис и его значение для селекции гибридной кукурузы // Изв. СО АН СССР. 1973. № 5. Сер. биол. Вып. 1. С. 52–62.

Петров Д.Ф. Апомиксис и некоторые возможности использования его для закрепления гетерозиса // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 3–11.

Петров Д.Ф. Апомиксис и некоторые возможности использования его для закрепления гетерозиса // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 3–11.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б. Отдаленная гибридизация и ее значение для селекции земляники и малины // Докл. советских ученых к 19-му Междунар. конгрессу по садоводству. М.: Колос, 1974. С. 209–213.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. и др. Цитологическое изучение гибридов кукурузы с трипсакум и наследование элементов апомиксиса у них // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 11–48.

Петров Д.Ф., Фокина Е.С., Железнова Н.Б. и др. Фертильные гибриды старших поколений от скрещивания кукурузы с трипсакум и некоторые возможности использования их в селекции кукурузы // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 73–87.

Петров Д.Ф., Железнова Н.Б. Линейные гибриды кукурузы для Сибири // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 116–131.

Петров Д.Ф., Железнов А.В. Цитоплазматическая мужская стерильность и ее значение для селекции и селекции гречихи // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 144–155.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б., Лизнев В.Н. К вопросу об апомиксисе в роде *Rubus* // Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. С. 164–192.

Петров Д.Ф. Новые методы селекции микроорганизмов и использование их для решения некоторых прикладных задач // Генетика и селекция микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1975. С. 3–25.

Граблёва Т.И., Петров Д.Ф., Родынюк И.С. Характеристика бактериальной флоры хвостохранилища обогатительной фабрики // Генетика и селекция микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1975. С. 119–124.

Петров Д.Ф., Шилова М.А., Носикова Т.А. и др. Изучение регуляции триптофана у тирозинзависимых мутантов бактерий / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1975. С. 87–98.

Петров Д.Ф. Пенициллиновая методика и ее значение для селекции – современное состояние и некоторые перспективы // Микробиологические исследования в Западной Сибири / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. С 13–16.

Петров Д.Ф. Потомство без отцов. (Апомиксис и его значение для селекции). Новосибирск: Наука, 1976. 125 с.

Петров Д.Ф. Генетика с основами селекции. (Учебное пособие для студентов биологических специальностей университетов). 2-е изд., доп. М.: Высш. школа, 1976. 416 с.

Петров Д.Ф. Экспериментальное получение апомиксиса и некоторые возможности его использования в селекции // Апомиксис и его значение для эволюции и селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. С. 3–10.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. и др. Передача некоторых элементов апомиксиса от трипсакум к кукурузе // Апомиксис и его значение для эволюции и селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. С. 11–72.

Петров Д.Ф., Фокина Е.С., Белоусова Н.И. О характере наследственной изменчивости при регулярном

апомиктическом размножении // Апомиксис и его значение для эволюции и селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. С. 65–95.

Петров Д.Ф., Железнов А.В., Рыжов А.В. Индуцированные мутанты озимой пшеницы и их значение для озимой пшеницы // Апомиксис и его значение для эволюции и селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. С. 200–219.

Петров Д.Ф. Предисловие // Гаплоидный апомиксис и его значение для селекции / Ред. Д.Ф. Петров. М.: Колос, 1976. С. 5–10.

Турбин Н.В., Петров Д.Ф. Апомиксис и его использование в селекции // Апомиксис и его использование в селекции / Ред. Д.Ф. Петров. М.: Колос, 1976. С. 3–4.

Петров Д.Ф. Экспериментальное получение регулярного апомиксиса и некоторые возможности использования его для закрепления гетерозиса // Гаплоидный апомиксис и его значение для селекции // Ред. Д.Ф. Петров. М.: Колос, 1976. С. 11–23.

От редактора [Петров Д.Ф.] // Цитогенетические основы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1977. С. 5–14.

Петров Д.Ф., Лизнев В.Н., Сухарева Н.Б. Цитогенетические основы селекции плодовых растений и ягодников // Цитогенетические основы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1977. С. 15–106.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б. Некоторые цитоэмбриологические особенности факультативно-апомиктических малин (*Rubus idaeus* L.) // Цитогенетические основы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1977. С. 142–146.

Петров Д.Ф., Железнов А.В., Рыжов А.В., Зайцева Э.А. Индуцированный мутагенез и его значение для селекции озимой пшеницы в Сибири // Цитогенетические основы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1977. С. 167–195.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Иванова Л.С. и др. Закономерности наследственности при апомиктическом размножении и экспериментальное получение регулярного апомиксиса // Фундаментальные исследования. Биологические науки / Ред. В.Ф. Альтергот и др. Новосибирск: Наука, 1977. С. 149–154.

Петров Д.Ф. Гаплоиды у высших растений (По матер. междунар. симп. в Канаде) // Апомиксис у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1978. С. 3–44.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С., Сорокина Т.П. Включение участков хромосом трипсакум в хромосомы кукурузы в связи с передачей элементов апомиксиса // Апомиксис у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1978. С. 45–73.

Петров Д.Ф., Геращенко В.И. Экспериментальный мутагенез и полиплоидия у яблони // Апомиксис у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1978. С. 152–168.

Петров Д.Ф. Очерки первого этапа развития селекции микробов // Генетические основы селекции микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1979. С. 3–29.

Петров Д.Ф., Шилова М.А., Носикова Т.А. О некоторых возможностях использования провокационно-фонового метода с двумя отбирающими факторами для выделения редких ауксотрофных форм бактерий // Генетические основы селекции микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1979. С. 30–47.

Петров Д.Ф. Основные преимущества методов селекции, основанных на новейших достижениях генетики // Индуцированный мутагенез и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1980. С. 3–26.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. Кукурузоподобные гибриды как последняя ступень передачи элементов апомиксиса от трипсакум к кукурузе // Индуцированный мутагенез и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1980. С. 27–56.

Петров Д.Ф., Рыжов А.Я., Зайцева Э.А. Индуцированный мутагенез у озимой пшеницы в условиях Сибири // Индуцированный мутагенез и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1980. С. 124–158.

Петров Д.Ф. Апомиксис и его значение для эволюции // Методологические и философские проблемы биологии / Отв. ред. Д.К. Беляев. Новосибирск: Наука, 1981. С. 92–111.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б. Значение отдаленной гибридизации для селекции земляники // Отдаленная гибридизация и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 3–10.

Петров Д.Ф. Отдаленная гибридизация и апомиксис // Отдаленная гибридизация и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 3–10.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. Основные особенности наследования элементов апомиксиса у некоторых гибридов кукурузы с трипсакум // Генетические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 4–32.

Петров Д.Ф., Бертогаева В.Д. Двойные линейные гибриды кукурузы Северный 1 и Северный 2 // Генетические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 109–120.

Петров Д.Ф., Геращенко В.И. Значение индуцированного мутагенеза для выведения сортов яблони, морозоустойчивых в условиях Сибири // Генетические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 224–232.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. Передача апомиксиса от трипсакум к кукурузоподобным гибридам // Отдаленная гибридизация и апомиксис // Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. С. 32–52.

Петров Д.Ф. Введение (Отдаленная гибридизация, апомиктическое размножение и экспериментальное получение апомиксиса и их значение для селекции растений) // Генетические основы апомиксиса в селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1984. С. 3–8.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. О проявлении элементов апомиксиса и способности к регулярному апомиктическому размножению у некоторых кукурузоподобных гибридов кукурузы с трипсакум // Генетические основы апомиксиса в селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1984. С. 9–20.

Петров Д.Ф., Бертогаева В.Д., Власова Е.Ю. Скороспелые двойные линейные гибриды кукурузы Северный 1 и Северный 2 // Генетические основы апомиксиса в селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1984. С. 68–86.

Петров Д.Ф., Рыжов А.В. Новые сорта озимой пшеницы, полученные при помощи индуцированного мутагенеза, и результаты их изучения в производственных и полупроизводственных условиях // Генетические основы апомиксиса в селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1984. С. 103–118.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. Передача способности к регулярному апомиктическому размножению от трипсакум к кукурузе // Теоретические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1985. С. 21–47.

Петров Д.Ф., Бертогаева В.Д., Власова Е.Ю. О некоторых возможностях налаживания семеноводства раннеспелых гибридов кукурузы в Сибири // Теоретические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1985. С. 69–83.

Петров Д.Ф., Сухарева Н.Б. Трансформация как возможная причина передачи наследственной информации регулярным апомиктам *Fragaria* при опылении их пыльцой, облученной тяжелыми дозами ионизирующей радиации // Теоретические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1985. С. 141–151.

Петров Д.Ф. Апомиксис и его значение для селекции и семеноводства // Проблемы апомиксиса и отдаленной гибридизации / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1987. С. 4–28.

Петров Д.Ф., Белоусова Н.И., Фокина Е.С. О передаче кукурузе способности к регулярному апомиктическому размножению // Проблемы апомиксиса и отдаленной гибридизации / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1987. С. 29–41.

Петров Д.Ф. Апомиксис в природе и опыте / Отв. ред. Б.Ф. Юдин. Новосибирск: Наука, 1988. С. 202–214.

Авторские свидетельства

Петров Д.Ф., Шилова М.А., Оробинский И.И. Авторское свидетельство «Штамм *Azobacter suits*, нуждающийся в гомосерине и выделяющий в питательную среду лизин». № 825270/00-15, 1963.

Д.Ф. Петров – ответственный редактор

Апомиксис и некоторые новые методы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Изд-во СО АН СССР, 1963. 148 с.

Цитология и селекция культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Ред.-издат. отдел СО АН СССР, 1964. 123 с. [Тр. Центрального Сибирского ботанического сада СО АН СССР. Вып. 2].

Селекция микробов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Биологический институт СО АН СССР, 1965. 136 с.

Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1967. 216 с.

Гриценко И.Н. Микрофлора мелких млекопитающих Западной Сибири / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Биологический институт СО АН СССР, 1971. 214 с.

Селекция и генетика микробов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1971. 147 с.

Цитология и генетика культурных растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1972. 271 с.

Проблемы апомиксиса у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск, 1973. 140 с.

Апомиктическое размножение и гетерозис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1974. 252 с.

Генетика и селекция микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1975. 150 с. [Тр. Биологического ин-та СО АН СССР. Вып. 25].

Апомиксис и его значение для эволюции и селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. 250 с. [Тр. Биологического ин-та СО АН СССР. Вып. 30].

Апомиксис и его использование в селекции / Ред. Д.Ф. Петров. М.: Колос, 1976. 156 с.

Микробиологические исследования в Западной Сибири / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1976. 144 с.

Цитогенетические основы селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1977. 247 с.

Апомиксис у растений и животных / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1978. 255 с. [Тр. Биологического ин-та СО АН СССР. Вып. 35].

Генетические основы селекции микроорганизмов / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1979. 160 с. [Тр. Биологического ин-та. Вып. 39]

Индуцированный мутагенез и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1980. 255 с. [Тр. Биологического ин-та СО АН СССР. Вып. 45].

Генетические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. 254 с.

Отдаленная гибридизация и апомиксис / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1982. 169 с.

Генетические основы апомиксиса в селекции растений / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1984. 179 с.

Теоретические основы селекции / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1985. 199 с.

Проблемы апомиксиса и отдаленной гибридизации / Отв. ред. Д.Ф. Петров. Новосибирск: Наука, 1987. 214 с.

Публикации о Д.Ф. Петрове

Петров Дмитрий Федорович // Наука в Сибири. 1987 (28 мая). № 21. С. 8.

Памяти Д.Ф. Петрова // Информ. вестник ВОГиС. 1999. № 9. С. 25.

Цильке Р.Г. МЖСК. Автобиографическое повествование. Новосибирск: Печатное издательство «Агро-Сибирь», 2005. 444 с. (С. 152, 153, 159, 156).

И.К. Захаров,
Учреждение Российской академии наук
Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск

ПУТЬ ТВОРЧЕСКИЙ ТЕРНИСТ (К 120-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА ЕВГЕНИИ НИКОЛАЕВНЫ СИНСКОЙ)

А.А. Филатенко

Санкт-Петербург, Россия, e-mail: afilat2003@mail.ru

В России в конце XIX столетия на свет появилось поразительно большое количество особо одаренных детей, составивших в следующем, XX в., в прямом значении этого слова научную элиту во всех имеющихся научных дисциплинах и совершенно новых ответвлениях наук.

Среди выдающихся отечественных биологов XX столетия занимает почетное место имя Евгении Николаевны Синской. Она известный эволюционист и систематик, генетик и селекционер, эколог и географ, крупный специалист по культурным растениям. Труды Евгении Николаевны хорошо известны в ботаническом мире, из них многие до сих пор не потеряли своего значения.

Евгения Николаевна Синская родилась 12(24) ноября 1889 г. в городе Великие Луки Псковской губернии в семье учителя. В Великих Луках закончила семь классов гимназии. В Москве завершила дополнительный, восьмой, класс женской гимназии. Мечтала о поступлении в университет, упорно готовилась к экзаменам на аттестат зрелости и успешно сдала их экстерном в Смоленской мужской гимназии (женская гимназия не давала такого документа). Но в 1909 г. прием женщин в университеты, разрешенный на некоторое время, был прекращен.

Евгения Николаевна становится вольнослушательницей Московского сельскохозяйственного института (МСХИ). В действительности это было нелегальное обучение, поощряемое такими поборниками женского образования, как А.Ф. Фортунатов, В.Р. Вильямс и другими прогрессивными профессорами. Женщин в институт официально не принимали. Трудное время учебы с перерывами, так как приходилось зарабатывать себе на жизнь, продолжалось 9 лет. Она работала в различных учреждениях (на Безенчукской (в 1910 г.) и Новозыбковской (1915–1916 гг.) опытных станциях, на опытном поле МСХИ, в Отделе земельных улучшений Туркестана (1917 г.)) и участвовала в ботанических экспедициях в Среднюю Азию, Полесье и другие районы страны. Евгения Николаевна в 1909–1917 гг. принимала активное участие в общественной жизни МСХИ, работая в Комиссии по организации студенческой практики при институте. 1916-й год она считала началом

Е.Н. Синская – вольнослушательница МСХИ. 1910 г.

самостоятельной научной деятельности. В этом году ею было организовано геоботаническое обследование Новозыбковской опытной станции и прилегающей к ней территории. По итогам в 1916 г. была написана ее первая научная работа, к сожалению, оставшаяся в рукописи.

Несмотря на необеспеченную жизнь и частые болезни, Е.Н. Синская успешно прошла полный курс обучения (дипломную работу по пойменным лугам Саратовской губернии выполнила под руководством А.Г. Дояренко) и осенью 1917 г. окончила институт, сдав государственные экзамены экстерном (диплом ученого агронома 1-го разряда получен ею в 1918 г.).

После окончания института Евгения Николаевна хотела поступить на курсы по подготовке специалистов по луговодству, но не смогла этого сделать, поскольку женщин не допускали и туда. Все же ей удалось нелегально прослушать курсы, что оказалось немаловажным. Целый год с марта 1918 г. ее заработки были случайными, и только в марте 1919 г. Е.Н. Синская была востребована как специалист по луговодству земельным отделом Саратовского губернского управления. Она обследует волжские луга, организует опытный опорный пункт по их улучшению. С 1920 г. одновременно работает на кафедре частного земледелия и селекции агрономического факультета Саратовского университета и в Саратовском отделении Отдела прикладной ботаники и селекции Сельскохозяйственного ученого комитета Наркомзема РСФСР. Здесь она самостоятельно провела агроботаническое исследование представителей семейства крестоцветных. Студенты и сотрудники этих учреждений воспринимали Е.Н. Синскую как уже сложившегося научного работника (Хинчук, 1987).

В 1921 г. заведующим Отделом прикладной ботаники и селекции Сельскохозяйственного ученого комитета Наркомзема РСФСР был избран Н.И. Вавилов. По его приглашению Евгения Николаевна в 1921 г. также перешла на работу в этот отдел, на базе которого затем был организован Всесоюзный институт прикладной ботаники и новых культур (1924), преобразованный в 1930 г. во Всесоюзный институт растениеводства (ВИР).

Е.Н. Синская проработала в этом учреждении более 40 лет, до самой смерти. Огромная и разносторонняя эрудиция, глубина научных знаний и выдающие организаторские способности Евгении Николаевны в интересах дела широко использовались Н.И. Вавиловым. Он поручал ей создание секций и отделов, разработку для них планов научно-исследовательской работы, методики экспериментов, подбор и подготовку научных кадров, налаживание работы в новом направлении. Она всегда с честью справлялась с поставленными задачами. Е.Н. Синская была организатором и руководителем отделов крестоцветных (1921), масличных, прядильных культур, корнеплодов (1925), лаборатории экологии культурных растений (1931), кормовых культур (1934), многие годы являлась консультантом лаборатории, а затем отдела овощных растений. С 1936 по 1940 гг. осуществляла научное руководство Майкопской опытной станцией ВИР, в организации которой (как и Кубанской опытной станции) принимала активное участие.

Деятельность Евгении Николаевны была многогранной. Ее работа теснейшим образом связана с основными концепциями Н.И. Вавилова. Вместе с тем ее научные изыскания носят новаторский характер. Евгения Николаевна работала на самом переднем крае науки. При планировании научных работ Евгения Николаевна всегда исходила, как рассказывают ее ученики, из глубоко верной мысли: «Научное исследование должно начинаться там, где кончаются наши знания».

Деятельность Е.Н. Синской была тесно связана с созданием и изучением мировой коллекции ВИР. Она организовала значительное число экспедиций и сама принимала участие в них. В 1924 г. она обследовала Алтай, ресурсы возделываемых растений которого в то время были еще не изучены. Оттуда в ВИР было доставлено большое разнообразие образцов пшеницы, зернобобовых, масличных и прядильных культур.

Из экспедиции по Японии (1928–1929 гг.) Евгения Николаевна привезла много образцов крестоцветных культур, пополнила коллекции зерновых (пшеницы, ячменя, овса, кукурузы, риса, сорго), зернобобовых (особенно сои), технических (конопли, рами), бахчевых (арбуза, дыни и тыквы) культур. Японские мандарины, привезенные Евгенией Николаевной, послу-

Хибины. 1925 г.

Е. Н. Синская (крайняя слева) с сотрудницами (крайняя справа М.А. Веселовская).

жили материалом для выведения в Сухуми холодостойких сортов этой культуры. Собранная в Японии коллекция хурмы была высажена в Закаталах (Азербайджан), а черенки груши использовались для прививок на Майкопской опытной станции ВИР. Сразу по возвращении Е.Н. Синская публикует обозрения культурных растений Японии с указанием перспектив их использования в селекции и растениеводстве СССР (Синская, 1930).

С 1929 по 1964 гг. почти ежегодно Евгения Николаевна проводила экспедиции по Кавказу, ею были обследованы советский Дальний Восток, Поволжье, Полесье, Северо-Запад РСФСР и другие районы европейской части СССР. Эти экспедиции, помимо сборов семян и гербария, дали много ценных сведений о полезных растениях, пригодных для использования в сельском хозяйстве страны.

Многочисленные экспедиции Евгении Николаевны в предгорьях Кавказа послужили основанием публикаций таких теоретических работ, как «Основные черты эволюции лесной растительности Кавказа в связи с историей видов» (Синская, 1933), «Распределение диких плодовых и ягодных растений по основным вертикальным растительным поясам Кавказа» (Синская, 1934).

Исследования закономерностей распространения естественных популяций многолетних кормовых трав на Кавказе легли в основу публикаций: «К познанию видов в их динамике и взаимоотношениях с растительным покровом» (Синская, 1931), «Видообразование у люцерны и других растений» (Синская, 1935), «Дикая люцерна в Северной Осетии и прилегающих районах Грузии» (Синская, 1939) и др.

Значительна роль Евгении Николаевны в создании обширной коллекции кормовых растений, являющейся исходным материалом для селекции. Будучи крупнейшим специалистом по кормовым растениям, она на протяжении всего периода работы в ВИР занималась созданием этой коллекции. Поэтому А.И. Сметанникова (1972) не без основания говорит о том, что огромная вировская коллекция кормовых растений была создана в основном усилиями Е.Н. Синской. Большой вклад внесла Е.Н. Синская в развитие селекционной работы с кормовыми культурами в Советском Союзе. Изучение

Детское село, 1927 г.

сотен коллекционных образцов многолетних трав по единой методике в организованных по ее инициативе зональных питомниках дало богатые материалы для экологической классификации видов, разработки первых проектов районирования кормовых культур и выявления ценных местных дикорастущих популяций, пригодных для селекции и непосредственного внедрения в культуру (Синская, 1935а, б, 1937, 1957, 1960; Синская, Шебалина, 1936 и др.).

Под руководством Е.Н. Синской в ВИР в 1935 г. было проведено первое Всесоюзное совещание по селекции и семеноводству кормовых растений. В начале 1950-х гг. Е.Н. Синская (1957) предприняла ряд обследований деятельности опытных учреждений Юга СССР.

Важным направлением в научной работе Е.Н. Синской была систематика культурных растений и их дикорастущих родичей. «Систематика в работах ВИР – не самоцель, а средство для освоения природных растительных богатств», – подчеркивала она. В 1928 г. выходит ее крупная монография «Масличные и корнеплодные семейства Cruciferae» (Синская, 1928), в которой впервые были описаны их азиатские формы. Экспериментальные данные позволили Евгении Николаевне разработать систематику этих культур, ставшую на долгие годы основой для других исследований. Да и сама она по мере накопления новых данных вносила изменения в свои классификации (Синская, 1960).

В послевоенные годы Евгения Николаевна возглавляла Комиссию по ботанической номенклатуре и изданию многотомного труда «Культурная флора СССР». На протяжении 20 лет (1945–1965 гг.) Евгения Николаевна руководила, по существу, всеми фитотаксономическими разработками сотрудников ВИР. Она обобщила итоги этих исследований, проведенных вировцами, в работе «Исторический обзор работ ВИР по систематике», опубликованной посмертно (Синская, 1968).

Предметом пристального внимания Евгении Николаевны были многие бобовые растения, в особенности род *Medicago* L., к которому относится ценная кормовая культура люцерна посевная. Первый послевоенный выпуск «Культурной флоры СССР. Т. 13. Многолетние бобовые травы», вышедший в 1950 г. под редакцией Е.Н. Синской, написан по другой программе,

Е. Синская. Омск. 1935 г.

«Систематика в работах ВИРа не самоцель, а средство для освоения природных растительных богатств».

чем все довоенные. Этот труд явился в серии «Культурная флора СССР» первым опытом коллективной монографии. Разделы по люцерне в целом и пажитнику принадлежат перу самой Е.Н. Синской (1950а, б) (за исключением раздела по люцерне желтой, обработанного Б.И. Сечкаревым). Помимо «инвентаризации» таксонов культурной флоры многолетних бобовых, Евгения Николаевна приводит обширные сведения по их биологии развития, физиологии, экологии, устойчивости к заболеваниям и вредителям, по важнейшим характеристикам и перспективам для использования в селекции. Ею описаны новые виды и пересмотрено таксономическое положение многих известных ранее. В работе принимали участие специалисты разного профиля: М.И. Смирнова-Иконникова (химический состав), А.И. Сметанникова (анатомические данные), М.С. Щенкова (вегетативное размножение), И.Ф. Макаров (посевные площади), П.А. Лубенец и Н.Я. Плотников (сортовые сведения), И.Н. Шабалин (материалы по генетике и физиологии). Раздел по доннику написан В.В. Суворовым также с привлечением многих специалистов.

Евгения Николаевна прекрасно ориентировалась в разнообразии культур, сосредоточенных в коллекциях института, и всегда могла дать ценный совет при классификации того или иного материала. Будучи в 1945–1952 гг. руководителем Отдела физиологии Всесоюзного научно-исследовательского института масличных культур (ВНИИМК, Краснодар), она проводила исследования по биологии развития и физиологии льна. Всестороннее изучение этой культуры позволило Евгении Николаевне предложить новую классификацию льна с указанием ценности каждой формы как исходного материала для селекции. Спустя многие годы Е.Н. Синская по-прежнему соответствовала отзыву о ней Н.И. Вавилова (1979) как о широко эрудированном специалисте, работа которого отличается оригинальностью, смелой постановкой опыта и исключительным знанием предмета. «Е.Н. Синская является инициатором внедрения экологического метода в селекцию... Мы считаем Е.Н. Синскую одним из наиболее талантливых, выдающихся растениеводов Советского Союза» (Вавилов, 1979. С. 7).

Чрезвычайно интересна работа Е.Н. Синской «Происхождение пшеницы» (1955), в которой ей удалось показать всю сложность и разнообразие филогенетических взаимоотношений в роде *Triticum* L. Она предлагает классификацию рода, построенную на основании обобщения огромного материала по филогенезу пшеницы. Прежде всего, она всесторонне проанализировала, какие роды наиболее близки к роду *Triticum* и имеют отношение к его происхождению. В работе детально рассмотрены морфологические особенности современных видов пшеницы, сходство и различие между ними, а также с археологическими находками пшеницы из Закавказья, Средней Европы, Северной Африки. Сравнительное описание примитивных интегральных видов пшеницы с выявлением элементов, характерных для других видов, позволило сделать вывод, что древний полиморфный ископаемый вид, формы которого напоминали многие современные виды и вместе с тем не могли быть отнесены ни к одному из них, был широко распространен в Передней Азии и Африке. По мнению Евгении Николаевны, к этому виду близка эфиопская пшеница

Triticum aethiopicum Jakubz., сохранившая черты древнего, исчезнувшего, некогда широко распространенного типа *T. protoaethiopicum* Sinsk. Большие разногласия между учеными при идентификации ископаемых остатков вызвала пшеница из раскопок Древнего Египта, определяемая как *T. vulgare antiquorum* или *T. durum* (Percival, 1921, 1926), у которой имелись намеки на тургидоидные формы твердой пшеницы. Евгения Николаевна считает, что здесь был распространен ближайший предок современной *T. aethiopicum*, также одновременно носящий черты видов мягкой, твердой и тургидной пшеницы. Это утверждение подкреплено современными находками в Египте и Омане эфиопской пшеницы (Филатенко и др., 2008), считавшейся ранее эндемом Эфиопии. Н.И. Вавилов располагал небольшим по объему материалом пшениц из Египта, который рассматривал как связующее звено между *T. durum* subsp. *abyssinicum* Vav., т. е. между формами *T. aethiopicum* subsp. *vavilovianum* Jakubz. et A. Filat., похожими на твердые пшеницы и современными типичными твердыми пшеницами *T. durum* (*T. durum* subsp. *expansum* Vav.).

Обобщения Евгении Николаевны представляют собой богатый материал для размышления над происхождением этой важнейшей культуры. Безусловно, она была знакома с последними разработками классификации пшениц Н.И. Вавилова. В 1964 г. вышла книга Н.И. Вавилова «Мировые ресурсы хлебных злаков, зерновых бобовых, льна и их использование в селекции. Пшеница» (Вавилов, 1964). Евгения Николаевна по поводу выхода этой книги пишет Г.С. Воскресенской в Краснодар: «На днях Нина [Васильевна] Шарапова высылает тебе новую книгу «Пшеницы» Н.И. Вавилова. Я в ее издании участия не принимала, и просмотр ее вызвал у меня глубочайшую грусть. Это не самый лучший и не последний черновик, а их было у Н.И. несколько. Тот, который сохранился, очень сыр; это грустно. И здесь он совсем не дает классификацию, которая была им почти подготовлена, а временно обозначает таксоны существовавшими уже названиями. И за него испытала острую грусть, и за себя» [1].

В 1920–1930-х гг. Н.И. Вавилов и Е.Н. Синская проводили обширные комплексные исследования по дифференциальной систематике растений, результаты которых послужили основой для разработки ими концепции линнеевского вида. Интересно, что основные контуры этой концепции были сформулированы и опубликованы одновременно Н.И. Вавиловым в работе «Линнеевский вид как система» (Вавилов, 1931) и Е.Н. Синской в работе «К познанию видов в их динамике и взаимоотношениях с растительным покровом» (Синская, 1931). Сердцевиной этой концепции служит принцип системности, в свете которого любой объект рассматривается как внутренне дифференцированное образование, состоящее из определенного набора компонентов. Вместе с тем их концепции вида нетождественны, ибо концепция Н.И. Вавилова носит преимущественно генетико-географический характер, в то время как Е.Н. Синской – эволюционно-экологический. Однако оба представления не исключают, а дополняют друг друга. Эти исследования Е.Н. Синская развивала до конца жизни.

Двигаться дальше по намеченному Н.И. Вавиловым пути, дорабатывать то, что он сделать не успел, – это Евгения Николаевна считала долгом каждого вировца и прежде всего своим. Евгения Николаевна всегда заботилась о памяти Н.И. Вавилова, это означало – делать все для развития его трудов.

Выступая с докладом на торжественном заседании по случаю 75-летия со дня рождения Н.И. Вавилова, она привела веские доказательства того, что его идеи развиваются и имеются определенные направления, в которых эти идеи нужно развивать. Она предостерегла от опасности возможного возведения в догму отдельных его положений: «Будем стараться мыслить так, как мыслил бы Н.И. Вавилов сегодня».

Экспериментальные данные, полученные на Майкопской опытной станции, и наблюдения в природе широко использованы Е.Н. Синской в завершающем первый этап ее деятельности капитальном труде «Динамика вида» (Синская, 1948). В этой монографии содержится большой фактический материал по экологической структуре растительных видов. Значительный интерес представляет и посмертно опубликованная незаконченная работа «Вид и его структурные части на различных уровнях органического мира» (Синская, 1979), в которой на примере

[1] Письмо от 24.04.1964 г.

цветковых растений выявлен ряд общих закономерностей в видообразовательных процессах и показано их многообразие. Ею обосновано представление об экотипе как системе, обладающей генетически детерминированной морфофизиологической конституцией, разработана классификация экотипов, изучены закономерности их формирования и эволюции. Особого внимания заслуживает то, что она сумела на люцерне убедительно показать возможность образования из экотипов новых видов. Это дало ей возможность рассматривать экотипы в качестве «зародышей новых видов».

Изучение состава местных популяций люцерны и эспарцета послужило основанием выделения новой таксономической единицы в экологической классификации – экоэлемента, отражающего начальный этап формирования экотипа, группового обособления наиболее приспособленных форм в популяциях.

Главный итог ее популяционно-экологических исследований – создание концепции структуры фитопопуляций, согласно которой в большинстве случаев в их составе существуют более или менее сформированные приспособительные группы – экоэлементы, различающиеся по комплексу экологически значимых и скоррелированных признаков. Благодаря экоэлементной структуре резко возрастает надежность существования популяций в постоянно меняющихся условиях среды. Вместе с тем экоэлементы могут вычленяться из состава популяций, выходя на самостоятельную эволюционную арену, в результате чего из этих «первичных формообразовательных узлов» могут формироваться новые виды.

Крупнейшим теоретическим достижением Е.Н. Синской является открытие «закона спиральных рядов», позволяющего объяснить последовательный ход эволюционного движения при формировании новых групп растений различных таксономических рангов. По этому закону ход последовательных изменений состава популяций при формировании экоэлементов, экотипов, подвидов, видов и надвидовых таксонов выражается системой спирально заходящих рядов (Синская, 1938, 1939а, б). В рядах одни варианты признаков, их комплексов и целые конституции элиминируются, другие постепенно преобразуются в направлении изменения условий существования таким образом, что аналогичные варианты в разных рядах изменчивости не вполне тождественны и отображают собой последовательные стадии работы отбора, равно как и ступени эволюционного движения. Позже Синская писала, что «вопрос о проявлении в филогенезе высших растений закона “эволюции по спирали” находится в самой начальной фазе разработки и лишь постепенно, трудами многих исследований возможно будет осветить с этой точки зрения все конкретное богатство путей эволюции в ее крупных и в ее мелких разветвлениях, и в ряде слепых ее ветвей, и в тех ответвлениях, которые имеют долгий путь развития» (Синская, 1948. С. 502).

Проблему популяций у высших растений Е.Н. Синская ставит во главу угла своих исследований в 1939 г. В этом году вышла ее работа «Проблема популяций у высших растений», в которой вид анализируется экспериментально как системный комплекс сформированных в природе популяций (Синская, 1939б). «Именно конкретная популяция является ареной процессов, созидающих экотип и вид, здесь, так сказать, бьется пульс жизни вида – только отсюда можно проследить истоки зарождения и развития вида» (Синская, 1961). Учение о популяциях Е.Н. Синской основывается на синтезе данных генетики, экологии, сравнительной физиологии и систематики.

Ее теоретические исследования в послевоенный период были сосредоточены на изучении закономерностей изменчивости растений. Особое внимание она уделяла разработке методики изучения состава растительных популяций, используя «разлагающие фоны посевов, на которых могли лучше проявляться скрытые особенности отдельных растений». Для этого посевы проводились в разных географических пунктах и в различных вертикальных зональностях, а также в необычные сроки с применением разных температурных режимов и фотопериодов, густоты стояния и т. д. Е.Н. Синская (1963) предусматривала изучение популяций в широком географическом разрезе с организацией стационаров на нескольких стабильных географических фонах, в определенном направлении смены комплекса СЭВ (климатические, эдафические и биотические факторы среды). К сожалению, это до сих пор не реализовано.

Заслуживает пристального внимания не нашедшее до сего времени развитие представлений Е.Н. Синской о радикале вида, подвида, экотипа, популяции, определяющемся, как правило, не одним признаком, а значительным их числом. Каждый признак или свойство оказывает влияние на весь радикал, а их изменчивость влияет на ее стабильность. От характера радикала, его стабильности зависит, по какому типу образуются гомологические ряды наследственной изменчивости.

В работах Е.Н. Синской широкое отражение нашли вопросы, связанные с закономерностями наследственной изменчивости растений. Анализируя встречающиеся в практике систематиков и исследователей популяций типы параллелизма рядов наследственной изменчивости, Е.Н. Синская (1963) впервые выделяет 11 их типов.

Особую категорию рядовой изменчивости, по Е.Н. Синской (1963), составляют количественные признаки, обусловливающие квантированность в процессах усиления или ослабления выраженности признака и свойства.

В последние годы жизни Е.Н. Синская ставила задачу изучения физиологических особенностей компонентов, выделенных из популяций. Проблемам популяций высших растений посвящено три специальных выпуска трудов ВИР, вышедших в 1961, 1963, 1964 гг. В них излагаются исследования Е.Н. Синской («О категориях и закономерностях изменчивости в популяциях высших растений» (Синская, 1963), «Об уровнях группового приспособления в растительных популяциях» (Синская, 1961) и др.), ее последователей и учеников (В.А. Борковская, Ф.М. Воробьева, С.Д. Киселева (1964), Л.В. Леокене (1964) и др.).

Т.С. Фадеева, выступая на Ученом совете ВИР 25 ноября 1989 г., посвященном 100-летию со дня рождения Е.Н. Синской, подчеркнула, что разработки Евгении Николаевны значительно обогатили методы генетического анализа. В 1950-е гг. Евгения Николаевна помогала кафедре генетики ЛГУ в методическом плане. Ее доклады на биологическом факультете ЛГУ по теории популяций собирали большие аудитории.

Труды Е.Н. Синской оказали большое влияние на развитие ряда ботанических дисциплин, на совершенствование методов селекции растений как в Советском Союзе, так и за рубежом. И.М. Молчан (1990) считает, что важнейшей особенностью современной селекции является замена организмоцентристского подхода популяционным, полагая, что этому селекционеры в значительной степени обязаны Е.Н. Синской.

Японский профессор С. Синохара в своем докладе на торжественном заседании по случаю 100-летия со дня рождения Н.И. Вавилова отмечал: «... я сейчас считаю себя учеником школы Вавилова и Синской. Благодаря их влиянию я смог вырасти до признанного специалиста по экологии сельскохозяйственных культур и сделать вклад в развитие мирового овощеводства. Всегда чувствую сердечную благодарность к этим великим ученым» (Синохара, 1991. С. 10–17).

В творчестве Е.Н. Синской не было оставлено без внимания и еще одно заданное Н.И. Вавиловым направление. Среди капитальных трудов Е.Н. Синской по широте и разнородности охваченного материала (археология, ботаника, растениеводство) особое место занимает посмертно опубликованная монография «Историческая география культурной флоры. (На заре земледелия)» (Синская, 1969).

Она продолжила работы Н.И. Вавилова по уточнению границ центров (очагов) происхождения культурных растений, выявлению исторических связей между ними и провела сравнительный анализ культурных флор очагов. Впервые с результатами своей работы в этом направлении Синская ознакомила широкую научную общественность на научной сессии в Географическом обществе СССР (г. Ленинград) в ноябре 1962 г., посвященной 75-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова, сделав доклад «Развитие идей Н.И. Вавилова о центрах происхождения культурных растений». В материалах сессии, опубликованных в 1966 г., ее доклад вышел под названием «Учение Н.И. Вавилова об историко-географических очагах развития культурной флоры». Она стремилась показать необходимость продолжения исследований Н.И. Вавилова в области географии культурных растений. «К счастью, – свидетельствует Е.Н., – Николай Иванович, помимо официальных трудов, делился своими мыслями, беседовал, выступал с докладами, где высказывал свои взгляды, свои предпо-

ложения, и это облегчало задачу продолжить исследования Николая Ивановича, по мере возможности развить его идеи и распространить их на культурную флору всего мира» (Синская, 1966. С. 23). Первый вариант ее книги «На заре земледелия» был готов в 1950 г. Рукопись была прочитана членом-корреспондентом АН СССР П.А. Барановым, профессорами С.И. Руденко, А. Кожиным, А.И. Купцовым и Н.А. Базилевской. От них были получены положительные рецензии и пожелания скорейшего издания книги. Экземпляр рукописи, переданный П.М. Жуковскому, в то время директору ВИР, остался без отзыва. Книга была принята к печати «Географиздатом». Однако издательство вскоре было закрыто и не смогло довести труд до выхода в свет и возвратило рукопись автору. Позже Евгения Николаевна неоднократно безуспешно обращалась в издательство «Колос». Рукопись, не единожды утвержденная к печати, не раз покидала портфель редакции. Евгения Николаевна работу над этой книгой не прекращала до конца своих дней, вовлекая все новые ботанические и археологические данные. Эта детективная история продолжалась и после ее смерти. В.В. Суворов на заседании Президиума ВАСХНИЛ (17 марта 1965 г.) обратился к президенту, академику П.П. Лобанову с просьбой помочь издать труд Е.Н. Синской. Президент был согласен с доводами В.В. Суворова и уже по его просьбе книга была включена в план выпуска издательства «Колос» на 1966 г. Получены новые рецензии, казалось бы, все формальности по изданию книги Евгении Николаевны закончены положительно. Но неожиданно 13 ноября 1965 г. издательство возвратило рукопись В.В. Суворову. Причиной оказалась отрицательная рецензия от 12 октября 1965 г., с которой редакция долго отказывалась знакомить, наконец, выдала ее. В ВИР была создана комиссия по рассмотрению вопросов, связанных с подготовкой рукописи книги покойной заведующей отделом Гербария ВИР, доктора биологических и сельскохозяйственных наук, профессора Е.Н. Синской «Историческая география культурной флоры (На заре земледелия)». Комиссия подтвердила высокую оценку законченного капитального научного труда Евгении Николаевны, которую ранее высказали официальные рецензенты, и дала заключение о необходимости вновь включить ее в план издания. Комиссия не обошла молчанием и рецензию «инкогнито». Эта рецензия, написанная на двух машинописных страницах, не содержала принципиальных замечаний, а частные замечания были необоснованными. Не отрицая научной ценности работы, «инкогнито» предлагал ее целостный законченный труд разделить на части и печатать их раздельно.

Данный труд является продолжением работ Н.И. Вавилова по происхождению культурных растений. Н.И. Вавилов постоянно работал над своей теорией центров, совершенствуя ее. Он использовал наряду с термином «центр» понятие «область происхождения». Е.Н. Синская в своей книге выносит термин «область происхождения» на передний план, связывая центры введения в культуру большинства возделываемых растений с флористическими областями. Она подтвердила целесообразность замены терминов «очаг» и «центр» происхождения культурных растений более широким понятием «историко-географическая область», или «географическая область исторического развития культурной флоры» (Н.И. Вавилов в 1935 г. дал еще такое понятие, как «область введения в культуру различных растений») (Вавилов, 1935).

Н.И. Вавилов обращал внимание, прежде всего, на видовой состав центра происхождения отдельных культурных растений, на ботаническое изучение сортового разнообразия отдельных линнеевских видов. Е.Н. Синская провела тщательный анализ состава культурных флор различных географических областей, дополнила и конкретизировала критерий оценки центров происхождения. Своим долгом Евгения Николаевна также считала уточнение границ центров происхождения культурных растений, выявление исторических связей между ними и сравнение агрофлор. Кроме того, Е.Н. Синской выделена Африканская область происхождения культурной флоры, которая во времена Н.И. Вавилова была еще очень слабо изучена.

Как-то Е.Н. Синская и Н.И. Вавилов в шутку договорились, что оставшийся в живых напишет об ушедшем некролог (шутка была горькой и, видимо, вызывалась обстоятельствами смутного времени). Евгения Николаевна сдержала слово, хотя ей было трудно приступить к записям. Говорила, что не любит оглядываться

назад. Она неохотно поддавалась на попытки склонить ее к написанию, особенно сильные со стороны самых близких ее друзей и учениц – Г.С. Воскресенской и Л.В. Сазановой. Ученики и друзья «наводили» Евгению Николаевну на рассказы о себе и о Николае Ивановиче. Но постепенно у нее зрел план написания воспоминаний о Н.И. Вавилове и его деятельности в ВИР. В октябре 1958 г. Евгения Николаевна начала диктовать воспоминания Г.С. Воскресенской и диктовала периодически до 1962 г. Нам с Г.С. Воскресенской и М.Ф. Знаменской приходилось не только записывать, но и переписывать записи, которые затем подвергались авторской переработке.

В «Воспоминаниях о Н.И. Вавилове» (Синская, 1991) со свойственными ей объективностью и масштабностью она нарисовала творческий портрет Н.И. Вавилова. Евгения Николаевна знала Вавилова со студенческих лет и была одним из его ближайших соратников на протяжении всей его научной деятельности. Глубокая дружба между Николаем Ивановичем и Евгенией Николаевной основывалась, видимо, на сходстве в складе ума и характера этих столь одаренных людей. В воспоминаниях ярко передана атмосфера студенческих лет. В саратовский период вокруг Н.И. Вавилова кипела научная жизнь на фоне более чем скромных условий жизни. Житейские неполадки с лихвой искупались хорошим настроением. Здесь, в Саратове, Н.И. Вавиловым были достигнуты первые значительные успехи в науке, здесь он формирует довольно многочисленную группу единомышленников, составивших будущее ядро мощного коллектива ВИР. Евгения Николаевна знакомит читателя и с сотрудниками «старого» регелевского Бюро по прикладной ботанике. Николаю Ивановичу нужно было приложить много усилий, чтобы их творческий потенциал использовать в русле задач нового учреждения, тематика которого расширялась и углублялась, росло число станций, опорных пунктов, увеличивался штат. Е.Н. Синская сумела показать, как Н.И. Вавилову удалось создать и сплотить большой творческий коллектив, который с энтузиазмом собирал, изучал, хранил коллекцию мировых растительных ресурсов, решал задачи повышения урожайности сельскохозяйственных культур и освоения новых земель.

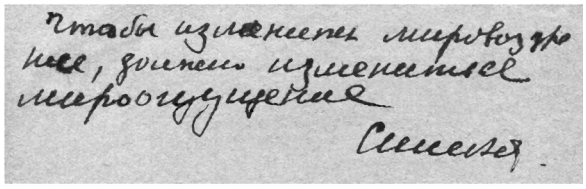
Но пришло время, когда за подлинную науку нужно было бороться. Сильное впечатление оставляет описание Е.Н. Синской сложной обстановки в трагический период жизни Н.И. Вавилова и коллектива Всесоюзного института растениеводства да и страны в целом. Казалось бы, наука и здравый смысл должны быть сильнее невежества, но невежество оказалось сильней.

При жизни Вавилова Евгения Николаевна отказалась от работы в управлении заповедниками СССР, от руководства БИНом. Она не хотела оставлять Николая Ивановича в трудной для него обстановке. Позднее отказалась от директорства в ВИР (лысенковском).

Обаятельный и притягательный портрет Н.И. Вавилова, созданный Е.Н. Синской, можно рассматривать как воздвигнутый ею духовный памятник замечательному человеку, ученому, другу. Евгения Николаевна выражает уверенность, что «идеи Н.И. Вавилова и его дело не умрут». Далее грустно замечает: «Пустое место и до сих пор заметно в биологической науке, – к сожалению, крупные таланты появляются не так часто».

Помимо изданных «Воспоминаний о Н.И. Вавилове», отнесенных к серии научно-популярных изданий, оставались в рукописи автобиографические повести Евгении Николаевны. Из них в 2002–2003 гг. опубликованы очерки воспоминаний об экспедициях Евгении Николаевны в Голодную Степь (Туркестан) в 1917 г., на Алтай – в 1924 г. и в Японию – в 1928–1929 гг. В прошлом году опубликована автобиографическая повесть «Жизнь Веры» (Синская, 2009б), в которой ей удалось отразить исторический ход событий в России конца XIX–начала XX вв. в масштабе отдельных уездов Псковской, Саратовской губерний и г. Москвы. Повесть отражает реальные события и показывает исторически значимые лица, оказавшие большое влияние на развитие личности автора. Воспоминания оканчиваются 1921 г., в котором Н.И. Вавилов пригласил Евгению Николаевну в Петроград для работы в Отделе прикладной ботаники и селекции и начался ее вировский период жизни, нашедший отражение в «Воспоминаниях о Н.И. Вавилове».

В 1940 г. Н.И. Вавилов выдвигал кандидатуру Е.Н. Синской для избрания в члены-корреспонденты АН СССР. Но избрание Евгении



Закаталы, 1942 г.

На Закатальской станции ВНИИМКа Е.Н. Синская сразу взялась за работу. Постепенно ее примеру последовали другие сотрудники. В это тяжелое время Е.Н. Синская ведет напряженную духовную жизнь. Она записывает свои размышления на страницах старых журналов. Иной бумаги не было. После освобождения Краснодара продолжает работу в лаборатории физиологии.

Николаевны в год разгула реакции и ареста 6 августа 1940 г. самого Николая Ивановича не могло стать реальностью.

После ареста Николая Ивановича продолжался разгром института. Совещания сделались совершенно невыносимыми от царящей на них демагогии. Расформировывались некоторые отделы, в том числе и отдел кормовых культур. Одних специалистов увольняли под предлогом перевода на работу в «производстве», грубое обращение с другими вынуждало их уходить самим, некоторых, как это было с Н.Н. Ивановым, заведующим отделом биохимии, – в мир иной. В здании института уничтожали все, что напоминало о Н.И. Вавилове. Его замечательный портрет, написанный художником Н.Б. Стребловым в 1925 г., после ареста Николая Ивановича исчез из кабинета. Его обнаружила Мария Самуиловна Свердлина (кажется, она исполняла должность коменданта здания) под лестницей в несколько поврежденном виде. Она потихоньку передала портрет в надежные руки – Евгении Николаевне Синской. Е.Н. привела портрет в порядок и повесила в своей комнате в простенке между окон, прямо перед входом. В 1967 г. родственники Е.Н. Синской передали портрет в ВИР, в музей Н.И. Вавилова.

Е.Н. Синская под гнетом невозможной атмосферы уволилась из ВИР. Интересен эпизод, приведенный по рассказу Евгении Николаевны ее аспиранткой Л.В. Сазановой (1988) в воспоминаниях о Н.И. Вавилове. Летом 1940 г. Н.И. Вавилов издал приказ, которым отчислил от занимаемых должностей многих руководящих сотрудников с зачислением их в штат тех опытных станций ВИР, на которых они проводили летние исследовательские работы. Евгения Николаевна едва не заплакала, увидев себя в списках уволенных. Так же восприняли этот приказ и другие сотрудники. «Лишь несколько месяцев спустя мы поняли, что этим приказом Н.И. спас нам жизнь», – добавила Евгения Николаевна. Однако это случилось еще в 1937–1938 гг., Лидия Васильевна ошиблась в дате. Евгения Николаевна уволена по собственному желанию 13 января 1941 г. за месяц до ареста Г.Д. Карпеченко, Л.И. Говорова и за полгода до ареста Н.И. Вавилова, А.И. Мальцева, К.А. Фляксбергера, Г.А. Левитского.

Она продолжала читать лекции в ЛСХИ, будучи профессором кафедры ботаники, а с октября 1941 г. заведовала кафедрой селекции и семеноводства ЛСХИ. После эвакуации института в г. Барнаул в 1942 г. Евгения Николаевна эвакуируется из блокадного Ленинграда в Краснодар, где заведует лабораторией новых масличных культур во Всесоюзном научно-исследовательском институте масличных культур

(ВНИИМК). С присущей ей энергией и энтузиазмом Евгения Николаевна продолжила свою научную деятельность (с 1942 по 1947 гг. – заведующая отделом физиологии). В 1942 г. вместе с ВНИИМК была эвакуирована на Закатальскую опытную станцию (Азербайджан), где также руководила научной работой. В 1943 г. после освобождения города вернулась в Краснодар. Во ВНИИМК ею было подготовлено много аспирантов и научных сотрудников, со многими из них она не теряла связи до конца жизни.

Вскоре после окончания войны, в августе 1945 г., Евгения Николаевна снова была приглашена в ВИР, на протяжении 20 лет и до конца своих дней она активно там работала. С 1945 г. по совместительству заведовала Гербарием ВИР, с 1948 г. переведена на основную работу в той же должности; с 1957 г. – заведующая отделом кормовых культур, а в 1963–1965 гг. – руководитель отдела систематики и гербария культурных растений.

Своим главным долгом перед Н.И. Вавиловым она считала развитие его научных направлений, заботилась о его памяти, болезненно переживала тяжелые перипетии в жизни ВИР в послевоенные годы. Это нашло отражение в очерке Г.С. Воскресенской «Памяти Е.Н. Синской» (Воскресенская, 2009), построенном на основе их многолетней переписки с Евгенией Николаевной. В очерке нашла отражение истинная оценка Евгенией Николаевной Синской времени Т.Д. Лысенко и воздействия его теоретического направления на биологическую науку. Это естественное продолжение книги «Воспоминания о Н.И. Вавилове», продолжение истории детища Николая Ивановича – ВИР, оставшегося без своего создателя в совершенно изменившихся и труднопредсказуемых условиях.

Велика роль Евгении Николаевны в редактировании научных изданий. Она редактировала «Труды по прикладной ботанике, генетики и селекции» ВИР, а также труды ВНИИМК, участвовала в реализации идеи Н.И. Вавилова по созданию капитального труда коллектива ВИР «Культурная флора СССР», начавшего выходить в 1935 г. После Великой Отечественной войны

Ученый совет на полях Пушкинских лабораторий ВИР. 1949 г.

Справа налево: Е.Н. Синская, А.И Мордвинкина, И.Г. Эйхфельд, Т.В. Лизгунова, Г.Т. Селянинов, крайний слева Ф. Давитая.

Встреча ветеранов ВИР, 1955 г.

Слева направо: Н.Р. Иванов, М.М. Якубцинер, И.А. Сизов, М. М. Шалерт, Е.Н. Синская, Ф.С. Венцлавович, М. А. Шебалина, Е. В. Эллади, А.И. Мордвинкина, М.С. Букасов.

Евгения Николаевна возглавила это уникальное издание. Она была создателем и бессменным редактором «Трудов аспирантов и молодых научных сотрудников ВИР» в 1956–1965 гг. Под ее редакцией в свет вышли 10 томов этого издания.

Е.Н. Синская активно участвовала в творческой жизни всего института и выступала с многочисленными докладами на Всесоюзных съездах и конференциях. Она не только была крупным ученым, но и вела большую педагогическую деятельность. Ею подготовлены десятки аспирантов, которые стали видными учеными, многие из них были сотрудниками ВИР (З.Н. Жеребина, М.С. Щенкова, М.А. Шебалина, В.В. Суворов, А.И. Купцов, П.А. Лубенец, В.Т. Красочкин, М.А. Веселовская, Г.С. Воскресенская, В.А. Борковская, С.Д. Киселева и многие др.).

Как и Николай Иванович, Е.Н. Синская твердо держалась традиций прогрессивных ученых, своих учителей, кредо которых – «до гробовой доски всегда учиться и в понимании утех себе искать» (А.Ф. Фортунатов). Она всегда боролась за истину в науке и жизни. «Кровью сердца» писала она драматический этюд «Две правды» (Синская, 2009а), темой которого была психология человека в условиях коррумпированного общества (такая злободневная в наши дни!).

Научное наследие Евгении Николаевны Синской обладает большим потенциалом, овладеть и развить который могут недюжинные, пытливые, преданные биологической науке умы. А может быть, они уже народились в конце 20-го века? Но ждут ли их эрудированные наставники, готовые передать глубокие знания, каковыми были Н.И. Вавилов, Е.Н. Синская, другие вировцы-вавиловцы и их учителя?

Труды Евгении Николаевны характеризуются богатством фактурой информации и широтой теоретических обобщений. Они стимулировали проведение многих исследований в различных областях биологической и сельскохозяйственной науки.

Поскольку многие статьи Е.Н. Синской разбросаны по отдельным журналам и сборникам и не всегда доступны специалистам, Ботаниче-

ский сад Уральского отделения РАН переиздал ее основополагающие работы. Сборники избранных работ Е.Н. Синской выпущены под названием «Проблемы популяционной ботаники» (Синская, 2002, 2003).

Цитируемая литература

Вавилов Н.И. Линнеевский вид как система. М.; Л.: Сельхозгиз, 1931. 32 с.

Вавилов Н.И. Отзыв о докторе сельскохозяйственных и биологических наук Е.Н. Синской. Представление для избрания в чл.-кор. АН СССР, 1940 г. // Бюл. ВИР. 1979. Вып. 91. С. 6–7.

Воскресенская Г.С. Памяти Евгении Николаевны Синской // Памяти Евгении Николаевны Синской: Сб. к 120-летию со дня рождения. СПб: ООО «Корона Принт», 2009. С. 5–78.

Киселева С.Д. Изучение состава популяций *Vicia villosa* Roth, *Vicia pannonica* Crantz и некоторых других видов вики в связи с выявлением возможностей отбора на различных фонах выращивания // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1964. Т. 36. Вып. 2. С. 72–139.

Леокене Л.В. Географическая изменчивость состава популяции вики паннонской (*Vicia pannonica* Crantz) // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1964. Т. 36. Вып. 2. Проблемы популяций. С. 59–71.

Сазанова (Волошина) Л.И. Он видел далеко вперед // Степные просторы. 1988. № 9. С. 41–43.

Синохара С. Значение концепций Н.И. Вавилова и Е.Н. Синской для методологии селекции // Бюл. ВИР. 1991. Вып. 216. С. 10–18.

Синская Е.Н. Масличные и корнеплоды сем. Cruciferae // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1928. Т. 19. Вып. 3. 648 с.

Синская Е.Н. К познанию видов в их динамике и взаимоотношениях с растительным покровом // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1931. Т. 25. (1930–1931). Вып. 2. С. 1–97.

Синская Е.Н. Основные черты эволюции лесной растительности Кавказа в связи с историей видов // Ботан. журнал. СССР. 1933. Т. 18. № 5. С. 370–406; Т. 18. № 6. С. 487–515.

Синская Е.Н. Распределение диких плодовых и ягодных растений по основным вертикальным растительным поясам (зонам) Кавказа // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. Сер. 8. 1934. № 2. С. 3–33.

Синская Е.Н. Видообразование у люцерны и других растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1935. 124 с. Прилож. 73.

Синская Е.Н. Учение об экотипах в свете филогенеза высших растений // Усп. соврем. биологии. 1938. Т. 9. Вып. 1. С. 1–15.

Синская Е.Н. Дикая люцерна в Северной Осетии и прилегающих районах Грузии // Природа. 1939а. № 5. С. 85–86.

Синская Е.Н. Проблема популяций у высших растений // Усп. соврем. биологии. 1939б. Т. 10. Вып. 3. С. 446–470.

Синская Е.Н. Динамика вида. М.; Л.: Сельхозгиз, 1948. 527 с.

Синская Е.Н. Люцерна – *Medicago* L. // Культурная флора СССР. М.; Л., 1950а. Т. 13. Вып. 1. С. 7–107, 126–195, 208–217, 253–273, 339–344.

Синская Е.Н. Пажитник – *Trigonella* L. // Культурная флора СССР. М.; Л., 1950б. Т. 13. Вып. 1. С. 503–516.

Синская Е.Н. Однолетние кормовые культуры юга СССР. М.; Л.: Сельхозгиз, 1957. 285 с.

Синская Е.Н. К уточнению систематики и филогении кормовых, овощных и масличных растений сем. Cruciferae // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1960. Т. 33. Вып. 3. С. 233–250.

Синская Е.Н. Об уровнях группового приспособления в растительных популяциях // Проблема популяций у высших растений. Л., 1961. Вып. 1. С. 54–69.

Синская Е.Н. О категориях и закономерностях изменчивости в популяциях высших растений // Проблема популяций у высших растений. Л., 1963. Вып. 2. 124 с.

Синская Е.Н. Учение Н.И. Вавилова об историко-географических очагах развития культурной флоры // Вопросы географии культурных растений и Н.И. Вавилов. М.: Наука, 1966. С. 22–31.

Синская Е.Н. Исторический обзор работ ВИР по систематике // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1968. Т. 39. Вып. 2. С. 3–38.

Синская Е.Н. Вид и его структурные части на различных уровнях органического мира // Бюл. ВИР. 1979. Вып. 91. С. 7–24.

Синская Е.Н. Воспоминания о Н.И. Вавилове. Киев: Наук. думка, 1991. 208 с.

Синская Е.Н. Просто человек // Наука и жизнь. 2003. № 6. Литературное творчество ученых. С. 111–116.

Синская Е.Н. Две правды // Жизнь Веры. СПб: ООО «Корона Принт», 2009а. С. 264–280.

Синская Е.Н. Жизнь Веры. Автобиографическая повесть. СПб: ООО «Корона Принт», 2009б. 284 с.

Синская Е.Н., Шебалина М.А. Селекция кормовых культур. М.; Л.: Сельхозгиз, 1936. 190 с.

Сметанникова А.И. Жизнь и деятельность Евгении Николаевны Синской (25.XI.1889–4.III.1965) // Ботан. журнал. 1972. Т. 57. № 6. С. 713–719.

Филатенко А.А., Бюркерт А., Хаммер К. Новый очаг происхождения пшеницы на юге Аравийского полуострова // Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI в. М., 2008.

Т. 3. С. 79–86.
Хинчук А.Г. Отзывчивость к чужой беде // Николай Иванович Вавилов. Очерки. Воспоминания. Материалы. М.: Наука, 1987. С. 135–137.
Percival J. The wheat plant. A monograph. London: Duckworth and Co, 1921. 463 p.
Percival J. Some new varieties of wheat // J. Bot. 1926. V. 64. № 8. P. 203–210.

Основные труды Е.Н. Синской

Синская Е.Н. О полевых культурах Алтая (Краткий отчет о поездке летом 1924 г.) // Тр. по прикл. ботан. и селекции. 1924–1925. Т. 14. Вып. 1. С. 359–376.
Синская Е.Н. Краткий очерк сельскохозяйственного растениеводства в Японии (по данным поездки в Японию в 1928 г.) // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1930. Т. 22. Вып. 5. С. 217–283.
Синская Е.Н. О задачах прикладной фитоэкологии // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1932. Сер. 9. Ч. 1. С. 255–275.
Синская Е.Н. Экологическая система селекции кормовых растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1933. Прилож. 62. 43 с.
Синская Е.Н. Селекция кормовых трав // Теоретические основы селекции растений. М.; Л., 1935. Т. 2. С. 587–658.
Синская Е.Н. Люцерна в настоящем и будущем // Селекция и семеноводство. 1937. № 5. С. 54–58.
Синская Е.Н. К вопросу о растительной конституции и выражающих ее признаках // Журн. общ. биологии. 1946. Т. 7. № 2. С. 147–160.
Синская Е.Н. Классификация льна как исходного материала для селекции и его эволюции // Сб. работ по биологии развития и физиологии льна. М., 1954. С. 45–102.
Синская Е.Н. Происхождение пшеницы // Проблемы ботаники. М.; Л., 1955. Т. 2. С. 5–73.
Синская Е.Н. Важнейшие дикорастущие кормовые растения Северного Кавказа // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1960. Т. 33. Вып. 3. С. 149–204.
Синская Е.Н. Об общих закономерностях эколого-географической изменчивости состава популяций дикорастущих и культурных растений // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1964. Т. 36. Вып. 2. С. 3–13.
Синская Е.Н. Историческая география культурной флоры (На заре земледелия). Л.: Колос. Ленингр. отд-ние, 1969. 480 с.
Синская Е.Н. Актуальные вопросы генетики популяций (тезисы к докладу на Всесоюзной конференции по овощным культурам. Ленинград, 17 января, 1961 г.) // Бюл. ВИР. 1991. Вып. 216. С. 9–10.
Синская Е.Н. Проблемы популяционной ботаники // Сб. трудов. Екатеринбург: УрО РАН, 2002. Т. 1. Сост.: С.И. Неуймин, А.А. Филатенко, Л.А. Семкина / Отв. ред. С.А. Мамаев. 196 с.
Синская Е.Н. Проблемы популяционной ботаники // Сб. трудов. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. Т. 2. Сост.: С.И. Неуймин, А.А. Филатенко, Л.А. Семкина / Отв. ред. С.А. Мамаев. 403 с.
Синская Е.Н. Просто человек // Наука и жизнь. 2003. № 6. Литературное творчество ученых. С. 111–116.
Синская Е.Н. Жизнь Веры. Экспедиция на Южный Алтай // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 2004. Вып. 10. С. 126–136.
Синская Е.Н. Жизнь Веры. Экспедиция в Японию // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 2005. Вып. 11. С. 129–157.
Синская Е.Н., Борковская В.А. Влияние длины дня и температуры на развитие и фенологические спектры популяций ляллеманции // Проблема популяций у высших растений. Л., 1961. Вып. 1. С. 85–105.
Синская Е.Н., Борковская В.А. К познанию популяций дикорастущей кавказской ржи // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1964. Т. 36. Вып. 2. С. 140–179.
Синская Е.Н., Воробьева Ф.М. Анализ популяций озимых пшениц в процессе переделки их в сорте с яровым образом жизни // Проблема популяций у высших растений. Л., 1961. Вып. 1. С. 106–140.
Синская Е.Н., Щенкова М.С. Распределение диких плодовых и ягодных растений по основным вертикальным полосам Кавказа // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1934. Сер. 8. № 2. С. 3–33.

Публикации о Е.Н. Синской

Борковская В.А. Мои воспоминания о вировцах // Памяти Евгении Николаевны Синской: Сб. к 120-летию со дня рождения. СПб: ООО «Корона Принт», 2009. С. 84–109.
Молчан И.М. Е.Н. Синская о проблеме сортовых популяций и методические вопросы селекции // Селекция и семеноводство. 1990. № 4. С. 35–37.
Светлой памяти Евгении Николаевны Синской (25. XI. 1889–4.Ш.1965) // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1968. Т. 38. Вып. 3. С. 233–237.
Филатенко А.А. Евгения Николаевна Синская (1889–1965) // Селекция и семеноводство. 1990. № 4. С. 31–35.
Шебалина М.А. На заре жизни большого ученого // Памяти Евгении Николаевны Синской: Сб. к 120-летию со дня рождения. СПб: ООО «Корона Принт», 2009. С. 130–132.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ «ИНФОРМАЦИОННЫЙ ВЕСТНИК ВОГиС»

Общие положения

Журнал «Информационный вестник ВОГиС» публикует на русском (или английском) языке работы по всем разделам генетики, селекции, а также смежных наук. К публикации принимаются результаты оригинальных экспериментальных исследований; теоретические и обзорные статьи, представляющие интерес для научного сообщества; краткие сообщения, рецензии, письма редактору, персоналии, хроника, информация, сообщения из отделений ВОГиС, материалы и документы по истории генетики и селекции. Печатаются также материалы, касающиеся образовательных программ и методики преподавания генетики и селекции в средней и высшей школах. Журнал печатает заказанные редколлегией обзоры и проблемные статьи. Они могут быть предложены также авторами после предварительной заявки, которую рассматривает редколлегия. Заявка должна содержать резюме предлагаемого обзора или проблемной статьи. Отдельные тематические выпуски посвящаются наиболее актуальным проблемам генетики и селекции.

Хотя журнал и является официальным изданием Вавиловского общества генетиков и селекционеров, членство авторов в обществе необязательно – журнал одинаково открыт для всех.

Сайт журнала в Интернете:

http://www.bionet.nsc.ru/vogis/

В редакцию статьи представляются в электронном виде в формате MS WinWord 6.0 (и выше) на дискетах размером 3,5”, на CD, через FTP или по электронной почте в форме присоединенных файлов. Текст статьи, включая аннотацию на русском и английском языках, таблицы, иллюстрации и подписи к ним, а также список литературы оформляются одним файлом. Иллюстрации дополнительно присылаются отдельными файлами. Если пересылаемый материал велик по объему, следует архивировать файлы в формат *.zip или *.rar.

Текст статьи на бумаге обязателен.

Наш адрес:

630090 Новосибирск, пр. академика Лаврентьева 10, Институт цитологии и генетики СО РАН. Редакция журнала «Информационный вестник ВОГиС».

Электронный адрес: vestnik@bionet.nsc.ru

К публикации в журнале «Информационный вестник ВОГиС» принимаются статьи, прошедшие рецензирование. Решение о публикации принимается редакционной коллегией журнала на основании экспертных оценок рецензентов с учетом соответствия представленных материалов тематической направленности журнала, их научной значимости и актуальности.

Поступившая в редакцию рукопись направляется на отзыв специалистам в данной области исследований. Авторы статьи могут назвать двух–трех потенциальных рецензентов. Наряду с фамилией каждого рецензента обязательно указание его полного имени и отчества, места работы, телефона, адреса электронной почты. Выбор рецензентов остается за редколлегией журнала. Рукопись, получившая отрицательные отзывы двух независимых рецензентов, решением редколлегии отклоняется.

Статья, нуждающаяся в доработке, направляется авторам с замечаниями рецензента и научного редактора. Авторы должны учесть все замечания, сделанные в процессе рецензирования и редактирования статьи, ответить на каждое из замечаний и указать место в рукописи, где сделаны изменения. В случае несогласия с рецензентом или редактором автор должен кратко и четко обосновать свою позицию. Сделанные автором изменения в рукописи необходимо внести в электронный вариант текста и возвратить в редакцию. После доработки статья повторно рецензируется и редколлегия принимает решение о возможности публикации.

Статья, отправленная редакцией на доработку после рецензии и исправленная в соответствии с замечаниями рецензента, должна быть возвращена в редакцию в течение 15 дней с момента ее получения авторами, в этом случае сохраняется первая дата поступления. Статья, возвращенная в редакцию по прошествии месяца, будет иметь новую дату поступления.

Редакция не предоставляет авторам копии корректуры статьи на бумаге. Статья высылается автору в виде pdf-файла. На стадии корректуры не допускаются замены текста, рисунков или таблиц. Если в корректуру вносятся исправления, при возвращении ее в редакцию подробный список сделанных исправлений необходимо приложить в виде отдельного файла.

Редакция оставляет за собой право отклонять без рецензии статьи, не соответствующие профилю журнала или оформленные с нарушением правил.

На всех стадиях работы с рукописями и для общения с авторами, редакторами и рецензентами используется электронная почта, поэтому авторы должны быть внимательны при указании своего электронного адреса и своевременно извещать редакцию о его изменении.

Требования к оформлению рукописей

Статьи должны быть написаны на русском (или английском) языке, отредактированы и оформлены в соответствии с нижеследующими требованиями.

Объем статьи – до 15 страниц формата А4, нумерация страниц сквозная. В этот объем входят текст, аннотация, список литературы, таблицы, иллюстрации и подписи к ним. Основной текст набирается шрифтом Times New Roman через 1,5 интервала с выравниванием по ширине и без переносов, размер шрифта 12 pt. Поля – 3 см со всех сторон страницы.

Статьи большего объема принимаются только после предварительного согласования с редакцией.

Латинские названия объектов исследований в названии статьи и в тексте пишутся с соблюдением общепринятых правил таксономической номенклатуры: бинарные видовые – курсивом (*Drosophila melanogaster*), таксонов более высокого ранга – прямым шрифтом (Drosophila или Drosophilidae). При первом упоминании в тексте родовые и видовые названия приводятся без сокращений, далее по тексту родовое название обозначается одной прописной (первой) буквой, а видовое указывается полностью (*D. melanogaster*).

Названия и символы генов набираются курсивом, а названия их продуктов – с прописной буквы прямым шрифтом. Например: гены *fos*, *c-myc*, *ATM*; белки Fos, c-Myc, ATM. Курсивом выделяются обозначения мобильных элементов, например, *hobo*-элемент, а также три первых буквы названий сайтов рестрикции, например, *Hin*dIII. Названия фагов и вирусов пишутся в латинской транскрипции прямым шрифтом.

Следует использовать общепринятые сокращения и аббревиатуры или приводить их дополнительно в тексте. Все физические размерности рекомендуется приводить в международной системе СИ.

Математические формулы и уравнения набираются в редакторах MS WinWord (версия 6.0 и выше) или MathType. Уравнения располагаются по центру строки и нумеруются арабскими цифрами в круглых скобках в порядке их упоминания в тексте. Номера уравнений выравниваются по правому краю строки. Уравнения отделяются от текста сверху и снизу одной пустой строкой. При написании нескольких уравнений они также разделяются пустой строкой.

Таблицы и иллюстрации (графики, схемы, фотографии, штриховые рисунки) представляются в черно-белом варианте.

Таблицы, иллюстрации и подписи к ним размещаются в тексте статьи при первом их упоминании. При этом не следует использовать опцию «обтекание текста».

Таблицы снабжаются тематическими заголовками и нумеруются арабскими цифрами в порядке их упоминания в тексте. Все графы в таблицах должны иметь заголовки. Сокращение слов в таблицах не допускается. Все аббревиатуры должны быть расшифрованы в сносках к таблице.

Число иллюстраций в статье не должно быть больше 6 (исключения согласовываются с редакцией). Максимальный размер иллюстраций или таблиц не должен превышать размера рабочего поля 15,7 × 23 см. Весь иллюстра-

тивный материал должен иметь минимум надписей.

На графиках необходимо указывать величины, значения которых даются на осях, и обозначение их размерностей.

Имеющиеся в схемах детали обозначаются арабскими цифрами или буквами русского алфавита и расшифровываются в подписях.

Иллюстрации нумеруются в порядке их упоминания в тексте. При ссылке в тексте на иллюстрацию указывается ее номер и буквенные и цифровые обозначения ее деталей, например: рис. 1, а, кривая 2.

Графики и схемы должны выполняться с помощью векторных программ (MicrosoftExcel, CorelDraw 9, Microsoft PowerPoint), их следует присылать в виде отдельных файлов с сохранением форматов, использованных для их создания. Если они выполнялись в других векторных программах, то необходимо использовать формат EPS.

Фотографии представляются в виде отдельных файлов в форматах JPEG, TIFF, BMP, PNG с разрешением 300–600 dpi.

Штриховые рисунки, выполненные от руки, должны быть отсканированы в режиме bitmap с разрешением 800 dpi и сохранены в формате TIFF.

Структура рукописи

Материалы должны быть размещены следующим образом:

1. Название статьи. Должно быть кратким и отражать содержание работы. Печатается прописными буквами прямым полужирным шрифтом без подчеркивания и разрядки. Латинские названия объектов исследований в названии статьи пишутся без сокращений, с соблюдением общепринятых правил таксономической номенклатуры.

2. Инициалы и фамилия (фамилии) автора(ов) (А.А. Иванов, Б.В. Петров...). Печатаются прямым строчным шрифтом и отделяются от названия статьи пустой строкой.

3. Полное название и адрес учреждения, где работает автор(ы) – шрифт прямой строчной; адрес(а) электронной почты автора(ов) – шрифт прямой строчной.

Отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов учреждениям, в которых они работают; звездочкой пометить фамилию автора, с которым будет вестись переписка.

4. Аннотация (резюме) статьи на русском и английском языках с кратким изложением основной цели работы и ее результатов (не более 20 строк). Шрифт – прямой строчной.

5. Ключевые слова (не более 10). Шрифт – прямой строчной. В ключевых словах должны быть отражены: (1) объект; (2) метод; (3) область исследования; (4) специфика данной работы.

6. Текст статьи, оформленный в соответствии с правилами.

7. Благодарности и ссылки на источники финансирования работы.

8. Литература.

9. Аннотация (резюме) статьи на английском языке с кратким изложением основной цели работы и ее результатов (не более 20 строк).

Для экспериментальных статей рекомендуются следующие разделы: **Введение; Материалы и Методы; Результаты; Обсуждение; Литература.**

Теоретические, обзорные и проблемные статьи могут иметь произвольную структуру, но обязательно должны содержать резюме. Названия разделов в таких статьях определяются автором.

Названия разделов печатаются строчными буквами на отдельной строке без подчеркивания и отделяются от текста одной пустой строкой. Шрифт – прямой полужирный. Подзаголовки внутри разделов печатаются на отдельной строке строчными буквами. Шрифт – прямой полужирный. Заголовки и подзаголовки выравниваются по центру.

Раздел «Литература» отделяется от текста статьи пустой строкой и содержит перечень цитированных источников с обязательным указанием заглавия (см. ниже образец). Библиографические ссылки внутри текста приводятся в круглых скобках. При этом указывается фамилия автора публикации без инициалов и год публикации, например: (Иванов, 1999). Если у публикации два автора, то указываются обе фамилии и год издания, например: (Gihr, Smith, 2001). Работы трех и более авторов цитируются

следующим образом: (Gatsby *et al*., 1998; Добров и др., 2000).

При ссылках на несколько публикаций ссылки в скобках располагаются в хронологическом порядке, например: «В ряде работ (Смирнов, 1978; Smith, Gatsby, 1998; Павлова и др., 2001)...». При этом если цитируются работы одного и того же года, ссылки располагаются в алфавитном порядке (сначала русские, потом иностранные фамилии). Если цитируются несколько работ одного и того же автора (или одной и той же группы авторов), опубликованных в одном и том же году, то к году добавляются русские или латинские строчные буквы в алфавитном порядке.

Например: Смирнов и др., 1995а, б; Smith 1997a, d; Ulrich *et al*., 1998b. Порядок расстановки букв определяется положением статьи в разделе «Литература».

Список литературы должен содержать библиографическое описание всех литературных источников, ссылки на которые фигурируют в тексте статьи. Цитированная литература сводится в алфавитные списки сначала на русском языке, потом на иностранных языках с указанием фамилий и инициалов всех авторов каждой публикации. Работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности. В случае если в списке приводятся несколько работ одного автора, опубликованных в одном и том же году, им дают буквенные обозначения: 1999а, б, в и т. д.; для иностранных авторов – 1999a, b, c и т. д.

Оформляйте список по следующему образцу, обращая внимание на знаки препинания и пробелы.

Литература

ДЛЯ ЖУРНАЛОВ:

Кольцов Н.К. Проблема прогрессивной эволюции // Биол. журнал. 1933. Т. 2. Вып. 4/5. С. 475–500.

Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // Cell. 2000. V. 100. № 2. P. 57–70.

ДЛЯ КНИГ:

Завадский К.М. Развитие эволюционной теории после Дарвина (1859–1920-е годы). Л.: Наука, 1973. 423 с. (или конкретные страницы, например, С. 22–32).

Searle A.G. Comparative Genetics of Coat Color in Mammals. L.; N.Y.: Logos Press, Acad. Press, 1968. 303 p.

ДЛЯ СБОРНИКОВ:

Розова М.А., Янченко В.И., Мельник В.М. Зависимость урожайности яровой твердой пшеницы от метеорологических факторов в Приобской лесостепи Алтайского края // Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве и растениеводстве: Сб. статей Междунар. науч.-практ. конференции. Барнаул, 2003. Ч. 1. С. 71–74.

Golygina V.V., Istomina A.G., Kiknadze I.I. Chromosomal polymorphism in natural populations of *Chironomus balatonicus* Dévai, Wülker et Scholl // Late 20th century research on Chironomidae / Ed. O. Hof-frichter. Aachen: Shaker-Verlag, 2000. P. 89–92.

ДЛЯ ТЕЗИСОВ ДОКЛАДОВ:

Peshkov I.M., Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G., Fadeev S.I. On research into hypothetical networks on ecological nature // Proc. of the 4th Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS'2004). Novosibirsk, 25–30 July 2004. Novosibirsk: Inst. Cytol. Genet., 2004. V. 2. P. 128–130.

ДЛЯ ИНТЕРНЕТ-ПУБЛИКАЦИЙ:

Smith A., Green P. RepeatMasker. 1999. available at http://ftp.genome.washington.edu/RM/RepeatMasker.html.

Schwenger G.T.F., Mordvinov V.A., Fournier R., Czabotar P., Peroni S., Sanderson C.J. (2000). Interleikin-5. In: Academic Press Cytokine Reference Database. DOI:10.1006/rwcy.2000.0902.

На отдельной странице следует привести оригинальное написание иностранных фамилий, встречающихся в тексте статьи, подписях к иллюстрациям и таблицам.

На отдельной странице следует указать:

– на русском языке – сведения об авторах (фамилии, имена, отчества полностью, ученые степени, звания, должности, место работы, полные почтовые адреса с индексами, домашние и служебные телефоны, факсы, адреса электронной почты и адреса личных страниц в Интернете);

– на английском языке – название статьи, общепринятую версию названия учреждения, где выполнена работа, и транслитерацию фамилий авторов.

NOTES FOR CONTRIBUTORS

General information

The HERALD of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists is a journal which publishes works written in Russian or English on all aspects of genetics, breeding and related sciences. The results of original experimental research works, theoretical articles (assays), digests, short communications, reviews, letters to the Editor, current and past events, materials and documents with relevance to genetics, breeding and their educational aspects in high school and university can all be considered for publication. The HERALD publishes invited reviews and topical articles. On important occasions, The HERALD features special issues.

Although The HERALD is the official journal of the Vavilov Society of Geneticists and Breeding Scientists, it assumes no members – only attitude: anyone can contribute.

The HERALD is available online:

http://www.bionet.nsc.ru/vogis/

The contributions should be submitted in hard copy and in electronic form (MS Word 6.0 or higher) on 3.5-inch floppy disks, CDs, via FTP or as attachments to electronic mail. The texts of the manuscript, including the abstract, tables, figures, figure legend and references, should be submitted as a file. Additionally, each figure should be sent separately as an attached file. If the material is too large to email, archiving to .zip or .rar format should be considered.

RUSSIAN FEDERATION

630090 Novosibirsk

Prospekt Lavrentyeva 10

Institute of Cytology and Genetics, SB, RAS

The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists

Email: vestnik@bionet.nsc.ru

The manuscripts submitted for publication in The HERALD are peer-reviewed. The acceptance decision is made by the Editors based on the reviews.

All the compliant manuscripts submitted to The HERALD for consideration are forwarded to reviewers. The reviewers are persons who are believed by the Editors to have sufficient expertise in the field. The author may name two or three persons who he or she wants to step down as reviewers; in this case, their last names and respective affiliations, telephone numbers and electronic addresses should be provided. The Editors' choice of reviewers is final. Any manuscript that has received two negative reviews will be declined.

The manuscript that needs to be improved is returned to the author as the proofs. The authors should take account of all the remarks made, duly respond to them and indicate in the proofs where the corrections have been made. In case of any dispute that might arise in connection with the reviewers' feedback, the author should clearly explain his or her points. The proofs should be returned to the Editors. The Editors will then forward the proofs to the reviewers for opinion.

The proofs that have been sent to the author should be returned within 15 days of receipt. If the proofs are returned to the Editors later than within one month of receipt, the manuscript will be assigned a new date of receipt.

No hard copy proofs are provided to the authors. The proofs are sent to the authors as .pdf files. No correction to the text, figures or tables should be made while the proof-reading process is in progress. After due corrections have been introduced to the proofs, a detailed list of the corrections should be provided in a separate file.

The Editors reserve the right to decline non-compliant manuscripts without review.

The Editors use electronic mail to communicate with the authors, so it is the author's responsibility to ensure that the email address they have provided is correct and current.

Layout

The articles should be written in the English language and laid out as described below.

Any manuscript should not exceed 15 consecutively numbered standard-sized pages of

A4 size, including the text, summary, references, tables, figures and figure legends. The text should appear in Times New Roman, 12 pt, fully justified, not hyphenated, with line spacing 1.5 lines. Margins should be 3 cm on each side. The contributors of larger manuscripts should consult the Editors before submitting.

The Latin names in the title of the manuscript and within the text should be typed in accordance with the standard nomenclature: binary names are italicized (for example, *Drosophila melanogaster*), higher taxa are in upright type (for example, Drosophila, Drosophilidae). At the first mention within the text, the generic and species names should appear in full (as, for example, *Drosophila melanogaster*); elsewhere, the generic name is abbreviated to its first letter, and the species name is written in full (for example, *D. melanogaster*).

The names and symbols of genes should be italicized (for example, *fos*, *c-myc*, *ATM*), while the names of gene products should appear in upright type, with an initial capital (for example, Fos, c-Myc, ATM). The names of mobile elements should be italicized (for example, *hobo*), and so should the first three letters in the names of restriction sites (for example, *Hin*dIII). The names of phages and viruses should appear in upright type.

All non-standard abbreviations that may appear throughout should be explained in the text. The recommended system for the dimensions of physical units is the SI.

Mathematical formulae and equations should be created using MS Word 6.0 (or higher) or MathType. The equations should be centered and numbered with parenthesized Arabic numerals in order of mention within the text. The numbers of the equations are right-justified. A blank line should be inserted before and after an equation. A blank line should be inserted to separate any two consecutive equations.

Tables and figures (plots, diagrams, photographs, line drawings) should be provided in black and white.

Tables, figures and figure legends should appear after the first mention within the text. Text wrapping should be avoided.

Tables should be numbered with Arabic numerals in order of mention within the text and provided with telling titles. Each column in a table should be provided with a title or description. Words in the tables should appear in full. Abbreviations used in the tables should be explained in the legend.

The number of figures in a particular manuscript is limited to 6 (exceptions should be agreed upon with the Editors). The maximum size of a figure or table is limited to 15.7 cm x 23 cm. Text labels should be kept to a minimum.

The symbols and units of quantities represented on the axes of the plots should be indicated.

Figure parts should be labeled with Arabic numerals or Roman letters and explained in the figure legend. The figures should be numbered in order of mention within the text. Referring to a figure in the text: Fig. 1. Referring to a figure part in the text: Fig. 1, a, curve 2.

Plots and diagrams should be created using the vector programs MS Excel, CorelDraw 9, and MS PowerPoint and submitted as separate files in original formats. If other vector programs have been used, images should be stored in the EPS format.

Photographs should be submitted as separate .JPEG, .TIFF, .BMP or .PNG files, with a resolution of 300-600 dpi.

Line drawings should be bitmap scanned with a resolution of 800 dpi and saved to a .TIFF file.

Manuscript Structure

Any manuscript should contain:

1. A brief and telling title in upper-case bold-face upright type. Underlining or kerning should be avoided. Latin names in the title should be typed in full, in accordance with the standard nomenclature.

2. The author(s) name(s) in title-case upright type (R.U. Right, I.M. Fine) and separated from the title of the manuscript by a blank line.

3. The affiliation(s) and address(es) in title-case upright type; electronic address(es) in lower-case upright type. Each author's name and his or her affiliation should be matched using Arabic numerals. The name of the author to whom the correspondence will be sent should be asterisked.

4. An abstract, which is a brief (no more than 20 lines) summary of the work done and the results obtained. The abstract should appear in sentence-case upright type.

5. Key words (no more than 10). The key words should convey (1) the main object(s); (2)

the method(s) used; (3) the scope; (4) the special points of the work done. The key words should appear in lower-case upright type.

6. The main text.

7. Acknowledgements.

8. References.

9. Summary provides a brief representation of the main aim of research and the results obtained, and should not exceed 20 lines.

For experimental articles, the following sections are recommended: Introduction, Materials and Methods; Results; Discussion; References. Essays, reviews and topical articles can have an arbitrary structure and section titles; however, an abstract is required on all occasions.

Section titles should appear in upper-case bold-face upright type on a separate line. Underlining should be avoided. Any section title should be separated from the text by a blank line.

Subsection titles should appear on a separate line, in upper-case bold-face upright type. The section and subsection titles should be centered.

References in the text should appear in parentheses.

A work written by a single author:

(Smith, 1999)

A work written by two authors:

(Gihr, Smith, 2001)

A work written by more than two authors:

(Gatsby *et al*., 1998)

When more than one work is cited, references should appear in chronological order:

(Gatsby, 1978; Smith, Gatsby, 1998; Smith *et al*., 2001)

Works written in the same year should appear in alphabetical order:

(Aleph, 1978; Gatsby, 1978; Zenith *et al*., 1978).

Works written by the same author(s) in the same year should be listed as a, b, c and so on:

(Smith 1997a, d; Ulrich *et al.*, 1998b)

A particular letter indicates the position of the work in the References section.

The References section is a list of all the works cited in the text. Each of the works cited should appear in alphabetical order and contain the last names and initials of all the authors. Works written by the same author should appear in chronological order. Works written by the same author in the same year should be listed as a, b, c and so on. For example: 1999a, b, c.

References should appear as follows:

References

AN ARTICLE IN A JOURNAL:

Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // Cell. 2000. V. 100, N 2. P. 57–70.

A BOOK:

Searle A.G. Comparative Genetics of Coat Color in Mammals. L.; N.Y.: Logos Press, Acad. Press, 1968. 303 p.

A CHAPTER IN A BOOK:

Golygina V.V., Istomina A.G., Kiknadze I.I. Chromosomal polymorphism in natural populations of Chironomus balatonicus Dévai, Wülker et Scholl // Late 20th century research on Chironomidae / Ed. O. Hoffrichter. Aachen: Shaker-Verlag, 2000. P. 89–92.

AN ABSTRACT IN THE PROCEEDINGS OF A CONFERENCE:

Peshkov I.M., Likhoshvai V.A., Matushkin Yu.G., Fadeev S.I. On research into hypothetical networks on ecological nature // Proc. of the 4th Intern. Conf. on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS'2004). Novosibirsk, 25–30 July 2004. Novosibirsk: Inst. Cytol. Genet., 2004. V. 2. P. 128–130.

AN ONLINE PUBLICATION:

Smith A., Green P. RepeatMasker. 1999. available at http://ftp.genome.washington.edu/RM/RepeatMasker.html.

Schwenger G.T.F., Mordvinov V.A., Fournier R., Czabotar P., Peroni S., Sanderson C.J. (2000). Interleikin- 5. In: Academic Press Cytokine Reference Database. DOI:10.1006/rwcy.2000.0902.

Журнал «Информационный вестник ВОГиС» включен ВАК Минобрнауки России в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (по биологическим наукам). (Редакция, апрель 2008 г.) http://vak.ed.gov.ru

Журнал «Информационный вестник ВОГиС» включен в федеральный почтовый Объединенный каталог «ПРЕССА РОССИИ». Персональный подписной индекс № 42153.

Отредактировано и подготовлено к печати
в редакционно-издательском отделе ИЦиГ СО РАН

Редакторы: А.А. Ончукова, И.Ю. Ануфриева
Дизайн: А.В. Харкевич
Компьютерная графика: А.В. Харкевич, Т.Б. Коняхина
Компьютерная верстка: Т.Б. Коняхина, Н.С. Глазкова

Подписано в печать 5.03.2010 г.
Формат бумаги 60×84 1/8. Усл.-печ. л. 24,2. Уч.-изд. л. 23,25
Тираж 400. Заказ 70.

Отпечатано в типографии ГУ «Издательство СО РАН»
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2