
БАВИЛОВСКИЙ ЖУРНАЛ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ

ОСНОВАН В 1997 г.

Том 18

2

Июнь 2014

VAVILOV JOURNAL OF GENETICS AND BREEDING

FOUNDED IN 1997

Vol. 18

2

June 2014

«Вавиловский журнал генетики и селекции» / «Vavilov Journal of Genetics and Breeding» до 2011 г. выходил под названием «Информационный вестник ВОГиС» / «The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists».

«Вавиловский журнал генетики и селекции» 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 17 июня 2011 г.: <http://vak.ed.gov.ru>)

«Вавиловский журнал генетики и селекции» включен в федеральный почтовый Объединенный каталог «ПРЕССА РОССИИ».

Персональный подписной индекс № 42153.

Адрес редакции:

«Вавиловский журнал генетики и селекции»,
ИЦиГ СО РАН,
Проспект Академика Лаврентьева, 10,
Новосибирск, 630090

Факс: (383) 3331278

e-mail: vavilov_journal@bionet.nsc.ru

Ответственный секретарь редакции:

С.В. Зубова,

тел. 363-4977 *5415

Регистрационное свидетельство ПИ № ФС77-45870
выдано Федеральной службой по надзору в сфере
связи, информационных технологий и массовых
коммуникаций 20 июля 2011 г.

При перепечатке материалов ссылка на журнал
обязательна.

© Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт цитологии и
генетики Сибирского отделения Российской
академии наук, 2014

© Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014

© Сибирское отделение Российской академии
наук, 2014

Содержание

<i>И.К. Захаров</i> 80 ЛЕТ АКАДЕМИКУ РАН ВЛАДИМИРУ КОНСТАНТИНОВИЧУ ШУМНОМУ	218
АКАДЕМИКУ РАН СЕРГЕЮ ГЕОРГИЕВИЧУ ИНГЕ-ВЕЧТОМОВУ 75 ЛЕТ	222
<i>Ю.Ф. Богданов</i> ТАЛАНТЛИВЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ МЕЙОЗА. К 75-ЛЕТИЮ И.Н. ГОЛУБОВСКОЙ	228
<i>В.И. Ермолаев, М.А. Савина, Н.С. Юдин, Р.Б. Айтназаров, С.В. Никитин, Л.И. Трапезова, О.В. Трапезов</i> ОТБОР ПО ПОВЕДЕНИЮ И СОСТОЯНИЮ СИСТЕМ МАКРОГЛОБУЛИНОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ У АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (<i>NEOVISON VISON</i>).....	235
<i>О.В. Растимешина, Т.М. Демина</i> О ВОЗМОЖНОСТИ СЕЛЕКЦИИ НОРОК (<i>NEOVISON VISON</i>) НА ОПЛАТУ КОРМА	240
<i>С.Н. Каиштанов, О.Е. Лазебный, А.П. Нюхалов, И.Е. Чернова, Г.Р. Свищёва, О.В. Трапезов</i> ИНТЕНСИВНОСТЬ ПИГМЕНТАЦИИ МЕХОВОГО ПОКРОВА СОБОЛЕЙ (<i>MARTES ZIBELLINA</i> L.) И РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ	245
<i>Н.С. Юдин, Р.Б. Айтназаров, С.П. Князев, В.А. Бекенев, Ю.В. Подоба, А.Б. Бердибаева, М.И. Воевода</i> РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА <i>PANE1</i> В ФОРМИРОВАНИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У СВИНЕЙ	258
<i>С.В. Никитин, С.П. Князев, В.И. Ермолаев</i> ВАРИАЦИЯ МАССЫ НОВОРОЖДЕННОЙ ОСОБИ У ДОМАШНИХ СВИНЕЙ И ПРОЦЕСС АДАПТАЦИИ	263
<i>С.В. Никитин, С.П. Князев, К.С. Шатохин</i> МИНИАТЮРНЫЕ СВИНЬИ ИЦИГ – МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА	279

<i>Р.Б. Айтназаров, Н.С. Юдин, С.В. Никитин, В.И. Ермолаев, М.И. Воевода</i> ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНЫХ ГЕНОМОВ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ У СИБИРСКИХ МИНИ-СВИНЕЙ	294
<i>Л.Н. Гринкевич, О.В. Воробьева</i> РОЛЬ МОДУЛЯТОРНОГО МЕДИАТОРА СЕРОТОНИНА В ИНДУКЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У <i>HELIX</i>	298
<i>А.В. Иванников, О.В. Ваулин, Ю.А. Коромыслов, И.К. Захаров</i> СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ ЛИНИИ И ПОПУЛЯЦИЙ <i>DROSOPHILA MERCATORUM</i> (DIPTERA; DROSOPHILIDAE) КОНТИНЕНТАЛЬНОЙ АЗИИ ПО ФРАГМЕНТУ ГЕНА COI И УЧАСТКУ ITS1-ITS2 ГЕНОВ рРНК	308
<i>Р.А. Быков, Ю.Ю. Илинский, М.А. Волошина, И.К. Захаров</i> РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ <i>WOLBACHIA</i> В ПОПУЛЯЦИИ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Г. НАЛЬЧИК	315
<i>Ю.С. Букин</i> ПРОЦЕССЫ КОЭВОЛЮЦИИ В СИСТЕМЕ «ХИЩНИК–ЖЕРТВА». ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ	320
<i>В.М. Меркулов, Т.И. Меркулова</i> РЕГУЛЯТОРНЫЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ МОГУТ КОНТРОЛИРОВАТЬ ПРОЦЕСС ТРАНСКРИПЦИИ НА СТАДИИ ЭЛОНГАЦИИ ПРЕ-мРНК	329
<i>Н.Р. Баттулин, В.С. Фишман, А.А. Хабарова, М.Ю. Помазной, Т.А. Шнайдер, Д.А. Афонников, О.Л. Серов</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА СПЕРМАТОЗОИДОВ И ФИБРО-БЛАСТОВ МЫШИ МЕТОДОМ Hi-C	338
<i>О.В. Воробьева, Л.Н. Гринкевич</i> ИНДУКЦИЯ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ИНГИБИРОВАНИЕМ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ РЕВЕРСИРУЕТ ФОРМИРОВАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У ПЛОХО ОБУЧАЮЩИХСЯ ЖИВОТНЫХ С ДИСФУНКЦИЕЙ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ	345
<i>Д.Ю. Ощепков, Е.В. Кашина, Е.В. Антонцева, Е.А. Ощепкова, В.А. Мордвинов, Д.П. Фурман</i> ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКИНА IL-12 В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ИХ ОБРАБОТКИ ДИОКСИНОМ	354
<i>И.О. Мешков, Т.А. Алехина, Т.А. Морева</i> ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕДЕНИЯ КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНДУЦИРУЕМОЙ СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ (НИСАГ) В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ	363
<i>Л.Г. Тырышкин, В.Г. Захаров, В.В. Сюков</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУЛЕНТНОСТИ <i>PUCCINIA RECONDITA</i> ROV. EX DESM. SYN.: <i>PUCCINIA TRITICINA</i> ERIKSS. В СРЕДНЕМ ПОВОЛЖЬЕ	373
<i>Н.А. Сурин, Н.В. Зобова, Н.Е. Ляхова</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ И СЕЛЕКЦИОННАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЯЧМЕНЯ СИБИРИ	378

*Н.П. Гончаров, А.Ш. Меликян, М.Г. Арутюнян, М.Ц. Оганесян, Л.В. Оганесян,
Р.Р. Садоян, О.А. Ляпунова*

КАВКАЗСКИЙ ЦЕНТР ФОРМООБРАЗОВАНИЯ ДИКИХ ДИ- И ТЕТРАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЦ: ЭКСПЕДИЦИЯ «АРМЕНИЯ-2013»	387
--	-----

З.В. Долганова

ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ ЯПОНСКИХ ИРИСОВ (<i>IRIS ENSATA</i> THUNB.) НА ЮГЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ	400
---	-----

И.А. Прокопьев, Г.В. Филиппова, А.А. Шеин

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ СЕМЯН ЛУКА-БАТУНА НА ВСХОЖЕСТЬ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИХ ПРОРОСТКОВ	410
--	-----

А.Э. Шпаков, Ю.А. Волчков, В.В. Дробышев

СТРУКТУРА ИЗМЕНЧИВОСТИ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФЕНОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА РАСТЕНИЙ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ ТАБАКА)	416
--	-----

Content

<i>I.K. Zakharov</i>	
80 YEARS JUBILEE OF ACADEMICIAN VLADIMIR KONSTANTINOVICH SHUMNY	218
ACADEMICIAN SERGEY GEORGIEVICH INGE-VECHTOMOV IS 75.....	222
<i>Yu.F. Bogdanov</i>	
A TALENTED SCIENTIST STUDYING GENETIC CONTROL OF MEIOSIS. 75 YEARS JUBILEE OF I.N. GOLUBOVSKAYA	228
<i>V.I. Ermolaev, M.A. Savina, N.C. Yudin, R.B. Aitnazarov, C.V. Nikitin, L.I. Trapezova, O.V. Trapezov</i>	
SELECTION FOR BEHAVIOR AND CORRELATION WITH THE MACROGLOBULINE AND LYPOPROTEINE SYSTEMS IN THE AMERICAN MINK (<i>NEOVISON VISON</i>).....	235
<i>O.V. Rastimeshina, T.M. Demina</i>	
BREEDING METHOD FOR REPLACING YOUNG MINKS WITH REGARD TO FOOD USE EFFICIENCY ...	240
<i>S.N. Kashtanov, O.E. Lazebny, A.P. Njukhalov, I.E. Chernova, G.P. Svisheva, O.V. Trapezov</i>	
HEAVINESS OF HAIR PIGMENTATION AND REPRODUCTIVITY IN SABLES (<i>MARTES ZIBELLINA</i> L.)	245
<i>N.S. Yudin, R.B. Aitnazarov, S.P. Knyazev, V.A. Bekenev, Yu.V. Podoba, A.B. Berdibaeva, M.I. Voevoda</i>	
ROLE OF POLYMORPHISM FOR THE <i>PANE1</i> GENE IN THE FORMATION OF REPRODUCTIVE INDICES IN PIGS	258
<i>S.V. Nikitin, S.P. Knyazev, V.I. Ermolaev</i>	
WEIGHT VARIATIONS IN NEWBORN DOMESTIC PIGS AND THE ADAPTATION PROCESS	263
<i>S.V. Nikitin, S.P. Knyazev, K.S. Shatokhin</i>	
MINIATURE PIGS OF ICG AS A MODEL OBJECT FOR MORPHOGENETIC RESEARCH	279
<i>R.B. Aitnazarov, N.S. Yudin, S.V. Nikitin, V.I. Ermolayev, M.I. Voevoda</i>	
IDENTIFICATION OF WHOLE GENOMES OF ENDOGENOUS RETROVIRUSES IN SIBERIAN MINIATURE PIGS	294

<i>L.N. Grinkevich, O.V. Vorobiova</i>	
ROLE OF THE MODULATORY MEDIATOR SEROTONIN IN THE INDUCTION OF EPIGENETIC PROCESSES DURING LONG TERM MEMORY FORMATION IN <i>HELIX</i>	298
<i>A.V. Ivannikov, O.V. Vaulin, Yu.A. Koromyslov, I.K. Zakharov</i>	
THE COMPARATIVE MOLECULAR GENETICAL STUDY OF THE LABORATORY LINE AND CONTI-NENTAL ASIA POPULATIONS OF <i>DROSOPHILA MERCATORUM</i> (DIPTERA; DROSOPHILIDAE) BY COI GENE AND ITS1-ITS2 rRNA GENES FRAGMENTS	308
<i>R.A. Bykov, Yu.Yu. Ilinskii, M.A. Voloshina, I.K. Zakharov</i>	
PREVALENCE AND GENOTYPIC DIVERSITY OF THE SYMBIOTIC BACTERIUM <i>WOLBACHIA</i> IN THE <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> POPULATION OF NALCHIK.....	315
<i>Yu.S. Bukin</i>	
COEVOLUTION IN A PREDATOR–PREY SYSTEM: AN ECOGENETIC MODEL	320
<i>V.M. Merkulov, T.I. Merkulova</i>	
REGULATORY TRANSCRIPTION FACTORS MAY PARTICIPATE IN POST-INITIATION CONTROL OF TRANSCRIPTION	329
<i>N.R. Battulin, V.S. Fishman, A.A. Khabarova, M.Yu. Pomaznoy, T.A. Shnaider, D.A. Afonnikov, O.L. Serov</i>	
INVESTIGATION OF THE SPATIAL GENOME ORGANIZATION OF MOUSE SPERM AND FIBROBLASTS BY THE Hi-C METHOD	338
<i>O.V. Vorobiova, L.N. Grinkevich</i>	
INDUCTION OF ACETYLATION PROCESSES IN ANIMALS WITH SEROTONERGIC NEURON DYSFUNCTION REVERSES THEIR CAPABILITY OF LONG-TERM MEMORY FORMATION.....	345
<i>D.Y. Oshchepkov, E.V. Kashina, E.V. Antontseva, E.A. Oshchepkova, V.A. Mordvinov, D.P. Furman</i>	
DYNAMICS OF IL12 CYTOKINE EXPRESSION IN HUMAN MACROPHAGES AFTER TREATMENT WITH DIOXIN	354
<i>I.O. Meshkov, T.A. Alekhina, T.A. Moreva</i>	
BEHAVIORAL CHARACTERISTICS OF RATS WITH INHERITED STRESS INDUCED ARTERIAL HYPERTENSION (ISIAH) DURING EARLY ONTOGENESIS	363
<i>L.G. Tyryshkin, V.G. Zakharov, V.V. Syukov</i>	
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF <i>PUCCINIA RECONDITA</i> ROB. EX DESM. SYN.: <i>PUCCINIA TRITICI</i> ERIKSS. VIRULENCE IN MIDDLE VOLGA	373
<i>N.A. Surin, N.V. Zobova, N.E. Lyahova</i>	
THE GENETIC POTENTIAL OF BARLEY IN SIBERIA AND ITS IMPORTANCE FOR BREEDING	378
<i>N.P. Goncharov, A.Sh. Melikyan, M.G. Harutyunyan, M.Ts. Hovhannisyan, L.V. Hovhannisyan, R.R. Sadoyan, O.A. Lyapunova</i>	
THE CAUCASIAN CENTRE OF FORMATION OF WILD DI- AND TETRAPLOID WHEATS: THE ARMENIA 2013 EXPEDITION	387

<i>Z.V. Dolganova</i>	
JAPANESE IRIS (<i>IRIS ENSATA</i> THUNB.) IN SOUTHERN WEST SIBERIA	400
<i>I.A. Prokopiev, G.V. Filippova, A.A. Shein</i>	
EFFECT OF DIFFERENT CONDITIONS OF WELSH ONION SEED STORAGE ON GERMINATION AND CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF THEIR SEEDLINGS	410
<i>A.E. Shpakov, Yu.A. Volchkov, V.V. Drobyshev</i>	
VARIABILITY STRUCTURE AND GENETIC DETERMINATION OF PLANT PHENOLOGICAL TYPE (ACCORDING TO RESULTS OF TOBACCO RESEARCH)	416

80 ЛЕТ АКАДЕМИКУ РАН ВЛАДИМИРУ КОНСТАНТИНОВИЧУ ШУМНОМУ



12 февраля 2014 г. исполнилось 80 лет Владимиру Константиновичу Шумному, академику РАН, профессору, доктору биологических наук, советнику РАН.

В.К. Шумный – известный ученый в области генетики и генетических основ селекции растений, крупный организатор биологической науки в Сибири.

В 1957 г. на востоке страны создается Сибирское отделение Академии наук СССР. Среди его первых 10 институтов был запланирован и создан Институт цитологии и генетики. Директором-организатором Института был назначен член-корреспондент АН СССР Николай Петрович Дубинин – из плеяды отечественных генетиков «вейсманистов-морганистов», активный борец с лысенковщиной, официально признаваемым и поддерживаемым направлением в биологии в СССР в тот период.

Отметим роль выпускников вузов конца 1950-х годов и молодых ученых европейской части СССР, которую они сыграли в формировании коллективов институтов создававшегося в Сибири Новосибирского научного центра, в развитии, «живучести» и успешности этого грандиозного научного проекта XX в. Стрем-

ление связать свою судьбу с Сибирью было замешано как на научных убеждениях старшего поколения отцов-основателей Сибирского отделения и его институтов (своего рода каркаса), так и на романтике молодых – жажде посвятить свою жизнь открытиям нового и неизведанного. Все они становились сибиряками навсегда.

В 1958 г. В.К. Шумный окончил Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова по специальности «Ботаника», с присвоением квалификации биолога-ботаника, учителя биологии и химии средней школы. На последнем курсе обучения В.К. Шумный делает выбор не только своей будущей деятельности, но и местожительства. Он подает заявление о приеме на работу в формирующийся в Сибири, в новосибирском Академгородке, Институт цитологии и генетики СО АН СССР. С 5 июня 1958 г. его зачисляют на должность старшего лаборанта лаборатории гетерозиса, заведующим которой был Юрий Петрович Мирюта. 56 лет жизни, научная и общественная карьера Владимира Константиновича связаны с Институтом цитологии и генетики, с Сибирским отделением РАН, с городом Новосибирском.

С 1961 г. В.К. Шумный – младший научный сотрудник лаборатории гетерозиса ИЦиГ СО АН СССР. Тема его кандидатской диссертации – «Экспериментальное получение и характеристика тетраплоидов кукурузы». В 1965 г. решением Объединенного совета СО АН СССР В.К. Шумному была присуждена ученая степень кандидата биологических наук. Научными руководителями В.К. Шумного были профессор Юрий Петрович Мирюта и профессор Александр Николаевич Лутков. В свою очередь, своими учителями Ю.П. Мирюта считал цитолога Г.А. Левитского, а А.Н. Лутков – Н.И. Вавилова, и оба относили себя к числу учеников Г.Д. Карпеченко.

В 1966 г. В.К. Шумного назначают исполняющим обязанности заведующего лабораторией, а в 1968 г. по конкурсу его избирают заведующим лабораторией гетерозиса ИЦиГ СО АН СССР.

В 1970 г. В.К. Шумный назначается заместителем директора по науке ИЦиГ СО АН СССР. Он курирует лаборатории и опытно-производственные подразделения Института растениеводства профиля. Последующие полтора десятилетия он работает рука об руку с директором института – академиком Д.К. Беляевым. По признанию В.К. Шумного, Дмитрий Константинович становится не только его начальником, но и учителем.

Находясь на посту заместителя директора и директора ИЦиГ СО АН СССР/СО РАН в течение 37 лет (до 2007 г.), В.К. Шумный постоянно общался с руководителями Сибирского отделения, с выдающимися учеными и организаторами науки: с Михаилом Алексеевичем Лаврентьевым, Гурием Ивановичем Марчуком, Валентином Афанасьевичем Коптюгом и Николаем Леонтьевичем Добрецовым. Руководство каждого из них привнесло в развитие науки в Сибири свою особенность, но от всех них потребовало полной самоотдачи, мудрости, гражданской ответственности и государственного подхода, а временами и мужества. Это был источник огромного жизненного опыта.

Решением Президиума АН СССР в 1971 г. В.К. Шумный утверждается в ученом звании старшего научного сотрудника по специальности «Генетика». В 1973 г. решением ВАК ему присуждается ученая степень доктора биологических наук по результатам его защиты диссертации на тему «Исследование действия генов

в связи с проблемой гетерозиса у растений». Ученое звание профессора по специальности «Генетика» ему было присвоено решением ВАК в 1982 г.

В 1979 г. В.К. Шумный был избран членом-корреспондентом АН СССР; 15 декабря 1990 г. он был избран академиком АН СССР (оба звания – по вакансии Сибирского отделения).

Начало научной деятельности В.К. Шумного было связано с разработкой методик полиплоидизации кукурузы и созданием первых отечественных полиплоидных форм на гибридной основе. Были изучены механизмы межallelельных взаимодействий и физико-химические основы гетерозиса; были созданы модели для изучения эффектов гетерозиса и сверхдоминирования; получены оригинальные данные по механизмам сверхдоминирования на основе моногенных мутаций.

Полученные В.К. Шумным с коллегами данные по системам размножения у растений позволили разработать методы преодоления генетической несовместимости у ряда видов культурных растений, вскрыть резерв генетического разнообразия и создать на этой основе ценные коллекции линий. Разработаны интересные экспериментальные модели, показывающие возможность перевода видов с одного способа размножения на другой.

В результате комплексных многолетних исследований по отдаленной гибридизации у злаковых были получены межвидовые и межродовые гибриды, замещенные и дополненные по отдельным хромосомам формы. При сочетании методов клеточной инженерии и селекции удалось получить уникальные комбинации ячменно-пшеничных гибридов, представляющих большой интерес для цитогенетических и селекционных исследований. Эти работы проводились совместно с Лидией Александровной Першиной.

В рамках комплексной программы Сибирского отделения «Сибирь», направленной на усиление прикладных научных разработок, Институт цитологии и генетики выполнял две программы – «ДИАС» и «Лизин». Программа «ДИАС», руководил ею Виктор Александрович Драгавцев, была посвящена диаллельным скрещиваниям у пшеницы. По итогам выполнения этой программы было создано несколько коммерческих сортов. При выполнении проекта

«Лизин», которым руководил В.К. Шумный, было создано и районировано два сорта ячменя с высоким содержанием в зерне белка и особенно незаменимой аминокислоты лизин.

Совместно с Александром Васильевичем Вершининым и Еленой Артемовной Салиной были развернуты работы по молекулярно-генетическому анализу геномов отдаленных гибридов. Эти работы продолжают успешно развиваться и сейчас.

Совместно с Еленой Викторовной Дейнеко были развернуты работы по модификации геномов растений методами культуры клеток и геной инженерии. В ходе этих работ получены уникальные трансгенные растения, в геном которых введены гены белков медицинского назначения – интерлейкинов (интерлейкины 10 и 18); гены белков оболочки возбудителя туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*), бета-интерферона человека и бактериальный ген нуклеазы. Эти модели являются важными не только для получения уникальных трансгенных растений, но и для создания новых биотехнологий.

Являясь не только административным преемником Д.К. Беляева на посту директора ИЦиГ СО РАН, но и его научным последователем, В.К. Шумный значительное внимание в своих исследованиях уделяет таким глобальным проблемам, как сохранение генетического разнообразия животных и растений, изучение последствий антропогенных воздействий на генетические системы. Так, в 1992 г. он возглавил исследования научных подразделений ИЦиГ СО РАН в рамках комплексной программы «Оценка последствий антропогенного загрязнения окружающей среды и испытаний ядерных устройств на население Алтайского края».

С 1986 г. В.К. Шумный избирается заведующим кафедрой цитологии и генетики факультета естественных наук Новосибирского государственного университета. Он является членом Ученых советов НГУ и ФЕН НГУ, председателем предметной комиссии ФЕН НГУ. С 1986 г. В.К. Шумный – председатель диссертационного совета по защите докторских диссертаций при ИЦиГ СО РАН, одного из крупнейших советов биологического профиля страны по числу защищаемых в нем диссертаций. Например, только за период 2010–2013 гг. в совете было защищено 4 докторских и 65 кандидатских диссертаций.

В совете защищаются диссертации по трем специальностям: генетика; гистология, цитология, клеточная биология; математическая биология, биоинформатика.

В.К. Шумный – автор и соавтор более 400 научных работ. Ему выдано 10 авторских свидетельств на районированные сорта. Он является ответственным научным редактором более 30 коллективных монографий и сборников.

Много сил отдает В.К. Шумный научно-организаторской деятельности. В.К. Шумный с 1985 г. по 2007 г. избирался председателем Объединенного ученого совета по биологическим наукам СО РАН, координирующего деятельность 12 научных институтов биологического профиля на территории Сибири. С 1980 г. по 2008 г. входил в состав Президиума Сибирского отделения АН СССР/РАН, в котором отвечал за связи с СО ВАСХНИЛ и СО РАМН. Он входил в состав Научного совета по проблемам генетики и селекции АН СССР, был членом межведомственного совета по наукам о жизни.

В начале 1990-х годов, после распада СССР, прекратило свою деятельность и Всесоюзное общество генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова. В.К. Шумный входит в инициативную группу по восстановлению сообщества генетиков и селекционеров. В 1992 г. в Санкт-Петербурге принимается решение о создании Вавиловского общества генетиков и селекционеров, а в холодные декабрьские дни 1994 г. в Саратове собирается учредительный съезд общества. В.К. Шумного избирают вице-президентом вновь созданного Вавиловского общества генетиков и селекционеров; он является председателем его Новосибирского отделения и последние 10 лет – президентом ВОГиС. Здесь уместно перечислить его предшественников на этом высоком посту общественного признания генетиков и селекционеров страны: это академик АН СССР Борис Львович Астауров (1966–1972 гг.), академик ВАСХНИЛ Николай Васильевич Турбин (1972–1975 гг.), академик АМН СССР Николай Павлович Бочков (1975–1982 гг.), академик АН СССР Владимир Александрович Струнников (1982–1992 гг.), академик РАН Сергей Георгиевич Инге-Вечтомов (1994–2004 гг.).

Академик РАН В.К. Шумный избран членом Европейской академии наук, НАН Республики

Беларусь, НАН и УААН Украины. В.К. Шумный дважды избирался депутатом Новосибирского областного совета.

Владимир Константинович Шумный с 1997 г. – главный редактор журнала «Вавиловский журнал генетики и селекции» (до 2011 г. «Информационный вестник ВОГиС»); входит в состав редколлегий журналов «Экологическая генетика», «Сельскохозяйственная биология. Серия Биология растений», «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки», «Философия науки», «Цитология и генетика» (Украина); входил в состав редколлегии журнала «Генетика». Совместно с С.Г. Инге-Вечтомовым В.К. Шумный – главный редактор издаваемого издательством «Pleiades Publishing» журнала «Russian Journal of Genetics: Applied Research», публикующего переводы на английский язык избранных статей из журналов «Вавиловский журнал генетики и селекции» и «Экологическая генетика».

Все свои нелегкие обязанности В.К. Шумный выполняет спокойно, достойно и ответственно. Для него характерны большая мудрость в решении принципиальных вопросов жизни Института и глубокая уважительность к работающим с ним людям. Он умеет создать в коллективе спокойную рабочую атмосферу и вселить определенную уверенность в будущем Института, науки.

Его труд отмечен правительственными наградами: орденом Трудового Красного Знамени (1975 г.); орденом Знак Почета (1982 г.); орденом «За Заслуги Перед Отечеством» III и IV степени (1999 г.), двумя медалями. Среди его наград золотая медаль РАН им. Н.И. Вавилова и Почетная грамота губернатора Новосибирской области. Он – Лауреат премии им. В.А. Коптюга.

«За разработку и внедрение образца нового класса иммобилизованных лекарственных средств препарата “Тромбовазим” для лечения сердечно-сосудистых заболеваний человека в условиях экстренной медицинской помощи и планового лечения» авторскому коллективу ученых и разработчиков лекарственного препарата «Тромбовазим» была вручена Государственная премия Новосибирской области 2013 г. Среди лауреатов и В.К. Шумный.

36 лет В.К. Шумный – в дирекции ИЦиГ. 15 лет – с 23 января 1970 г. по 17 декабря 1985 г. он – заместитель директора по науке ИЦиГ СО АН СССР. После кончины Д.К. Беляева в самом конце 1985 г. В.К. Шумный становится директором одного из крупнейших и авторитетных академических институтов – ИЦиГ СО АН СССР и более 21 г. – до мая 2007 г. возглавляет его. Смена руководства как бы предполагает смену сложившегося порядка. Деятельность В.К. Шумного на посту директора, особенно в самом начале, можно охарактеризовать кратко – преемственность и стабильность.

Казалось, опыт руководителя и отлаженная работа коллектива гарантируют спокойную жизнь. Однако 1990-е годы резко изменили страну. Последнее десятилетие XX столетия, как известно, явилось наиболее сложным периодом для страны и науки. Отсутствовало полноценное финансирование, которое иногда шло даже не поквартально, а помесечно, и временами на счете у Института не было денег ни для оплаты текущих платежей, ни для выплаты зарплаты, происходили резкий отток квалифицированных научных кадров за рубеж и «внутренняя эмиграция» – все эти и другие проблемы приходилось переживать всем научным коллективам. ИЦиГ СО РАН – не исключение. В.К. Шумному на посту директора ИЦиГ СО РАН в эти годы удалось сохранить материально-техническую базу и довольно сложную инфраструктуру Института, его кадровый состав и научный потенциал. Ему удалось в таких сложных условиях совместить и сочетать, с одной стороны, поддержку сложившихся в Институте научных направлений и школ, уважительное отношение к ветеранам науки, к тем, кто создал высокий научный авторитет ИЦиГ СО РАН, и, с другой стороны, перспективу развития Института он строил на создании новых направлений, на поддержке и доверии к молодым кадрам.

Всем трем директорам ИЦиГ – Н.П. Дубинину, Д.К. Беляеву и В.К. Шумному – выпала нелегкая доля: каждому по-своему приходилось бороться за выживание Института, отстаивать право генетики и генетиков на существование.

И.К. Захаров, доктор биологических наук, профессор
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,
Новосибирский государственный университет

**АКАДЕМИКУ РАН
СЕРГЕЮ ГЕОРГИЕВИЧУ ИНГЕ-ВЕЧТОМОВУ
75 ЛЕТ**



Выдающемуся ученому, возглавляющему кафедру генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, академику РАН Сергею Георгиевичу Инге-Вечтомову исполнилось 75 лет.

Кафедру генетики и селекции ЛГУ (первая возродившаяся в конце 1950-х годов кафедра генетики в нашей стране) С.Г. Инге-Вечтомов возглавил в 1973 г. Все эти годы С.Г. Инге-Вечтомов продолжал традиции и сохранял основные направления исследований в области изучения структуры и функции гена с применением разнообразных генетических моделей, заложенные основателем кафедры и его учителем М.Е. Лобашевым.

Собственные работы С.Г. Инге-Вечтомова, посвященные проблеме гена и реализации генетической информации, были начаты в 1960-х годах на новой для того времени генетической модели — дрожжах-сахаромицетах. Одним из первых научных достижений С.Г. Инге-Вечто-

мова явилось открытие ряда генов дрожжей, контролирующих точность трансляции. Исследование этих генов стало важным научным направлением в молекулярной генетике, активно развивающимся и в настоящее время. К числу достижений этого направления следует отнести прорыв в понимании механизмов терминации белкового синтеза в эукариотической клетке, произошедший в 1990-е годы. Существенный вклад в эти работы внес и коллектив, руководимый С.Г. Инге-Вечтомовым. Ярким продолжением этих исследований явилось обнаружение у дрожжей наследственных детерминантов белковой природы — прионов. Оказалось, что один из белков, обеспечивающих терминацию трансляции у дрожжей, может переходить в прионную форму. Доказательство существования такого механизма наследования в значительной мере базировалось на фактах, полученных в лаборатории С.Г. Инге-Вечтомова. В последние годы эти исследования развились в мощное направление, в которое во-

влечены десятки лабораторий по всему миру, в том числе и лаборатории, возглавляемые учениками С.Г. Инге-Вечтомова. Вклад С.Г. Инге-Вечтомова и его учеников в понимание фундаментальных основ явления белковой наследственности трудно переоценить еще и потому, что это явление по своим молекулярным механизмам имеет много общего с развитием прионных заболеваний млекопитающих.

Крупным теоретическим обобщением результатов перечисленных работ стало сформулированное С.Г. Инге-Вечтомовым представление о двух типах матричных процессов в клетке, а именно матричных процессах I и II рода. Согласно этой концепции, матричные процессы I рода ответственны за воспроизведение генетического материала и экспрессию генетической информации (репликацию, транскрипцию, трансляцию), в которых матричный полимер кодирует первичную структуру дочернего полимера. Матричные процессы II рода связаны не с матрицами первичной структуры, а с пространственными, или конформационными, матрицами, при которых воспроизводится или изменяется только пространственная (но не первичная) структура молекулы «по образу и подобию» уже существующей конформационной матрицы. Таким образом, работы С.Г. Инге-Вечтомова расширили существующие представления о значении матричного принципа в биологии, заложенного в конце 1920-х годов Н.К. Кольцовым и воплощенного в центральной догме молекулярной биологии Ф. Крика (1950–1970-е годы).

В последние годы С.Г. Инге-Вечтомов активно развивает на кафедре новое, чрезвычайно актуальное, направление исследований – экологическую генетику, изучающую генетические аспекты взаимодействия организмов, а также изменения генетического аппарата организмов под воздействием среды обитания.

С.Г. Инге-Вечтомов, академик РАН, профессор, заслуженный деятель науки РФ, автор более 250 публикаций в отечественных и международных изданиях, в том числе 6 монографий, учебников и учебных пособий. Наибольшую известность среди них имеет учебник для вузов «Генетика с основами селекции», выдержавший уже два издания.

В течение многих лет С.Г. Инге-Вечтомов читает разработанные им общие и специальные

курсы на биологическом факультете СПбГУ и возглавляемой им кафедре, постоянно дополняя и совершенствуя их. В их числе курсы «Общая генетика», «Ретроспектива генетики», «Трансляция», «Модификационная изменчивость». Под его руководством защищено около 60 кандидатских диссертаций, он являлся научным консультантом 9 докторских диссертаций.

С.Г. Инге-Вечтомов – крупный организатор науки и общественный деятель, внесший значительный вклад в развитие генетики и биологии в нашей стране. В 1992 г. при его активном участии было создано Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС) Российской Федерации, объединившее генетиков и селекционеров нашей страны в постсоветский период. С 1992 г. по 2004 г. С.Г. Инге-Вечтомов был президентом ВОГиС, а с 2004 г. по настоящее время он выполняет обязанности вице-президента этого общества. С 1989 г. по 2013 г. С.Г. Инге-Вечтомов был заместителем председателя Санкт-Петербургского Научного центра РАН, в настоящее время возглавляет Объединенный совет «Экология и природные ресурсы» СПбНЦ РАН. Помимо этого, С.Г. Инге-Вечтомов является директором Санкт-Петербургского филиала Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, председателем Совета по генетике и селекции РАН, членом ряда научных советов и редколлегий периодических научных изданий.

Активная научная, педагогическая и общественная деятельность С.Г. Инге-Вечтомова отмечена рядом правительственных наград.

Коллектив кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ

ИЗБРАННЫЕ ТРУДЫ С.Г. ИНГЕ-ВЕЧТОМОВА

Учебники и монографии

- Инге-Вечтомов С.Г. Введение в молекулярную генетику. М.: Высш. шк., 1983. 344 с.
- Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Генетический контроль синтеза белка. Л.: Изд-во ЛГУ, 1988. 294 с.
- Инге-Вечтомов С.Г., Карпова Т.С. Частная генетика дрожжей сахаромикетов (уч. Пособие). СПб.: Изд-во СПбГУ, 1993. 248 с.
- Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.:

Высш. шк., 1989. 592 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Общая генетика. Метод. пособие. СПб.: Изд-во Н-Л, 2007. 1-е изд. 2008. 2-е изд. 123 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. СПб.: Изд-во Н-Л, 2010. 720 с.

Статьи

Инге-Вечтомов С.Г. Новые генетические линии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Вестн. ЛГУ. 1963. № 21. Сер. биол. Вып. 4. С. 117–125.

Инге-Вечтомов С.Г. Супрессоры потребности в аденине у дрожжей // Генетика. 1965. № 2. С. 22–26.

Инге-Вечтомов С.Г., Райпулис Е.П. Система для учета внутригенной рекомбинации у дрожжей в мейозе // Генетика. 1966. № 10. С. 102–107.

Инге-Вечтомов С.Г. Полудоминантные супер-супрессоры у дрожжей // Генетика. 1966. № 7. С. 142–147.

Инге-Вечтомов С.Г., Сойдла Т.Р. Влияние генотипа на межallelльную комплементацию и суперсупрессию у дрожжей // Генетика. 1966. № 9. С. 141–150.

Inge-Vechtomo S.G., Soidla T.R., Kozhin S.A., Simarov B.V. Supersuppressor induced interallelic complementation // J. Mol. Biol. 1966. V. 19. No. 2. С. 583–585.

Inge-Vechtomo S.G., Soidla T.R., Kozhin S.A., Simarov B.V. Supersuppressor induced interallelic complementation // Z. vur Vererb. 1966. V. 98. No. 4. P. 375–384.

Инге-Вечтомов С.Г. Антисупрессия // Генетика. 1967. № 9. С. 176–178.

Инге-Вечтомов С.Г. «Незаконная» копуляция и полиплоидия у дрожжей // Генетика. 1967. № 11. С. 100–109.

Инге-Вечтомов С.Г., Попова И.А., Райпулис Е.П. Использование спонтанной митотической рекомбинации для анализа тонкой структуры локуса *ade1* у дрожжей *S. cerevisiae* // Генетика. 1968. Т. 4. № 81. С. 116–122.

Андреанова В.М., Инге-Вечтомов С.Г. Рецессивные суперсупрессоры у дрожжей // Генетика. 1970. Т. 6. С. 103–116.

Инге-Вечтомов С.Г. Идентификация некоторых групп сцепления у Петергофских генетических линий дрожжей // Генетика. 1971. Т. 7. № 9. С. 113–124.

Инге-Вечтомов С.Г., Ницай О.В., Тер-Аванесян М.Д. Расщепление у полиплоидов петергофских генетических линий дрожжей // Генетика. 1971. Т. 7. № 12. С. 65–73.

Inge-Vechtomo S.G., Simarov B.V., Mironova L.N. Nonsense-missense suppression in yeast // Mol. General Genet. 1971. V. 113. P. 302–307.

Инге-Вечтомов С.Г., Попова И.А., Гуковский Д.И., Кривов В.И. Тонкая структура локуса *ade1* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 1973. Т. 9. № 7. С. 101–109.

Inge-Vechtomo S.G., Smirnov V.N., Kreyer V.G., Lyzlova L.V. Recessive suppression and protein synthesis in yeast // FEBS Lett. 1973. V. 38. P. 96–100.

Smirnov V.N., Kreyer V.G., Lyzlova L.V., Andrianova V.M., Inge-Vechtomo S.G. Recessive super-suppression in yeast // Mol. General Genet. 1974. V. 124. P. 105–121.

Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Локализация мутаций во второй хромосоме дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 1974. Т. 10. № 5. С. 117–121.

Тер-Аванесян М.Д., Петрашень М.Г., Инге-Вечтомов С.Г.

Генетико-биохимическое изучение кислых фосфатаз дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. II. Изучение мутаций, влияющих на активность кислой фосфатазы I // Генетика. 1974. Т. 10. № 12. С. 101–109.

Горденин Д.А., Кваша В.В., Инге-Вечтомов С.Г. Двойные мутанты по локусу *ade2* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и их использование для внутригенного картирования // Генетика. 1975. Т. 11. № 4. С. 121–133.

Кваша В.В., Горденин Д.А., Инге-Вечтомов С.Г. Распределение некомплементирующих и полярно комплементирующих мутаций в локусе *ade2* у дрожжей // Генетика. 1976. Т. 12. № 5. С. 126–138.

Smirnov V.N., Surguchov A.P., Fominich V.S., Lizlova L.V., Saprigina T.V., Inge-Vechtomo S.G. Recessive nonsense-suppression in yeast: Further characterization of a defect in translation // FEBS Lett. 1976. V. 66. No. 1. P. 12–15.

Инге-Вечтомов С.Г. Принцип поливариантности матричных процессов. Исследования по генетике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1976. Вып. 7. С. 7–19.

Ле Динь-Льонг, Иванов Е.Л., Егорова В.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Мутационная изменчивость морфологии колоний и клеток у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Генетика. 1978. Т. 14. № 9. С. 1543–1551.

Инге-Вечтомов С.Г., Ватти К.В., Асланян М.М. О преподавании генетики в университетах страны // Генетика. 1979. Т. 15. № 6. С. 1131–1135.

Smirnov V.N., Surguchov A.P., Smirnov M.N., Berestetskaya Yu.V., Inge-Vechtomo S.G. Recessive nonsense suppression in yeast: involvement of 60S ribosomal subunit // Mol. General Genet. 1978. V. 163. P. 87–90.

Surguchov A.P., Berestetskaya Yu.V., Fominykh E.S., Pospelova E.M., Smirnov V.N., Ter-Avanesyan M.D., Inge-Vechtomo S.G. Recessive suppression in yeast *Saccharomyces cerevisiae* is mediated by a ribosomal mutation // FEBS Lett. 1980. V. 3. No. 1. P. 175–178.

Surguchov A.P., Fominykh E.S., Berestetskaya Yu.V., Smirnov V.N., Inge-Vechtomo S.G. Recessive nonsense suppression in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The study of 80S ribosomes accumulated in suppressor strain under nonpermissive conditions // Mol. General Genetics. 1980. V. 177. P. 675–680.

Surguchov A.P., Berestetskaya Yu.V., Smirnov V.N., Ter-Avanesyan M.D., Inge-Vechtomo S.G. Ribosomal mutants in eukaryotes. The use of antibiotics for the study of recessive suppression in yeast // FEMS Microbiol. Lett. 1981. V. 12. P. 381–384.

Surguchov A.P., Fominykh E.S., Smirnov V.N., Ter-Avanesyan M.D., Inge-Vechtomo S.G. Further characterization of recessive suppression in yeast. Isolation of the low-temperature sensitive mutants of *Saccharomyces cerevisiae* defective in the assembly of 60S ribosomal subunit // Biochem. Biophys. Acta. 1981. V. 654. P. 149–155.

Pavlov Yu.I., Khromov-Borisov N.N., Inge-Vechtomo S.G. 2-Fluorenamine – indirect recombinogen for *Saccharomyces cerevisiae* // Mutat. Res. 1981. V. 91. P. 221–224.

Горденин Д.А., Инге-Вечтомов С.Г. Механизм возникновения мутантов по гену *ade2* у диплоидных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при действии ультрафиолетового света // Генетика. 1981. Т. 17. № 5. С. 822–831.

Mironova L.N., Provorov N.A., Ter-Avanesyan M.D., Inge-

- Vechtomov S.G. The effect of paromomycin on the expression of ribosomal suppressors in yeast // *Curr. Genet.* 1982. V. 5. No. 2. P. 149–152.
- Ter-Avanesyan M.D., Zimmermann J., Sudarikov A.B., Smirnov V.N., Surguchov A.P., Inge-Vechtomov S.G. Ribosomal recessive suppressors cause a respiratory deficiency in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. General Genet.* 1982. V. 185. No. 2. P. 319–323.
- Кваша В.В., Сойдла Т.Р., Горденин Д.А., Михайлова Н.П., Инге-Вечтомов С.Г. Анализ рекомбинационной и комплементационной карт гена *ade2* у дрожжей // *Генетика.* 1982. Т. 18. № 4. С. 565–574.
- Surguchov A.P., Sudarikov A.B., Telckov M.V., Smirnov V.N., Ter-Avanesyan M.D., Inge-Vechtomov S.G. Relationship between cytoplasmic and mitochondrial protein synthesis in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. General Genet.* 1983. V. 189. P. 172–174.
- Карпова Т.С., Горденин Д.А., Андрианова В.М., Инге-Вечтомов С.Г. Генетический экспресс-тест для различения гаплоидов и автодиплоидов у дрожжей-сахаромицетов // *Генетика.* 1983. Т. 19. № 12. С. 1934–1940.
- Сургучев А.П., Пиперсберг В., Смирнов В.Н., Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Клонирование гена *sup1* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Докл. АН СССР.* 1983. Т. 272. № 4. С. 987–991.
- Kurischko C., Weber H., Inge-Vechtomov S.G. Development of breeding stocks of the yeast *Saccharomycopsis lipolytica* by method of moderate inbreeding // *Zeitschrift fur Allgemeine Microbiol.* 1983. V. 23. No. 8. P. 513–515.
- Ter-Avanesyan M.D., Mironova L.N., Zlatkin I.V., Smirnov V.N., Surguchov A.P., Inge-Vechtomov S.G. Drug-dependent mutants in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Curr. Genet.* 1983. V. 7. P. 357–362.
- Тер-Аванесян М.Д., Сургучев А.П., Смирнов В.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Исследования функциональной гомологии рибосомных супрессорных генов *sup1* и *sup2* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Докл. АН СССР.* 1984. Т. 277. № 3. С. 713–716.
- Карпова Т.С., Инге-Вечтомов С.Г. Селективная система цитодукции с использованием рецессивных супрессоров у дрожжей-сахаромицетов // *Генетика.* 1984. Т. 20. № 3. С. 398–407.
- Карпова Т.С., Инге-Вечтомов С.Г. Доминантные супрессоры, эффективные при пониженной температуре (*SLT*) у дрожжей сахаромицетов // *Генетика.* 1984. Т. 20. № 10. С. 1620–1627.
- Karova T.S., Gordenin D.A., Kozhina T.N., Andrianova V.M., Inge-Vechtomov S.G. Rapid genetic test for discrimination between haploid and polyploid transformants in *Saccharomyces* // *Curr. Genet.* 1984. V. 8. No. 5. P. 341–344.
- Pavlov Yu.I., Khromov-Borisov N.N., Schevchenko L.P., Alekseevitch L.A., Inge-Vechtomov S.G. Comparisons of the promutagen-activating capacity of S9 liver preparation from mouse and chicken using in vitro tests with *Salmonella* and yeast // *Mutat. Res.* 1984. V. 140. P. 75–79.
- Тер-Аванесян М.Д., Сургучев А.П., Смирнов В.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Генетический контроль неоднозначности трансляции у эукариот // *Усп. соврем. биологии.* 1984. Т. 97. Вып. 3. С. 341–353.
- Савицкий В.В., Лучникова Е.М., Инге-Вечтомов С.Г. Влияние метаболизма стерина в системе дрожжи–дрозофила на частоту радиационно-индуцированной анеуплоидии в ооцитах *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* 1985. Т. 21. № 7. С. 1135–1142.
- Pavlov Yu.I., Noskov V.N., Repnevskaya M.V., Karpova T.S., Khromov-Borisov N.N., Chekuolene J., Chitavichus D., Inge-Vechtomov S.G. Tests for genetic activity in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: study of forward and reverse mutations, mitotic recombination and illegitimate mating induction // *Progr. Mutat. Res. Evaluation of Short-term Tests for Carcinogens.* 1985. V. 5. P. 243–255.
- Инге-Вечтомов С.Г. Действие гена и механизмы модификаций // *Вестн. АН СССР.* 1986. № 4. С. 22–30.
- Repnevskaya M.V., Karpova T.S., Inge-Vechtomov S.G. Hybridization and cytoduction among yeast cells of the same mating type // *Curr. Genet.* 1987. V. 12. P. 511–517.
- Repnevskaya M.V., Inge-Vechtomov S.G. Phenotypic expression of primary lesions of genetic material in *Saccharomyces yeast* // *Genome.* 1989. V. 31. P. 497–502.
- Kushnirov V.V., Ter-Avanesyan M.D., Surguchov A.P., Smirnov V.N., Inge-Vechtomov S.G. Localization of possible functional domains in *sup2* gene product of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *FEBS Lett.* 1987. V. 215. No. 2. P. 257–260.
- Чернов Ю.О., Деркач И.Л., Дагкесаманская А.Р., Тихомирова В.Л., Тер-Аванесян М.Д., Инге-Вечтомов С.Г. Нонсенс супрессия при амплификации гена, кодирующего белковый фактор трансляции // *Докл. АН СССР.* 1988. Т. 301. № 5. С. 1227–1229.
- Карпова Т.С., Тиходеев О.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Селективные системы для получения рецессивных рибосомных супрессоров у дрожжей // *Генетика.* 1988. Т. 24. № 7. С. 1159–1165.
- Repnevskaya M.V., Inge-Vechtomov S.G. Phenotypic expression of primary lesions of genetic material in *Saccharomyces yeast* // *Genome.* 1989. V. 31. P. 497–502.
- Бондаренко Л.В., Лучникова Е.М., Инге-Вечтомов С.Г. Влияние на плодовитость самок дрозофилы метаболизма стерина в эколого-генетической системе дрожжи–дрозофила // *Онтогенез.* 1989. Т. 20. № 2. С. 141–148.
- Kushnirov V.V., Ter-Avanesyan M.D., Didichenko S.A., Smirnov V.N., Chernoff Y.O., Derkach I.L., Novikova O.N., Neistat M.A., Tolstorukov I.I., Inge-Vechtomov S.G. Divergence and conservation of *SUP2(SUP35)* gene in yeasts *Pichia pinus* and *S. cerevisiae* // *Yeast.* 1990. V. 6. No. 6. P. 461–472.
- Кушниров В.В., Тер-Аванесян М.Д., Дагкесаманская А.Р., Чернов Ю.О., Смирнов В.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Делеционный анализ гена *SUP2* дрожжей *S. cerevisiae* // *Молекуляр. биология.* 1990. Т. 24. Вып. 4. С. 1037–1041.
- Ono B., Ishino-Arao Y., Yamagishi N., Shinoda S., Chernoff Y.O., Inge-Vechtomov S.G. Interactions between chromosomal omnipotent suppressors and extrachromosomal effects in *S. cerevisiae* // *Curr. Genet.* 1991. V. 19. P. 243–248.
- Лутова Л.А., Левашина Е.А., Бондаренко Л.В., Байрамова Н.Л., Андропова Е.В., Инге-Вечтомов С.Г. Мутанты высших растений по биосинтезу стерина // *Генетика.* 1992. Т. 28. № 2. С. 129–136.
- Chernoff Y.O., Derkach I.L., Ptyushkina M.V., Tarunina O.V., Dagkesamanskaya A.R., Ter-Avanesyan M.D., Inge-Vechtomov S.G. Dosage-dependent translational suppression in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast.* 1992. V. 8.

- P. 489–499.
- Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V., Dagkesamanskaya A.R., Didichenko S.A., Chernoff Y.O., Smirnov V.N., Inge-Vechtomov S.G. Deletion analysis of *SUP35* gene of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* reveals two nonoverlapping functional regions in the encoded protein // *Mol. Microbiol.* 1993. V. 7. P. 683–692.
- Chernoff Y.O., Derkach I.L., Inge-Vechtomov S.G. Multicopy *SUP35* gene induces *de novo* appearance of psi-like factors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Curr. Genet.* 1993. V. 24. P. 268–270.
- Инге-Вечтомов С.Г., Миронова Л.Н., Тер-Аванесян М.Д. Неоднозначность трансляции: версия эукариот? // *Генетика*. 1994. Т. 30. № 8. С. 1022–1035.
- Zhouravleva G., Frolova L., Le Goff X., Le Guillec R., Inge-Vechtomov S., Kisselev L., Philippe M. Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors eRF1 and eRF3 // *EMBO J.* 1995. V. 14. No. 16. P. 4065–4072.
- Chernoff Yu.O., Lindquist S.L., Ono B., Inge-Vechtomov S., Liebman S.W. Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of the yeast prion-like factor [PSI⁺] // *Science*. 1995. V. 268. P. 880–884.
- Tikhomirova V.L., Inge-Vechtomov S.G. Sensitivity of *sup35* and *sup45* mutants in *Saccharomyces cerevisiae* to antimicrotubule drug benomyl // *Curr. Genet.* 1996. V. 30. No. 1. P. 44–49.
- Derkatch I.L., Chernov Y.O., Kushnirov V.V., Inge-Vechtomov S.G., Liebman S.W. Genesis and variability of [PSI] prion factors in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. 1996. V. 144. P. 1375–1383.
- Задорский С.П., Инге-Вечтомов С.Г. Ген *SUP35 Pichia methanolica* проявляется как рецессивный супрессор в геноме *Saccharomyces cerevisiae* // *Докл. АН*. 1998. Т. 361. № 6. С. 825–829.
- Derkatch I.L., Bradley M.E., Masse S., Zadorsky S.P., Polozkov G.I., Inge-Vechtomov S.G., Liebman S.W. Dependence and independence of [PSI⁺] and [PIN⁺]: a two-prion system in yeast? // *EMBO J.* 2000. V. 19. P. 1942–1952.
- Журавлева Г.А., Миронова Л.Н., Инге-Вечтомов С.Г. Геном дрожжей и первые шаги в постгеномную эру // *Молекуляр. биология*. 2000. Т. 34. № 4. С. 560–571.
- Куликов В.Н., Тиходеев О.Н., Форафонов Ф.С., Борхсениус А.С., Аленин В.В., Инге-Вечтомов С.Г. Супрессия мутации «сдвиг рамки считывания» в результате частичной инактивации факторов терминации трансляции у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Генетика*. 2001. Т. 37. № 5. С. 602–609.
- Borchsenius A.S., Wegrzyn R.D., Newman G.P., Inge-Vechtomov S.G., Chernoff Yu.O. Yeast prion protein derivative defective in aggregate shearing and production of new «seeds» // *EMBO J.* 2001. V. 20. No. 23. P. 6683–6691.
- Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей и центральная догма молекулярной биологии // *Вестник РАН*. 2000. Т. 70. № 4. С. 299–306.
- Инге-Вечтомов С.Г. Возможная роль неоднозначности трансляции в эволюции генов // *Молекуляр. биология*. 2002. Т. 36. № 2. С. 268–276.
- Cosson B., Couturier A., Chabelskaya S., Kiktev D., Inge-Vechtomov S.G., Philippe M., Zhouravleva G. Poly(A)-Binding Protein acts in translation termination via eRF3 interaction and does not influence [PSI⁺] propagation // *Mol. Cell. Biol.* 2002. V. 22. No. 10. P. 3301–3315.
- Volkov K.V., Aksenova A.Yu., Soom M.J., Osipov K.V., Svitin A.V., Kurischko C., Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., Mironova L.N., Inge-Vechtomov S.G. Non-Mendelian determinant involved in the control of translation accuracy in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. 2002. V. 160. No. 1. P. 25–36.
- Inge-Vechtomov S., Zhouravleva G., Phillip M. Eukaryotic release factors (eRFs) history // *Biol. Cell*. 2003. V. 95. P. 195–209.
- Zhouravleva G.A., Alenin V.V., Inge-Vechtomov S.G., Chernoff Yu.O. To stick or not to stick: Prion domains from yeast to mammals // *Recent Res. Develop. Mol. Cell. Biol.* 2002. V. 3. P. 185–218.
- Moskalenko S.E., Chabelskaya S.V., Philippe M., Inge-Vechtomov S.G., Zhouravleva G.A. Viable nonsense mutants for the essential gene SUP45 of *Saccharomyces cerevisiae* // *BMC Mol. Biol.* 2003. V. 4. No. 2. P. 1–15.
- Задорский С.П., Борхсениус А.С., Сопова Ю.В., Старцев В.А., Инге-Вечтомов С.Г. Супрессия нонсенс-мутаций и мутаций сдвига рамки считывания при различных способах инактивации фактора терминации трансляции eRF3 у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Генетика*. 2003. Т. 39. № 4. С. 489–494.
- Инге-Вечтомов С.Г. Матричный принцип в биологии // *Экол. генетика*. 2003. Т. 1. Вып. 0. С. 6–15.
- Инге-Вечтомов С.Г., Борхсениус А.С., Задорский С.П. Белковая наследственность: конформационные матрицы и эпигенетика // *Информ. вестн. ВОГиС*. 2004. Т. 8. № 2. С. 60–66.
- Борхсениус А.С., Репневская М.В., Куришко К., Инге-Вечтомов С.Г. Связь нарушения кариогамии и терминации трансляции у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Генетика*. 2005. Т. 41. № 2. С. 178–186.
- Инге-Вечтомов С.Г. Роль генетических процессов в модификационной изменчивости. Пророчество Б.Л. Астаурова // *Онтогенез*. 2005. № 4. С. 274–279.
- Журавлева Г.А., Москаленко С.Е., Шабельская С.В., Филипп М., Инге-Вечтомов С.Г. Повышенный уровень тРНК в клетках дрожжей с мутантными факторами терминации трансляции eRF1 и eRF3 // *Молекуляр. биология*. 2006. Т. 40. № 4. С. 647–653.
- Zhouravleva G., Schepachev V., Petrova A., Tarasov O., Inge-Vechtomov S.G. Evolution of translation termination factor eRF3: Is GSPT2 generated by retrotransposition of GSPT1's mRNA? // *IUBMB Life*. 2006. V. 58. No. 4. P. 199–202.
- Volkov K., Osipov K., Valouev I., Inge-Vechtomov S., Mironova L. N-terminal extension of *Saccharomyces cerevisiae* translation termination factor eRF3 influences the suppression efficiency of *sup35* mutations // *FEMS Yeast Res.* 2007. P. 357–365.
- Галкин А.П., Миронова Л.Н., Журавлева Г.А., Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей, амилоидозы млекопитающих и проблема протеомных сетей // *Генетика*. 2006. Т. 42. № 11. С. 1–13.
- Inge-Vechtomov S.G., Zhouravleva G.A., Chernoff Yu.O. Biological roles of prion domains. Chapter 7 // *Protein Based Inheritance / Ed. Yu.O. Chernoff. Landes Bioscience*. 2007. P. 93–105.
- Kiktev D., Inge-Vechtomov S.G., Zhouravleva G. Prion-

- dependent lethality of *sup45* mutants in *Saccharomyces cerevisiae* // *Prion*. 2007. V. 1. Issue 2. P. 136–143.
- Инге-Вечтомов С.Г. Не проигрывайте выигрышных партий. К 100-летию М.Е. Лобашова // *Генетика*. 2007. Т. 43. № 10. С. 1287–1298.
- Saifitdinova A.F., Nizhnikov A.A., Lada A.G., Rubel A.A., Magomedova Z.M., Ignatova V.V., Inge-Vechtomoov S.G., Galkin A.P. [NSI⁺]: a novel non-Mendelian determinant in *Saccharomyces cerevisiae* // *Curr. Genet*. 2010. V. 56. P. 467–478.
- Инге-Вечтомов С.Г. Что мы знаем об изменчивости? // *Экол. генетика*. 2010. Т. 8. № 4. С. 4–9.
- Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей как модель инфекционных нейродегенеративных амилоидозов человека // *Онтогенез*. 2011. Т. 42. № 2. С. 1–9.
- Kochenova O.V., Soshkina J.V., Stepchenkova E.I., Inge-Vechtomoov S.G., Shcherbakova P.V. Participation of translesion synthesis DNA polymerases in the maintenance of chromosome integrity in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Biochemistry (Mosk)*. 2011. V. 76. No. 1. P. 49–60.
- Nizhnikov A.A., Magomedova Z.M., Rubel A.A., Kondrashkina A.M., Inge-Vechtomoov S.G., Galkin A.P. [NSI (+)] determinant has a pleiotropic phenotypic manifestation that is modulated by SUP35, SUP45, and VTS1 genes // *Curr. Genet*. 2012. V. 58. No. 1. P. 35–47.
- Инге-Вечтомов С.Г., Галкин А.П., Сопова Ю.В., Рубель А.А. Прионы, белковая наследственность и эпигенетика // *Эпигенетика*. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012.
- Инге-Вечтомов С.Г. Матричный принцип как парадигма современной генетики // *Генетика*. 2013. Т. 49. № 1. С. 9–15.

УДК 575.1/2: 576.162 (092)

ТАЛАНТЛИВЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ МЕЙОЗА. К 75-ЛЕТИЮ И.Н. ГОЛУБОВСКОЙ

© 2014 г. Ю.Ф. Богданов

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия,
e-mail: yubogdanov@vigg.ru

Поступила в редакцию 21 февраля 2014 г. Принята к публикации 21 марта 2014 г.



19 января 2014 г. исполнилось 75 лет со дня рождения Инны Никитичны Голубовской, доктора биологических наук, действительного члена Российской академии естественных наук (РАЕН), талантливого российского цитогенетика, имеющего широкое международное признание как выдающегося исследователя генетики и цитогенетики процесса мейоза у растений.

Выпускница Ленинградского государственного университета, научный сотрудник Института цитологии и генетики СО АН СССР (Новосибирск, 1963–1986 гг.) и руководитель коллектива во Всесоюзном научно-исследовательском институте растениеводства им. Н.И. Вавилова в Ленинграде (Санкт-Петербурге) (1986–1998 гг.), Инна Никитична провела око-

ло двух десятилетий своей исследовательской деятельности в США в двух лабораториях: в Университете Северной Дакоты и Калифорнийском университете Беркли. В 2011 г. в журнале «Genetics» американские коллеги И.Н. Голубовской опубликовали статью: «Inna Golubovskaya: The life of a geneticist studying meiosis» (Cande, Freeling, 2011). Статья начиналась словами о том, что у кукурузы, генетика которой великолепно изучена, включая скрининг мужской стерильности, открыто более 50 мутаций, относящихся к 35 генам, которые влияют на ключевые события в профазе мейоза: спаривание, синапсис и рекомбинацию гомологичных хромосом в мейозе. Большинство из этих мутаций и генов открыты И. Голубовской в ходе ее замечательной карьеры цитогенетика. Помимо предпринятого ею общего цитологического исследования для классификации мутантных фенотипов, Голубовская сосредоточила усилия на изучении нескольких ключевых регуляторных мутаций ... Эта фраза, как и сам факт «бенефисной» статьи в «Genetics» – авторитетнейшем журнале Генетического общества Америки – свидетельство выдающейся роли исследований Инны Никитичны Голубовской в мировой литературе о генетических механизмах мейоза и цитологическом проявлении действия этих генов.

Генетикой и цитогенетикой мейоза у кукурузы Инна Никитична занялась через несколько лет после окончания кафедры генетики и селекции Ленинградского государственного университета (1963 г.). На этой кафедре, руко-

водимой тогда профессором М.Е. Лобашёвым, она и ее сокурсник М.Д. Голубовский, ставший ее мужем, получили прекрасное генетическое образование для тех лет лысенковского господства в биологии. Методы генетического анализа и генетику растений они изучали у высококвалифицированного генетика и педагога профессора В.С. Федорова. О нем хранят добрую память выпускники ЛГУ 1950–1960-х гг.

После выполнения дипломных работ под руководством В.С. Федорова, Инна и Михаил Голубовские уехали в Новосибирск, где в Академгородке разворачивал работу молодой Институт цитологии и генетики Сибирского отделения АН СССР.

Увлечение И.Н. Голубовской малоизвестной для советских генетиков 1960–1970-х годов, но абсолютно фундаментальной проблемой мейоза («генетикой генетического процесса», каким является мейоз) началось в конце 1960-х годов, когда Инна Никитична работала в лаборатории цитогенетики растений ИЦиГ СО РАН, руководимой замечательным генетиком «довоенной» школы профессором Верой Вениаминовной Хвостовой. Исследуя мейоз у пшенично-пырейных амфидиплоидов, что было темой ее кандидатской диссертации (Голубовская, 1970), и, знакомясь с мировой литературой, Инна Никитична убедилась, что фундаментальные генетические процессы – рекомбинация, репарация и возникновение мутаций и их судьба – связаны с мейозом. Этот вывод послужил для зарубежных генетиков, а в СССР для И.Н. Голубовской, «идейной и методической основой целевого поиска мейотических мутантов» (слова И.Н. Голубовской). Но у И.Н. Голубовской были и другие аргументы. Она обладает даром четко улавливать и весомо выражать существенные явления и их следствия. В 1983 г. она писала в автореферате своей докторской диссертации: «Необходимость прямого изучения генетики мейоза неотвратимо следовала и из другой линии исследований, а именно из работ в области цитогенетики амфидиплоидов отдаленных гибридов подтрибы *Triticinae*» (Голубовская, 1983).

Еще во время работы над кандидатской диссертацией Голубовская убедилась в эффективности генетической стратегии в деле изучения мейоза. К тому времени генетики, работавшие

с дрозифилой, кукурузой, горохом, томатом, грибами *Coprinus* и *Podospora*, открыли у каждого объекта по несколько мутаций мей-генов, и И.Н. Голубовской стало ясно, что описание того, как изменяется мейоз в результате этих мутаций, может позволить «препарировать» его генетически, разделить его на этапы. Основы такой стратегии Инна Никитична изложила в своем первом обзоре проблем мейоза «Генетический контроль поведения хромосом в мейозе» в коллективной монографии, опубликованной советскими цитологами и генетиками (Голубовская, 1975), и затем усилила эту концепцию в обзоре, опубликованном в «International Review of Cytology» (Golubovskaya, 1979).

В 1970-х годах И.Н. Голубовская приступила к работе над собственным проектом: начала насыщать геном кукурузы химически индуцированными мутациями, влияющими на ход мейоза. Голубовская выбрала кукурузу среди всех цветковых растений, так как кукуруза была генетически наиболее изученным объектом. Заведующая лабораторией В.В. Хвостова волновалась: удастся ли молодому генетику индуцировать и сохранить мутации, которые не затрагивали бы аппарат митоза, позволили бы растениям сформироваться, заложить колосья и затронуть только мейоз в пыльниках и завязях? Она просила директора ИЦиГ Дмитрия Константиновича Беляева создать благоприятные условия для проведения этой работы, и эти условия были созданы. Голубовская проводила работу на поле в Краснодарском крае. Вспоминая о начальном периоде этой работы, Инна Никитична писала в частном письме: «В Краснодаре я работала с благословения и при полной поддержке Михаила Ивановича Хаджинова на базе КНИИСХ (Краснодарский НИИ сельского хозяйства). Более 50 семей кукурузы, расщепляющихся по мужской стерильности и накопившихся в отделе кукурузы от опытов с химическими супермутагенами И.А. Раппопорта, послужили источником 13 мейотических мутантов, которые я описала в 1970-х».

Некоторые мутации напоминали таковые, описанные Бидлом в 1930-е годы (Beadle, 1932). Поэтому в 1976 г. Голубовская попросила Сток-центр Генетической кооперации кукурузы в США прислать ей семена референтных аллелей 6 доступных мутаций мей-генов и немедленно

начала тестирование изолированных ею мутаций на аллелизм, картирование генов и создала все возможные комбинации аллелей на известном генетическом фоне. Один из выделенных ею мутантов оказался аллелем гена *polymitotic* (Beadle, 1929), другой, *pral*, – аллелем мутации *ameiotic1* (Golubovskaya *et al.*, 1997), который блокирует инициацию мейоза. У гомозигот по мутации *aml*, открытой Бидлом, спорогенные клетки заканчивают предмейотические митозы, но в мейоз не вступают. Аллель *aml-pral*, открытый Голубовской, отличался тем, что при его наличии мейоз начинается, но на стадии лептотены–зиготены блокируется. Абсолютно новой и уникальной оказалась мутация *afd1* (*absence of first division*). У гомозигот по этой мутации в клетках, вступивших в профазу I мейоза, сестринские хроматиды расходятся во время анафазы I эквационно, как в митозе, вместо редукционного расхождения гомологичных хромосом (Голубовская, Машенков, 1975). Затем Голубовская совместно с Н.Б. Христовой изучила проявление этого и других генов мейоза на ультраструктурном уровне (Golubovskaya, Khristolubova, 1985). Позднее, в 2000-е годы, Голубовская сумела существенно обновить описание этого гена и опубликовала фундаментальное описание его функции (Golubovskaya *et al.*, 2006). В статьях, опубликованных в 1970–1980-е гг., И.Н. Голубовская шаг за шагом создала серию двойных мутантов, установила эпистатические взаимоотношения нескольких ключевых генов мейоза и вместе с соавторами описала свою оригинальную коллекцию мутаций генов мейоза у кукурузы (Голубовская, Машенков, 1977; Голубовская, Ситникова, 1980; Голубовская и др., 1980; Голубовская, Урбах, 1981; Шамина и др., 1981; Голубовская, 1988). Используя серию из 17 транслокаций между В-хромосомами и хромосомами основного набора в качестве маркеров для поиска сцепления и проявив высокую культуру генетического анализа, Инна Никитична локализовала мутацию *afd* в хромосоме 6L, а другую мейотическую мутацию – *ms28* – в хромосоме 1S (Голубовская, 1987).

Эти исследования И.Н. Голубовской развивались параллельно с началом интенсивного исследования генов мейоза у делящихся и почкующихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*

и *Sacharomyces cerevisiae* в США, Израиле, Японии и Европе. Однако в своем обзоре Голубовская первая в мировой литературе изложила концепцию анализа генетического контроля мейоза (Golubovskaya, 1979). Для этого она использовала собственный экспериментальный материал и сравнение его с достижениями мировой науки в этой области. Проведенный ею анализ показал, что сходство основных цитологических явлений, происходящих в мейозе у самых разных организмов, сопровождается сходством фенотипического проявления мутаций мей-генов и можно построить универсальную картину генетического контроля мейоза как процесса, весьма консервативного для эукариот: от одноклеточных водорослей и грибов до высших растений и человека. Исходя из общего положения о важности определения места и времени действия каждого гена, Голубовская разделила совокупность всех известных генов на три категории: 1) гены, контролирующие блоки (начало каскадов) событий, такие как инициация мейоза, спаривание и синапсис хромосом, рекомбинации и т. д.; 2) гены, контролирующие «элементарные» явления, например элонгацию синапсиса или десинапсис хромосом и 3) гены, оказывающие действие на поведение отдельных хромосом; половую специфику мужского и женского мейоза или его специфику у разных объектов (Golubovskaya, 1979). Эту концепцию она проверила и подтвердила экспериментально на мейозе у кукурузы и включила в свою докторскую диссертацию, которую защитила в 1983 г. в ИЦиГ СО АН СССР. Еще до защиты диссертации ее доклад на секции 14-го Генетического конгресса в Москве в 1978 г. получил высокую оценку ведущего американского генетика кукурузы Эдварда Кои (Е. Сое). Он включил И.Н. Голубовскую в список адресатов для рассылки информационного бюллетеня «The Maize Genetics Cooperation Newsletters». Профессор Кои начал снабжать Голубовскую генетической литературой, его поддержка сыграла важную роль в последующее десятилетие ее научной карьеры.

В результате этого этапа исследований генетики мейоза у кукурузы к концу 1980-х годов достижения И.Н. Голубовской заслужили международное признание. Свидетельством этого стала публикация ее генетической концепции мейоза в «Advances of Genetics» (Golubovskaya, 1989).

Позднее зарубежные биографы И.Н. Голубовской, З. Канди и М. Фриллинг, квалифицировали ее как ученого, получившего в мировом сообществе генетиков репутацию «лучшего генетика кукурузы в СССР» 1980-х годов. В период бурного развития молекулярной и клеточной биологии, а в генетике – изучения прокариот и одноклеточных эукариот, работы Голубовской привлекли внимание генетиков к мейозу у цветковых растений. По мнению американских ученых, ставших ее коллегами в 1990-е годы, работы Голубовской «оживили цитогенетику кукурузы во всем мире» (Cande, Freeling, 2011).

В 1986 г. Голубовская вернулась из Новосибирска в родной Ленинград и возглавила исследовательскую группу во Всесоюзном НИИ растениеводства (ВНИИР). Вокруг нее сложилась группа исследователей: Н.А. Авалкина, И.И. Абрамова, Е.А. Голубева, З.К. Гребенникова, Л.П. Тимофеева (г. Таллин) и другие, овладевшие методами исследования цитологии мейоза в мегаспорах и новыми методами анализа синаптонемных комплексов в пыльниках. Группа Голубовской включила в круг своих научных интересов изучение действия генов в женском мейозе в семяпочках у кукурузы, исследование которого намного сложнее, чем мужского мейоза в пыльниках.

Перестройка и бедственное положение науки в России в 1990-е годы вынудили Голубовскую воспользоваться возможностью продолжения ее исследований в США. Доктор В.Ф. Шеридан пригласил группу советских генетиков участвовать в 33-й Ежегодной конференции в США по генетике кукурузы, а в 1992 г. – в Рабочем двустороннем совещании генетиков кукурузы США и России, и Голубовская впервые посетила Америку. Шеридан включил Голубовскую в свой проект. Сотрудничество с Шериданом в описании результатов изучения действия мутантных генов на женский мейоз у кукурузы привело к публикации статей в ведущих международных и американских генетических журналах (Golubovskaya *et al.*, 1992, 1993). С 1993 г. по 1998 г. Инна Никитична ежегодно приезжала в лабораторию Шеридана на 3–6 месяцев и регулярно вызывала на работу в США своих петербургских и таллинских коллег.

В 1990-е годы быстрыми темпами развивались исследования генетики мейоза у дрожжей.

Это происходило в США, Японии и Европе. К 1995 г. было открыто более 300 генов мейоза у *S. cerevisiae*. Работая в Новосибирске и в Ленинграде, Голубовская могла получать лишь одно, иногда два поколения растений в год, используя поле в субтропиках, в Адлере. В США она организовала полевую работу не только на севере и теплом юге страны, но и в тропиках, на Гавайских островах, и получала три поколения растений в год.

Благодаря хорошим условиям для научной работы в США Голубовская смогла легко использовать современные методы инсерционного мутагенеза с помощью *Mu*-транспозонов, изоляции и молекулярного анализа генов. За 6 лет работы в лаборатории Шеридана Голубовская изолировала 14 мутаций новых генов и аллелей ранее известных генов. Большинство из этих мутаций затрагивало процессы мейотического спаривания и синапсиса хромосом (Golubovskaya *et al.*, 2003). Инна Никитична нашла новые аллели «классического» гена *ameiotic1* и новые гены и их аллели *mac1* и *psh1*. Ею совместно с коллегами было установлено, что ген *Mac1* является регулятором дифференциации тканей клеток и в пыльнике, и в завязи, но не принимает участия в контроле самого мейоза. Рecessивная мутация *mac1* снимает ограничение на дифференцировку только одной материнской мегаспоры. В пыльниках гомозигот *mac1/mac1* исчезает слой клеток тапетума и появляются дополнительные материнские клетки пыльца, а в семяпочке – множественные археспориальные клетки, которые становятся затем множественными мегаспорами. В этом исследовании Голубовская была главным разработчиком и теоретиком исследования и привлекла к исследованию своих коллег из Петербурга (Sheridan *et al.*, 1996, 1999). Изоляция и описание мейотических фенотипов гена *psh1* и новых аллелей *am485* и *am489*, сделанные Голубовской, позволили позднее молодому сотруднику Шеридана В. Павловскому, при участии Голубовской, выполнить молекулярный анализ этих генов (Pawlowski *et al.*, 2004, 2009). Работа в лаборатории Шеридана позволила Голубовской накопить ресурсы, необходимые для поддержания и размножения ее оригинальной коллекции мутантов, индуцированных с помощью химического мутагенеза, а также обновить

свой методический арсенал и освоиться с американским стилем науки.

В 1999 г. Инна Никитична была приглашена на работу в лабораторию клеточной и молекулярной биологии Калифорнийского университета в Беркли. Руководитель лаборатории в Беркли профессор В.З. Канди организовал программу исследования трехмерной организации хромосомного аппарата мейоза у кукурузы. Инна Никитична предоставила свои мутанты и курировала исследования трехмерных картин цитоскелета, организации и поведения пахитенных хромосом и другие работы. С помощью *in situ*-гибридизации ДНК иммуноцитохимии белков и новой микроскопической техники (конфокального и деконволюционного микроскопов) она повторно изучила цитологическое проявление открытой ею в Краснодаре мутации *plural abnormalities of meiosis 1 (pam1)* (Голубовская, Машенков, 1977) и установила, что первичной аномалией, которую вызывает эта мутация, является нарушение группировки теломер на внутренней оболочке ядра в ранней профазе I мейоза и формирования зиготенного букета хромосом (Golubovskaya *et al.*, 2002). С развитием в 1990-е годы молекулярной биологии мейоза эти исследования привлекли внимание цитогенетиков к необходимости изучения молекулярных механизмов формирования «букета» как этапа инициации синапсиса всех хромосом. И.Н. Голубовская стала главным экспертом по проблемам цитологии мейоза и фенотипического проявления мейотических генов в методически хорошо оснащенной лаборатории Канди, под ее контролем сотрудники лаборатории клонировали несколько мейотических генов кукурузы: *afd1*, *aml*, *psh1*, *sgo1*. Было установлено, что мутация *afd1* приводит к потере способности хромосом сохранять когезию сестринских хроматид на протяжении профазы I мейоза и проходить эту стадию, а также «инсталлировать» на синаптонемных комплексах фокусы белка Rad51 – одного из ключевых ферментов репарации и рекомбинации ДНК. Белок Afd1 оказался α -клеисинном – компонентом специфически мейотического варианта когезинового комплекса хромосом, необходимого для формирования латеральных элементов синаптонемного комплекса, помимо того что он предохраняет сестринские хрома-

тиды от разъединения в MI (Golubovskaya *et al.*, 2006). Эти находки объяснили эпистаз гена *Afd1* по отношению к остальным генам мейоза, кроме более ранних (по времени действия) генов *Mac1* и *Aml*.

Еще в Петербурге в 1980-х годах, а затем в лаборатории Шеридана Голубовская установила, что множественные мутантные аллели раннего гена *aml* действуют ступенчато. Аллель *aml-1* в пыльниках вызывает вступление клеток в дополнительный митоз вместо мейоза, а в завязи, кроме такого же действия, может «пропускать» клетки в премейотическую интерфазу, но блокирует ее развитие. Аллель *aml-pra1* «пропускает» спорогенные клетки в профазу I, но блокирует переход из лептотены в зиготену, а иногда далее в пахитену (Голубовская и др., 1992; Golubovskaya *et al.*, 1993, 1997). Исследование серии из 5 аллелей этого гена, изолированных Голубовской и клонированных в лаборатории Канди, выявило наличие двух функционально важных доменов в белке-продукте гена *aml*. Первый, N-концевой, домен необходим для вступления клеток в профазу I и дефектен у аллелей *aml-1* и *aml-2*. Второй домен необходим для перехода клеток из лептотены в пахитену и он дефектен у мутантов *aml-pra1*. Ген *Aml* оказался новым геном для однодольных растений, но сходным по действию с геном *Switch1* двудольного растения *Arabidopsis thaliana* (Pawlowski *et al.*, 2009).

Инна Никитична как генетик и цитолог мейоза, овладевшая молекулярной цитогенетикой – исследованием хромосом с помощью FISH и флюоресцентной иммуноцитохимии белков – участвовала в 1999–2011 гг. в большинстве работ лаборатории профессора Канди, в которых другие участники исследовали белки-продукты мейотических генов у кукурузы (Pawlowski *et al.*, 2003, 2004; Hamant *et al.*, 2005), а также гены цитоскелета и веретена клеточного деления. В 2011 г. в лаборатории шло клонирование нового мутантного гена *mtm00-10*, найденного Голубовской. Этот ген блокирует спаривание гомологичных хромосом и приводит к биполярной ориентации унивалентных хромосом в метафазе I. Это еще незаконченное исследование, безусловно, приведет к очередному обогащению молекулярной цитогенетики мейоза.

Целенаправленное исследование комплекса генов мейоза у кукурузы было начато И.Н. Голубовской задолго до появления больших международных проектов по исследованию мей-генов у крестоцветного растения *A. thaliana* и нематоды *C. elegans* и, несмотря на несравненно большую трудность исследования генов у кукурузы, чем у быстро размножающихся объектов, принесло выдающиеся результаты и существенно обогатило знания о генетическом контроле мейоза – консервативной составной части универсального процесса полового размножения всех эукариот и ключевого звена всей наследственности. Стратегически продуманные и методически совершенные исследования И.Н. Голубовской сыграли в этих исследованиях выдающуюся роль.

Инна Никитична Голубовская вошла в мировую элиту исследователей генетики мейоза, благодаря своим деловым и человеческим качествам, прекрасно «вписалась» в международное сообщество исследователей в этой области и подружилась со многими коллегами. Работоспособность и трудолюбие Инны Никитичны восхищали не только российских коллег, но и прагматичных и трудолюбивых американцев. В ходе регулярных международных конференций, специализированных на изучении мейоза – Гордоновских конференций в США и европейских конференций, организованных ЕМВО, я неоднократно слышал от профессоров Била Шеридана, Зака Канди, Денис Зиклер (Франция), Питера Моенса (Канада), Япа Сибенги и Ганса дейонга (Нидерланды), Нила Джонса и Глина Дженкинса (Великобритания) и других генетиков слова искреннего восхищения Инной Никитичной, ее умом, знаниями, навыками работы, неутомимостью и влюбленностью в свою работу, – слова, которые я полностью разделяю, зная Инну Никитичну более 40 лет и получая у нее «мастер-классы» работы и в поле, и за рабочим столом.

Инна Никитична закончила постоянную работу в лаборатории в 2012 г., посвятила себя семье и воспитанию внуков, но, живя неподалеку от Беркли, осталась на связи с лабораторией в Беркли, сказав, что всегда готова к решению интересных вопросов, связанных с мейозом, в который влюбилась, когда лишь познакомилась с ним в далекие годы в Новосибирске. Здоровья и радостей ей на этом пути!

ЛИТЕРАТУРА

- Голубовская И.Н. Цитогенетическое исследование неполных пшенично-пырейных амфидиплоидов ($2n = 56$): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1970. 39 с.
- Голубовская И.Н. Генетический контроль поведения хромосом в мейозе // Цитология и генетика мейоза / Под ред. и с предисл. В.В. Хвостовой, Ю.Ф. Богданова. М.: Наука, 1975. С. 312–343.
- Голубовская И.Н. Генетический контроль мейоза: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР, 1983. 32 с.
- Голубовская И.Н. Картирование двух мей-генов кукурузы с помощью А-В транслокационных линий // Генетика. 1987. Т. 23. С. 698–706.
- Голубовская И.Н. Двойные мейотические мутанты кукурузы и генетический контроль мейоза // Генетика. 1988. Т. 24. С. 1649–1657.
- Голубовская И.Н., Гребенникова З.К., Авалкина Н.А. Новый аллель мей-гена *ameiotic 1* (*am1*) у кукурузы и проблема генного контроля инициации мейоза у высших растений // Генетика. 1992. Т. 28. № 3. С. 137–146.
- Голубовская И.Н., Машненко А.С. Генетический контроль мейоза I. Мейотическая мутация *Zea mays* L. *afd*, вызывающая отсутствие первого деления мейоза // Генетика. 1975. Т. 11. С. 810–816.
- Голубовская И.Н., Машненко А.С. Множественные нарушения мейоза у кукурузы, вызванные одной рецессивной мутацией *patA344* // Генетика. 1977. Т. 19. № 11. С. 1910–1921.
- Голубовская И.Н., Сафронова В.Т., Христолюбова Н.Б. Последовательное включение мейотических генов кукурузы в процессе мейоза // Докл. АН СССР. 1980. Т. 250. № 2. С. 458–460.
- Голубовская И.Н., Ситникова Д.В. Три мейотические мутации кукурузы, нарушающие расхождение хромосом в первом делении мейоза // Генетика. 1980. Т. 16. № 4. С. 656–666.
- Голубовская И.Н., Урбах В.Г. Изучение аллелизма мейотических мутантов с фенотипически сходными нарушениями мейоза // Генетика. 1981. Т. 17. № 11. С. 1975–1984.
- Шамина Н.В., Голубовская И.Н., Груздев А.Д. Морфологические нарушения веретена у некоторых мейотических мутантов кукурузы // Цитология. 1981. Т. 23. № 3. С. 275–283.
- Beadle G.W. A gene for supernumerary mitosis during spore development in *Zea mays* // Science. 1929. V. 50. P. 406–407.
- Beadle G.W. Genes in maize for pollen sterility // Genetics. 1932. V. 17. P. 413–431.
- Cande W.Z., Freeling M. Inna Golubovskaya: The life of a geneticist studying meiosis // Genetics. 2011. V. 188. P. 491–498.
- Golubovskaya I.N. Genetic control of meiosis // Int. Rev. Cytol. 1979. V. 58. P. 247–290.
- Golubovskaya I.N. Meiosis in maize: *mei*-genes and conception of genetic control of meiosis // Adv. Genet. 1989. V. 26. P. 149–192.
- Golubovskaya I.N., Avalkina N.A., Sheridan W.F. Effect of several meiotic mutations on female meiosis in maize // Develop. Genet. 1992. V. 13. P. 411–424.

- Golubovskaya I.N., Avalkina N.A., Sheridan W.F. New insight into the role of the maize *ameiotic 1* locus // Genetics. 1997. V. 147. P. 1339–1350.
- Golubovskaya I.N., Grebennikova Z.K., Avalkina N.A., Sheridan W.F. The role of *ameiotic 1* gene in the initiation of meiosis and subsequent meiotic events in maize // Genetics. 1993. V. 135. P. 1151–1166.
- Golubovskaya I.N., Hammer O., Timofeeva L.P., Wang Ch-J. R., Braun D., Meeley R., Cande W.Z. Alleles of *afd1* dissect REC8 functions during meiotic prophase I // J. Cell Sci. 2006. V. 119. P. 3306–3315.
- Golubovskaya I.N., Khristolubova N.B. Maize meiosis and maize genes // Plant Genetics / Ed. M. Freeling. N.Y.: Allan R. Liss, 1985. P. 723–738.
- Golubovskaya I.N., Sheridan W.F., Harper I.C., Pawlowski W.P., Schichnes D., Cande W.Z. The *pam1* gene is required for meiotic bouquet formation and efficient homologous synapsis in maize (*Zea mays* L.) // Genetics. 2002. V. 162. P. 1979–1993.
- Golubovskaya I.N., Sheridan W.F., Harper I.C., Cande W.Z. Novel meiotic mutants of maize identified from *Mu* transposons and EMS mutant screens // Maize Genet. Coop. Newsl. 2003. V. 77. P. 10–33.
- Hamant O.I., Golubovskaya I.N., Meeley R., Fume E., Timofeeva L. *et al.* A REC8-dependent plant Shugoshin is required for maintenance of centromeric cohesion during meiosis and has no mitotic function // Cur. Biol. 2005. V. 15. P. 948–954.
- Pawlowski W.P., Golubovskaya I.N., Cande W.Z. Altered nuclear distribution of recombination protein RAD51 in maize mutants suggests the involvement of RAD51 in meiotic homology recognition // Plant Cell. 2003. V. 15. P. 1807–1816.
- Pawlowski W.P., Golubovskaya I.N., Timofeeva L., Meeley R.B., Sheridan W.F. Coordination of meiotic recombination, pairing, and synapsis by PHS1 // Science. 2004. V. 303. P. 89–92.
- Pawlowski W.P., Wang C.R., Golubovskaya I.N., Szymaniak J.M., Shi L. *et al.* Maize AMEITIC is essential for multiple early meiotic process and likely requires for the initiation of meiosis // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 3603–3608.
- Sheridan W.F., Avalkina N.A., Shamrov I.I., Batygina T.B., Golubovskaya I.N. The *mac1* gene controlling the commitment to the meiotic pathway in maize // Genetics. 1996. V. 142. P. 1009–1020.
- Sheridan W.F., Golubeva E.A., Abramova L.I., Golubovskaya I.N. The *mac1* mutation alters the developmental fate of the hypodermal cells and their cellular progeny in the maize anther // Genetics. 1999. V. 158. P. 933–941.

УДК 575.174.0153:591.51:636.934.57

ОТБОР ПО ПОВЕДЕНИЮ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМ МАКРОГЛОБУЛИНОВ И ЛИПОПРОТЕИНОВ У АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*NEOVISON VISON*)

© 2014 г. В.И. Ермолаев, М.А. Савина, Н.С. Юдин,
Р.Б. Айтназаров, С.В. Никитин, Л.И. Трапезова, О.В. Трапезов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 2 сентября 2013 г. Принята к публикации 4 октября 2013 г.

С использованием 6 аллотов *Lpm*-системы, *AIM* члена семейства альфа-макроглобулинов и двух аллотов *Ld*-системы, гомолога *APOB* липопротеина низкой плотности, выполнено популяционно-генетическое сравнение норок с ручным и агрессивным поведением. Установлены различия между попарно сравниваемыми группами по маркерам *Lpm1*, *Lpm3*, *Lpm5* и *Lpm10*. Выявлена статистически достоверная ассоциация аллелей с аллотипами *Lpm1*, *Lpm3* с агрессивным типом поведения и аллельного варианта *Lpm* не10 с ручным типом поведения. Не обнаружено статистических различий между группами по встречаемости аллотов *Ld1* и *Ld2* системы *Ld* липопротеина низкой плотности.

Ключевые слова: американская норка, *Neovison vison*, полиморфизм семейства *Lpm* = *AM*, *Ld* = *APOB*, аллотипы, ручное и агрессивное поведение.

ВВЕДЕНИЕ

Американская норка характеризуется видоспецифичным содержанием нейтральных липидов и липопротеидов, представляя тем самым интересную модель в изучении некоторых механизмов атерогенеза (Никитин и др., 1982). При исследовании у животных двух генетических систем, *Lpm* и *Ld*, отнесенных по биохимическим свойствам к липопротеинам, была выявлена полиморфная *Lpm*-система (Lipo Protein of Mink) с 14 аллотипами (*Lpm1*–*Lpm14*), 11 аллогруппами и, соответственно, 11 гаплотипами. В противоположность ей система липопротеинов низкой плотности *Ld* (Light density) с аллельными маркерами *Ld1* и *Ld2* оказалась мономорфной (Баранов и др., 1975; Baranov *et al.*, 1978; Baranov, Savina, 1979; Баранов, Савина, 1988; Yermolaev *et al.*, 1992).

В данной работе изучались последствия длительного эксперимента по селекционному преобразованию поведения американских норок на их иммуногенетический полиморфный статус.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили американские норки из популяции экспериментальной зверофермы Института цитологии и генетики СО РАН. Эти животные уже на протяжении 75 поколений разводятся на специализированных зверофермах мира, но все еще сохранили поведение, характерное для диких норок, и стандартный фенотип. Для сравнения коррелированных ответов на селекцию по поведению использовались норки *стандартного генотипа* (+/+) 15-го поколения селекции как на доместикационное, так и на агрессивное поведение (рис.). В качестве контроля служили животные, не затронутые специальным отбором по поведению (Трапезов, 2008).

Образцы крови норок проанализировали стандартно, с использованием набора аллоантисывороток-реагентов, приготовленных ранее путем аллоиммунизаций (Baranov *et al.*, 1976, 1978). После длительного перерыва в экспериментальной работе по иммуногенетическим



Рис. Изменение среднего балла поведения в популяциях норок, селекционируемых на доместикационное и агрессивное поведение, за 15 поколений отбора.

исследованиям (1990–2011 гг.) удалось восстановить активность некоторых антисывороток-реагентов и проанализировать систему *Lpm* по маркерами *Lpm1*, *Lpm2*, *Lpm3*, *Lpm4*, *Lpm5*, *Lpm10* (Baranov *et al.*, 1976, 1978; Баранов, Ермолаев и др., 1984), а также систему *Ld* с маркерами *Ld1*, *Ld2* (Baranov, Savina, 1979, 1981).

Частоту аллотипов-маркеров определяли путем подсчета животных в выборке, имеющих маркер, по отношению к общему числу исследованных особей. Частоты аллогрупп и соответствующих гаплотипов рассчитывали и оценивали общепринятым в иммуногенетике методом с учетом особенностей аллогруппового характера наследования (Baranov *et al.*, 1978).

Статистический анализ коэффициента ассоциации и оценку его достоверности расчи-

тавали по общепринятым формулам (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты аллотипирования норок как незатронутых специальным отбором по поведению, так и в ходе отбора на агрессивное и доместикационное поведение с использованием маркеров двух иммуногенетических систем: *Lpm* и *Ld*.

Из табл. 1 видно, что в популяции норок, не затронутых специальным отбором по поведению, полиморфизм *Lpm*-системы за период 1976–2011 гг. в виде присутствия–отсутствия аллотипов практически не менялся; отличия зафиксированы только в частоте их встречае-

Таблица 1
Влияние отбора по поведению на частоту аллотипов у американских норок

Аллотип	Частота аллотипов			
	Контроль без специального отбора по поведению		15-е поколение отбора (2011 г.)	
	1976 г.* (n = 326)	2011 г. (n = 233)	агрессивные (n = 105)	ручные (n = 128)
<i>Lpm1</i>	0,2982	0,2112	0,2969	0,1486
<i>Lpm3</i>	0,4123	0,2871	0,4609	0,1600
<i>Lpm5</i>	0,1082	0,0792	0,1406	0,0343
<i>Ld1</i>	0,9912	0,9934	0,9922	0,9943
<i>Ld2</i>	0,2105	0,1584	0,1641	0,1543

* Baranov *et al.*, 1976.

мости: аллотипы Lpm1, Lpm3, Lpm5 в 1976 г. встречались в 1,4 раза чаще, чем в 2011 г.

Длительный направленный отбор на агрессивное поведение не привел к какому-либо дифференциальному селективному преимуществу агрессивных над контрольными животными. Более того, агрессивные норки оказались ближе к контрольным норкам выборки 1976 г.

В то же время в 15-м поколении специального отбора на доместикационное поведение количество животных-носителей аллотипов Lpm1, Lpm3, Lpm5 уменьшается с высокой достоверностью по сравнению с агрессивными: по Lpm1 – в 2 раза, Lpm3 – в 2,9 раза, Lpm 5 – в 4 раза (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что по *Ld*-системе аллотип Ld2, судя по частоте встречаемости (0,21–0,15), является информативным, а аллельный ему аллотип Ld1 представлен во всех выборках с частотой, близкой к единице. На частоту аллотипа Ld1 специальный отбор как на агрессивное, так и на доместикационное поведение не повлиял, его отсутствие зафиксировано лишь у отдельных особей. Вариация частоты Ld2 имеет узкий разброс, но на статистическую оценку ее достоверности очень сильно влияет число гомозиготных особей *Ld2/Ld2*, которое во всех группах исчисляется единичными особями, хотя тенденция к понижению концентрации Ld2 в 1,3 раза в выборках разных лет примерно та же, что и Lpm1, Lpm3 (табл. 1).

Частоты аллотипов липопротеина низкой плотности среди ручных и агрессивных норок практически не отличаются. В закрытой двухаллельной *Ld*-системе, где имеется возможность точно идентифицировать фенотипы и генотипы,

был проведен анализ двух выборок на предмет генетического равновесия. Он показал, что наблюдаемые и ожидаемые численности животных хорошо соответствуют друг другу. Это означает, что отбор по поведению не оказал прямого влияния на полиморфизм *Ld*-системы.

В табл. 2 данные статистической оценки связи разных аллотипов с поведенческим типом животных показывают, что имеется достоверная ассоциация между аллотипами Lpm3 и Lpm1 с агрессивным типом поведения. Важно отметить, что речь идет о популяционных частотах порядка 0,4–0,3, т. е. отнюдь не редких. По аллотипу Lpm5 имеется та же тенденция, но из-за его относительно небольшой популяционной встречаемости (0,1–0,07) статистическая достоверность этой связи невелика.

Коэффициент ассоциации между маркерами *Ld*-системы и типом поведения близок к нулю (точнее, имеет знак «минус»). В плане качественного анализа ассоциаций этот показатель означает, что присутствие Ld2 связано скорее с ручным типом, чем с агрессивным.

ОБСУЖДЕНИЕ

В своих первых публикациях авторы описали группу маркеров Lpm1, Lpm2, Lpm3, Lpm4 и Lpm5, названную ими *Lpm*-системой (Lipoprotein of mink), и аллотип Ld1 липопротеина низкой плотности, отнесенный к *Ld*-системе (Беляев и др., 1974; Баранов и др., 1975; Baranov *et al.*, 1976, 1978; Baranov, Savina 1979, 1981). В начале 1970-х годов не имелось данных о масштабе полиморфизма ни по *Lpm*-, ни по *Ld*-системам. Поэтому данные 1976 г., получен-

Таблица 2

Тестирование разных групп норок по аллотипам и по поведению

Аллотип	Агрессивные				Ручные				r_A	χ^2
	+	–	всего	частота + особей	+	–	всего	частота + особей		
Lpm1	38	90	128	0,2969	19	86	105	0,181	0,13	4,19*
Lpm3	59	69	128	0,4609	22	83	105	0,2095	0,26	16,08***
Ld1	127	1	128	0,9922	104	1	105	0,9943	–0,06	0,82
Ld2	21	107	128	0,1641	18	87	105	0,1714	–0,01	0,02

r_A – коэффициент ассоциации.

Таблица 3

Представленность отдельных *Lpm*-аллотипов в составе *Lpm*-аллогрупп, идентифицированных в данной работе (Кутявина и др., 1987)

Аллотип, аллогруппа	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.6.8.9.10.11.13.14	+					+		+	+	+	+		+	+
2.4.5.7.9.10.11.12.13.14		+		+	+		+		+	+	+	+	+	+
3.4.6.8.9.10.11.13.14			+	+		+		+	+	+	+		+	+
4.9.11.12 = ne10				+					+		+	+		

ные на 326 норках, не затронутых специальным отбором по поведению, можно считать базовыми и использовать их для сравнений как с состоянием контрольных животных в 2011 г., так и с результатами отбора в течение 15 поколений на агрессивный и доместикационный типы поведения (табл. 1).

Характерной особенностью *Lpm*-системы как мультигенного локуса является аллогрупповой тип наследования, т. е. аллотипы передаются из поколения в поколение в составе строго определенных сочетаний. С использованием первых маркеров было выявлено шесть аллогрупп, с использованием семи аллотипов удалось идентифицировать восемь аллогрупп, с использованием 14 аллотипов описано 11 аллогрупп, генетически контролируемых комплексами тесно сцепленных генов (гаплотипами). Полный состав четырех аллогрупп, идентифицированных и исследованных в данной работе, приведен ниже: *Lpm* 1.6.8.9.10.11.12.13.14; *Lpm* 3.4.6.8.9.10.11.13.14; *Lpm* 2.4.5.7.9.10.11.12.13.14 и *Lpm* 4.9.11.12 – ne10 (табл. 3).

Типирование аллотипа *Lpm*1 позволяет идентифицировать присутствие всей первой аллогруппы, *Lpm*5 – второй, *Lpm*3 – третьей. В составе четвертой аллогруппы нет частной специфичности, поэтому ее присутствие можно обнаружить только у соответствующих гомозигот, характерной чертой которых является отсутствие аллотипа *Lpm*10, а у гетерозигот – частичное ослабление аллопреципитата, по-видимому, из-за ген-дозового эффекта снижения концентрации (Баранов и др., 1984).

Факт поддержания полиморфизма фактически на одном уровне в двух практически никогда

не перекрывающихся выборках, хотя и из одной экспериментальной зверофермы, указывает на существование механизмов, поддерживающих полиморфное состояние двух систем в практически неизменном стабильном состоянии. Результаты сравнения частот в выборках 1976 и 2011 гг. можно интерпретировать как вариацию частот аллелей за счет случайных процессов. Тогда возникает вопрос: за счет чего поддерживается стабильный уровень полиморфизма. Ответить на него возможно, если учитывать следующие обстоятельства.

Независимо от характера структурных генетических различий между гаплотипами, специфические маркеры которых исследованы в данной работе, первые три из них имеют тенденцию к ассоциации с доместикационным, а четвертый – с агрессивным поведением.

Можно предположить, что ассоциация иммуногенетических, а по сути – молекулярных маркеров со сложным многомерным поведенческим признаком может иметь одну основную причину. Полиморфные *Lpm*-гены ассоциированы с генами поведения, находящимися в той же хромосоме. Ранее нами установлено, что *Lpm*-локус локализован в хромосоме 9 норки, гомологичной хромосоме 12 человека (Yermolaev *et al.*, 1989), генный состав которой известен и достаточно сходен у многих видов млекопитающих, в том числе свиньи (Yermolaev *et al.*, 2013). Можно предположить, что у норки этот набор мало отличается от такового у человека. Возможно, детальный анализ этой области хромосомы 9 норки позволит выявить гены-кандидаты комплекса генов одомашнивания.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а), СО РАН (экспедиционный проект № 3э) программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № ФНМ-2012-05) и базового бюджетного проекта VI.53.1.2.

ЛИТЕРАТУРА

- Баранов О.К., Савина М.А. Иммуногенетика липопротеинов. Новосибирск: Наука, 1988. 128 с.
- Баранов О.К., Ермолаев В.И., Филиппов В.В. и др. Генетика и эволюция *Lpm*-системы американской норки. Сообщение 3. Идентификация и филогенетическое исследование аллотипов *Lpm9* и *Lpm10* // Генетика. 1984. Т. 20. № 6. С. 1016–1023.
- Баранов О.К., Савина М.А., Беляев Д.К. Три новых аллотипа альфа-2-липопротеинов сыворотки крови норок – *Lpm6*, *Lpm7*, *Lpm8* // Генетика. 1975. Т. 11. № 9. С. 32–37.
- Беляев Д.К., Баранов О.К., Савина М.А. и др. Идентификация пяти аллотипов сывороточных альфа-2-липопротеинов-эстераз американской норки (*Mustela vison*) // Генетика. 1974. Т. 10. № 1. С. 62–70.
- Кутявина Т.В., Ермолаев В.И., Савина М.А., Баранов О.К. Генетика и эволюция *Lpm*-системы американской норки. Сообщение VII. Новый видоспецифичный аллотип *Lpm14* // Генетика. 1987. Т. 23. № 4. С. 738–750.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- Никитин Ю.П., Рошке М.Л., Филимонова Т.А., Трапезов О.В. Липиды, липопротеиды и показатель этерификации холестерина плазмы крови американской норки // Бюл. эксперим. биол. медицины. 1982. № 5. С. 55–56.
- Трапезов О.В. Регуляторные эффекты генов поведения и управление окрасочным формообразованием у американских норок (*Mustela vison* Schreber, 1777) // Информ. вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12. № 1/2. С. 63–83.
- Baranov O.K., Savina M.A. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 3. Ld1 allotype of low-density lipoproteins in mink // Biochem. Genet. 1979. V. 17. No. 5/6. P. 343–350.
- Baranov O.K., Savina M.A. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 4. Diallelism at the Ld locus of low-density lipoproteins in mink // Biochem. Genet. 1981. V. 19. No. 9/10. P. 997–1015.
- Baranov O.K., Savina M.A., Belyaev D.K. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 1. Identification and genetic control of five Lpm-allotypes // Biochem. Genet. 1976. V. 14. No. 3/4. P. 327–345.
- Baranov O.K., Yermolaev V.I., Belyaev D.K. Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoproteins in mink. 2. Identification of allotypes Lpm7 and Lpm8 and genetic control of seven markers of the Lpm system // Biochem. Genet. 1978. V. 16. No. 5/6. P. 399–414.
- Yermolaev V.I., Karasik G.I., Khlebodarova T.M., Matveeva N.M., Mullakandov M.R., Nayakschin A.M., Shumny V.K., Rubtsov N.B., Serov O.L., Baranov J.R. Localization of the alpha-2-macroglobulin gene and *Lpm* gene family on mink chromosome 9 // Theor. Appl. Genet. 1989. V. 78. P. 93–96.
- Yermolaev V.I., Mirtshulava E.G., Savina M.A. et al. A comparative study of the homologous Lpm-system allotypes of alpha-macroglobulins in American mink and Gp-system allotypes of alpha-macroglobulin in domestic pig // J. Anim. Breed. Genet. 1992. V. 109. 42–50.
- Yermolaev V.I., Savina M.A., Knyasev S.P., Yudin N.S., Aitnasarov K.B., Bekenev D.A., Deeva V.S., Nikitin S.V. Study of swine alpha-2-macroglobulin gene family polymorphism in the context of some problems of animal breeding // Rus. J. Genet.: Applied Res. 2013. V. 3. No. 3. P. 225–232.

SELECTION FOR BEHAVIOR AND CORRELATION WITH THE MACROGLOBULINE AND LYPOPROTEINE SYSTEMS IN THE AMERICAN MINK (*NEOVISON VISON*)

V.I. Ermolaev, M.A. Savina, N.C. Yudin, R.B. Aitnasarov, C.V. Nikitin,
L.I. Trapezova, O.V. Trapezov

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

Summary

Genetic comparison was performed between mink populations with tame and aggressive behaviour. Six allotypes of the *Lpm* system; the A1M alpha macroglobulin; and two allotypes of the *Ld* system, homologue of APOB low-density lipoprotein, were analyzed. The populations differed in markers *Lpm1*, *Lpm3*, *Lpm5*, and *Lpm10*. Alleles with allotypes *Lpm1* and *Lpm3* were significantly associated with aggressive behavior, and allele *Lpm non-10*, with tame behavior. No statistically significant differences were found in frequencies of the *Ld1* and *Ld2* allotypes of the *Ld* low-density lipoprotein system.

Key words: American mink, *Neovison vison*, polymorphism in the *Lpm* = *AM* family, *Ld* = *APOB*, allotypes, tame and aggressive behavior.

УДК 636.934.57.082.2

О ВОЗМОЖНОСТИ СЕЛЕКЦИИ НОРОК (*NEOVISON VISON*) НА ОПЛАТУ КОРМА

© 2014 г. О.В. Растимешина, Т.М. Демина

Институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева,
пос. Родники, Московская обл., Россия,
e-mail: niipzk@mail.ru

Поступила в редакцию 26 сентября 2013 г. Принята к публикации 4 октября 2013 г.

Разработанный метод отбора молодняка норок по эффективности использования корма обеспечивает повышение оплаты корма приростом живой массы на 9–10 %. Предлагается при отборе учитывать фенотип каждого зверя из пары, содержащейся в одной клетке.

Ключевые слова: норка, оплата корма, отбор.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях нарастающей интенсификации сельскохозяйственного производства создаваемые новые породы, линии и кроссы животных предусматривают не только их рекордную продуктивность, но и снижение затрат корма на производство единицы продукции (оплату корма) (Плотников, 2001; Кайшев и др., 2003; Давыдов и др., 2004; Огневцев, 2004).

Исследования, проведенные на растущем молодняке пушных зверей, не только показали наличие полиморфизма по оплате корма, но и выявили положительную корреляцию между длиной тела животных и оплатой корма (Сергеев, 1990). Поскольку технология современного клеточного норководства предусматривает парное содержание растущего молодняка, была поставлена задача – исследовать влияние индивидуальной способности усваивать корм на корреляцию между размером тела и оплатой корма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили в течение 5 лет на опытной звероферме Научно-исследовательского института пушного звероводства и кролиководства РАСХН. Растущий молодняк норок генотипа *royal pastel (b/b)* содержали индивидуально и парами в типовых норковых клетках.

Было проведено два опыта. В первом опыте использовали молодняк от родителей со средней живой массой (1 200 г – для самок, 2 100–2 200 г – для самцов) с бонитировочной оценкой по размеру тела в 5 баллов. Зверей разделили на 4 опытных группы (2 группы самцов + 2 группы самок) по 30 голов в каждой – аналогов по живой массе тела. Половину зверей разместили в клетках индивидуально (по одному), а вторую половину – однополыми парами (1♂ + 1♂) и (1♀ + 1♀).

Всех животных кормили по единому рациону. Корм задавали специальным дозатором и строго нормировали его количество в соответствии с рекомендуемыми нормами (Перельдик и др., 1987). Животные получали корм один раз в сутки во второй половине дня. Учет количества поедаемого корма вели ежедневно.

Опыт закончился к моменту осеннего забоя зверей на шкурку. По каждому животному определяли количество съеденного корма за весь период роста и площадь шкурки после забоя. После этого высчитывалась оплата корма по формулам:

$$ЗК = \frac{СК}{ПП} \text{ и } ОК = \frac{ПП}{СК},$$

где ЗК – затраты корма на единицу продукции; СК – количество съеденного корма за период наблюдения; ПП – количество произведенной продукции; ОК – оплата корма продукцией.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Индивидуальное содержание

При индивидуальном содержании растущего молодняка норок длина тела самцов к моменту забоя на шкурку находилась в пределах 46,5–52,5 см; живая масса тела в пределах 1,8–2,5 кг; площадь снятой после забоя шкурки в пределах 833–1108 см².

Количество корма, съеденного одним самцом за весь опытный период, укладывалось в пределах 30–37 кг. Те же самые показатели у самок составили соответственно 37,5–42,0 см, 0,9–1,4 кг, 682–823 см² и 20–7 кг.

Показатель оплаты корма по самцам колебался в пределах 26,1–31,7 см²/кг, по самкам 27,1–34,8 см²/кг. Затраты корма на единицу площади шкурки были соответственно: 31–38 г/см² и 29–37 г/см².

Как показывают данные, приведенные в табл. 1, при индивидуальном содержании как самцов, так и самок с увеличением длины тела (линейного размера) затраты корма на единицу продукции снижаются, а его оплата – повышается.

Парное содержание

При парном содержании растущего молодняка длина тела самцов изменялась в пределах 44,0–51,5 см, живая масса 1 800–2 700 г, площадь шкурки 875–1 335 см², потребление корма одним животным за весь период опыта 32–35 кг.

Таблица 1

Влияние размера животного на затраты корма и оплату корма

Длина тела, см	Затраты корма, г/см ²	Оплата корма, см ² /кг
Самцы		
46–47	36,0	27,3
48–49	33,6	29,6
50–51	34,0	30,1
Самки		
37–38	33,9	29,7
39–40	32,6	30,8
41–42	32,2	31,1

У самок также был зафиксировано увеличение размаха изменчивости по тем же показателям соответственно: 38,5–42,5 см, 1 000–1 400 г, 688–823 см² и 24–27 кг.

Оплата корма по самцам изменялась в пределах 26,2–37,7 см²/кг, по самкам 27,1–34,8 см²/кг. Затраты корма на производство единицы площади шкурки были соответственно 30–38 г/см² и 29–37 г/см².

При сравнении двух групп самцов, сформированных с учетом массы тела родителей и выращенных при разных системах содержания, отмечено достоверное увеличение средних величин: живой массы (2231 ± 50 г против 2094 ± 48 г, $p < 0,05$), длины тела ($49,7 \pm 0,33$ см против $48,8 \pm 0,30$ см, $p < 0,05$), площади шкурки (1022 ± 16 см² против 977 ± 15 см², $p < 0,05$), оплаты корма ($29,8 \pm 0,2$ см²/кг против $28,8 \pm 0,3$ см²/кг, $p < 0,01$) и снижение затрат корма на производство единицы площади шкурки ($33,6 \pm 0,3$ г/см² против $34,7 \pm 0,3$ г/см², $p < 0,01$) при парном содержании в сравнении с индивидуальным.

У самок разных групп по всем учтенным показателям различия средних величин не достигали статистической значимости.

Целесообразность селекции по оплате корма при парном содержании

При сравнении двух групп самцов-братьев, выращенных при разных системах содержания (индивидуальном и парном), зафиксировано снижение затрат корма на производство единицы площади шкурки ($20,9 \pm 0,4$ ккал/см² против $23,6 \pm 0,4$ ккал/см², $p < 0,001$) и повышение оплаты корма ($48,5 \pm 1,2$ см²/ккал против $42,8 \pm 0,8$ см²/ккал, $p < 0,001$) при парном содержании в сравнении с индивидуальным.

При сравнении аналогичных групп самок-сестер различия не достигали статистической значимости.

Установлено, что с увеличением массы тела зверей оплата корма повышается как у самцов, так и у самок. Это иллюстрируется данными табл. 2, в которой животные сгруппированы по массе тела.

Установлена также положительная корреляционная зависимость между оплатой корма и живой массой, оплатой корма и площадью шкурки при разных способах содержания (табл. 3).

Таблица 2

Зависимость оплаты корма
от живой массы зверей

Пол животного	Живая масса, г	Оплата корма, см ² /ккал
Самцы	1900–2099	40,4
	2100–2299	40,9
	2300–2550	45,9
Самки	1000–1199	44,9
	1200–1399	45,4
	1400–1500	46,3

Таким образом, достаточно высокие коэффициенты корреляции между оплатой корма и массой, оплатой корма и площадью шкурки обосновывают целесообразность проведения отбора на оплату корма, оценивая живую массу животных.

Наличие прямолинейной корреляционной связи между оплатой корма и живой массой ($r = 0,32–0,37$), оплатой корма и площадью шкурки ($r = 0,66–0,80$) говорит о целесообразности отбора норок по оплате корма при условии их парного содержания в период выращивания.

При сравнении двух групп самцов, выращенных при разных системах содержания, отмечены увеличение оплаты корма (на 3–13 %) и снижение затрат корма на производство единицы площади шкурки (на 3–11 %) при парном содержании в сравнении с индивидуальным. У самок же разных групп по учтенным показателям различия не выявлены.

Данные опытов обосновывают целесообразность селекции молодняка норок, предназначенного для получения шкурковой продукции, по оплате корма при условии парного содержания.

Опыты на молодняке норок, выращиваемом на племенные цели

Повысить уровень селекции племенного молодняка норок по эффективности использования им корма при парном содержании можно, если изменить традиционную методику племенного отбора – размер каждого зверя оценивать с учетом размера его «напарника»

Таблица 3

Коэффициенты корреляции между оплатой корма и системой содержания

Показатели	Оплата корма			
	Индивидуальное содержание		Парное содержание	
	самцы	самки	самцы	самки
Живая масса	0,56	0,39	0,32	0,37
Площадь шкурки	0,84	0,71	0,66	0,80

по клетке. В этом случае ранги по племенной ценности изменяются и отбор проводится более эффективно.

Работа проведена на 530 норчатах, предназначенных на племенные цели. Были сформированы две группы животных – аналогов по возрасту.

С начала июля животных обеих групп кормили по нормам из расчета на конечную живую массу зверей на 1 ноября: для самок – 1,35 кг, для самцов – 2,3 кг (Перельдик и др., 1987). В 100 ккал обменной энергии корма содержалось (г): рыбные отходы – 38,0; кость свежедробленая – 23,0; рыбная мука – 5,0; ячменная крупа – 9; жир животный – 2,5. Витаминный премикс из расчета 0,25 г и гемовит – 15 мг на 1 голову в сутки. На 100 ккал обменной энергии кормосмеси приходилось: протеина – 9,2, жира – 4,5.

Результаты роста животных и оплаты корма приростом массы тела приведены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, по приросту живой массы животные I группы лучше оплачивали корм (на 9,6 %).

Подбор пар с учетом показателя оплаты корма

Для оценки влияния нового метода отбора молодняка норок на репродуктивную способность зверей подбор пар был проведен с учетом показателя оплаты корма. Результаты щенения при такой схеме подбора пар представлены в табл. 5.

В группе с высокой оплатой корма количество благополучно оценившихся самок возросло на 5,5 % (69,8 % против 64,3 %) при сходной плодот-

Таблица 4

Прирост массы тела и оплата корма

Группа	Живая масса, г ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)						Абсолютный прирост массы тела, г			Оплата корма, г/кг
	Самки			Самцы						
	n	На 4 июля	На 15 октября	n	На 4 июля	На 15 октября	Самки	Самцы	Всего «на клетку»	
I	50	698,4 ± 8,8	1167,0 ± 20,1	50	920,8 ± 12,9	2358,7 ± 34,1	468,6	1437,9	1906,5	30,7
II	50	646,8 ± 12,3	1135,4 ± 20,4	50	876,2 ± 13,2	2127,8 ± 27,0	488,6	1250,9	1739,5	28,0

Таблица 5

Подбор пар с учетом оплаты корма и результаты щенения

Показатели	Группы	
	контроль	опыт
Количество самок	140	135
Благополучно оценились	64,3	69,8
Плодовитость	7,7 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,3
Зарегистрировано щенков на самку основного стада	4,0 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,2
Сохранность щенков	89,5	94,3

витости (7,7 $\pm$ 0,3 щенка в контроле и 7,3 $\pm$ 0,3 в опыте). Пало щенков до регистрации в контроле 10,5 % и в опыте – 5,7 %. Зарегистрировано щенков на самку основного стада: 4,0 $\pm$ 0,2 и 4,5 $\pm$ 0,2 соответственно. Сохранность щенков составила в контроле 89,5 % и 94,3 % – в опыте.

Из изложенного следует, что метод отбора племенного молодняка норок по эффективности использования корма на основе оценки фенотипа выращенных в одной клетке зверей (с учетом живой массы «напарника») позволяет повысить оплату корма продукцией, классный состав и не снижает репродуктивную способность.

ВЫВОДЫ

1. Новый метод отбора молодняка норок на племенные цели позволяет повысить эффективность использования корма на 9,6 %.

2. Применение метода отбора племенного молодняка норок по оплате корма с учетом живой массы «напарника» по клетке улучшает показатели продуктивности норок в сравнении с показателями молодняка, отобранного традиционным методом (по собственной живой массе).

ЛИТЕРАТУРА

- Давыдов В., Дышков А., Мальцев А. Отбор яичных кур по конверсии корма // Животноводство России. Декабрь. 2004.
- Кайшев В.Г., Дейков В.В. Молочная индустрия России: проблемы и перспективы // Экономика сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий. 2003. № 5. С. 8–12.
- Огневцев С.Б. Современная агропродовольственная экономика. М.: МСХ, 2004. 440 с.
- Перельдик Н.Ш., Милованов Л.В., Ерин А.Т. Кормление пушных зверей. М.: Агропромиздат, 1987. 351 с.
- Плотников В.П. Советы по селекции кроликов // Кролиководство и звероводство. 2001. № 4. С. 10.
- Сергеев Е.Г. Использование и оплата корма соболями разного размера // Науч. тр. НИИПЗК. М., 1990. Т. 37. С. 29–34.

BREEDING METHOD FOR REPLACING YOUNG MINKS WITH REGARD TO FOOD USE EFFICIENCY

O.V. Rastimeshina, T.M. Demina

Afanasyev Institute for Fur and Rabbit Farming, Moscow, Russia,
e-mail: niipzk@mail.ru

Summary

Selection of pair-kept minks with regard to food use efficiency can be improved by a slight modification of the conventional selection method. The size of each animal should be corrected taking into account the size of its partner in the cage. This method changes the ranks of pedigree value, improving breeding efficiency. The quality of pair selection for mating can be improved by applying the principle «the best with the best». The developed method for selection of replacement young minks according to feed use efficiency increases the live weight return on food by up to 9–10 %.

Key words: mink, food payment, selection, body weight.

УДК 936.934.55.082

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПИГМЕНТАЦИИ МЕХОВОГО ПОКРОВА СОБОЛЕЙ (*MARTES ZIBELLINA* L.) И РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ

© 2014 г. С.Н. Каштанов¹, О.Е. Лазебный², А.П. Нюхалов³,
И.Е. Чернова⁴, Г.Р. Свищёва^{1, 5}, О.В. Трапезов⁵

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия,
e-mail: snkashtanov@mail.ru;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Россия;

³ Племенной зверозавод «Пушкинский», Московская обл., Пушкинский р-н, Россия;

⁴ Институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева,
пос. Родники, Московская область, Россия;

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 23 сентября 2013 г. Принята к публикации 25 октября 2013 г.

Исследованы последствия направленного отбора на затемнение окраски меха соболей промышленной популяции. Проведен анализ четырех типов скрещивания, в которых самцы и самки отличались друг от друга окраской волосяного покрова и по ряду показателей воспроизводства: «плодовитости самок», «выходу щенков на покрытую самку», «выходу щенков на ощенившуюся самку» и «доле пропустовавших самок». Самые низкие показатели воспроизводства выявлены при подборе пар животных с наиболее темной окраской меха. Проведен двухфакторный дисперсионный анализ этих признаков, результаты которого показали, что на все признаки значимо влияют как тип скрещивания (фактор 1), так и поколение (год) отбора (фактор 2), а эффект взаимодействия двух факторов значим только для признака «выход щенков на покрытую самку». В целом за десятилетний период наблюдалась положительная динамика исследованных признаков, что позволяет говорить о потенциальной возможности продолжения направленного отбора на усиление пигментации окраски соболей. Выявлены основные этапы в селекции «пушкинской» популяции соболей и определены перспективы дальнейшей селекционной работы.

Ключевые слова: черноголовый соболь, отбор на затемнение меха, плодовитость.

ВВЕДЕНИЕ

В начале XX в. в нашей стране были организованы первые зверофермы, на которых стали разводить соболей в клеточных условиях. Повышенный спрос на темные шкурки соболя и определил это приоритетное направление селекции наравне с отбором на размер шкурки и качество опушения.

В ходе промышленной domestikации соболей выяснилось, что соболь в сравнении с другими пушными зверями в условиях клеточного содержания – животное «позднеспелое»: большинство самок становятся половозрелыми

только к 3–4-летнему возрасту. Плодовитость у соболя в сравнении с американской норкой в два раза ниже, но, как бы в компенсацию этого, репродуктивный период у него в два раза длиннее и продолжается до 12 и более лет.

Для изучения связи степени пигментации мехового покрова с репродуктивными особенностями в историческом периоде промышленной domestikации соболей предлагается выделять три этапа.

Первый этап – интенсивный отбор исходного поголовья соболей, доставленных (изъятых, выловленных) из диких популяций, на общее затемнение окраски мехового покрова.

Цвет мехового покрова дикого соболя очень изменчив. Окраска острого волоса варьирует от желтовато-бурой (почти песочной) до интенсивно темно-коричневой и смолисто-черной. Часто по туловищу рассеяны депигментированные остевые волосы, создающие эффект седины. Цвет пуховых волос меняется от темно-пепельного до коричневого и светло-желтого. Подавляющее большинство соболей имеют так называемое горловое пятно светло-серого, белого, кремового, желтоватого или оранжевого цвета, контуры которого меняются от резкой очерченности до расплывчатости (подпалина). Размер горлового пятна варьирует от небольшой подпалины до пятна площадью более 10 см² (Сабанеев, 1875; Тугаринов, 1913; Раевский, 1947; Павлюченко и др., 1979; Бакеев и др., 2003).

По характеру внутривидовой изменчивости в интенсивности пигментации окраски меха в ареале соболя в 1925 г. были выделены 18 географических рас (исторически название расы у соболей получило свой специальный термин – «кряж»).

Географическая изменчивость характеризуется постепенным потемнением окраски меха у соболей в направлении с запада на восток. При этом на севере ареала, а также в высокогорьях с экстремальными погодными условиями в зимнее время сформировались популяции с более светлой окраской меха (Доппельмаир, 1926; Дулькейт, 1929; Пономарев, 1938, 1944; Кузнецов, 1941; Корытин, 1971, 1972; Крючков, 1971; Бакеев и др., 2003). По оценке экспертов внешнеторговой организации «Союзпушнина» наиболее светлые соболя относятся к минусинскому, тувинскому, енисейскому кряжам (Евтеев, 2008).

Темные особи больше встречаются среди баргузинских и якутских соболей, которые, кроме того, отличаются шелковистостью меха, но размер их тела небольшой. Следует особо оговориться, что звери черной окраски в природных популяциях встречаются редко – даже среди баргузинских соболей около половины добываемых особей имеют средний или светлый тон окраски.

В первом соболином хозяйстве (зверосовхоз «Пушкинский») начальный массив животных численностью в 100 голов был сформирован из соболей различных кряжей, отловленных в

природных популяциях в 1929–1932 гг. Это были животные, не отличавшиеся идеальным качеством опушения и нужной для селекции темной окраской, так как отловить «готовых» зверей (с точки зрения товароведения) в тайге было просто невозможно. Поэтому в 1932 г. в первоначально созданной коллекции присутствовала огромная изменчивость по интенсивности пигментации, и желательную для селекции относительно темную окраску меха имели всего лишь 4 % зверей (Каверин, Уткин, 1980).

В 1935–1936 гг. провели дополнительный отлов еще около 80 баргузинских соболей, среди которых темными были лишь несколько особей. Кроме того, завезенные из дикой природы звери по поведению были очень дикими, не все шли в воспроизводство, большая часть самок вообще не приходила в охоту.

И все же отбор делал свое дело: в специализированном звероводческом хозяйстве «Пушкинский» количество темноокрашенных соболей за период с 1930 г. по 1960 г. увеличилось по самкам в 24 раза, а по самцам в 15 раз. Именно эти несколько десятков зверей в основном и являются родоначальниками всех соболей, разводимых в настоящее время в нашей стране (Портнова, 1941, 1966; Куличков, Портнова, 1967; Мишуков, 1998).

Второй этап – селекция на однородность окраски по всей поверхности туловища.

С целью добиться однородности окраски по всей поверхности туловища начался отбор на «выравнивание» окраски спины и живота соболей. Для этого в 1966 г. вступила в действие специальная инструкция по бонитировке соболей: 1) летняя бонитировка растущего молодняка в клетках с выделением лучших по развитию особей; 2) оценка хода линьки и сроков формирования зимнего волоса с одновременным выделением лучших особей по окраске и качеству опушения; 3) бонитировка молодняка после завершения «созревания» меха, – беря каждого зверя в руки; 4) отобраные на племя звери (в большем количестве, чем это требуется на формирование основного стада) высаживаются в наиболее светлые клетки, отдельно самцы и самки, и вновь просматриваются, сравнивая особей, сидящих рядом, и отбраковывая худших; 5) отобранных лучших, особенно самцов, сравнивают еще раз, посадив

зверей в небольшие переносные клетки и поставив рядом для дальнейшей, более детальной, их оценки друг с другом; 6) максимальный балл за окраску выдается только тем зверям, которые обладают совершенно ровной черной окраской всего туловища, включая голову и уши, без горлового пятна; 7) бонитировке подлежит весь молодняк, в том числе и заведомо предназначенный к забою на шкурку, так как это дает возможность не только оценить качество родителей по потомству, но и проверить, насколько оправдана выбранная стратегия подбора пар; 8) повторная бонитировка зверей на втором году жизни с выбраковкой животных, дающих ухудшение окраски; 9) для закрепления нужных признаков у отобранного поголовья проводился дальнейший подбор пар с учетом известных свойств линий и семейств. При подборе пар обязательно учитывалось качество потомства этих зверей в прошлые годы (Портнова, 1941, 1966; Куличков, Портнова, 1967).

В итоге в зверосовхозе «Пушкинский» было создано однородно окрашенное стадо черных соболей (Портнова, 1966; Куличков, Портнова, 1967; Павлюченко, 1980). Общая окраска таких соболей – смолисто-черная, пух однородно окрашен в темно-серый цвет с дымчатым оттенком (рис. 1).

Следует сказать, что до 1969 г. ни одной породы или заводского типа пушных зверей признано не было, так как по существовавшей в то время инструкции селекционные достижения оформлялись только среди домашних животных, а к пушным зверям клеточного разведения их не относили (Кузнецов, 2006, 2007). Чтобы исправить существовавшее положение в декабре 1968 г. была проведена специальная конференция, приуроченная к 100-летию выхода в свет второй главной книги Ч. Дарвина «Изменение животных и растений под влиянием одомашнивания». На основании материалов, рассмотренных на конференции, в конце 1968 г. пушные звери были отнесены к категории сельскохозяйственных животных (Афанасьев, 1968). В том же 1968 г. уникальное стадо черных пушкинских соболей было заявлено на рассмотрение как самостоятельная порода.

В 1969 г. приказом по МСХ СССР порода *пушкинский черный соболь* была утверждена (авторы: Н.Т. Портнова, Б.А. Куличков, В.А. Мизгирева, Ю.М. Докукин, И.С. Демина, А.М. Амплеева, А.А. Бычкова, И.Ф. Кудин, Е.А. Кузнецова, А.М. Макарова, И.В. Митрофанова, А.Я. Чепцова). Общее поголовье молодняка и основных зверей было свыше 20 тыс. голов, что позволило приступить к



Рис. 1. Фенотипы соболей с разной интенсивностью пигментации мехового покрова: слева – черноголовый, справа – светлоголовый.

созданию больших дочерних соболиных ферм в зверосовхозах «Сомовский» (Воронежская область), «Заря» (Ленинградская область), «Бирюлинский» (Татарстан), «Соболевский» (Красноярский край).

Третий этап – селекция на затемнение общей окраски волосяного покрова – появлением черноголовых особей.

Анализ изменений интенсивности пигментации соболиного стада в зверосовхозе «Пушкинский», проведенный по племенным книгам за период 1954–1995 гг., показал, что в 1968 г. было зафиксировано появление черноголовых особей (Каштанов и др., 2008а, б).

Существует мнение о том, что движущий отбор на затемнение окраски животных сопровождается коррелированным снижением общей жизнеспособности, плодовитости, продолжительности жизни и др. (Алтухов и др., 1976, 1987; Франклин, 1983; Imasheva, 1991). Настоящее исследование преследовало конкретную задачу – выяснить, как многолетний отбор на усиление пигментации мехового покрова у соболей затронул их воспроизводительную функцию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализировались записи в племенных книгах соболиной фермы Пушкинского звероводческого хозяйства с 1992 г. по 2001 г. Весь массив изучаемых животных был разделен на четыре группы, сформированные по конкретному году (поколению) и типу скрещиваний, который определялся фенотипом скрещиваемых пар (в данном случае окраской головы).

Обсчитывался материал для каждого года (поколения) и каждого типа скрещивания:

1. Воспроизводительная способность самца:

- количество покрытых самцом самок (n_1);
- количество оценившихся самок (n_2);
- количество родившихся щенков от этих самок (n_3);
- количество щенков на момент зоотехнической регистрации (n_4).

2. Количественные признаки, характеризующие воспроизводство:

- «выход щенков на покрытую самку» – как отношение $\sum n_4 / \sum n_1$;

- «выход щенков на оценившуюся самку» – как отношение $\sum n_4 / \sum n_2$;

- плодовитость – как отношение $\sum n_3 / \sum n_2$;
- доля пропустовавших самок – как отношение $1 - \sum n_2 / \sum n_1$.

Для описания истории разведения соболей в Пушкинском зверосовхозе сначала анализировалась динамика воспроизводства соболей за десятилетний период без подразделения их на группы по окраске меха. Далее анализировалась динамика воспроизводства отдельно для каждой группы. Затем был проведен сравнительный анализ между группами с разным типом скрещиваний.

Для определения влияния года (поколения), типа скрещивания, а также их возможного взаимодействия на показатели воспроизводства был проведен двухфакторный дисперсионный анализ. Перечисленные выше признаки для дисперсионного анализа рассматривались в семьях самцов со средним полигамным соотношением 1 : 3 и средним количеством щенков $4,5 \pm 0,1$.

Для анализа данных были использованы стандартные статистические средства EXCEL и STATISTICA. Рассчитывались средние значения признаков и стандартные ошибки средних. Для двухфакторного дисперсионного анализа была разработана программа, написанная в среде R.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Практика соболеводства показала зависимость воспроизводительной способности соболей от возраста. При этом наибольшая доля пропустовавших самок наблюдается в первые годы их жизни, а оптимальная продуктивность достигается к возрасту 5–7 лет (Бондаренко, 2004). Это подтверждают данные, представленные в табл. 1 и на рис. 2, а, б. Видно, что в среднем «выход щенков на покрытую самку» за анализируемый период вырос с $1,1 \pm 0,1$ до $2,6 \pm 0,2$ щенка. Плодовитость самок также выросла с $2,8 \pm 0,1$ до $3,3 \pm 0,2$. Доля пропустовавших самок равномерно снижалась с $0,6 \pm 0,1$ до $0,1 \pm 0,1$.

Сводные данные по результатам скрещиваний соболей с различной интенсивностью пигментации мехового покрова за период 1992–2001 гг. представлены в табл. 2.

Таблица 1

Динамика показателей воспроизводства соболей за десятилетний период

Год	Исходные данные				Признаки			
	Количество покрытых самок	Количество ошенившихся самок	Количество щенков	Количество зарегистрированных щенков	Выход щенков на 1 покрытую самку	Выход щенков на 1 ошенившуюся самку	Плодовитость самок	Доля пропустовавших самок
1992	600	254	709	654	$1,1 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$
1993	1036	503	1396	1160	$1,1 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,1$
1994	623	350	1056	964	$1,5 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1$	$3,0 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,05$
1997	1065	685	2272	1981	$1,9 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$
1999	919	720	2391	2211	$2,4 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$0,2 \pm 0,1$
2001	675	591	1951	1727	$2,6 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$0,1 \pm 0,1$

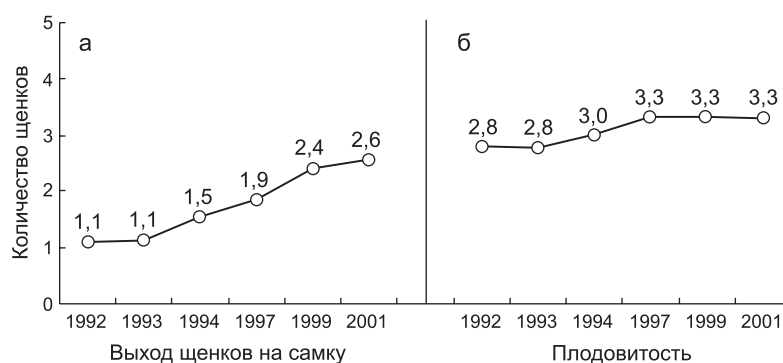


Рис. 2. Динамика показателя «выход щенков на покрытую самку» (а) и плодовитости самок (б) по годам.

Таблица 2

Показатели воспроизводства соболей для четырех типов скрещиваний (суммарно за 10 лет)

Тип скрещивания, ♂×♀	Исходные данные				Признаки			
	Количество покрытых самок	Количество ошенившихся самок	Количество щенков	Количество зарегистрированных щенков	Выход щенков на покрытую самку	Выход щенков на ошенившуюся самку	Плодовитость самок	Доля пропустовавших самок
сг × сг	3089	2116	6721	5944	$1,9 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$	$0,3 \pm 0,03$
чг × сг	1026	641	1996	1840	$1,8 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,04$
сг × чг	684	320	998	867	$1,3 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,07$
чг × чг	119	26	60	46	$0,4 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,1$

Были проанализированы 4 типа подбора пар, различающихся по интенсивности пигментации головы.

Тип 1 – гомогенный подбор: ♀♀ светлоголовые × ♂♂ светлоголовые – отличался лучшими показателями воспроизводства и наименьшей

долей пропустовавших самок (около 30 %). Этот показатель определял выход щенков за весь период наблюдений (табл. 2).

Тип 2 – гетерогенный подбор: ♂♂ чернголовые × ♀♀ светлоголовые. Для типа 2 по сравнению с типом 1 доля пропустовавших

самок возрастала на 6 %, а показатели плодовитости самок между двумя типами скрещиваний достоверно не различались.

Тип 3 – гетерогенный подбор: ♂♂ *светлоголовые* × ♀♀ *черноголовые*. Для типа 3 по сравнению с двумя предыдущими типами подбора пар доля пропустивших самок резко возрастала, поскольку щенилось меньше половины самок, но плодовитость и «выход щенков на оцененную самку» практически не отличались от показателей первых двух типов подбора пар.

Сравнивая показатели воспроизводства между типами 2 и 3 (реципрокные скрещивания), можно констатировать, что у *черноголовых* самок количество благополучных щенений снижено в полтора раза.

Тип 4 – гомогенный подбор ♂♂ *черноголовые* × ♀♀ *черноголовые* по показателям воспроизводства отличался от всех остальных – доля оцененных самок составляла всего лишь 22 %. Причем показатели плодовитости оказались снижены по сравнению с предыдущими тремя типами подбора пар в среднем на одного щенка.

Поскольку со временем в ходе отбора на затемнение в популяции соболей накопилось достаточное количество темноокрашенных особей, появилась возможность отобрать среди них соболей с оптимальной воспроизводительной способностью. Для этого был проведен двухфакторный дисперсионный анализ, в котором, кроме фактора «тип скрещивания», был введен еще один фактор – «поколение». Результаты двухфакторного дисперсионного анализа по этим двум факторам представлены в табл. 3.

Каждому анализируемому количественному признаку соответствуют четыре строки (табл. 3): в первых трех строках приведены данные по межгрупповым дисперсиям («год», «тип» и «год × тип») и в четвертой – по внутригрупповым дисперсиям («Остаточный»). Столбец «Df» содержит данные по числам степеней свободы, столбцы «SS» и «MS» – данные по суммам квадратов отклонений и дисперсиям наблюдений соответственно. Столбец «*F*-значение» содержит наблюдаемое значение *F*-статистики, а столбец «Pr (>*F*)» – вероятность того, что внутригрупповая дисперсия не превышает межгрупповую.

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа исследованных количественных признаков соболей относительно факторов «поколение» (год) и «тип скрещивания» (тип) и их взаимодействия (год × тип)

Признак	Эффект	Степень свободы эффекта, Df	Сумма квадратов, SS	Средний квадрат, MS	Отношение Фишера, <i>F</i> -значение	Уровень значимости для вычисленного <i>F</i> , Pr(> <i>F</i>)
Выход щенков на покрытую самку	1 год	1	508,430	508,430	327,892	<<0,001
	2 тип	1	258,820	258,820	166,916	<<0,001
	3 год × тип	1	10,520	10,520	6,783	0,009
	4 Остаточный	1356	2102,620	1,550		
Выход щенков на оцененную самку	1 год	1	22,420	22,421	18,791	0,00002
	2 тип	1	21,430	21,433	17,962	0,00002
	3 год × тип	1	0,220	0,219	0,184	0,668
	4 Остаточный	1040	1240,930	1,193		
Плодовитость	1 год	1	34,900	34,905	38,269	<<0,001
	2 тип	1	10,050	10,045	11,013	0,001
	3 год × тип	1	2,030	2,033	2,229	0,136
	4 Остаточный	1040	948,580	0,912		
Доля пропустивших самок	1 год	1	42,665	42,665	352,300	<<0,001
	2 тип	1	21,671	21,671	178,940	<<0,001
	3 год × тип	1	0,175	0,175	1,441	0,230
	4 Остаточный	1356	164,219	0,121		

Для номинального уровня значимости было выбрано значение 0,05. Задачей дисперсионного анализа явилась проверка зависимости среднего значения анализируемого признака от года селекционного периода (поколения отбора), типа скрещивания и их взаимодействия.

Как показал анализ дисперсий, на все признаки воспроизводства значимо влияет тип подбора пар ($p \leq 0,0009$). Год (поколение отбора) также значим для всех признаков ($p < 0,000016$),

а эффект взаимодействия этих двух факторов значим только для признака «выход щенков на покрытую самку» (p -значение = 0,0093).

На рис. 3 представлены диаграммы плотности распределения значений признаков «выход щенков на покрытую самку», «выход щенков на ошенившуюся самку» и «плодовитость», в зависимости от поколения отбора (годы), селекционного периода (а) и типа скрещивания, определяемого интенсивностью пигментации

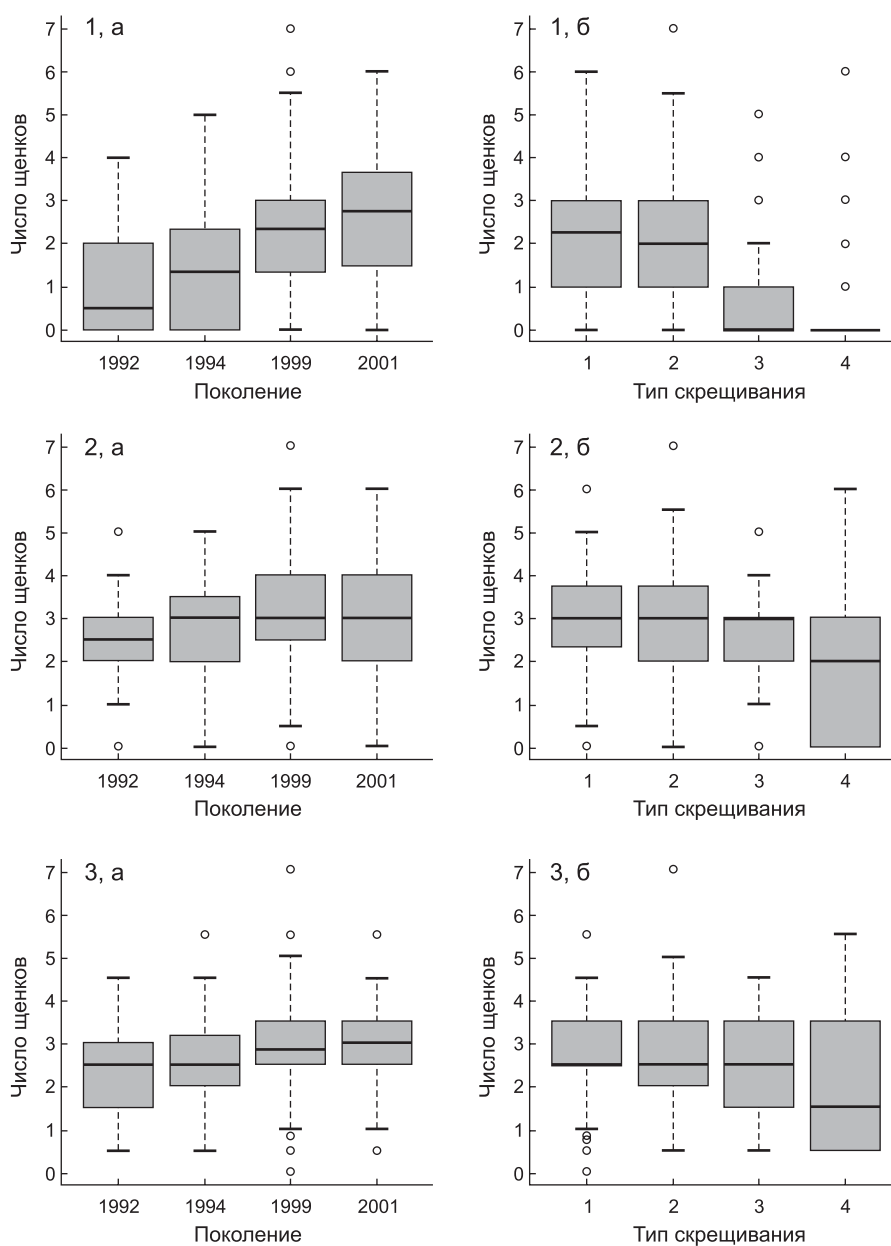


Рис. 3. Диаграммы плотности распределения признаков: «выход щенков на покрытую самку» (1), «выход щенков на ошенившуюся самку» (2) и плодовитость (3) в зависимости от поколения отбора (а) и типа подбора пар (б).

головы (б). Приведенные на рис. 3 графики выражают полную статистическую характеристику анализируемой выборки и наглядно дают экспресс-оценку разницы между подвыборками. Сплошная линия, соответствующая медиане, находится в прямоугольнике, границы которого соответствуют нижнему и верхнему показателям разброса (0,25- и 0,75-квантилям) (рис. 3). Дополнительно от этого прямоугольника отходят пунктирные линии, крайние значения которых соответствуют наблюдаемым минимуму и максимуму. Отдельные кружки соответствуют выбросам.

Результаты размножения самок четырех типов групп подбора пар в течение 10 лет представлены в табл. 4. На рис. 4 отображены динамика средних значений признаков выхода щенков на покрытую и на ошенившуюся самку и доли пропустовавших самок соболей в четырех группах скрещивания, в зависимости от возраста самок за десятилетний период.

Анализ данных проводили следующим образом: сначала выявляли уровень различий за год, т. е. были ли достоверными различия между четырьмя группами подбора пар. Далее анализировали динамику этого признака по годам. Это позволило получить информацию о развитии признака в ходе отбора.

«Динамика плодовитости»: за весь период (кроме 1997 г.) плодовитость самок в первой и второй группах (самцы различаются, а самки светлоголовые) значимо не отличалась. Таким образом, окраска самцов на этот признак не влияет, что говорит о стабильности этого признака. Сравнительный анализ динамики этого признака в третьей и четвертой группах (самцы различаются, а самки темноголовые) затруднителен, поскольку доля ошенившихся самок ничтожно мала. Обращает на себя внимание стабильность этого признака и то, что за весь перечисленный период (разница внутри группы по годам) он не менялся ни в одной из групп (достоверных различий не обнаружено).

Далее, согласно схеме сравнения, анализировалась динамика показателя «выход щенков на покрытую самку» по годам. Этот показатель возрастал во всех группах, наилучшие показатели были в первой и второй группах: с 1,2 до 2,6 щенков на самку. Сравнение реципрокных скрещиваний (группы 2 и 3) показало, что *свет-*

логоловые самки за все годы достоверно имеют более высокие репродуктивные показатели. За весь десятилетний период все группы имеют тенденцию к росту этого показателя, в том числе и *темноголовые* самки из третьей группы (от 0,6 до 1,8 щенков на самку) (рис. 4–1).

При анализе динамики показателя «выход щенков на ошенившуюся самку» была выявлена следующая тенденция. В первых двух группах значения этого признака за рассматриваемый период близки друг к другу и достоверно не различаются. Как правило, эти показатели в первых двух группах достоверно выше, чем в третьей группе (рис. 4–2). Однако к 2001 г. наблюдается выравнивание этого показателя между группами.

При анализе динамики «доли пропустовавших самок» за весь период отмечается общая тенденция к снижению во всех группах (рис. 4, 3). Так, в первой группе этот показатель снизился с 0,5 до 0,09, во второй группе – с 0,5 до 0,1, в третьей и четвертой группах этот показатель снизился примерно в два раза. В первой и второй группах достоверное снижение зафиксировано с 1994 г., тогда как у самок третьей и четвертой групп это произошло позже – в 2001 г. Доли пропустовавших самок за весь исследуемый период достоверно не отличались по годам между первой и второй, а также между третьей и четвертой группами. Однако доля пропустовавших самок в первой и второй группах была достоверно меньше, чем в третьей и четвертой группах. Отсюда вывод: имеется связь между интенсивностью пигментации мехового покрова и количеством пропустовавших самок.

При анализе динамики пропустований за весь период в целом выяснилось, что во всех группах произошло общее снижение доли пропустовавших самок. Это можно объяснить тем, что наступил переломный момент в селекции соболя на затемнение меха, открывающий перспективы в работе с животными полученной окраски – в стаде появились самки с черной окраской волосяного покрова и нормальной воспроизводительной способностью. Важно отметить, что у самцов отрицательная корреляция между затемнением меха и его воспроизводительными способностями проявилась раньше, чем у самок, так как отбору на затемнение меха были подвержены в основном самцы.

Таблица 4
Динамика воспроизводства в ходе отбора на затемнение окраски меха соболей для разных типов скрещивания за десятилетний период

Год щенения	№ группы	Тип скрещивания		Коли- чество самцов	Коли- чество покрытых самок	Количество оценив- шихся самок	Коли- чество щенков	Количество зарегистри- рованных щенков	Плодо- витость	Выход щенков на покрытую самку	Выход щенков на щенившуюся самку	Доля пропусто- вавших самок
		самцы	самки									
1992	1	сг	сг	156	390	174	485	455	2,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,6 ± 0,1	0,5 ± 0,03
	2	чг	сг	56	130	64	177	161	2,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1	0,5 ± 0,05
	3	сг	чг	55	63	14	44	36	3,1 ± 0,1	0,6 ± 0,2	2,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1
	4	чг	чг	14	17	2	3	2	1,5 ± 0,2	0,1 ± 0,1	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1
1993	1	сг	сг	396	706	396	1086	902	2,7 ± 0,1	1,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	0,4 ± 0,03
	2	чг	сг	81	174	81	238	205	2,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
	3	сг	чг	23	135	23	64	49	2,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1	0,8 ± 0,1
	4	чг	чг	3	21	3	8	4	2,7 ± 0,3	0,2 ± 0,2	1,3 ± 0,3	0,9 ± 0,1
1994	1	сг	сг	138	357	225	686	620	3,0 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	0,4 ± 0,03
	2	чг	сг	69	179	109	323	307	3,0 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,8 ± 0,1	0,4 ± 0,04
	3	сг	чг	67	73	15	45	35	3,0 ± 0,1	0,5 ± 0,1	2,3 ± 0,1	0,8 ± 0,05
	4	чг	чг	10	14	1	2	2	2,0 ± *	0,1 ± 0,2	2,000 ± *	0,9 ± 0,1
1997	1	сг	сг	506	705	506	1739	1476	3,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,3 ± 0,05
	2	чг	сг	145	222	145	450	425	3,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,3 ± 0,05
	3	сг	чг	29	102	29	76	73	2,6 ± 0,1	0,7 ± 0,2	2,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
	4	чг	чг	5	36	5	7	7	1,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	1,4 ± 0,4	0,9 ± 0,1
1999	1	сг	сг	230	546	465	1564	1457	3,4 ± 0,1	2,7 ± 0,1	3,1 ± 0,1	0,1 ± 0,03
	2	чг	сг	118	294	227	755	693	3,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1	3,1 ± 0,1	0,2 ± 0,03
	3	сг	чг	57	60	19	45	41	2,4 ± 0,1	0,7 ± 0,1	2,2 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	4	чг	чг	19	19	9	27	20	3,0 ± 0,4	1,1 ± 0,4	2,2 ± 0,4	0,5 ± 0,1
2001	1	сг	сг	197	385	350	1161	1034	3,3 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,1 ± 0,02
	2	чг	сг	140	251	220	724	633	3,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,1 ± 0,03
	3	сг	чг	27	27	15	53	49	3,5 ± 0,2	1,8 ± 0,3	3,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1
	4	чг	чг	12	12	6	13	11	2,2 ± 0,4	0,9 ± 0,4	1,8 ± 0,4	0,5 ± 0,1

* Ошибка не может быть вычислена.

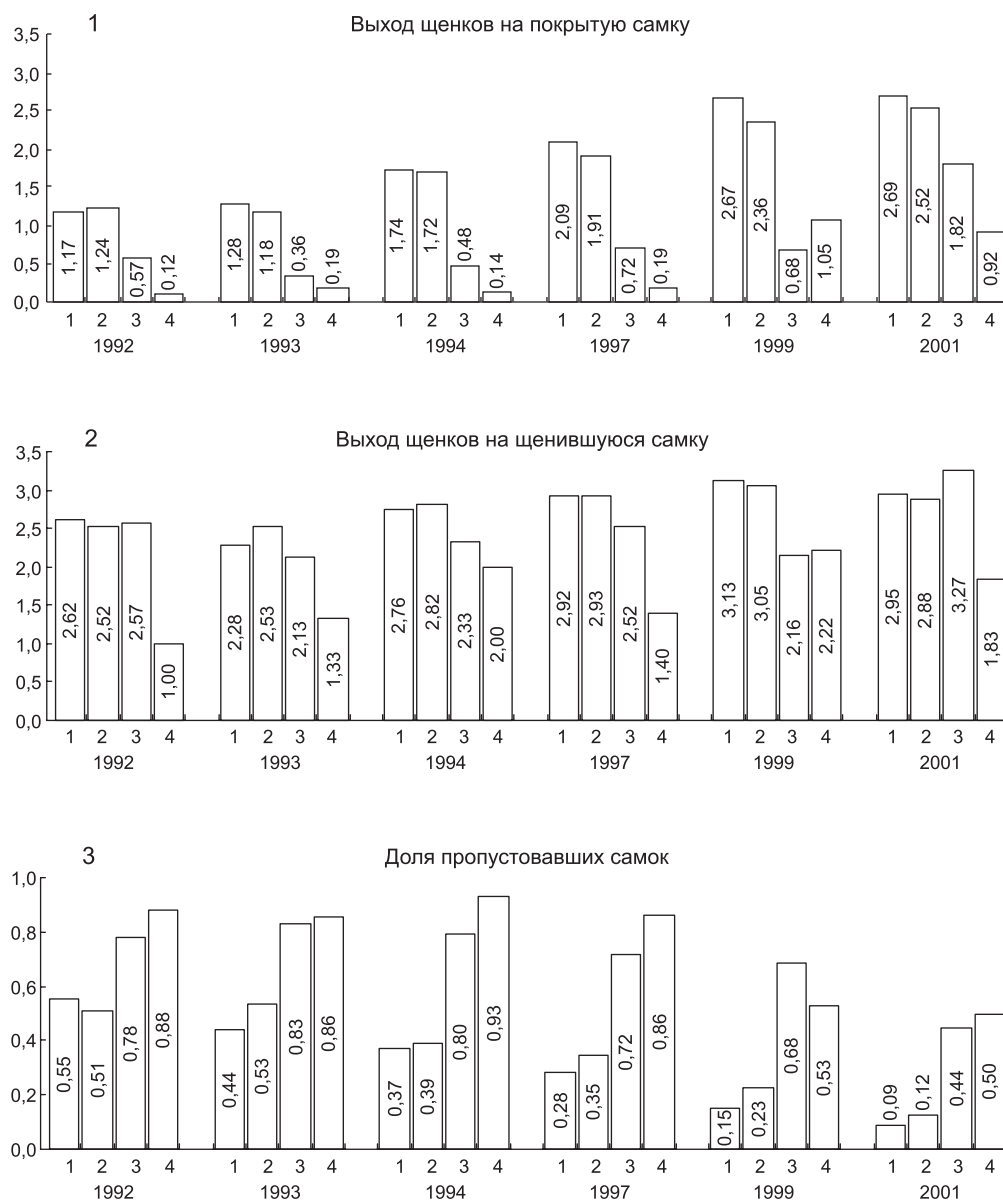


Рис. 4. Распределение в четырех группах скрещиваний средних значений признаков в зависимости от возраста самок: «выход щенков на покрытую самку» (1), «выход щенков на щенившуюся самку» (2), «доля пропустивших самок» (3). Группа 1 соответствует типу скрещивания $сг \times сг$, группа 2 – $чг \times сг$, группа 3 – $сг \times чг$ и группа 4 – $чг \times чг$.

Этот вывод также подтверждается нашими исследованиями более раннего селекционного периода, когда в зверосовхозе «Пушкинский» в 1972 г. при оценке окраски опушения животных выяснилось, что среди 647 самцов было 19 % с маркировкой «головка высокая» (высший балл в товароведческой оценке интенсивности пигментации волоса) и 60 % с маркировкой «головка нормальная», в то время как среди 2 тыс. самок с такими маркировками было 4 % и

24 % соответственно (т. е. в несколько раз меньше). У самок отрицательная корреляция между затемнением меха и воспроизводительными способностями стала уменьшаться благодаря отбору только к 2001 г. (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ приведенных данных показывает, что современная стратегия селекционной

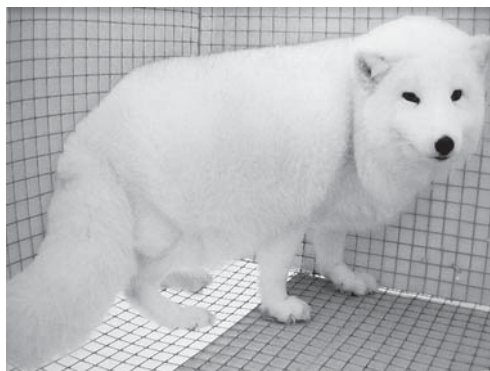
работы с соболями должна поддерживать стабилизирующий отбор на «затемнение окраски волосяного покрова». К настоящему времени в специализированном звероводческом хозяйстве «Пушкинский» доля соболей фенотипа *черноголовые* среди самцов составляет – 20 %, среди самок – 10 %. Схема подбора пар гетерогенная: ♂♂ *черноголовые* × ♀♀ *светлоголовые* и наоборот (реципрокные скрещивания): ♂♂ *светлоголовые* × ♀♀ *черноголовые*. Эта схема подбора пар оказалась наиболее оправданной. Так, если в 2006 г. средний «выход щенков на покрытую самку» в среднем по стаду составил 1,6, то в 2010 г. он повысился до 2,3. Кроме того, при подборе пар, в которых один из партнеров *черноголовый*, через 2–3 года необходимо применять технологический прием – «смена самца» или «смена самки». Проведенный анализ репродуктивного периода соболей показал оправданность такого приема для увеличения плодовитости и длины репродуктивного периода самок (Свищева и др., 2010).

Возникает закономерный вопрос: возможно ли отбором создать массив черноголовых соболей с нормальной плодовитостью?

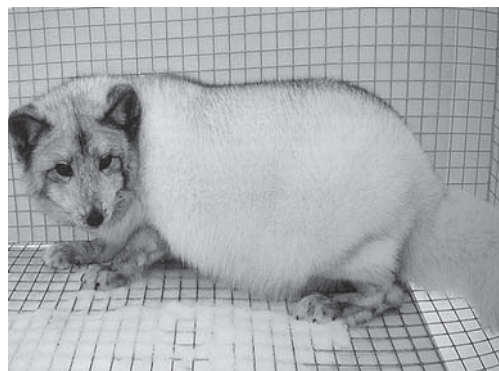
Ответ: возможно. И примеры тому есть на других видах пушных зверей. Авторитетный на сегодня в России специалист по генетике и селекции пушных зверей Е.М. Колдаева подчеркивает: «В ходе исторического одо-

машивания пушных зверей на основе установления новых корреляций сублетальные гены перестают быть фактором, снижающим показатели воспроизводства. Так, если в первые годы разведения в клеточных условиях песцов мутантной окраски *тень* (генотип $S/+$) у молодых самок отмечались задержка полового созревания и, как следствие, достоверно меньшие репродуктивные показатели, чем по самкам окраски *вуалевые* ($+/+$): 5–6 щенков на одну самку против 7–8 – за счет большего количества прохолостевших, пропустовавших и неблагополучно родивших самок. Однако в процессе многолетнего отбора самок, несущих мутацию *тень*, по воспроизводительной способности это отрицательное влияние было преодолено и в настоящее время самки *тень* ($S/+$) и *вуалевые* ($+/+$) не отличаются по показателям воспроизводства. В 2003 г. в специализированных звероводческих хозяйствах средний показатель воспроизводства по мутантным самкам *тень* составил 8,1 щенка, а по *вуалевым* – 8,13 щенка на одну самку» (Колдаева, 2005. С. 10).

Чудеса отбора и селекционная практика звероводства показывают, что отбором можно перестроить любую отрицательную корреляцию, в том числе и между интенсивностью пигментации и показателями размножения (Чекалова, Нюхалов, 2012).



Мутация окраски волосяного покрова *тень* ($S/+$). В качестве заводского типа был утвержден в 1987 г. (фото Е.М. Колдаевой).



Вуалевые песцы ($+/+$). Утвержден как заводской тип в 1985 г. (фото Е.М. Колдаевой).

Рис. 5. Вуалевые песцы (слева – носитель доминантного гена S , справа – нормальный).

Пояснения к специальным терминам, используемым в статье:

Гон – сезон спаривания пушных зверей.

Пропустовавшая самка – самка, покрытая самцом во время гона, но не имевшая приплод.

Основная самка – самка из основного стада пушных зверей, имевшаяся на начало производственного года (1 января).

Основное стадо – половозрелые самцы и самки, участвующие в размножении.

Выход щенков на основную самку – количество выращенных к регистрации щенков на одну основную самку.

Плодовитость – количество живых и мертвых щенков, родившихся у благополучно ощенившейся самки.

Дорегистрационный отход щенков – количество щенков, павших за период от момента рождения до регистрации (регистрация щенков проводится обычно на 20-й день после щенения самки).

Неблагополучно родившая самка – самка, у которой все щенки родились мертвыми или погибли до регистрации.

ЛИТЕРАТУРА

- Алтухов Ю.П., Животовский Л.А., Садыков С.С. и др. Эффекты модального и направленного отбора по совокупности признаков у хлопчатника *Gossypium hirsutum* // Докл. АН СССР. 1976. Т. 227. № 1. С. 212–215.
- Алтухов Ю.П., Сарсенбаев Н.А., Ширинский М.А. и др. Модальный отбор по морфологическим признакам у каракульских овец // Интенсивная технология каракулеводства. Алма-Ата: Кайнар, 1987. С. 63–70.
- Афанасьев В.А. Изменения пушных зверей под влиянием одомашнивания // Совещ., посвящ. 100-летию выхода в свет книги Ч. Дарвина «Изменение животных и растений под влиянием одомашнивания» (1968), 18–20 декабря 1968 г. Тез. докл. М.: Изд-во МГУ, 1968. С. 23–28.
- Бакеев Н.Н., Монахов Г.И., Сеницын А.А. Соболь. Вятка, 2003. 336 с.
- Бондаренко С.П. Содержание соболей. М.: Изд-во АСТ, 2004. 129 с.
- Доппельмайр Г.Г. Географическое распространение соболя и районы соболиного промысла // Уральский охотник. 1926. № 4/5. С. 4–22.
- Дулькейт Г.Д. Материалы по изучению соболя и соболиного хозяйства острова Большой Шантар // Изв. Тихоокеанской промысловой станции. Владивосток, 1929. Т. 3. Вып. 3. С. 120.
- Евтеев А.Н. Совещание звероводов // Кролиководство и звероводство. 2008. № 6. С. 4–5.
- Каверин В. В., Уткин Л. Г. Сезонная изменчивость волосяного покрова соболей // Науч. тр. НИИПЗК. Биология, разведение и содержание клеточных соболей. 1980. Т. 22. С. 47–50.
- Каштанов С.Н., Лазебный О.Е., Бекетов С.В., Имашева А.Г. Влияние искусственного направленного отбора по признаку окраски меха на приспособленность промышленной популяции соболя *Martes zibellina* L. // Генетика. 2008а. Т. 44. № 6. С. 835–840.
- Каштанов С.Н., Лазебный О.Е., Имашева А.Г. Динамика корреляционных связей хозяйственно-ценных признаков в селектируемой популяции соболя *Martes zibellina* L. // Генетика. 2008б. Т. 44. № 11. С. 1–3.
- Колдаева Е.М. Научные аспекты совершенствования хозяйственно-полезных признаков пушных зверей: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. п. Родники Московской обл., 2005. 48 с.
- Корытин С.А. Численность, окраска меха соболей и солнечная активность // Матер. Всесоюз. науч.-произв. совещ. по соболю. Киров, 1971. С. 149–154.
- Корытин С.А. О корреляции изменения численности темных и светлых соболей с солнечной активностью (в условиях Сибири и Зауралья) // Научно-техническая информация ВНИИОЗ. Киров, 1972. Вып. 36. С. 14–22.
- Крючков В.С. Влияние погоды на активность соболя // Сб. науч.-техн. информ. ВНИИОЗ. Киров, 1971. Вып. 34. С. 14–19.
- Кузнецов Б.А. Географическая изменчивость соболей и кунит фауны СССР // Тр. Моск. Зоотехнич. ин-та. М., 1941. Т. 1. С. 113–134.
- Кузнецов Г.А. Селекция – основа создания новых пород и совершенствование существующих // Кролиководство и звероводство. 2006. № 1. С. 10–13.
- Кузнецов Г.А. Возможность ускорения создания селекционных достижений в звероводстве // Информ. вестн. ВОГиС. 2007. Т. 11. № 1. С. 233–237.
- Куличков Б.А., Портнова Н.Т. Русский соболь. М.: Колос, 1967.
- Мишуков Л.К. С чего началось соболеводство? // Кролиководство и звероводство. 1998. № 5/6. С. 15.
- Павлюченко В.М., Уткин Л.Г., Григорьев М.Ю. и др. Клеточное разведение соболей. М.: Колос, 1979. 184 с.
- Павлюченко С.В. Различия в окраске соболей // Кролиководство и звероводство. 1980. № 2. С. 9.

- Пономарев А.Л. Об изменчивости и наследовании окраски и расцветки у соболей (*Martes zibellina*) // Зоол. журнал. 1938. Т. 17. Вып. 3. С. 482–503.
- Пономарев А.Л. Реакция некоторых куньих (Mustelidae) на градиент температуры // Зоол. журнал. 1944. Т. 23. Вып. 1. С. 51–55.
- Портнова Н.Т. Опыт работы соболиной фермы Пушкинского звероводческого совхоза // Кролиководство и звероводство. 1941. № 6. С. 7–9.
- Портнова Н.Т. Наш опыт разведения соболей // Кролиководство и звероводство. 1966. № 4. С. 15–16.
- Раевский В.В. Жизнь кондо-сосьвинского соболя. М., 1947. 220 с.
- Сабанеев Л.П. Соболиный промысел. М.: Типография Готье, 1875. 73 с.
- Свищева Г.Р., Каштанов С.Н. Репродуктивная стратегия соболя (*Martes zibellina* Linneus 1758 г.). Анализ наследуемости размеров приплода в промышленных популяциях // Информ. вестник ВОГиС. 2010. Т. 14. № 3. С. 444–450.
- Тугаринов А.Я. Соболиный промысел в Енисейской губернии. Красноярск, 1913. 20 с.
- Франклин Я.Р. Эволюционные изменения в небольших популяциях. Биология охраны природы. М.: Мир, 1983. С. 160–176.
- Чекалова Т.М., Нюхалов А.П. Комментарий к статье: С.В. Бекетов, Т.И. Казакова «Связь между окраской волосяного покрова и репродуктивностью самок соболей клеточного содержания» // Кролиководство и звероводство. 2012. № 2. С. 18–19.
- Imasheva A.G., Zhivotovsky L.A., Lazebny O.E. Effects of artificial stabilizing selection on *Drosophila* populations subjected to directional selection for another trait // Genetica. 1991. V. 83. No. 3. P. 247–256.

HEAVINESS OF HAIR PIGMENTATION AND REPRODUCTIVITY IN SABLES (*MARTES ZIBELLINA* L.)

S.N. Kashtanov¹, O.E. Lazebny², A.P. Njukhalov³,
I.E. Chernova⁴, G.P. Svisheva^{1,5}, O.V. Trapezov⁵

¹ Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia, e-mail: snkashtanov@mail.ru;

² Koltsov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia;

³ Pushkinsky State Fur Farm, Moscow oblast, Russia;

⁴ Afanasyev Institute for Fur and Rabbit Farming, Rodniki, Moscow oblast, Russia;

⁵ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Summary

Consequences of directional selection for fur blackening were studied in a captive sable population (Pushkinskoe fur farm, Moscow oblast). Crosses of four types were analyzed, in which males and females differed from each other in head fur color. Quantitative traits expressed as indices of reproduction: female fertility, average number of puppies per mated female, average number of puppies per whelped female, and mated but not fertilized females, were compared among the crosses. The lowest indices of reproduction were recorded when females and males with the most blackened fur were crossed. Reproduction indices were evaluated by two-way ANOVA. The results showed that the type of crossing (factor 1) significantly influenced all traits studied. The year of selection period (factor 2) was also significant for all traits, and the interaction of these two factors significantly influenced only one trait, «number of puppies per mated female». As a whole, positive dynamics of these traits was observed over a decade. Therefore, we presume that the continuation of artificial directional selection for sable fur blackening is promising. The main stages of the breeding are recognized, and further actions are outlined.

Key words: blackhead sable, selection for heaviness of pigmentation, reproduction.

УДК 575.827.5

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *PANE1* В ФОРМИРОВАНИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У СВИНЕЙ

© 2014 г. Н.С. Юдин¹, Р.Б. Айтназаров¹, С.П. Князев², В.А. Бекенев³,
Ю.В. Подоба⁴, А.Б. Бердибаева⁵, М.И. Воевода^{1,6}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия, e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия;

³ Государственное научное учреждение Сибирский научно-исследовательский институт животноводства, Новосибирск, Россия;

⁴ Институт разведения и генетики животных Национальной академии аграрных наук Украины, с. Чубинское, Бориспольский р-н, Киевская область, Украина;

⁵ Институт биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика;

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский институт терапии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 2 сентября 2013 г. Принята к публикации 1 октября 2013 г.

У диких и лабораторных животных показано существование компромисса между репродуктивным успехом и иммунитетом в результате ограниченности энергетических ресурсов организма. Поэтому искусственный отбор сельскохозяйственных животных на усиление репродуктивных признаков может сопровождаться снижением иммунного ответа. Ранее были показаны положительная ассоциация однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) гена *PANE1*, кодирующего минорный антиген гистосовместимости, с иммунологическими показателями крови и отрицательная ассоциация с массой при рождении у поросят породы ландрас (Huang *et al.*, 2010). Целью работы были определение частоты ОНП в гене *PANE1* у домашних свиней и диких кабанов, а также анализ его ассоциации с рядом репродуктивных показателей у свиней крупной белой породы. По частоте редкого аллеля *G* гена *PANE1* дикие кабаны (11,8 %) и домашние свиньи породы ландрас (12,2 %) и крупная белая (20,0 %) достоверно не различались между собой. Носительство генотипа *CG* у свиноматок приводило к снижению числа живых поросят и массы гнезда при рождении.

Ключевые слова: свинья, крупная белая порода, дикий кабан, *Sus scrofa*, ген *PANE1*, однонуклеотидный полиморфизм, ассоциация, репродуктивный признак, иммунитет.

Ассоциация полиморфизма ДНК генов, кодирующих белки иммунной системы, с репродуктивными признаками сельскохозяйственных животных может быть рассмотрена в двух аспектах. Во-первых, иммунный ответ может положительно коррелировать с репродуктивными признаками, поскольку повышение продуктивности при разведении в неволе при воздействии специфического пресса паразитов,

вероятно, будет происходить только у генетически устойчивых к паразитам животных. Во-вторых, корреляция может быть отрицательной, поскольку отбор на усиление репродуктивных признаков может приводить к снижению иммунного ответа за счет ограниченности энергетических ресурсов организма (Hamilton, Zuk, 1982; Folstad, Karter, 1992; Мошкин и др., 2003; van der Most *et al.*, 2011).

К сожалению, в имеющихся работах по анализу ассоциаций генов иммунной системы с репродуктивными признаками сельскохозяйственных животных авторы практически не исследовали показатели иммунного ответа. Так, показана ассоциация однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в гене лимфоидного фактора *LEF1* с числом сосков у свиней (Tetzlaff *et al.*, 2009). У коров обнаружены ассоциации с надоями и количеством молочного белка ОНП в гене хемокина *CCL2* (Leyva-Baca *et al.*, 2007), а также ОНП в гене caspase recruitment domain 15 (*CARD15*) (Pant *et al.*, 2007). Другие авторы обнаружили ассоциации показателей молочной продуктивности у коров с ОНП в генах: Toll-like Receptor 4 (*TLR-4*), chemokine receptor 1 (*CXCR1*), *CD14* и serum protease inhibitor (*SERPINA1*) (Beecher *et al.*, 2010). ОНП полиморфизм в промоторе гена *TNFalpha* может влиять на распределение репродуктивных показателей коровы в ходе лактации в зависимости от пола теленка (Yudin *et al.*, 2013).

Нам известна единственная работа (Huang *et al.*, 2010), в которой показана ассоциация замены $C \rightarrow G$ в первом интроне гена, ассоциированного с пролиферацией ядерного элемента (Proliferation Associated Nuclear Element, *PANE1*) с массой поросят при рождении и некоторыми иммунологическими показателями крови у свиней. Ген *PANE1* был идентифицирован благодаря его высокой экспрессии в клетках молочной железы мыши, трансформированных бета-катенином (Renou *et al.*, 2003). Транскрипция гена *PANE1* у человека в результате альтернативного сплайсинга и наличия множественных стартов транскрипции приводит к экспрессии 11 изоформ мРНК (Brickner *et al.*, 2006). Вариант **c** кодирует самую длинную изоформу размером 180 аминокислотных остатков. Вариант **k** кодирует короткую изоформу размером 58 аминокислотных остатков, в которой отсутствуют 122 аминокислотных остатка с N-конца (экзоны с 1 по 5). Экспрессия транскрипта с гена *PANE1* была обнаружена после активации *in vivo* и *in vitro* в В- и Т-лимфоцитах человека, а также в клетках ряда опухолей (лейкемии, лимфомы и клеточные линии опухолевого происхождения) (Bierie *et al.*, 2004). Транскрипт **k** кодирует экспрессирующийся в покоящихся В-клетках минорный антиген гистосовместимости, кото-

рый может распознаваться цитотоксическими Т-лимфоцитами (Brickner *et al.*, 2006).

Целью работы было определение частоты генотипов и аллелей ОНП $C \rightarrow G$ в первом интроне гена *PANE1* у домашних свиней и диких кабанов, а также анализ ассоциации этого полиморфизма с рядом репродуктивных показателей у свиней крупной белой породы.

Образцы крови диких кабанов, представляющих разные подвиды *Sus scrofa* L., получены из России (Воронежский биосферный заповедник), Украины (Николаевская область, Карпаты) и Киргизии (Чуйская долина). Образцы крови свиней крупной белой породы получены из Новосибирской области, ЗАО АПК «Иня»; породы ландрас – из ОАО «Кудряшовское» и Экспериментального хозяйства ИЦиГ СО РАН. Данные по репродуктивным показателям свиноматок крупной белой породы были взяты из учетных карточек. Геномную ДНК выделяли стандартным методом протеолитической обработки с последующей экстракцией фенолом. Генотипирование ОНП маркера в гене *PANE1* проводили методом ПЦР-ПДРФ (Huang *et al.*, 2010). ОНП создает сайт для эндонуклеазы рестрикции BseP I («Сибэнзим», Россия). После рестрикции 213 п.н. ампликон либо оставался неразрезанным (аллель **C**), либо разрезался на фрагменты 120 п.н. и 93 п.н. (аллель **G**). Для статистической обработки данных использовали пакет программ STATISTICA 8.0. Проверку отклонения распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга и сравнение частот аллелей проводили с помощью критерия χ^2 . Оценку влияния ОНП маркера гена *PANE1* на репродуктивные показатели проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Поскольку от каждой свиноматки получены от 2 до 9 опоросов, количество генотипов при дисперсионном анализе превышало число животных.

Методом ПЦР-ПДРФ были определены генотипы ОНП в гене *PANE1* у 151 особи диких кабанов трех подвидов и домашних свиней двух пород (рис.). Дикие кабаны принадлежали к трем подвидам *Sus scrofa*: *S. s. scrofa* (Россия), *S. s. attila* (Украина) и *S. s. nigripes* (Киргизия). Однако, поскольку частоты аллелей и генотипов ОНП гена *PANE1* у разных подвидов дикого кабана, а также у домашних свиней породы ландрас из разных хозяйств достоверно не раз-

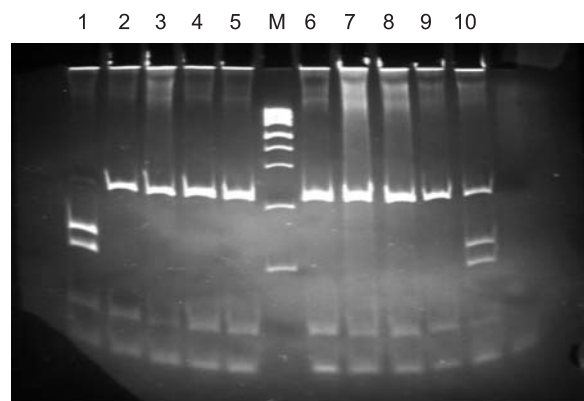


Рис. Генотипирование методом ПЦР–ПДРФ ОНП маркера в гене *PANE1*.

Анализ продуктов рестрикции проводили методом вертикального гель-электрофореза в 4 %-м полиакриламидном геле.

Дорожка 1 – генотип GG, дорожка 10 – генотип CG, дорожки 2–5 и 6–9 – генотип CC, М – маркеры молекулярного веса ДНК от 100 до 1000 п.н. с шагом 100 п.н.

личались, для дальнейшего анализа они были объединены (табл. 1). Распределение генотипов во всех изученных группах существенно не отличалось от равновесия Харди–Вайнберга. Нами не было обнаружено достоверных различий в частоте редкого аллеля *G* гена *PANE1*

у диких кабанов и домашних свиней породы ландрас и крупная белая. Полученная нами частота аллеля *G* у свиней породы ландрас из России (12,2 %) существенно ниже частоты этого же аллеля у свиней породы ландрас из Китая (34,7 %) (Huang *et al.*, 2010). Однако частоты генотипов в китайской популяции достоверно отклонялись от распределения Харди–Вайнберга из-за избытка гетерозигот. Наблюдаемое расхождение в популяционных частотах ОНП может быть связано с отбором в пользу гетерозигот в китайской популяции.

Высокая частота редкого аллеля *G* гена *PANE1* у свиней крупной белой породы (20,0 %) позволила провести анализ влияния этого полиморфизма на ряд репродуктивных показателей у свиноматок (табл. 2). Поскольку порядковый номер опороса свиноматки достоверно не влиял ни на один из исследованных нами показателей, в этой таблице объединены данные по всем опоросам: с 1-го по 9-й опорос. Оказалось, что ОНП полиморфизм достоверно ассоциирован с числом живых поросят ($F(2,257) = 4,184$, $p = 0,016$) и массой гнезда ($F(2,242) = 5,960$, $p = 0,003$) при рождении. Оба этих показателя у гетерозиготных свиноматок CG оказались

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей ОНП в гене *PANE1* у домашних и диких свиней

Форма <i>Sus scrofa</i>	Число особей	Частота генотипов, %			Частота аллелей, %		χ^2 *
		CC	CG	GG	C	G	
Крупная белая порода	72	0,625	0,347	0,028	0,800	0,200	0,455
Порода ландрас	45	0,778	0,200	0,022	0,878	0,122	0,207
Дикий кабан	34	0,795	0,176	0,029	0,862	0,118	0,765

* Проверка отклонения распределения генотипов от равновесия Харди–Вайнберга.

Таблица 2

Анализ ассоциации ОНП в гене *PANE1* у свиней крупной белой породы с числом и массой новорожденных поросят

Признак	Генотипы			P^*
	CC	CG	GG	
Число живых поросят в помете, шт.	10,57 ± 0,17 ^a (160)	9,73 ± 0,24 ^b (83)	10,73 ± 0,66 ^{ab} (11)	0,016
Масса гнезда поросят, кг	12,68 ± 0,24 ^a (154)	11,29 ± 0,33 ^b (80)	12,65 ± 0,89 ^{ab} (11)	0,003
Средняя масса одного поросенка, кг	1,20 ± 0,02 ^a (154)	1,17 ± 0,02 ^a (80)	1,19 ± 0,06 ^a (11)	0,541

* По результатам однофакторного дисперсионного анализа. Данные представлены как среднее ± среднее квадратическое отклонение (число наблюдений). Одинаковые буквы в надстрочных индексах показывают отсутствие достоверных различий средних величин для разных генотипов по результатам post-hoc теста Фишера.

достоверно ниже, чем у гомозиготных свиноматок СС. Число живых поросят и масса гнезда при рождении у гомозиготных свиноматок GG существенно не отличались от этих же показателей у свиноматок с генотипами СС и CG. Однако наше исследование не позволяет сделать однозначный вывод о влиянии редкого генотипа GG на репродуктивные показатели свиноматок, поскольку эта группа состояла лишь из двух свиноматок, которые имели 4 и 7 опоросов. Генотип матери по ОНП в гене *PANE1* не оказывал влияния на среднюю массу одного поросенка при рождении ($F(2,242) = 0,617, p = 0,541$).

Ранее у поросят породы ландрас была показана ассоциация ОНП гена *PANE1* с процентным соотношением лимфоцитов, общими количеством лимфоцитов и массой при рождении (Huang *et al.*, 2010). Процентное соотношение лимфоцитов у поросят с генотипом СС было достоверно выше, чем у поросят с генотипами CG и GG в порядке $CC > CG > GG$, при этом масса у новорожденных поросят с генотипом СС была достоверно ниже, чем у поросят с генотипами CG и GG в порядке $CC < CG < GG$. Эти факты хорошо согласуются с гипотезой о влиянии полиморфизма гена *PANE1* на компромиссное распределение ресурсов между иммунной системой и репродуктивной функцией у свиней. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что полиморфизм гена *PANE1* также влияет на репродуктивные показатели у взрослых животных (свиноматок). Можно предполагать, что взрослые свиноматки с различными генотипами по ОНП гена *PANE1* будут также иметь различные показатели иммунитета в период беременности, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Таким образом, нами впервые показано, что носительство генотипа CG ОНП полиморфизма гена *PANE1* у свиноматок крупной белой породы приводит к снижению числа живых поросят в помете и массы гнезда при рождении.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а), СО РАН (экспедиционный проект № 3э), Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные

науки – медицине» (проект № ФНМ-2012-05) и базового бюджетного проекта VI.53.1.2.

ЛИТЕРАТУРА

- Мошкин М.П., Герлинская Л.А., Евсиков В.И. Иммунная система и реализация поведенческих стратегий размножения при паразитарных прессах // Журн. общ. биологии. 2003. Т. 64. № 1. С. 23–44.
- Beecher C., Daly M., Childs S. *et al.* Polymorphisms in bovine immune genes and their associations with somatic cell count and milk production in dairy cattle // BMC Genet. 2010. V. 11. P. 99.
- Bierie B., Edwin M., Melenhorst J.J., Hennighausen L. The proliferation associated nuclear element (PANE1) is conserved between mammals and fish and preferentially expressed in activated lymphoid cells // Gene Expr. Patterns. 2004. V. 4. No. 4. P. 389–395.
- Brickner A.G., Evans A.M., Mito J.K. *et al.* The PANE1 gene encodes a novel human minor histocompatibility antigen that is selectively expressed in B-lymphoid cells and B-CLL // Blood. 2006. V. 107. No. 9. P. 3779–3786.
- Folstad I., Karter A.J. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap // Amer. Nat. 1992. V. 139. No. 3. P. 603–622.
- Hamilton W.D., Zuk M. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? // Science. 1982. V. 218. No. 4570. P. 384–387.
- Huang H., Deng H., Yang Y. *et al.* Molecular characterization and association analysis of porcine PANE1 gene // Mol. Biol. Rep. 2010. V. 37. No. 5. P. 2571–2577.
- Leyva-Baca I., Schenkel F., Sharma B.S. *et al.* Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine CCL2, IL8, CCR2 and IL8RA genes and their association with health and production in Canadian Holsteins // Anim. Genet. 2007. V. 38. No. 3. P. 198–202.
- Pant S.D., Schenkel F.S., Leyva-Baca I. *et al.* Identification of single nucleotide polymorphisms in bovine CARD15 and their associations with health and production traits in Canadian Holsteins // BMC Genomics. 2007. V. 8. P. 421.
- Renou J.P., Bierie B., Miyoshi K. *et al.* Identification of genes differentially expressed in mouse mammary epithelium transformed by an activated beta-catenin // Oncogene. 2003. V. 22. No. 29. P. 4594–4610.
- Tetzlaff S., Jonas E., Phatsara C. *et al.* Evidence for association of lymphoid enhancer-binding factor-1 (LEF1) with the number of functional and inverted teats in pigs // Cytogenet. Genome Res. 2009. V. 124. No. 2. P. 139–146.
- van der Most P.J., de Jong B., Parmentier H.K., Verhulst S. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments // Funct. Ecol. 2011. V. 25. No. 1. P. 74–80.
- Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Voevoda M.I. *et al.* Association of polymorphism harbored by tumor necrosis factor alpha gene and sex of calf with lactation performance in cattle // Asian Austral. J. Anim. Sci. 2013. V. 26. No. 10. P. 1379–1387.

ROLE OF POLYMORPHISM FOR THE *PANE1* GENE IN THE FORMATION OF REPRODUCTIVE INDICES IN PIGS

N.S. Yudin¹, R.B. Aitnazarov¹, S.P. Knyazev², V.A. Bekenev³,
Yu.V. Podoba⁴, A.B. Berdibaeva⁵, M.I. Voevoda^{1,6}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia;

² Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia,
e-mail: yudin@bionet.nsc.ru;

³ Siberian Research Institute for Animal Husbandry, Novosibirsk, Russia;

⁴ Institute of Cultivation and Genetics of Animals, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences,
Chubinskoe, Borispol region, Kiev oblast, Ukraine;

⁵ Institute of Biotechnology, Kyrgyz Academy of Sciences, Bishkek, Kyrgyz Republic;

⁶ Research Institute of Internal Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy
of Medical Sciences, Novosibirsk, Russia

Summary

A tradeoff between reproductive success and immunity is observed in wild and laboratory animals owing to limited energy resources of an organism. Therefore, artificial selection of farm animals for reproductive indices may be accompanied by reduced immune response. Formerly, a single-nucleotide polymorphism in the *PANE1* gene for a minor histocompatibility antigen was demonstrated to be positively associated with immunological blood indices and negatively associated with birthweight in Landrace pigs (Huang *et al.*, 2010). In the present study, the frequency of the SNP was determined in domestic pigs and wild boars, and its association with reproductive indices in pigs of the Large White breed. Wild boars, domestic Landrace pigs, and Large White pigs did not differ significantly in the frequency of the rare *G* allele of *PANE1*: 11,8, 12,2, and 20,0 %, respectively. Carriership of the CG genotype in females reduced the live litter size and weight.

Key words: pig, Large White breed, wild hog, *Sus scrofa*, *PANE1* gene, single-nucleotide polymorphism, association, reproductive trait, immunity.

УДК 636.4:636.082.13

ВАРИАЦИЯ МАССЫ НОВОРОЖДЕННОЙ ОСОБИ У ДОМАШНИХ СВИНЕЙ И ПРОЦЕСС АДАПТАЦИИ

© 2014 г. С.В. Никитин¹, С.П. Князев², В.И. Ермолаев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: nsv1956@mail.ru;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования Новосибирский государственный
аграрный университет, кафедра разведения и кормления животных,
Новосибирск, Россия, e-mail: knyser@rambler.ru

Поступила в редакцию 7 июля 2013 г. Принята к публикации 1 октября 2013 г.

В статье показано, что динамика изменений массы новорожденной особи у домашних свиней отражает процесс адаптивных изменений генофонда популяции. Результаты исследования демонстрируют, что у домашних свиней приведение генофонда популяции в соответствие с изменившимися условиями среды может быть длительным процессом и включает по крайней мере два временных отрезка, на протяжении которых действуют разные векторы отбора. На первом отрезке происходит формирование положительной связи между массой особи при рождении и массой в зрелом возрасте, во время второго – разрушение этой связи.

Ключевые слова: масса новорожденной особи при рождении, материнский эффект, неоднозначность, генофонд, адаптация.

ВВЕДЕНИЕ

В работах, посвященных изменениям генофонда популяций, как правило, используют качественные признаки (Левонтин, 1978; Ли, 1978; Солбриг О., Солбриг D., 1982; Кайданов, 1996). Это предпочтение вполне понятно, так как качественным признакам присуща однозначность связи генотипа с фенотипом (один генотип – один фенотип), что существенно облегчает построение моделей и анализ фактического материала. При анализе микроэволюционных процессов, происходящих в популяциях свиней, основной упор также всегда делался на качественные признаки (генетические маркеры) (Laval *et al.*, 2000; Ciobanu *et al.*, 2001; Kaul *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2005; Thuу *et al.*, 2006). В настоящем исследовании для этой цели был использован непрерывный количественный признак – масса новорожденной особи. Выбор данного признака обусловлен тем, что он не подвергается искусственному

тбору, так как стандарты для него не предусмотрены (Инструкция ..., 1976). При этом масса новорожденной особи у домашних свиней – признак, генетический контроль которого в настоящее время уже изучен: картировано около 100 QTL (локусов количественных признаков), отвечающих за массу особи, в том числе 7 из них – непосредственно за массу при рождении (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/).

Целью настоящего исследования является анализ динамики изменений генофонда популяции, связанный с контролем массы новорожденной особи, т. е. с контролем пренатального роста домашних свиней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на свиньях породы ландрас, которых разводили в Экспериментальном хозяйстве СО АН СССР с 1961 г. по 1987 г. Родоначальниками популяции стали привезенные из Прибалтики 10 хряков и 89

свинок. На протяжении практически всего периода существования в популяции было принято индивидуальное взвешивание каждой особи при рождении. Для анализа были использованы выборки объемом не менее 100 особей, в которых признак (масса при рождении) был измерен у потомков и обоих родителей. Общий объем массива данных включает 21 461 особь, которые родились с 1964 г. по 1986 г. Статистическую обработку данных проводили методами дисперсионного и регрессионного анализа (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вариация массы новорожденной особи в популяции на протяжении 23 лет имела положительный, хотя и недостоверный, линейный тренд (табл. 1), тогда как в ее эффективной части (репродуктивном ядре, воспроизводящем составе) эти тренды выражены существенно сильнее и значимы статистически (табл. 1). Следовательно, положительный тренд признака в популяции является результатом трендов в родительских группах.

Высокие по сравнению с популяцией значения признака в репродуктивном ядре указывают на отбор в воспроизводящий состав особей с массой при рождении большей, чем среднее для популяции значение, что может быть следствием трех основных причин:

- 1) естественный отбор по жизнеспособности в подсосный период (Понд, Хаупт, 1983);
- 2) положительная связь массы при рождении с массой при отъеме (Кабанов, 1983);
- 3) стандартизирующий отбор по массе при отъеме (Инструкция ..., 1976).

Совокупное действие перечисленных причин увеличивает вероятность попадания в эффективную часть популяции крупных при рождении особей, мелкие либо погибают в подсосный период, либо выбраковываются при отъеме как несоответствующие требованиям стандарта племенных свиней.

Анализ динамики изменения признака на протяжении исследуемого периода показывает, что связь между годом рождения и массой новорожденной особи отнюдь не линейна. Во всех трех группах (потомки, матери, отцы) достоверность аппроксимации (величина R^2 программы

Microsoft Excel) для параболы второго порядка выше, чем для линейной функции (рис. 1). В наибольшей степени это явление выражено в группе потомков (рис. 1, а), слабее – матерей (рис. 1, б) и еще слабее – отцов (рис. 1, в), что вполне согласуется с жесткостью отбора в эти группы:

1. Потомки (популяция) – группа особей без отбора;
2. Матери – группа особей, удовлетворяющих минимальным требованиям стандарта по живой массе после отъема;
3. Отцы – группа особей, соответствующих или превышающих максимальные требования стандарта.

Параболическая форма зависимости массы новорожденной особи от года рождения (рис. 1, а) указывает на то, что в популяции имело место событие, после которого положительный тренд признака сменился на отрицательный. Последствия этого события наиболее выражены у потомков (как у группы без отбора) и в меньшей степени – в эффективной части популяции. Для того чтобы понять, что же произошло в популяции, придется обратиться к истории ее создания. Родоначальники популяции были завезены в Западную Сибирь из Прибалтики в 1961 г. и оказались в новых для породы ландрас условиях окружающей среды. Молодняк домашних свиней наиболее чувствителен к неблагоприятным внешним воздействиям в подсосный период, а высокая масса при рождении дает особи ряд преимуществ, которые повышают вероятность выживания (Понд, Хаупт, 1983; Кабанов, 1983) и, соответственно, попадания в эффективную часть популяции. Благодаря этому естественный отбор крупных при рождении особей становится одним из элементов адаптации ландрасов к новым условиям существования. Сочетание этого отбора и стандартизации племенных животных по живой массе, начиная с двухмесячного возраста (Инструкция ..., 1976), должно было породить генетически обусловленную, устойчивую положительную связь высокой скорости пре- и постнатального роста. Формирование этой связи состоит из 2 этапов. На первом этапе в изменившихся условиях внешней среды те преимущества, которые в подсосный период имеет крупная при рождении особь, позволяют

Таблица 1

Динамика изменений массы новорожденной особи
в популяции домашних свиней породы ландрас

Год	Количество особей			Масса при рождении, кг		
	Популяция (потомки)	Репродуктивное ядро		Популяция (потомки)	Репродуктивное ядро	
		матери	отцы		матери	отцы
1964	524	40	9	0,98 ± 0,007	1,24 ± 0,040	1,40 ± 0,116
1965	405	31	14	1,14 ± 0,012	1,13 ± 0,032	1,08 ± 0,074
1967	262	28	10	1,16 ± 0,013	1,15 ± 0,041	1,19 ± 0,038
1968	355	30	6	1,20 ± 0,007	1,14 ± 0,046	1,18 ± 0,048
1969	592	56	10	1,29 ± 0,019	1,36 ± 0,046	1,38 ± 0,092
1970	1027	100	22	1,26 ± 0,004	1,35 ± 0,030	1,48 ± 0,063
1971	1116	94	17	1,38 ± 0,009	1,45 ± 0,032	1,37 ± 0,051
1972	1506	106	24	1,47 ± 0,007	1,46 ± 0,030	1,38 ± 0,074
1973	1652	122	14	1,33 ± 0,012	1,46 ± 0,025	1,39 ± 0,075
1974	1255	98	15	1,42 ± 0,005	1,43 ± 0,025	1,37 ± 0,064
1975	1066	73	15	1,35 ± 0,009	1,44 ± 0,025	1,39 ± 0,070
1976	748	74	16	1,42 ± 0,010	1,51 ± 0,025	1,44 ± 0,055
1977	1329	92	22	1,18 ± 0,008	1,49 ± 0,017	1,56 ± 0,056
1978	1451	109	26	1,28 ± 0,007	1,24 ± 0,026	1,18 ± 0,076
1979	1720	115	30	1,35 ± 0,007	1,35 ± 0,023	1,47 ± 0,040
1980	1187	101	32	1,31 ± 0,008	1,36 ± 0,023	1,48 ± 0,047
1981	1663	128	33	1,34 ± 0,007	1,34 ± 0,024	1,56 ± 0,063
1982	1114	79	29	1,34 ± 0,010	1,44 ± 0,033	1,51 ± 0,039
1983	724	67	24	1,45 ± 0,012	1,47 ± 0,037	1,59 ± 0,062
1984	562	53	15	1,30 ± 0,014	1,49 ± 0,046	1,55 ± 0,061
1985	853	74	23	1,24 ± 0,010	1,47 ± 0,034	1,55 ± 0,058
1986	350	31	10	1,12 ± 0,009	1,37 ± 0,038	1,32 ± 0,053
r_{xy}				0,33 _{нд}	0,57 $P < 0,01$	0,61 $P < 0,01$

Примечание. r_{xy} – коэффициент корреляции между годом (x) и массой при рождении (y).

ей стать кандидатом на попадание в эффективную часть популяции. Следовательно, за место в репродуктивном ядре будут конкурировать особи с высокой массой при рождении и, соответственно, действие аллелей, обеспечивающих высокую скорость пренатального роста, продлится на более поздние стадии развития вне зависимости от того, какие локусы будут контролировать постнатальный рост. Однако такой вариант связи высокой скорости пре- и постнатального роста, обусловленный естественным отбором крупных при рождении особей, действует только в начале процесса адаптации. Среди локусов, контролирующих

скорость пренатального роста, присутствуют и менее специфические, которые контролируют рост массы особи в целом, без разделения на пре- и постнатальный периоды (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/). Именно эти локусы и могут обеспечить устойчивую положительную связь скорости пре- и постнатального роста на втором этапе ее формирования, после того как выживание популяции уже обеспечено. Таким образом, положительная связь высокой скорости пре- и постнатального роста, формирующаяся на первом этапе сочетанием естественного и искусственного отборов, на втором этапе замещается аналогичной связью, но уже

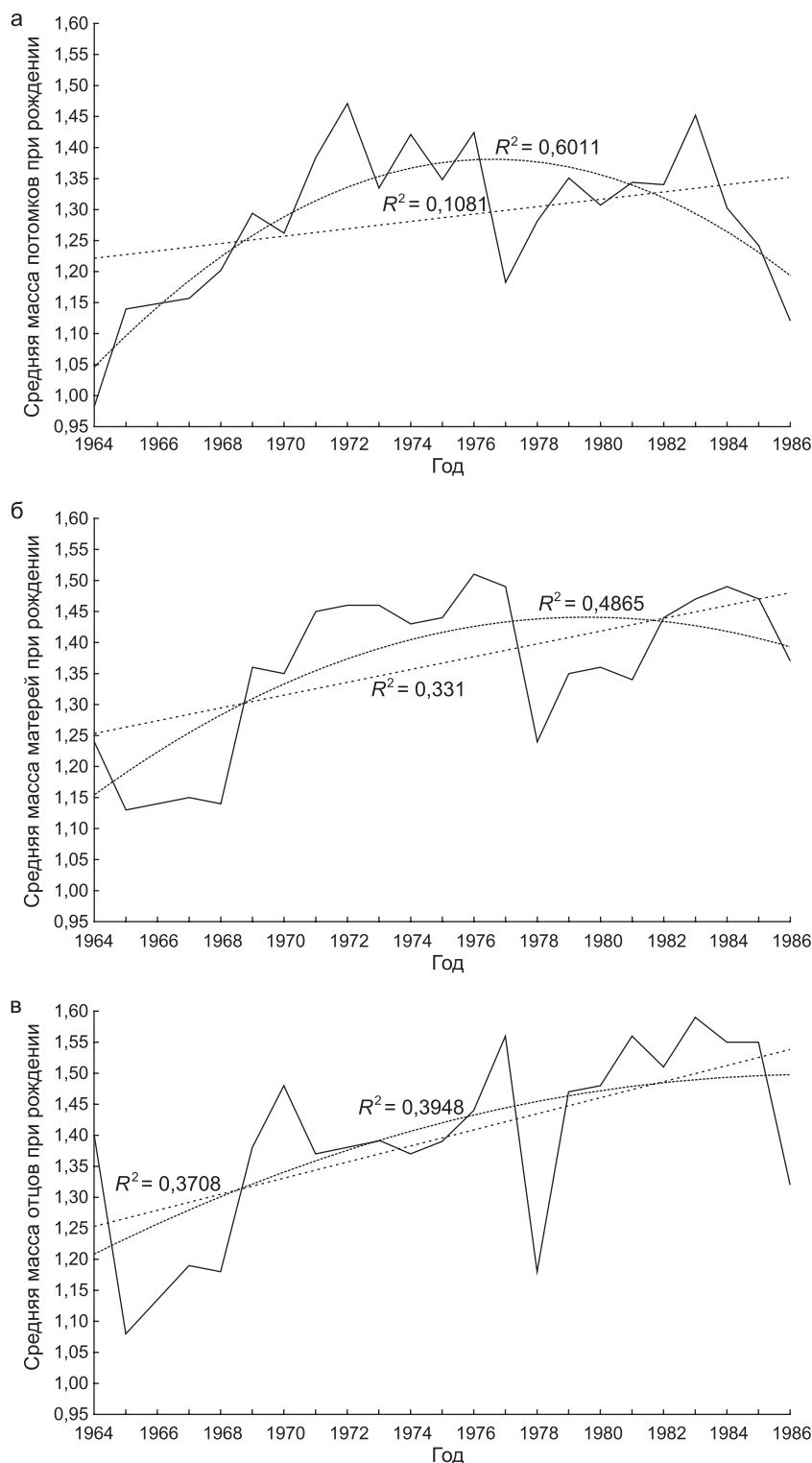


Рис. 1. Динамика изменений массы особи при рождении в популяции и репродуктивном ядре у свиней породы ландрас, привезенных из Прибалтики в Западную Сибирь в 1961 г.

а – изменения средней массы потомков при рождении (т. е. изменение средней массы новорожденной особи в популяции в целом); б – изменения средней массы при рождении матерей этих потомков; в – изменения средней массы при рождении отцов этих потомков; сплошная линия – фактические изменения; прямая пунктирная линия – линейный тренд, изогнутая пунктирная линия – парабола второго порядка.

обусловленной генетически. Необходимость в отборе по массе при рождении отпадает после приведения генофонда популяции в соответствие с условиями среды, крупные при рождении особи утрачивают свои преимущества, следовательно, утрачивает значение и разрушается положительная связь пре- и постнатальной скорости роста. В результате контролировать пре- и постнатальную скорость роста станут разные группы локусов, что повлечет снижение средней для популяции массы новорожденной особи до величины, оптимальной для данной группы пород. Вероятно, поэтому у заводских пород масса при рождении является величиной относительно стабильной и составляет около 1,2 кг (Понд, Хаупт, 1983).

Преобразование генофонда популяции, связанное с локусами, контролирующими рост массы в целом, без разделения на пре- и постнатальный периоды, отражает динамика изменения коэффициента регрессии родитель–потомок по массе особи при рождении. Допустим, что основатели популяции полиморфны по локусам, одни из которых контролируют рост массы непрерывно на протяжении пре- и постнатального периода, а другие – только в пренатальный период. Таким образом, в популяции будут присутствовать две группы особей. У первых положительная связь пре- и постнатальной скорости роста обусловлена генетически, соответственно, регрессия родитель–потомок по массе при рождении у таких особей положительна. У вторых эта связь случайна, коэффициент корреляции родитель–потомок по массе при рождении равен нулю. В эффективную часть популяции отбирают особей с высокой массой в зрелом возрасте, и она может включать обе эти группы, а их соотношение будет определять знак и величину коэффициента регрессии. При преобладании родителей со случайным сочетанием высокой пре- и постнатальной скорости роста коэффициент будет отрицательным потому, что средняя масса при рождении у потомков таких родителей стремится к значению, среднему для популяции, более низкому, чем в эффективной части. При преобладании родителей с генетически обусловленной положительной связью высокой пре- и постнатальной скорости роста коэффициент регрессии будет положительным. Момент, когда величина коэффициента рег-

рессии родитель–потомок по массе новорожденной особи преодолевает нулевое значение и становится положительным, представляется весьма важным. Так как масса особи при рождении – величина консервативная (Понд, Хаупт, 1983), смена коэффициентом регрессии знака «–» на знак «+» сигнализирует о том, что в популяции начались процессы, приводящие массу новорожденной особи в соответствие со стандартами породы по коррелирующим признакам. Чтобы получить представление об этих процессах, можно рассчитать оптимальное в данный момент для данной популяции значение признака (теоретически ожидаемый популяционный оптимум). Его сравнение с наблюдаемой в популяции фактической средней покажет вектор изменений признака и уровень реализации этого вектора. Для определения популяционного оптимума применили формулу $R = Sh^2$, где R – ответ на отбор, S – селекционный дифференциал (Мацеевский, Земба, 1988), которую в развернутом виде можно представить как $(x_n - x) = 2b_{pn}(x_p - x)$, где x_n – среднее значение признака у потомков; x_p – среднее значение признака у родителей; x – среднее значение признака в популяции, b_{pn} – коэффициент регрессии родитель–потомок. Следовательно, ожидаемое среднее, оно же оптимальное, значение признака равно $x = \frac{x_n - 2b_{pn}x_p}{1 - 2b_{pn}}$.

Были рассчитаны коэффициенты регрессии между значением признака у родителя (матери или отца) и средним значением признака у потомков (табл. 2). Вариация этих величин имеет положительные линейные тренды, которые, как и ожидалось, в начальный период содержат протяженные отрезки с отрицательными значениями (рис. 2). Линия тренда коэффициента регрессии мать–потомки пересекает ось X в 1973 г. (рис. 2, а), а точка пересечения тренда регрессии отец–потомки с осью X лежит между 1978 и 1979 годами (рис. 2, б).

Линии динамики популяционных оптимумов, рассчитанных по значениям коэффициентов регрессии мать–потомки и отец–потомки (табл. 2), соответствуют параболам второго порядка (рис. 3). Сопоставление парабол ожидаемых оптимумов с параболой фактических средних популяционных значений показывает, что они, независимо от того, использованы ли

Таблица 2

Динамика изменения регрессии родитель-потомки
и оптимальной массы новорожденной особи
в популяции домашних свиней породы ландрас

Год	Регрессия		Оптимальная масса новорожденного потомка, соответствующая регрессии		Год	Регрессия		Оптимальная масса новорожденного потомка, соответствующая регрессии	
	Мать–потомки	Отец–потомки	Мать–потомки	Отец–потомки		Мать–потомки	Отец–потомки	Мать–потомки	Отец–потомки
1964	0,084	–0,006	0,93	0,99	1976	0,023	–0,056	1,42	1,43
1965	–0,386	–0,140	1,14	1,13	1977	0,100	0,038	1,17	1,15
1967	–0,218	–0,670	1,16	1,18	1978	–0,034	0,052	1,28	1,29
1968	–0,090	–0,111	1,19	1,20	1979	–0,021	0,007	1,35	1,35
1969	0,193	0,212	1,28	1,23	1980	–0,106	–0,045	1,32	1,32
1970	0,030	–0,007	1,26	1,26	1981	0,079	–0,009	1,34	1,35
1971	0,234	–0,189	1,33	1,38	1982	–0,077	0,224	1,35	1,20
1972	0,018	–0,063	1,47	1,46	1983	0,142	0,142	1,45	1,44
1973	0,029	–0,067	1,33	1,34	1984	0,195	0,110	1,19	1,23
1974	0,051	–0,030	1,42	1,42	1985	0,209	0,203	1,12	1,03
1975	–0,022	–0,070	1,36	1,35	1986	–0,019	–0,150	1,13	1,17

для расчета показатели матери или отца, проходят ниже линии фактических средних (рис. 3, а). Следовательно, обусловленный генотипами родителей вектор изменений массы новорожденной особи направлен на ее уменьшение.

Обращает на себя внимание то, что параболы оптимумов соприкасаются с параболой фактических средних в 1973 г. (рис. 3, а), т. е. в точке пересечения оси X линией тренда регрессии мать–потомки (рис. 2, а), несмотря на то что точка пересечения линии тренда регрессии отец–потомки с осью X лежит существенно дальше (рис. 2, б). Кроме того, 1973 год является еще и точкой пересечения оптимумов (рис. 3, б). Графики изменения коэффициентов регрессии и популяционных оптимумов признака (рис. 2, 3) указывают на то, что событие, которое привело к появлению нисходящей ветви динамики изменений массы новорожденной особи в популяции и ее эффективной части (рис. 1), произошло в 1973 г. Заключалось оно, очевидно, в том, что значение массы при рождении достигло предельной для популяции величины, при которой отбор стал неэффективен. На этом первый этап адаптивного преобразования генофонда

завершился. Окончание периода первичной адаптации изменило внутренний смысл связи высокой массы при рождении с высокой массой в зрелом возрасте. До 1973 г. эта связь выглядела следующим образом: высокая масса особи при рождении (предмет отбора) → высокая вероятность попадания в эффективную часть популяции в связи с недостатком или отсутствием конкурентов; после 1973 г.: высокая масса особи в зрелом возрасте (предмет отбора) → генетически обусловленная связь пре- и постнатальной скорости роста массы → высокая масса особи при рождении. Таким образом, на первом этапе действует естественный отбор и его следствием являются крупные при рождении особи в эффективной части популяции. На втором этапе действует искусственный отбор и его следствием являются крупные в зрелом возрасте особи, которые в результате положительной связи пре- и постнатальной скорости роста были крупными и при рождении.

Разделение исследуемого периода на два временных отрезка, 1964–1973 гг. и 1973–1986 гг., показало, что на первом из них в выборке потомков наблюдается достоверный рост массы особи

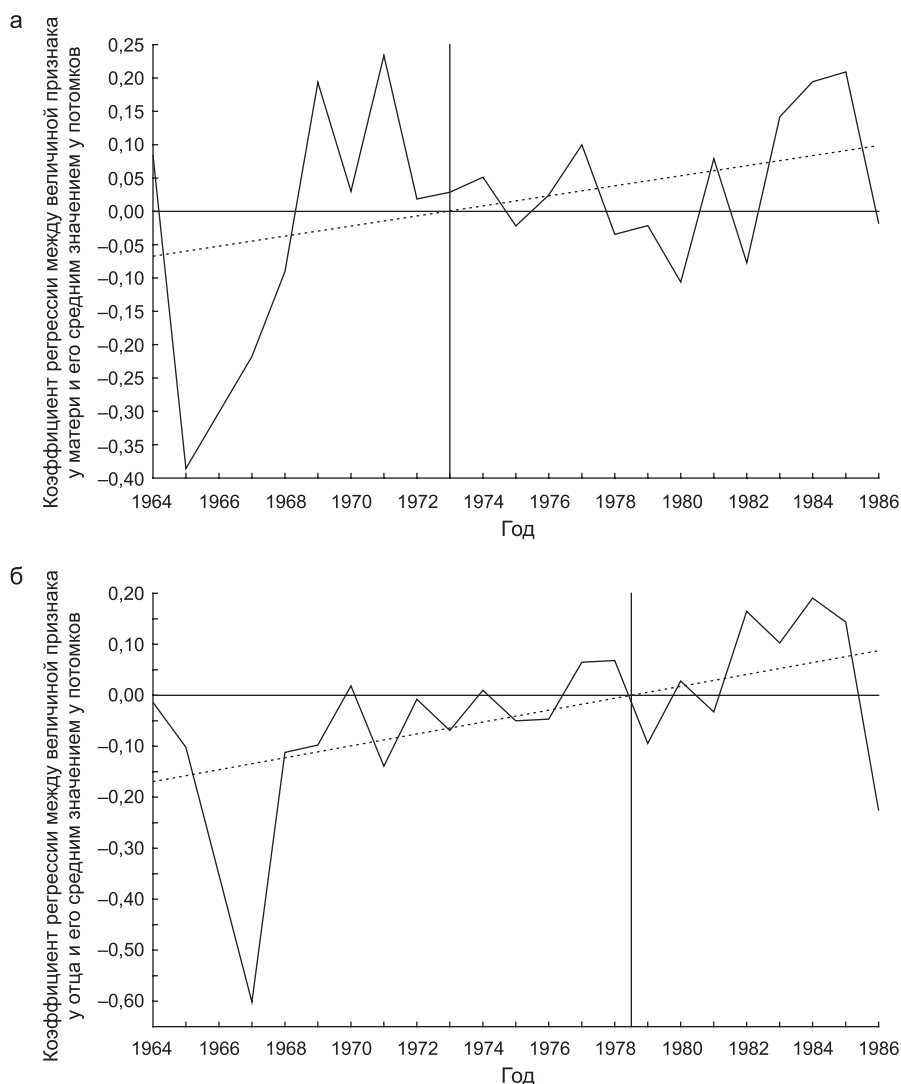


Рис. 2. Изменение коэффициентов регрессии родитель–потомок в популяции свиней породы ландрас в процессе адаптации к условиям Западной Сибири.

Сплошная ломаная линия – фактические изменения, прямая пунктирная линия – линейный тренд.

при рождении ($r_{1964-1973} = 0,92$, $P < 0,001$), на втором – статистически незначимое снижение величины признака ($r_{1973-1986} -0,41$) (рис. 4, а). В выборке отцов положительный тренд признака присутствует на обоих временных отрезках (рис. 4, в) и хотя в каждом отдельном случае он недостоверен ($r_{1964-1973} = 0,51$ и $r_{1973-1986} = 0,32$), в целом за весь исследуемый период он статистически значим (табл. 1). В группе матерей картина подобна наблюдаемой у потомков (рис. 4, б): статистически значимый положительный тренд на первом отрезке ($r_{1964-1973} = 0,84$, $P < 0,01$) и недостоверный отрицательный – на втором ($r_{1973-1986} = -0,06$). В целом с 1964 г. по 1973 г.

в популяции присутствует отбор, направленный на повышение массы особи при рождении, с 1973 г. по 1986 г., несмотря на то что репродуктивное ядро по-прежнему содержит особей с массой при рождении большей, чем популяционная средняя, этот отбор не эффективен (рис. 4). Таким образом, в 1973 г. масса особи при рождении достигла максимального, предельного для исследуемой популяции, значения, после чего действие естественного отбора, направленного на ее повышение, прекратилось. Начали действовать процессы, приводящие величину признака в соответствие с показателями продуктивности заводских европейских пород,

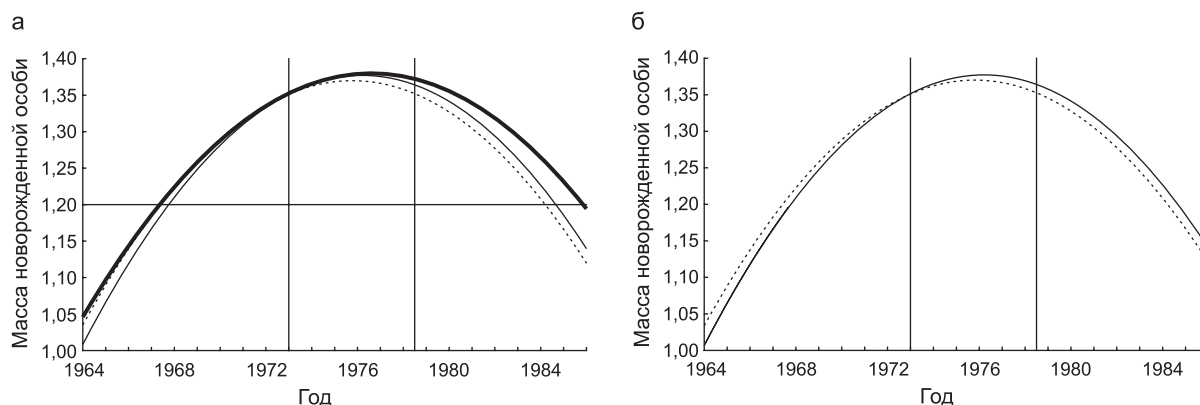


Рис. 3. Изменения популяционного оптимума массы особи при рождении в процессе адаптации ландрасов к условиям Западной Сибири.

Жирная линия – парабола фактических изменений среднего для популяции значения; тонкая сплошная линия – оптимумы, рассчитанные по показателям матерей; пунктирная линия – оптимумы, рассчитанные по показателям отцов.

т. е. к значению, равному 1,2 кг (Кабанов, 1983; Понд, Хаупт, 1983).

Представление об изменениях в генофонде популяции можно получить по динамике изменений силы влияния генотипов и фенотипов родителей на величину признака у потомков. В настоящем исследовании силу влияния факторов: отец (генотип отца), мать (генотип матери), фенотип отца (масса отца при рождении) и фенотип матери (масса матери при рождении) оценивали дисперсионным методом по формуле Снедекора (Лакин, 1990). Для этой цели использовали однофакторные дисперсионные комплексы, в которых в качестве факторов поочередно выступали отцы, матери, фенотипы отцов (масса отца при рождении в килограммах, округленная до одного знака после нуля), фенотипы матерей (аналогичные фенотипам отцов), а в качестве результирующего признака – масса потомка при рождении. Исследование показало, что на протяжении всего изучаемого периода сила влияния отца меньше силы влияния матери (табл. 3, рис. 5, а). Таким образом, присутствует материнский эффект, при котором кроме непосредственного вклада материнского генотипа в генотип потомков имеет место влияние материнского фенотипа на проявление признака у потомков. Значение результирующего признака формируют две компоненты влияния генотипа матери на фенотип потомка:

1. Генотип матери → генотип потомка → фенотип потомка.

2. Генотип матери → фенотип матери → фенотип потомка.

Первая компонента материнского влияния на фенотип потомка идентична влиянию генотипа отца. За нее отвечают локусы, непосредственно контролирующие пренатальный рост массы. Вторая компонента представляет собственно материнский эффект и обусловлена влиянием организма матери на внутриутробное развитие потомков. Она, очевидно, обусловлена локусами, контролирующими особенности поступления питательных веществ от матери к плоду, размеры тела матери и т. п. Вторая компонента влияет не на отдельного потомка, а на всю группу однопометников. С 1964 г. по 1986 г. сила влияния отца на массу потомков при рождении остается величиной относительно стабильной, подверженной лишь случайным выборочным колебаниям (рис. 5, а), со слабо выраженным, статистически незначимым положительным линейным трендом (табл. 3). В этот же период сила влияния генотипа матери имеет достоверный отрицательный линейный тренд (табл. 3). Разделение периода существования популяции на два временных отрезка: 1964–1973 гг. и 1973–1986 гг. показало, что превышение силы влияния матери над силой влияния отца на первом отрезке относится к превышению на втором отрезке приблизительно как 3 : 2 (рис. 5, а). На первом отрезке динамики сил влияния обоих генотипических факторов имеют статистически незначимый отрицательный тренд,

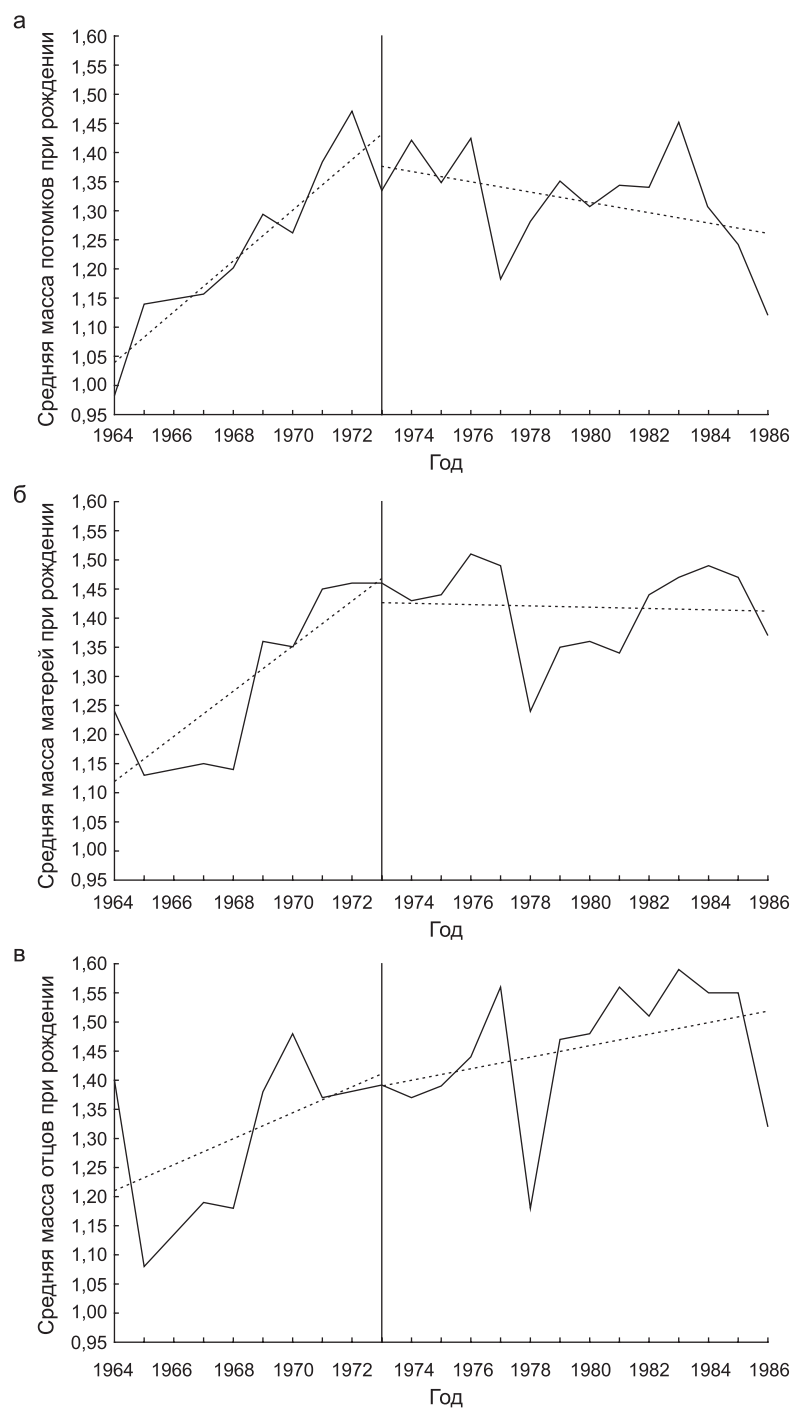


Рис. 4. Динамика изменений массы особи при рождении в популяции и репродуктивном ядре в два периода адаптации, различающихся по эффективности отбора по данному признаку.

Сплошная ломаная линия – фактические изменения, пунктирная линия – линейный тренд.

на втором – статистически незначимый тренд положителен. Параллельность линий тренда сил влияния отца и матери на каждом из отрезков (рис. 5, а) дает основание полагать, что их наклон обусловлен изменениями компоненты,

формируемой локусами, отвечающими за пренатальный рост. Ступенчатость же изменения силы влияния матери (рис. 5, а) является результатом изменения силы влияния материнского эффекта.

Таблица 3

Динамика изменений силы влияния факторов на массу новорожденной особи
в популяции домашних свиней породы ландрас

Год	Генотип		Фенотип		Материнский эффект	Неоднозначность связи генотипа с фенотипом	
	отца	матери	отца	матери		у отцов	у матерей
1964	0,045	0,427	0,047	0,029	0,382	–0,002	0,397
1965	0,166	0,431	0,059	0,203	0,265	0,108	0,228
1967	0,171	0,669	0,188	0,127	0,498	–0,016	0,542
1968	0,029	0,405	0,008	0,089	0,376	0,021	0,316
1969	0,217	0,560	0,081	0,185	0,343	0,136	0,376
1970	0,133	0,525	0,083	0,042	0,392	0,050	0,483
1971	0,123	0,594	0,055	0,120	0,471	0,068	0,474
1972	0,065	0,372	0,025	0,110	0,308	0,040	0,263
1973	0,003 ^{нд}	0,320	0,006	0,028	0,317	–0,003	0,292
1974	0,085	0,251	0,026	0,012	0,166	0,059	0,239
1975	0,130	0,354	0,075	0,038	0,224	0,054	0,316
1976	0,046	0,393	0,021	0,038	0,347	0,025	0,355
1977	0,113	0,200	0,068	0,025	0,087	0,046	0,175
1978	0,074	0,243	0,044	0,027	0,169	0,030	0,215
1979	0,107	0,258	0,044	0,028	0,151	0,063	0,231
1980	0,124	0,365	0,029	0,121	0,241	0,095	0,244
1981	0,109	0,361	0,038	0,030	0,252	0,071	0,331
1982	0,121	0,395	0,037	0,038	0,274	0,084	0,357
1983	0,152	0,342	0,022	0,074	0,190	0,130	0,268
1984	0,106	0,427	0,053	0,129	0,321	0,052	0,298
1985	0,120	0,353	0,090	0,116	0,232	0,031	0,237
1986	0,105	0,300	0,083	0,041	0,195	0,022	0,259
<i>r</i>	0,02 ^{нд}	–0,51 ^{P < 0,05}	–0,15 ^{нд}	–0,28 ^{нд}	–0,58 ^{P < 0,05}	0,17 ^{нд}	–0,47 ^{P < 0,05}

П р и м е ч а н и е . *r* – коэффициент корреляции между годом и силой влияния фактора на массу; ^{нд} – недостоверно. Все остальные оценки генотипических и фенотипических факторов статистически значимы.

Так как оценка сил влияния факторов в каждом случае проводилась на одной и той же выборке, силу влияния материнского эффекта можно оценить как разность сил влияния матери и отца. Динамика изменений силы влияния материнского эффекта (рис. 5, б) подобна динамике силы влияния генотипа матери (рис. 5, а). Она имеет статистически значимый отрицательный тренд за весь период в целом (табл. 3) и ступенчатый характер при разделении периода на два отрезка. При этом линии трендов на обоих отрезках практически параллельны оси X

(рис. 5, б). Данное явление может указывать на то, что постепенные изменения генофонда популяции в конечном счете привели к качественному изменению проявления материнского эффекта. Причиной этого качественного изменения, вероятно, является достижение максимальной для популяции массы особи при рождении в 1973 г., что и ограничило материнский эффект. Воздействие материнского организма, которое в начальный период существования популяции приводило к увеличению массы группы однопометников при рождении, после достижения максимального для

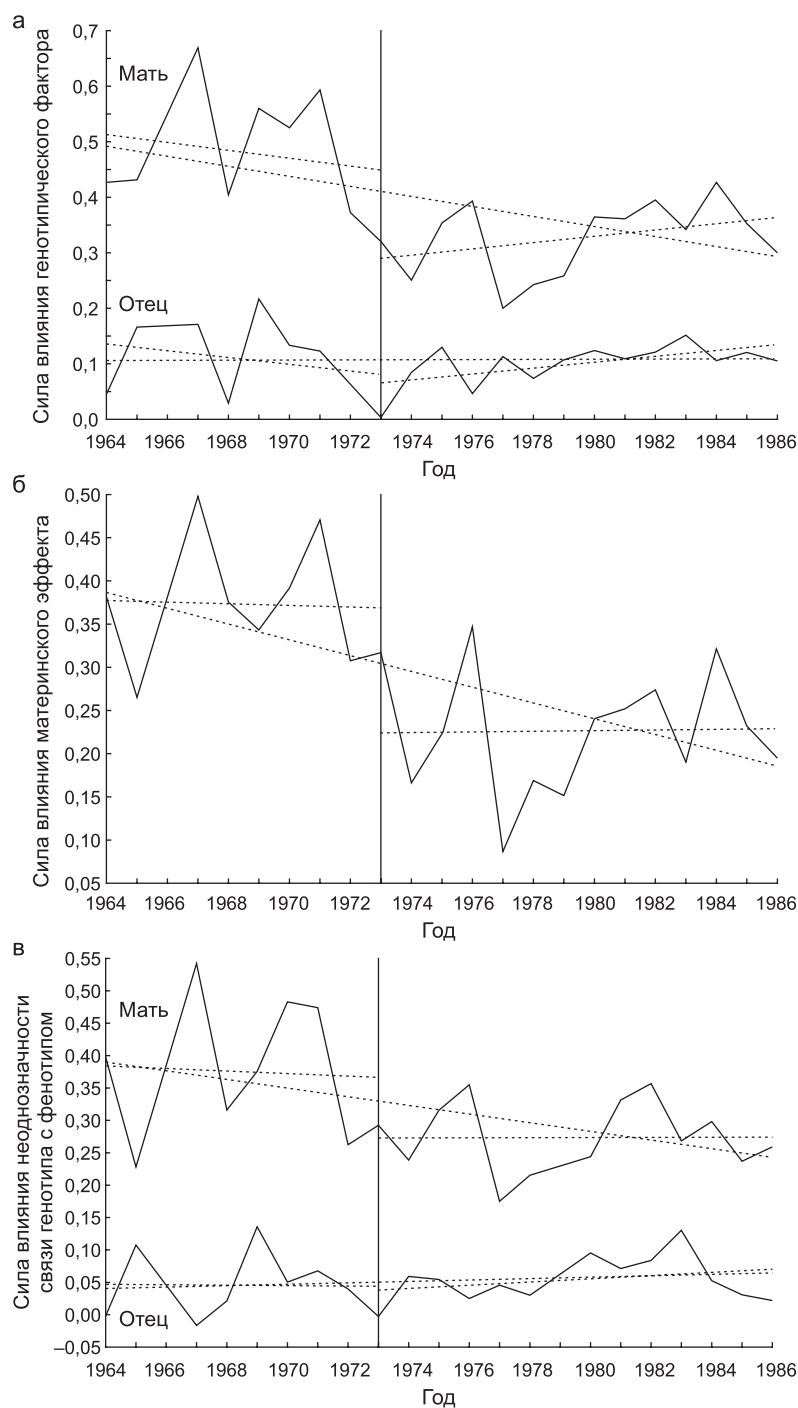


Рис. 5. Динамика изменений силы влияния генотипических факторов и их компонент в популяции свиней породы ландрас.

Сплошная ломаная линия – фактические изменения, пунктирная линия – линейный тренд.

популяции значения массы при рождении стало неэффективным – предельная величина уже достигнута реализацией собственных генотипов потомков.

Масса новорожденной особи у домашних свиней является признаком, которому свой-

ственна неоднозначность связи генотипа с фенотипом. То есть конкретному генотипу соответствует множество значений признака (фенотипов), а конкретному значению признака соответствует множество генотипов, при этом для разных генотипов число возможных к реализа-

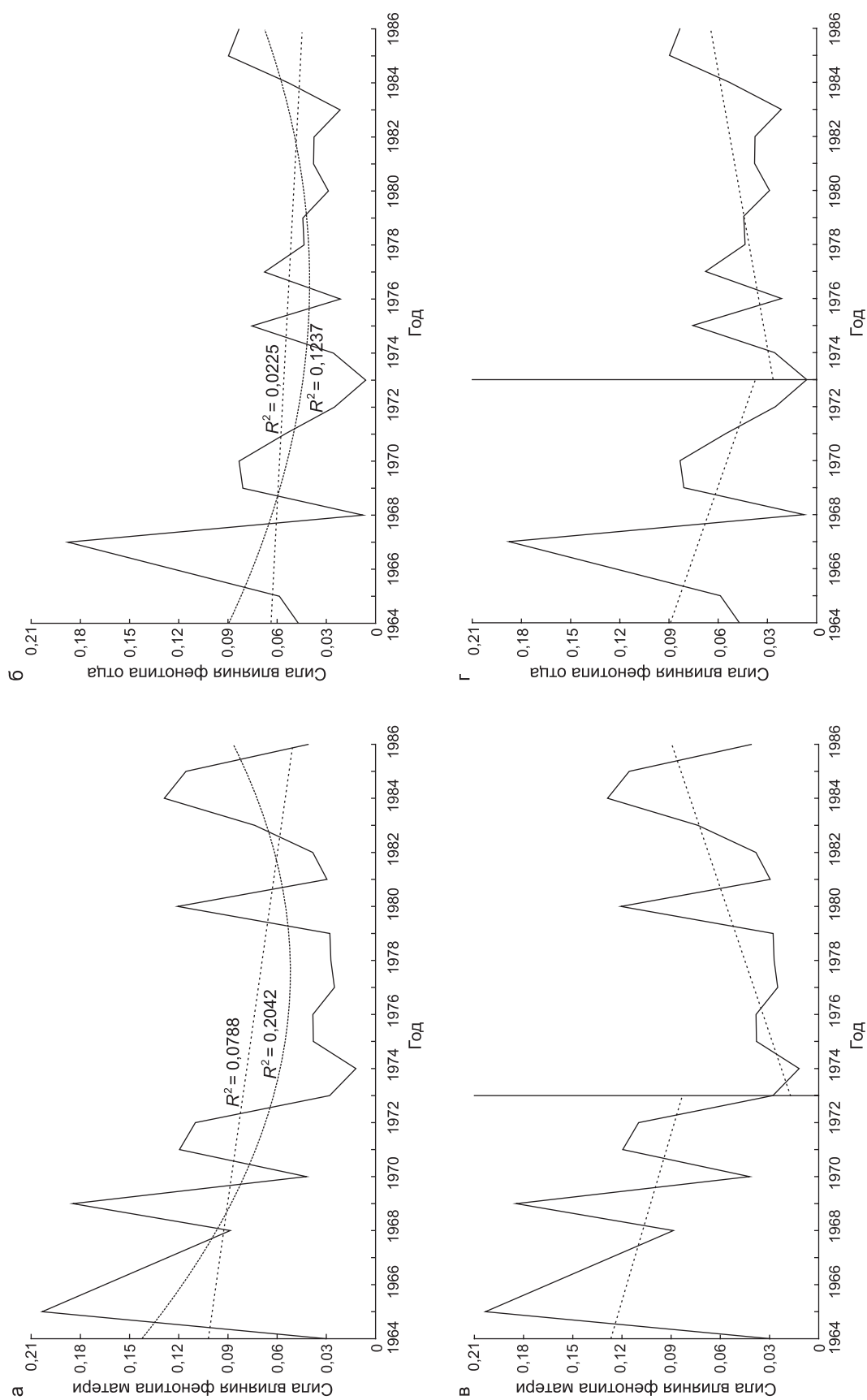


Рис. 6. Динамика изменений соответствия фенотипа генотипу в эффективной части популяции свиней породы ландрас.

Сплошная ломаная линия – фактические изменения; прямая пунктирная линия – линейный тренд; изогнутая пунктирная линия – парабола второго порядка.

ции фенотипов может быть разным (Никитин и др., 2005). Сила влияния неоднозначности связи генотипа с фенотипом на вариацию признака в группах родителей можно численно оценить как разность сил влияния генотипа и фенотипа родителей на результирующий признак (табл. 3). Динамика изменения неоднозначности связи генотипа с фенотипом показала существенные различия между отцами и матерями (рис. 5, в). На протяжении всего исследуемого периода сила влияния неоднозначности в выборках отцов существенно ниже, чем в выборках матерей, и является относительно стабильной величиной (положительный тренд статистически незначим). В выборках матерей сила влияния неоднозначности связи генотипа с фенотипом не только выше, чем в выборках отцов, но и в течение исследуемого периода достоверно снижается (табл. 3). Деление времени существования популяции на два отрезка (рис. 5, в): 1964–1973 гг. и 1973–1986 гг. показывает непрерывность ряда у отцов и ступенчатость у матерей. Неоднозначность связи генотипа с фенотипом у отцов может относиться только к локусам, контролирующим непосредственно массу особи при рождении, и сила ее влияния у отцов и матерей должна быть одинакова. Следовательно, резкое падение силы влияния неоднозначности связи генотипа с фенотипом у матерей относится к локусам материнского эффекта. Утрата частью локусов контроля над материнским эффектом или утрата всеми локусами части функций, контролирующих результат материнского воздействия на потомков после достижения популяцией максимальной массы особи при рождении, собственно говоря, и должны привести к резкому падению неопределенности связи генотипа и фенотипа у матерей (рис. 5, в).

Дисперсионный анализ также позволяет рассмотреть динамику изменений соответствия фенотипа генотипу в эффективной части популяции, которую отражают динамики изменений силы влияния фенотипов родителей на фенотипы потомков (табл. 3). Исследование показало, что сила влияния фенотипов родителей ожидаемо ниже силы влияния их генотипов, а сила влияния фенотипов матерей несколько выше, чем сила влияния фенотипов отцов (рис. 6). В течение исследуемого периода наблюдается

статистически незначимое (табл. 2) понижение силы влияния фенотипов родителей на массу новорожденных потомков, при этом парабола второго порядка более пригодна для описания этих динамик, нежели линейная функция (рис. 6, а, б). Незначительное превышение динамики силы влияния фенотипов матерей над динамикой силы влияния фенотипов отцов указывает на то, что вклад локусов, контролирующих пренатальный рост, в материнский эффект незначителен и, вероятно, зависит от локусов, контролирующих рост массы непрерывно в пре- и постнатальный периоды. Разделение динамик на два временных отрезка показывает, что на первом отрезке сила влияния фенотипов родителей снижается, а на втором – растет (рис. 6, в, г). Таким образом, соответствие фенотипов генотипу снижается в период эффективного отбора по массе при рождении и увеличивается, когда этот отбор становится неэффективным.

На первый взгляд кажется, что результаты, полученные для неоднозначности связи генотипа с фенотипом и соответствия фенотипа генотипу, противоречат друг другу (рис. 5, в, б), однако это не так. Неоднозначность связи генотипа с фенотипом и соответствие фенотипа генотипу относятся к разным элементам модели, в которой конкретному генотипу соответствует множество фенотипов, а конкретному фенотипу – множество генотипов и поэтому они различно реагируют на отбор.

Рассмотрим это на примере. Предположим, в популяции присутствуют P групп из n генотипов, каждый из которых может быть реализован в виде одного из m фенотипов. После отбора часть генотипов одной из групп, равная k , элиминирована из популяции. В результате осталось $n - k$ генотипов, каждый из которых по-прежнему может быть реализован в виде одного из m фенотипов. Неоднозначность связи генотипа с фенотипом в популяции осталась прежней и будет оставаться таковой до тех пор пока в ней будет присутствовать хоть один из принадлежащих группе генотипов. Изменение неоднозначности связи генотипа с фенотипом в популяции возможно только при изменении числа групп генотипов, контролирующих группу фенотипов. Таким образом, неоднозначность связи генотипа с фенотипом – характеристика, относящаяся к группам генотипов; ее изменения

ближе к качественным и носят ступенчатый, дискретный характер (рис. 5, в).

Рассмотрим, что при тех же условиях произойдет с соответствием генотипа фенотипу. В популяции присутствуют P групп из n генотипов, каждый из которых может быть реализован в виде одного из m фенотипов. Численно соответствие фенотипа генотипу для группы может быть представлено как отношение $\frac{n}{m}$,

а для популяции в целом как $\frac{1}{P} \sum \frac{n_i}{m_i}$. После отбора осталось $n - k$ генотипов, каждый из которых по-прежнему может быть реализован в виде одного из m фенотипов. Соответствие фенотипа генотипу уменьшилось и представляет для группы отношение $\frac{n-k}{m}$. То есть соответствие фенотипа генотипу – непрерывная, количественная величина, ее изменения прямо пропорциональны числу генотипов в группе и происходят постепенно. Таким образом, формализация понятий неопределенности связи генотипа с фенотипом и соответствия фенотипа генотипу показывает, что изменение неопределенности связано с радикальными качественными изменениями, обусловленными полной утратой или блокировкой действия группы генотипов, контролирующих группу фенотипов. Соответствие же фенотипа генотипу изменяется плавно, в зависимости от числа генотипов, контролирующих данный фенотип. Результаты исследования полностью соответствуют приведенным выше аргументам. В популяции после достижения в результате отбора максимального значения массы новорожденной особи действие части генотипов, формируемых локусами, контролирующими материнский эффект, было заблокировано. Как следствие, неопределенность связи генотипа с фенотипом в группе матерей упала (рис. 5, в). Соответствие фенотипа генотипу в популяции изменялось постепенно (рис. 6). В период эффективного отбора по живой массе особи при рождении соответствие фенотипа генотипу снижалось в связи с уменьшением числа генотипов в эффективной части популяции, так как в нее отбираются особи с генотипами, обеспечивающими положительную связь высокой скорости роста в пре- и постнатальный периоды. После достижения популяцией максимального значения

массы особи при рождении отбор по данному признаку стал неэффективен. Соответственно, число генотипов в эффективной части популяции стало расти, так как стали актуальными генотипы, приводящие массу новорожденной особи в соответствие со стандартами продуктивных признаков породы ландрас.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование показало, что при анализе микроэволюционных процессов правильно выбранный количественный признак более информативен, чем традиционные качественные генетические маркеры. Динамика изменений массы новорожденной особи в популяции домашних свиней адекватно отразила тот факт, что адаптация свиней к новым условиям – процесс длительный, занимающий не одно десятилетие и включающий, по крайней мере, два этапа. Так, адаптация ландрасов к условиям Западной Сибири в целом заняла 27 лет и на момент ликвидации поголовья в 1987 г. еще не закончилась. Она включала два периода, первый из которых можно обозначить как период первичной адаптации – выживания в новых условиях, и его главным элементом является естественный отбор, а второй – как период приведения генофонда популяции в соответствие со стандартом продуктивных признаков породы, и его главной движущей силой является искусственный отбор. Период первичной адаптации длился до 1973 г. Порода ландрас приспособлена к определенному климату и технологии содержания, которые отличались от тех, в которых она оказалась в Экспериментальном хозяйстве, расположенном в Западной Сибири. Ответом на эти изменения стал естественный отбор, направленный на повышение массы новорожденной особи, так как такие особи имеют большую вероятность дожить до конца подсосного периода и при отъеме от матери имеют большую живую массу (Кабанов, 1983). При таком «удачном старте» они, как правило, и в дальнейшем сохраняют преимущество, которое существенно повышает вероятность попадания их в эффективную часть популяции. Первичная адаптация закончилась через 13 лет, в 1973 г., когда популяция достигла максимального для нее значения массы новорожденной особи. Следует заметить, что отбор крупных при рож-

дении особей у продуктивных пород свиней сам по себе не представляет селекционной ценности, поэтому для данного признака нет официально утвержденных породных стандартов. Однако, как оказалось, при смене условий существования он способен дать популяции время, необходимое для адаптации генофонда к текущим реалиям. С 1973 г. начинается второй период адаптации. Масса новорожденной особи достигла максимального, порогового, значения, и отбор по данному признаку утратил эффективность. В этот период начинается процесс, направленный на приведение массы новорожденной особи в соответствие со стандартом породы и возможностями генофонда популяции. Происходит снижение средней величины признака, так как достигнутое значение не только предельно, но и явно избыточно. Его дальнейшее увеличение возможно только при изменении признаков, связанных с ним коррелятивно, одним из которых является многоплодие (число потомков в помете). Связь между многоплодием и массой особи при рождении отрицательна, и дальнейшее увеличение массы особи при рождении может быть достигнуто только при снижении многоплодия. Однако на этом пути непреодолимым препятствием является стандартизация племенных животных. В стандартах племенных свиней заводских пород указан минимально допустимый размер помета, поэтому увеличение массы особи при рождении за счет уменьшения многоплодия ниже минимально допустимого стандартом значения невозможно: малоплодные особи подлежат выбраковке. Таким образом, стандартизирующий отбор стал препятствием для отбора естественного, направленного на увеличение массы новорожденной особи, что в конечном счете означает приведение величины признака к оптимальному для заводских пород среднему значению, равному 1,2 кг (Понд, Хаупт, 1983).

Исследование выявило, что между двумя периодами адаптации существует принципиальное качественное различие, связанное с изменением силы влияния материнского эффекта на массу потомков при рождении. В период первичной адаптации (до достижения популяцией предельного максимального значения массы особи при рождении) эффект материнского влияния на признак не ограничен (или, что более верно, нам

ничего не известно об этих ограничениях). Во второй период влияние материнского эффекта ограничено достигнутым популяцией предельным, максимальным, значением признака, которое частично блокирует материнский эффект. Таким образом, накопление в генофонде количественных изменений привело к переходу популяции на качественно новый уровень.

Работа выполнена при финансовой поддержке по базовому бюджетному проекту № VI.53.1.2.

ЛИТЕРАТУРА

- Инструкция по бонитировке свиней. Главное управление животноводства (с Государственной инспекцией по племенному делу). М.: Колос, 1976. 16 с.
- Кабанов В.Д. Повышение продуктивности свиней. М.: Колос, 1983. 256 с.
- Кайданов Л.З. Генетика популяций. М.: Высш. шк., 1996. 320 с.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. 352 с.
- Ли Ч. Введение в популяционную генетику. М.: Мир, 1978. 555 с.
- Мацевский Я., Земба Ю. Генетика и методы разведения животных. М.: Высш. шк., 1988. 448 с.
- Никитин С.В., Князев С.П., Орлова Г.В. и др. Модель влияния гомо- и гетерозиготности животных на интенсивность их роста // Генетика. 2005. Т. 41. № 2. С. 237–245.
- Понд У.Дж., Хаупт К.А. Биология свиньи. М.: Колос, 1983. 336 с.
- Солбриг О., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. М.: Мир, 1982. 488 с.
- Chen M., Wang A., Fu J., Li N. Different allele frequencies of MC4R gene variants in Chinese pig breeds // Arch. Tierz. 2004. V. 47. No. 5. P. 463–468.
- Ciobanu D.C., Day A.E., Nagy A. *et al.* Genetic variation in two conserved local Romanian pig breeds using type 1 DNA markers // Genet. Sel. Evol. 2001. V. 33. P. 417–432.
- Kaul R., Singh A., Vijh R K. *et al.* Evaluation of the genetic variability of 13 microsatellite markers in native Indian pigs // J. Genet. 2001. V. 80. No. 3. P. 149–153.
- Kim T.H., Kim K.S., Choi B.H. *et al.* Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis // J. Anim. Sci. 2005. V. 83. P. 2255–2263.
- Laval G., Iannuccelli N., Legault C. *et al.* Genetic diversity of eleven European pig breeds // Genet. Sel. Evol. 2000. V. 32. P. 187–203.
- Li S.-J., Yang S.-H., Zhao S.-H. *et al.* Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites // J. Anim. Sci. 2004. V. 82. P. 368–374.
- Thuy N.T.D., Melchinger-Wild E., Kuss A.W. *et al.* Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites // J. Anim. Sci. 2006. V. 84. P. 2601–2608.

WEIGHT VARIATIONS IN NEWBORN DOMESTIC PIGS AND THE ADAPTATION PROCESS

S.V. Nikitin¹, S.P. Knyazev², V.I. Ermolaev¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: nsv1956@mail.ru;

² Novosibirsk State Agrarian University, Department of Animal Breeding, Novosibirsk, Russia,
e-mail: knyser@rambler.ru

Summary

This article shows that weight dynamics in newborn domestic pig individuals reflects adaptive changes in the gene pool of the population. Our results show that the coordination of the gene pool with altered ambient conditions in domestic pigs may be long. It includes at least two time spans in which different selection vectors act. The first period forms a positive link between weight at birth and weight in maturity, and the second period destroys that link.

Key words: weight of a newborn individual, maternal effect, wobble, gene pool, adaptation.

УДК 636.4.082.12

МИНИАТЮРНЫЕ СВИНЬИ ИЦиГ – МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

© 2014 г. С.В. Никитин¹, С.П. Князев², К.С. Шатохин³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: nsv1956@mail.ru;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования Новосибирский государственный
аграрный университет, кафедра разведения и кормления животных, Новосибирск, Россия,
e-mail: knyser@rambler.ru

³ Государственный научное учреждение Сибирский научно-исследовательский институт
животноводства Россельхозакадемии, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 12 августа 2013 г. Принята к публикации 15 октября 2013 г.

В настоящей статье впервые дано относительно полное описание происхождения, условий формирования, генеалогической и генетической структуры популяции миниатюрных свиней ИЦиГ СО РАН. Показано, что представляет собой эта группа животных в настоящее время и какими уникальными (по сравнению с другими мини-свиньями) особенностями она обладает. Для решения этой задачи были использованы данные литературы и экспериментальный материал, собранный в популяции мини-свиней ИЦиГ СО РАН в 1990–1992 гг. (основание популяции) и 2012–2013 гг. (настоящее время).

Ключевые слова: миниатюрные свиньи, domestикация кабана, фенотипы окраски.

ВВЕДЕНИЕ

Непатологическая миниатюрность, являясь породным признаком у домашних свиней, интересна тем, что может отражать не только вектор формообразования, но и эволюционно-генетический смысл карликовости и гигантизма. Домашняя свинья представлена крупной (продуктивные породы, масса до 500 кг) и мелкой (мини-свиньи, масса до 150 кг) формами, при этом исходная предковая форма – дикий кабан – по своим размерам занимает промежуточное положение (масса до 300 кг). Масса современных лабораторных миниатюрных свиней не должна превышать 80 кг, а декоративных «мини-пиггов» – 25 кг (Стриовски, 2008; Тихонов, 2010; www.zoowet.ru). Однако это, скорее, желаемые габариты мини-свиней, так как реально допускаются и более крупные особи.

При выведении миниатюрных свиней используют несколько селекционных стратегий:

1. Селекция уже сложившихся форм – мелких одичавших или нативных свиней – на еще более мелкие размеры.

2. Скрещивание двух контрастных по размеру пород: крупной европейской и мелкой азиатской. Из полученных помесей в каждом поколении для дальнейшего разведения отбирают самых мелких особей (Тихонов, 2010).

3. Скрещивание миниатюрных свиней из разных популяций (Капаназе, 2011).

4. В Институте цитологии и генетики СО РАН был использован новый подход – скрещивание крупной европейской заводской породы, обладающей выдающимися материнскими качествами (крупная белая порода), с уже консолидированными миниатюрными свиньями (светлогорские мини-свиньи) и последующая

селекция помесей, направленная на уменьшение размеров тела (Горелов и др., 2001).

**МИНИАТЮРНОСТЬ – НАСЛЕДИЕ
ПРЕДКОВОЙ ДОМЕСТИЦИРОВАННОЙ
ФОРМЫ; ГИГАНТИЗМ – СЛЕДСТВИЕ
НАКОПЛЕНИЯ ДОМИНАНТНЫХ
АЛЛЕЛЕЙ В ПРОЦЕССЕ
ЕЕ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ**

**Присутствие в популяциях
домашних свиней генной компоненты,
контролирующей миниатюрные размеры**

В основе каждого из 4 перечисленных методов лежит родственное разведение потомков небольшого числа родоначальников. Можно допустить, что инбридинг вскрывает потенциал миниатюрности, присущий этим родоначальникам. Примером является история формирования американо-эссекских свиней, ставших миниатюрными в результате 48-летнего родственного разведения без отбора, направленного на уменьшение размеров тела (Тихонов, 2010). Здесь следует оговориться, что одичавшие свиньи и нативные породы, ведущие свое начало от небольшого числа родоначальников (например кангарусские свиньи происходят от одной пары), также имеют мелкие размеры (Тихонов, 2010; Иванчук, 2011).

Однако какова природа формирования скрытого «потенциала миниатюрности»? Ответ довольно прост. До появления современной крупной заводской формы домашних свиней на территории Евразии была широко распространена целая группа пород, у которых живая масса и экстерьер полновозрастных особей соответствовали требованиям, предъявляемым к современным лабораторным мини-свиньям. Такими породами были известная еще Аристотелю однокопытная свинья; «простая» европейская домашняя свинья; курчавые молдавская и анатолийская породы; сибирская короткоухая свинья; вьетнамские и южнокитайские короткоухие породы, а также множество других (Народная энциклопедия, 1910; Кузьмин, 1934; Кабанов, Терентьева, 1985; Иванчук, 2011). Таким образом, миниатюрные или, как их называли в прошлом (и, очевидно, более правильно), мелкие свиньи, появились гораздо раньше

крупных европейских заводских пород и были для них не просто предшественниками, но и прямыми предками. Поэтому созданные всего 200–250 лет назад (Народная энциклопедия, 1910; Волкопялов и др., 1934; Кузьмин, 1934) современные крупные европейские породы вполне могут быть носителями рецессивных аллелей, унаследованных от мелких предков, которые и проявляются при выведении миниатюрных свиней.

**Рецессивность аллелей,
отвечающих за мелкие размеры
(миниатюрность) у домашних свиней**

Если обратиться к истории современных заводских пород, то оказывается, что все они являются потомками примитивных европейских домашних свиней, которых подразделяют на две группы: длинноухие и короткоухие. Длинноухие (маршевые) свиньи, разводимые в XIX в. в Англии, отличались поистине громадными размерами: они могли иметь массу до 500 кг, но их недостатком был очень медленный рост – на откорм их можно было ставить не ранее чем в двух-, а то и в трехлетнем возрасте. Поэтому для того чтобы приблизить время постановки на откорм, длинноухих английских свиней стали скрещивать с более мелкими (масса до 110 кг), но скороспелыми средиземноморскими и азиатскими (китайскими или сиамскими) короткоухими свиньями. Эти скрещивания и стали основой для формирования крупных, но при этом скороспелых английских заводских пород: беркширской, крупной белой и др. (Народная энциклопедия, 1910; Волкопялов и др., 1934; Кузьмин, 1934; Кабанов, Терентьева, 1985). Таким образом, современные заводские породы унаследовали от длинноухой английской маршевой свиньи крупные размеры, а высокую скорость роста – от короткоухих средиземноморских и, возможно, китайских свиней.

Процесс формирования первых английских пород (беркширской и крупной белой) занял всего около 50 лет. Такая быстрота формирования и способность передавать свои продуктивные качества уже первому поколению помесей (Волкопялов и др., 1934; Кузьмин, 1934; Кудрявцев, 1948) указывают на накопление у английских пород доминантных аллелей, отвеча-

ющих за комплекс ценных селекционируемых признаков. С момента возникновения первых заводских пород и по сегодняшний день основной вектор отбора направлен на получение животных, достигающих максимальной массы за минимальный период времени, для чего применяют отбор по собственной скорости роста и оценку производителей по скорости роста их потомков (Порядок и условия проведения бонитировки племенных свиней, 2009). Кроме того, при планировании скрещиваний рекомендуется избегать инбридинга (Волкопялов и др., 1934; Кузьмин, 1934; Кудрявцев, 1948; Лэсли, 1982). В целом такая селекционная стратегия просто не может не привести к накоплению в популяциях заводских пород именно доминантных аллелей, контролирующих высокую скорость роста и большие конечные размеры животных.

Если принять, что за большие размеры животных заводских пород отвечают доминантные аллели, унаследованные от длинноухой формы, то за малые размеры должны отвечать рецессивные аллели короткоухих свиней. В таком случае процесс выведения миниатюрных свиней можно рассматривать как восстановление короткоухой формы из современной заводской формы домашних свиней.

Возможные плейотропные эффекты генов, отвечающих за размеры тела у домашних свиней

Вполне возможно, что отдельные локусы, контролирующие рост и конечную массу свиней, могут иметь плейотропный эффект или быть тесно сцепленными с локусами, контролирующими другие признаки.

Примитивные породы, некогда существовавшие в Европе, и породы, существующие в Юго-Восточной Азии в настоящее время, представлены двумя различающимися по целому комплексу признаков формами: длинноухой и короткоухой. Причем эти комплексы у европейских и азиатских пород аналогичны. Длинноухие свиньи, кроме длинных свисающих ушей, имеют крупные размеры тела, длительный период роста, позднее созревание и высокое многоплодие; короткоухие – мелкие размеры, скороспелость, раннее половое созревание,

низкое многоплодие (Народная энциклопедия, 1910; Волкопялов, 1934; Кабанов, Терентьева, 1985; Иванчук, 2011). Возможно, короткоухая форма способна лучше адаптироваться к неблагоприятным средовым условиям. По крайней мере, все или большинство одичавших свиней и нативных пород имеют короткие уши и меньшие, чем у дикого кабана, размеры (Mayer, Brisbin, 1993; McCann *et al.*, 2003; Lemus *et al.*, 2003; Иванчук, 2011). Поэтому есть основания предполагать, что с доминантными аллелями, отвечающими за крупные размеры, связаны такие признаки, как длинноухость, высокое многоплодие и продолжительный период роста. В то же время с рецессивными аллелями, отвечающими за малые конечные размеры, очевидно, связаны короткоухость, скороспелость, раннее половое созревание, низкое многоплодие и способность быстро адаптироваться к неблагоприятным условиям.

Возможный сценарий доместикации дикого кабана

Можно предположить, что на раннем этапе доместикации дикого кабана главной, а скорее всего, единственной, мишенью отбора было взаимодействие человека и предка домашней свиньи, дающее выигрыш от совместного проживания на общей территории. Логика подсказывает выгоду от присутствия вблизи человеческого жилища кабана, который был для человека ближним источником пищевых ресурсов. В свою очередь, кабан получал в этой своеобразной экологической нише пищевые отходы человека и, возможно, некоторую защиту от хищников. Длительный период стихийного отбора к пребыванию в синантропной среде, ограничение свободы скрещивания и связанный с этим инбридинг в конечном счете должны были привести и, очевидно, привели к формированию поведенческого и морфологического фенотипа примитивной формы одомашненной свиньи. Очевидно, что такой формой была мелкая короткоухая малоплодная свинья. Ее короткоухость – наследие дикого кабана. Мелкой и малоплодной стихийно доместизируемая форма стала потому, что при ограниченном пищевом ресурсе большой помет невыгоден: он, скорее всего, погибнет полностью, так как материн-

ское молоко делится на всех и, соответственно, недоедают все. Особи из малых пометов имеют больше шансов выжить в период лактации. К этому добавлялся еще и проводимый человеком бессознательный отбор: забивали в первую очередь крупных особей (потому что мяса больше) и склонных к агрессии (могли представлять опасность или доставлять беспокойство). Возможно, в этот же период произошел сдвиг полового созревания на более ранние сроки по сравнению с диким кабаном. Причина, очевидно, в забое более крупных и, соответственно, более взрослых животных, поэтому рано созревающие особи успевали оставить больше потомков. Так как такие особи более мелкие и маломолочные, это также способствовало отбору малоплодных особей. В этот период особи с реакцией страха на человека покидали территорию синантропной популяции, где формировался пул генов, контролирующих доместикационное поведение.

Можно предположить, что независимо, в разное время и в разных регионах в канале отбора на приспособленность к жизни вблизи человеческих поселений и формировалась короткоухая примитивная форма домашней свиньи. Короткоухие свиньи, вероятно, в дальнейшем послужили основой для создания селекционно более продвинутых форм: курчавой и длинноухой. На этой стадии, вероятно, уже применялся сознательный отбор наиболее выдающихся животных для племенных целей. И если для курчавых свиней можно предположить единый центр возникновения – средиземноморский, то длинноухая форма встречалась как в Европе, так и в Юго-Восточной Азии. Именно от них в дальнейшем произошли современные породы свиней, полученные при целенаправленном скрещивании европейских, средиземноморских и южноазиатских пород (Волкопялов и др., 1934; Кабанов, Терентьева, 1985).

МИНИАТЮРНЫЕ ФОРМЫ ДОМАШНЕЙ СВИНЬИ, ВЫВЕДЕННЫЕ В РОССИИ

В России последовательно были выведены три группы миниатюрных свиней: минисибс, светлогорские мини-свиньи и миниатюрные (мелкие) свиньи ИЦиГ.

Первая попытка – создание минисибс

Первой миниатюрной формой домашних свиней были минисибс, созданные по инициативе В.Н. Тихонова в Институте цитологии и генетики СО АН СССР. Основой для выведения этих животных послужили помеси вьетнамских масковых свиней породы Й с европейской заводской породой ландрас, которых затем скрестили с диким среднеазиатским кабаном *Sus scrofa nigripes* и получили собственно минисибс (Тихонов, 2010).

Инбридинг и селекция на уменьшение размеров, при которой в репродуктивное ядро популяции отбирали самых мелких особей, игнорируя все остальные зоотехнические показатели, привели к тому, что в популяции минисибс закрепилась мутация, замедляющая пренатальный рост. Гомозиготные по этой мутации особи при рождении имели массу менее 600 г, что в условиях содержания на стандартной свиноферме приводило к их гибели в первую неделю после рождения. Некоторые гетерозиготные носители мутации выживали и из них формировали репродуктивное ядро, а гомозигот по нормальному аллелю выбраковывали как чрезмерно крупных. В результате все особи репродуктивного ядра в период с 1981 г. по 1987 г. были носителями данной сублетальной мутации (Князев и др., 2013).

Отбор мелких особей у ущерб всем остальным признакам приблизил фенотип минисибс к фенотипу мелких азиатских свиней (рис. 1).

Односторонний отбор и нарастающая инбридность у минисибс привели к резким нарушениям воспроизводительной функции: хряки вяло и неохотно шли в случку, свиноматки плохо приходили в охоту, снизилась оплодотворяемость, ухудшилась лактация, прогрессировало нарушение материнского поведения, достигающее до инфантицида, – самки давили, загрызали, а иногда и пожирали собственное потомство (табл. 1).

Большинство особей минисибс проявляли несвойственную домашним свиньям трусливо-оборонительную реакцию на человека: активно избегали контакта с ним, часто выпрыгивали из клеток. Имели место случаи, когда супоросные свиноматки убегали со свинофермы в соседний



Рис. 1. Последний чистокровный хряк минисибс Трисс № 1/10.

Родился 16.02.87, выбыл в конце 1988 г. Обращает на себя внимание выраженный «южноазиатский» тип сложения: «мягкая», провислая спина, короткие ноги, компактное плотное широкое туловище с объемистым «травяным» брюхом (Фото С.П. Князева).

Таблица 1
Жизнеспособность молодняка породы
минисибс по данным 1986 г.

Показатели	Количество особей	Доля особей, %
Родилось всего	530	100
Мертворожденные и нежизнеспособные	89	16,8
Инфантицид	82	15,5
Пало в 1-й месяц после рождения	259	48,9
Пало в возрасте от 1 до 2 месяцев	37	7
Живых в 1 месяц	100	18,9
Живых в 2–4 месяца	63	11,9

лесной массив, где в укромном месте приносили потомство.

В 1988 г. группа минисибс полностью прекратила свое существование.

Вторая группа российских миниатюрных свиней – светлогорские мини-свиньи

В 1974 г. в Научно-исследовательской лаборатории экспериментальных биомоделей АМН СССР было создано стадо миниатюрных свиней, основой для которого послужили минисибс (Тихонов, 2010). В дальнейшем было проведено скрещивание минисибс с геттингенскими мини-свиньями и после отбора была

создана новая форма, получившая название светлогорские мини-свиньи (Капаназе, Ашуев, 2007; Капаназе, 2011). Можно допустить, что на эффективность отбора, направленного на уменьшение размеров тела, повлияла унаследованная от минисибс сублетальная мутация, снижающая скорость пренатального роста. Однако смертность 600-граммовых новорожденных носителей этой мутации существенно снижается в условиях вивария, что позволило выделить и селекционировать у светлогорских мини-свиней группу особо мелких животных (Капаназе, Ашуев, 2007; Капаназе, 2011).

Особенностью светлогорских миниатюрных свиней является обратный половой диморфизм по размерам и массе тела – самцы мельче самок. Популяция полиморфна по масти и типам поведения. Присутствуют особи с агрессивным и пугливым по отношению к человеку поведением. Конституция животных нежная, адаптированная к условиям вивария, присутствуют особи как с компактным, так и с «прогонистым» типом сложения (Осипов, Варлаков, 1988; Капаназе, Ашуев, 2007; Капаназе, 2011; Станкова, Капаназе, 2012а, б).

Мини-свиньи Института цитологии и генетики СО РАН – третья группа российских миниатюрных свиней

Происхождение и генеалогическая структура популяции. Современная форма миниатюрных свиней ИЦиГ создана по инициативе

И.Г. Горелова и является результатом погло- тительного скрещивания светлогорских мини- свиной с крупной белой породой (Горелов и др., 2001; Князев, Никитин, 2006), проведенного в 1990–1992 гг. После получения животных F_{2B} (3/4 генома светлогорских мини-свиной) приступили к разведению помесей «в себе». Позднее для обогащения генофонда популяции были проведены вводные скрещивания с хряками породы ландрас (1998 г.) и хряками вьетнам- ской черной вислобрюхой травоядной породы (2005 и 2010 гг.). В итоге родоначальниками всех мини-свиной ИЦиГ являются 5 свиноматок крупной белой породы, 2 хряка породы ландрас, 3 светлогорских миниатюрных хряка и 2 хряка вьетнамской породы.

Структура стада мини-свиной ИЦиГ в насто- ящее время включает 4 генеалогические линии хряков: 2 – от светлогорских мини-свиной (МС2853 и МС2987), 1 – от породы ландрас (Л7), 1 – от вьетнамской породы (В300). Три семейства свиноматок (генеалогические линии самок) ведут начало от крупной белой породы (КБ1902, КБ1906 и КБ1910). Доля аллелей свет- логорских мини-свиной в популяции мини-свиной ИЦиГ составляет более половины, крупной белой и вьетнамской пород – около 1/5 каждая,

породы ландрас – меньше 1/10. При этом около трети генетического пула популяции мини-свиной ИЦиГ составляют аллели светлогорского хряка № 2987 (рис. 2).

Отсюда закономерно возникает вопрос: каков в этой ситуации уровень гомозиготности отдельных особей и популяции в целом?

Для получения ответа на этот вопрос моди- фицировали формулу Райта–Кисловского (Мер- курьева, Шангин-Березовский, 1983), которая приобрела вид: $I_0 = P_1 P_2 (1 + I_1 + I_2 - I_1 I_2)$, где P_1 и P_2 – «доля крови» общего предка у первого и второго родителя особи, I_0 – гомозиготность оцениваемой особи, I_1 и I_2 – гомозиготность первого и второго родителя особи по общему предку. Среднюю гомозиготность оценивали об- щепринятыми методами (Животовский, 1991).

В 2013 г. гомозиготность популяции соста- вила 0,235, и это главным образом гомозигот- ность по аллелям светлогорских мини-свиной, в частности хряка № 2987 (рис. 3).

Динамика изменения средней гомозигот- ности эффективной части популяции (репро- дуктивного ядра) в период с 1994 г. по 2012 г. показывает, что скрещивания с ландрасскими и вьетнамскими хряками слабо отразились на вариации этой величины: вне зависимости от

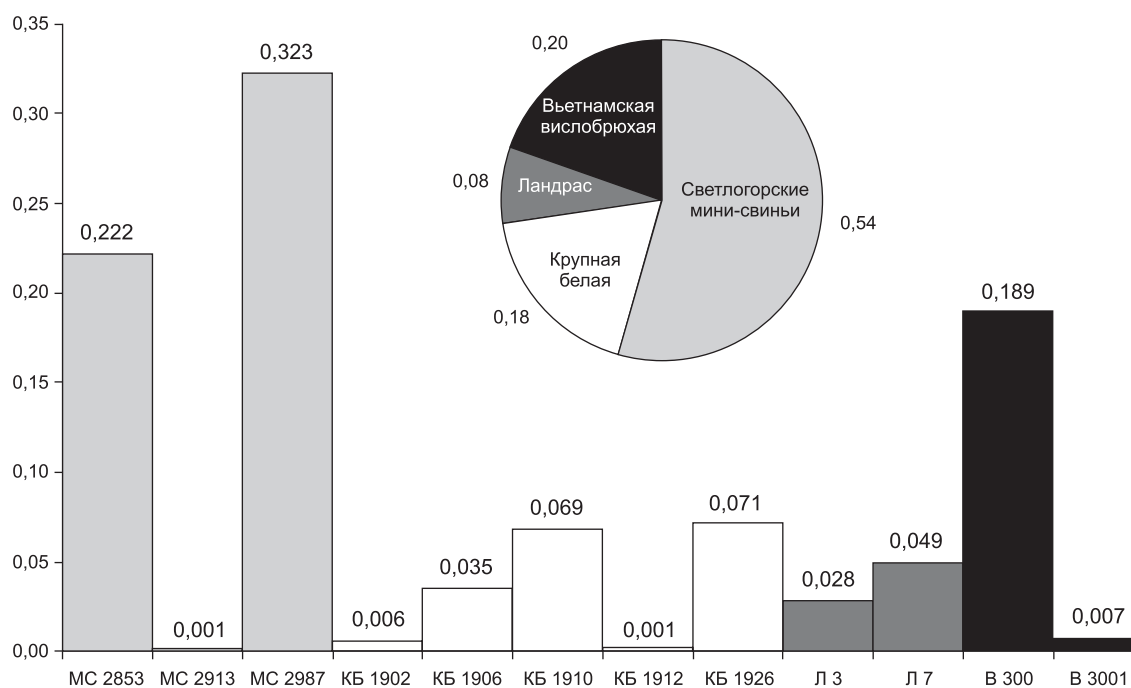


Рис. 2. Генеалогический профиль миниатюрных свиной ИЦиГ СО РАН: доля аллелей различных родоначальников и пород в аллелофонде популяции (объем выборки 109 особей).

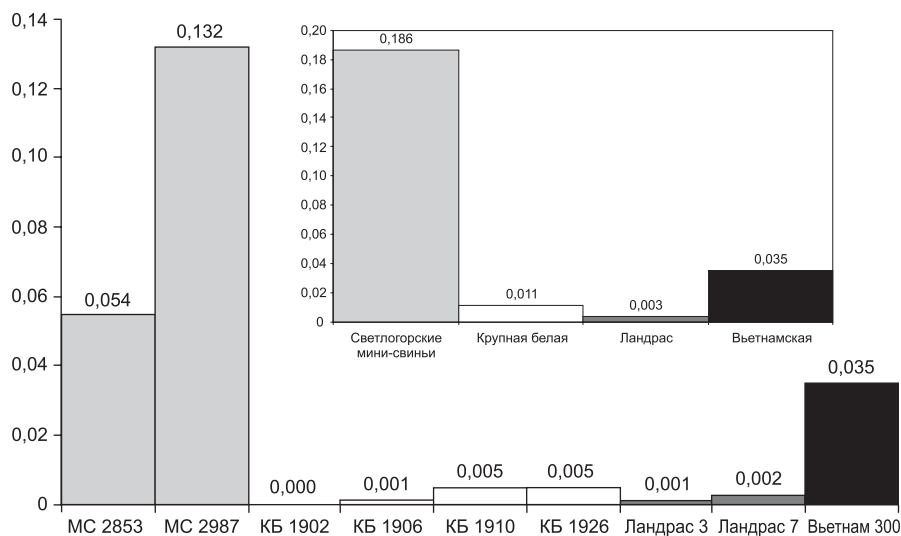


Рис. 3. Гомозиготность популяции миниатюрных свиней ИЦиГ СОРАН по аллелям, унаследованным от разных родоначальников и пород (2013 г., объем выборки 109 особей).

этих скрещиваний гомозиготность колеблется случайным образом вокруг характерного для мини-свиней ИЦиГ значения с постепенно уменьшающимся размахом колебаний (рис. 4).

Вообще уровень гомозиготности, специфический для данной популяции в данных условиях, можно рассматривать как механизм ее самоочищения от аллелей, снижающих приспособленность, потому что носители таких аллелей редко имеют потомков, способных попасть в репродуктивное ядро.

В состав репродуктивного ядра миниатюрных свиней ИЦиГ за период с 1994 г. по 2010 г.

входило 820 особей, но из них только 117 «оставили след» в генофонде популяции (генеалогические линии этих особей продолжились до 2013 г.). Таким образом, аллели 86 % особей репродуктивного ядра были элиминированы и лишь 14 % особей оказались генетически эффективными.

Самоочищение популяции от аллелей, снижающих жизнеспособность, подтверждается тем, что у мини-свиней ИЦиГ доля мертворожденных в период с 2009 г. по 2012 г. составила 1,96 % (33 из 1 687). Это статистически значимо ($\chi^2 = 57,94$; $P < 0,001$; $d.f. = 1$) меньше, чем в контрольной

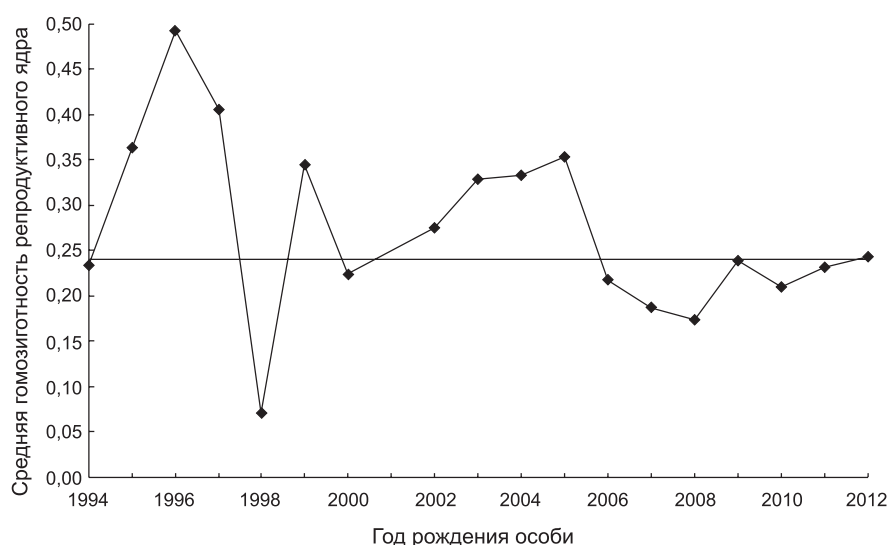


Рис. 4. Динамика изменения гомозиготности в репродуктивном ядре – эффективной части популяции мини-свиней ИЦиГ СО РАН.

выборке ландрасов, где доля мертворожденных равна 6,6 % (1 829 из 27 678), что соответствует приведенному в литературе нормальному для домашних свиней уровню пренатальной смертности – 6 % (Понд, Хаупт, 1983).

Таким образом, у мини-свиней ИЦиГ частота аллелей, обуславливающих пренатальную смертность, ниже, чем у домашних свиней в целом. С этой точки зрения интродукция новых аллелей в уже сложившийся генетический пул – действие достаточно рискованное, так как могут возникнуть новые, снижающие жизнеспособность, комбинации аллелей. Популяция миниатюрных свиней ИЦиГ, очевидно, достигла оптимального уровня гомозиготности и способна существовать самостоятельно, без привлечения животных извне, что свойственно нативным породам и одичавшим свиньям.

Экстерьерная характеристика. Для мини-свиней ИЦиГ характерным является длинное плотное туловище с прямой спиной на умеренно высоких ногах, уплощенная грудная

клетка, легкая, не грубая голова (рис. 5). Однако присутствуют и животные, напоминающие примитивных короткоухих свиней (рис 6). Отсутствуют особи с признаками изнеженности, рыхлости, чрезмерной грубости или с выраженной склонностью к патологическому ожирению. По результатам бонитировки 11 основных хряков и 58 основных и проверяемых свиноматок, проведенной в январе 2013 г., животные соответствуют требованиям, предъявляемым к лабораторным мини-свиньям (Тихонов, 2010). Преобладающая масть мини-свиней ИЦиГ белая (49,6 %). Среди пигментированных животных встречаются особи с серыми, бурыми и черными пятнами, черно-пестрые по белому, золотисто-песочному, серому и бурому фону, черные с черной кожей и черные с белыми отметинами и белой кожей, бурые (дикий тип) и серые (рис. 5, 6, Приложение).

Подобное разнообразие окрасок в популяции с высоким уровнем гомозиготности, обусловленным систематическим инбридингом,



Рис. 5. Племенной хряк № 403/2, генеалогическая линия Л7 в возрасте 2 года. Масть белая с присутствием щетинок красноватого цвета (Фото К.С. Шатохина).



Рис. 6. Племенная свиноматка № 754, генеалогическая линия КБ 1906 в возрасте 1,5 года. Масть черная с белыми отметинами на ногах и белой кожей (Фото К.С. Шатохина).

весьма примечательно. Следует отметить, что у нативных пород и одичавших свиней также наблюдается разнообразие окрасок. Вполне вероятно, что данное явление обусловлено высоким уровнем гомозиготности популяции, при котором «выходят в фенотип» окраски, обусловленные рецессивными аллелями. Однако нельзя исключить, что для мелкой примитивной (нативной) формы домашней свиньи полиморфизм по генам окраски может быть связан с приспособленностью и поддерживается в популяциях естественным отбором.

Репродуктивные показатели. Репродуктивные качества мини-свиней ИЦиГ СО РАН не уступают показателям аналогичных групп мини-свиней (Капанадзе, Ашуев, 2007; Тихонов, 2010; Капанадзе, 2011). Динамика возрастного изменения многоплодия, построенная по данным 23 основных свиноматок 2013 г. (рис. 7), показывает, что пик многоплодия (9–10 поросят в помете) приходится на 4–6-й опоросы (второй–третий год жизни свиноматки), т. е. совпадает с динамикой многоплодия продуктивных пород. Это означает, что для получения многочисленного потомства у мини-свиней следует, как это и принято в племенном свиноводстве, использовать свиноматок в возрасте старше года, т. е. основных свиноматок (Кудрявцев, 1948).

Возможный генетический контроль многоплодия. Вариация многоплодия мини-свиней ИЦиГ была оценена на соответствие модели с моногенным диаллельным контролем признака. Для такого анализа формируют выборку свиноматок с числом опоросов не менее четырех. Свиноматок разбивают на классы по максимальному размеру помета и оценивают достоверность различия несмещенных средних

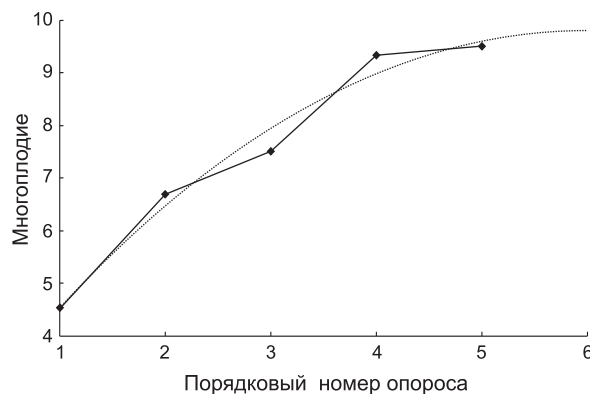


Рис. 7. Динамика многоплодия у миниатюрных свиней ИЦиГ СО РАН.

Сплошная линия – фактическая динамика изменения многоплодия; пунктирная линия – возрастная динамика изменения признака.

значений признака между соседними по максимальному многоплодию классами (Швебель и др., 2006). К сожалению, с 4 и более опоросами оказалось всего 11 свиноматок, поэтому результаты анализа можно использовать только для оценки перспективности этого направления исследований.

Последовательное сравнение классов показало, что присутствует статистически значимое различие между классами с максимальным многоплодием 8 и 10 поросят (табл. 2). Отсюда следует, что моногенный контроль многоплодия у мини-свиней ИЦиГ возможен и исследования можно продолжать.

Рост и развитие. Динамику роста живой массы миниатюрных свиней ИЦиГ рассматривали для хряков и свиноматок отдельно (рис. 8), так как у домашних свиней хорошо выражен половой диморфизм по этому признаку (Чижик, 1979).

Таблица 2

Среднее многоплодие свиноматок с различным максимальным многоплодием

Максимальное многоплодие	Число свиноматок	Число опоросов	Несмещенное среднее многоплодие	Критерий Стьюдента	
8	2	7	5,3 ± 0,7	2,28, $P < 0,05$	0,53
10	3	10	7,2 ± 0,5		
11	1	3	6,7 ± 0,9	0,39	0,74
12	1	3	7,3 ± 1,4		
13	3	11	8,5 ± 0,7	1,01	
14	1	4	6,5 ± 1,9		

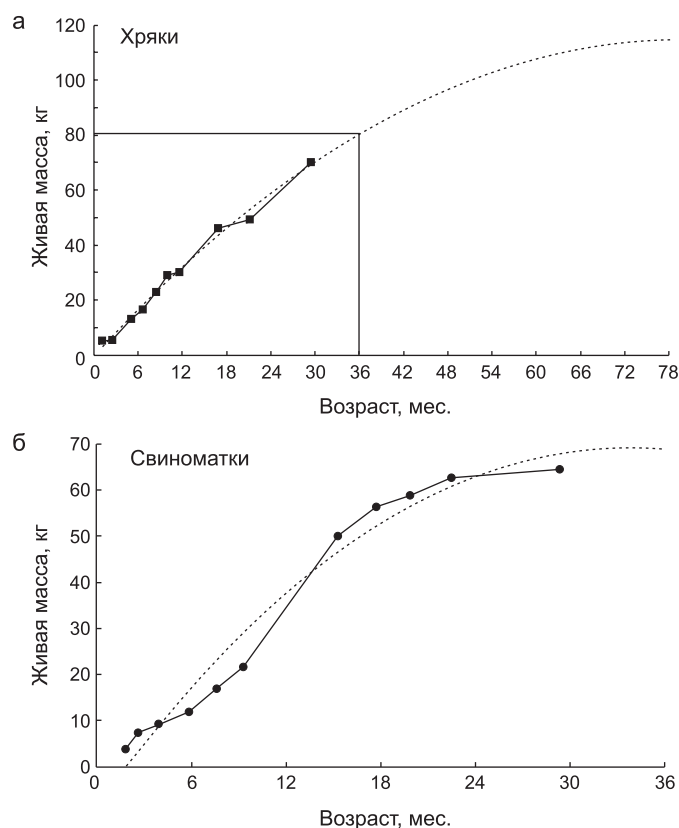


Рис. 8. Возрастная динамика роста массы мини-свиней ИЦиГ СО РАН.

а – хряки; б – свиноматки; сплошная линия – фактическая динамика роста массы; пунктирная линия – линия экстраполяции.

Исследование показало, что рост хряков представляет относительно равномерный процесс, который продолжается до возраста 6,5 лет и конечной живой массы 110–120 кг. Динамика роста массы свиноматок имеет выраженную S-образную форму, и в возрасте от 11 до 22 месяцев они тяжелее самцов. Рост массы свиноматок заканчивается в возрасте 3 года при конечной массе около 70 кг. Полученные оценки продолжительности роста мини-свиней ИЦиГ совпадают с продолжительностью роста самцов и самок дикого кабана (Соколов, 1979).

Ответ на средовое воздействие (кормление высококалорийными кормами). Мини-свиньи ИЦиГ являются мелкой тугорослой формой, у которой отсутствует склонность к избыточному патологическому ожирению. Тем не менее при смене стандартного рациона на высококалорийный их среднесуточный прирост увеличивается двукратно (табл. 3).

Таким образом, мини-свиньи ИЦиГ по типу накопления энергетических запасов близки к примитивной короткоухой форме домашней свиньи, которая, несмотря на небольшие раз-

Таблица 3

Среднесуточный прирост мини-свиней ИЦиГ СО РАН при кормлении кормами разной калорийности

Группа животных	Кормление	Число особей	Среднесуточный прирост, г	Коэффициент Стьюдента
Кастраты, масса на начало испытания ≈ 28 кг	Корм повышенной калорийности	5	$510,0 \pm 45,1$	7,37 ($P < 0,01$)
	Обычный рацион	5	$173,8 \pm 7,0$	
Свинки, масса на начало испытания ≈ 20 кг	Корм повышенной калорийности	10	$428,8 \pm 19,2$	9,96 ($P < 0,001$)
	Обычный рацион	10	$219,0 \pm 8,7$	

меры, была способна при откорме интенсивно набирать массу.

Особенности поведения (оборонительная реакция на человека). Для миниатюрных свиной ИЦиГ характерна положительная реакция на человека. Молодняк адекватно реагирует на присутствие незнакомых людей: поросята группируются в одном из углов клетки и наблюдают, не проявляя каких-либо признаков психоэмоционального стресса.

Следует заметить, что реакция на человека у мини-свиной ИЦиГ резко отличается от реакции минисибс, впадавших в состояние стресса не только при виде незнакомого человека, но и при неосторожных резких движениях обслуживающего персонала. Более того, у отдельных лактирующих свиноматок *минисибс* наблюдалась агрессивная реакция, они бросались на подошедших к клетке людей и стремились их укусить.

Отличительные особенности формирования популяции миниатюрных свиной ИЦиГ. Популяция миниатюрных свиной ИЦиГ развивалась в других условиях взаимоотношения «генотип–среда», чем популяция их родоначальников – светлогорских мини-свиной.

Исходные для мини-свиной ИЦиГ – светлогорские мини-свиньи формировались в комфортных условиях вивария при сбалансированном кормлении, безвыгульном содержании, при оптимальных зоогигиенических параметрах окружающей среды, в которой агрессивная микрофлора подавлялась бактерицидными лампами и дезинфицирующими растворами. Поросята в ранний постнатальный период для профилактики анемии получали внутримышечно препарат биологически активного трехвалентного железа (ферроглюкина) (Осипов, Кострюков, 1988). Иными словами, миниатюрные размеры светлогорских мини-свиной формировались в средовых условиях, обеспечивающих выживание мелких и слабых особей.

Мини-свиньи ИЦиГ создавались на протяжении более чем 20 лет в условиях жесткого отбора по приспособленности. Колебания температуры в помещении составляли от +5–10 °С зимой, до +30 °С летом; отсутствовало искусственное подавление агрессивной микрофлоры бактерицидными лампами; нормой являлось

скудное групповое содержание – до 10 и более голов в станке в зависимости от размеров животных; кормление проводилось два раза в день обедненным по белку рационом. Это в некоторой степени напоминает процесс формирования мелких американо-эссекских свиной, с той лишь разницей, что у последних не было искусственного отбора на миниатюрные размеры. Однако фенотипический параллелизм был достигнут: у американо-эссекских свиной присутствует терпимое по отношению к человеку поведение, мелкие размеры тела (в возрасте 5 лет живая масса – 113,5 кг), внешнее сходство с нативными породами (Тихонов, 2010); у мини-свиной ИЦиГ также положительное поведение по отношению к человеку, мелкие размеры (живая масса до 125 кг), внешнее сходство с нативными породами. Таким образом, за 20 лет существования популяции сложился тип миниатюрных свиной, обладающих высокой жизнеспособностью, резко отличающихся от своих непосредственных предков – светлогорских мини-свиной и свиной породы крупная белая, а также и от предков более отдаленных – минисибс и вьетнамских масковых свиной. Относительно недавнее скрещивание с хряками вьетнамской породы не приблизило их по фенотипу к свиньям Юго-Восточной Азии: спина осталась прямой, ноги высокими, склонности к избыточному жиротложению не появилось. В настоящий момент мини-свиньи ИЦиГ по фенотипу близки к мелким одичавшим свиньям или нативным породам, а более крупные особи приближаются по фенотипу к породе крупная белая.

Можно предположить, что малые размеры мини-свиной ИЦиГ обусловлены гомозиготностью по рецессивным аллелям короткоухих форм домашней свиньи, независимо от того, были эти аллели получены от крупной белой породы, светлогорских мини-свиной, свиной породы ландрас или вьетнамской породы. Главное, что эти аллели повышали шансы их носителям выжить в жестких средовых условиях экспериментальной свинофермы, одновременно приближая их по размерам тела к нативным породам. Но в отличие от нативных пород, о процессе формирования которых практически нет данных, образование мини-свиной ИЦиГ хорошо документировано.

Перспективы использования мини-свиней ИЦиГ в генетических исследованиях. В настоящее время на свиноферме ИЦиГ СО РАН сложился тип мини-свиней, близкий к примитивной короткоухой мелкой форме домашней свиньи. В то же время он близок к типу, который используют за рубежом как мини-свиней либо «в чистом виде», либо скрещивая с крупной заводской породой.

Предварительные исследования, проводившиеся в 2012–2013 гг., показывают, что мини-свиньи ИЦиГ имеют высокий полиморфизм по фенотипам окраски. Они полиморфны по размерам тела, некоторым остеологическим признакам и многоплодию.

Таким образом, изучение генетических и фенотипических особенностей мини-свиней ИЦиГ может оказаться весьма интересным для понимания процесса доместикизации и формирования адаптационных качеств как по отношению к условиям среды, так и по отношению к человеку – тех качеств, которые превратили дикого кабана в домашнюю свинью. Кроме того, уже выявленный полиморфизм по окраске и морфологическим признакам, а также возможный полиморфизм по многоплодию позволяют начать формирование линий по этим признакам в результате сопоставления селекции с изменениями поведенческих характеристик и частот генетических маркеров.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а), СО РАН (экспедиционный проект № 3э) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № ФНМ-2012-05).

ЛИТЕРАТУРА

- Волкопялов Б.П., Лус Я.Я., Шульженко И.Ф. Породы, генетика и селекция свиней. М., Л.: Гос. изд-во с.-х. и колх. лит-ры, 1934. 268 с.
- Горелов И.Г., Савина М.А., Ермолаев В.И. Сибирские миниатюрные свиньи – новая биомодель для медико-биологических исследований // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2001. № 3/4. С. 81–87.
- Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 272 с.
- Иванчук В.А. Биогенетические особенности редких и исчезающих пород свиней // Ветеринария с.-х. животных. 2011. № 2. С. 55–60.
- Кабанов В.Д., Терентьева А.С. Породы свиней. М.: Агропромиздат, 1985. 336 с.
- Капанадзе Г.Д. Биологические и зоотехнические особенности светлогорских мини-свиней, их совершенствование и рациональное использование: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2011. 47 с.
- Капанадзе Г.Д., Ашуев Ж.А. Светлогорская популяция мини-свиней // Биомедицина. 2007. № 6. С. 70–80.
- Князев С.П., Никитин С.В. Пренатальная приспособленность свиней и гетерозиготность по генам систем групп крови D, E, F, G // С.-х. биология. 2006. № 2. С. 95–102.
- Князев С.П., Никитин С.В., Ермолаев В.И. Генетика крупноплодности свиней: половой диморфизм и генетический контроль массы новорожденных поросят // Вестн. НГАУ. 2013. № 1. С. 46–57.
- Кудрявцев П.Н. Племенное дело в свиноводстве. М.: ОГИЗ–Сельхозгиз, 1948. 360 с.
- Кузьмин С.Л. Разведение и породы свиней с основами генетики. М.; Л.: Гос. изд-во с.-х. и колх. лит-ры, 1934. 226 с.
- Лэсли Дж.Ф. Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1982. 392 с.
- Меркурьева Е.К., Шангин-Березовский Г.Н. Генетика с основами биометрии. М.: Колос, 1983. 400 с.
- Народная энциклопедия научных и прикладных знаний. Т. 4. 1-й полутом: Животноводство. М.: Типография Т-ва И.Д. Сытина, 1910. 356 с.
- Осипов В.В., Варлаков В.С. Этологическая характеристика светлогорских мини-свиней // Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований: Тез. Всесоюз. конф. Ч. II. М.: НИЛЭБМ, 1988. С. 145–148.
- Осипов В.В., Кострюков Г.Н. Технология содержания мини-свиней светлогорской популяции // Актуальные вопросы стандартизации лабораторных животных для медико-биологических исследований: Тез. Всесоюз. конф. Ч. II. М.: НИЛЭБМ, 1988. С. 85–86.
- Понд У.Дж., Хаупт К.А. Биология свиньи. М.: Колос, 1983. 336 с.
- Порядок и условия проведения бонитировки племенных свиней. М., 2009. 15 с.
- Соколов В.Е. Систематика млекопитающих. Т. 3. М.: Высш. шк., 1979. 528 с.
- Станкова Н.В., Капанадзе Г.Д. Селекционно-генетическая и экспериментальная работа с мини-свиньями светлогорской популяции // Биомедицина. 2012а. № 1. С. 49–53.
- Станкова Н.В., Капанадзе Г.Д. Новые специализированные линии и семейства лабораторных мини-свиней // Биомедицина. 2012б. № 3. С. 68–71.
- Стриовски Э. Мини-пиги (декоративные свинки). Содержание и уход. Аквариум-Принт, 2008. 95 с.
- Тихонов В.Н. Лабораторные мини-свиньи. Генетика и медико-биологическое использование. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 304 с.
- Чижик И.А. Конституция и экстерьер сельскохозяйственных животных. Л.: Колос, 1979. 376 с.
- Швебель Т.И., Князев С.П., Тараканов Е.А. и др. Компоненты репродуктивного потенциала свиноматок кемеровской породы // Докл. РАСХН. 2006. № 1. С. 38–40.

Lemus F.C., Alonso M.R., Alonso-Spilsbury M. *et al.* Morphologic characteristics in Mexican native pigs // Arch. Zootec. 2003. V. 52. P. 105–108.

Mayer J.J., Brisbin I.L. Distinguishing feral hogs from introduced wild boar and their hybrids: a review of past and present efforts // A Compendium for Resource Managers / Ed. C.W. Hanselka, J.F. Cadenhead.

San Angelo, TX. Texas Agric. Extension Serv. 1993. P. 28–49.

McCann B., Davie D.K., Feldhamer G.A. Distribution, Habitat Use, and Morphotypes of Feral Hogs (*Sus scrofa*) in Illinois // Trans. Illinois State Acad. Sci. 2003. V. 96. No. 4. P. 301–311.

www.zoowet.ru

Приложение

НЕКОТОРЫЕ ВАРИАНТЫ ОКРАСОК У МИНИ-СВИНЕЙ ИЦиГ (Фото К.С. Шатохина)



Ремонтный хрячок светло-серой масти и ремонтная свинка темной пепельно-серой масти.



Ремонтная свинка черно-пестрая по серому фону и ремонтный хрячок черно-пестрый по оранжево-песочному фону.



Ремонтные свинки: белая с серыми пятнами и окраски дикого типа – агути с барсучьей мордой.



Основные хряки: чисто-черный и чисто-белый.



Основная свиноматка и основной хряк черно-пестрые по белому фону.



Ремонтные хрячки черные с белой кожей и белыми отметинами:
левый – белые ноги, правый – белый низ – окрас «ласточка».

MINIATURE PIGS OF ICG AS A MODEL OBJECT FOR MORPHOGENETIC RESEARCH

S.V. Nikitin¹, S.P. Knyazev², K.S. Shatokhin³

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: nsv1956@mail.ru;

² Novosibirsk State Agrarian University, Department of Animal Breeding, Novosibirsk, Russia;

³ Siberian Research Institute of Animal Husbandry, Russian Agricultural Academy,
Novosibirsk, Russia

Summary

The article provides a full description of genesis, formation conditions, genealogic and genetic structure of the ICG minipig population. It shows the present state of the population and its unique features (in comparison to other minipigs) that can be interesting for breeders and geneticists. Experimental material of 1990–1992 (population foundation) and 2012–2013 (recent) is invoked.

Key words: miniature pigs, hog domestication, type of color.

УДК 578.23:578.5:636.422:599.731.1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛНОРАЗМЕРНЫХ ГЕНОМОВ ЭНДОГЕННЫХ РЕТРОВИРУСОВ У СИБИРСКИХ МИНИ-СВИНЕЙ

© 2014 г. Р.Б. Айтназаров¹, Н.С. Юдин^{1,2}, С.В. Никитин¹,
В.И. Ермолаев¹, М.И. Воевода^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: autrus@bionet.nsc.ru

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки НИИ терапии СО РАМН,
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 9 сентября 2013 г. Принята к публикации 7 октября 2013 г.

В работе представлены данные по изучению популяционной динамики сибирских мини-свиней по локусам *gag* и *env* эндогенных ретровирусов свиней. Частота носителей полноразмерных геномов PERV типов А, В и С у современных мини-свиней очень велика. В ходе селекции с 2005 г. по 2013 г. наблюдается достоверное повышение доли животных, свободных от ретровирусов типа В.

Ключевые слова: эндогенные ретровирусы свиньи, мини-свиньи, ксенотрансплантация, селекция.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных проблем трансплантологии как прикладной области медицинской хирургии является недостаток совместимых органов для пересадки от человека человеку. Считается, что в силу анатомо-физиологического сходства с человеком, по этическим и экономическим причинам, мини-свиньи являются главными донорами органов при ксенотрансплантации. Однако присутствие в клетках свиньи эндогенных ретровирусов (Porcine Endogenous Retrovirus, PERV), которые являются составной частью генома, вызывает опасность потенциальной зоонозной инфекции. При ксенотрансплантации искусственно создаются условия для рекомбинаций патогенных близкородственных вирусов человека и животного; появления новых инфекций; адаптации к организму человека вирусов, размножающихся в организме свиней. Существует вероятность того, что, находясь в латентной форме, при пересадке органа от животного-донора, PERV могут активизироваться и вызвать заболевания у человека, в том числе онкологические.

По структуре нуклеотидных последовательностей PERV подразделяют на три типа: А, В и С. Представители разных типов обнаруживают высокую гомологию в генах *gag* (group-specific-antigens) и *pol* (polymerase), но различаются по нуклеотидной последовательности в рецептор-связывающем домене гена *env* (envelope), кодирующего белок оболочки вируса. Эти различия определяют круг хозяев ретровирусов PERV, принадлежащих к разным типам (Jin *et al.*, 2000; Юдин, 2011).

Специально для нужд ксенотрансплантации за рубежом выведены несколько пород лабораторных мини-свиней. Первое стадо отечественных мини-свиней «минисибс» было создано в ИЦиГ СО РАН при скрещивании свиней вьетнамской черной и пятнистой пород, домашних свиней пород ландрас и крупной белой, а также кабанов европейского и среднеазиатского подвидов. В настоящее время совместно с Кемеровским производственным центром СО РАМН проводятся исследования по апробации и производству биопротезов клапанов сердца, кровеносных сосудов и ксеноперикардiallyного лоскута для интракардиальной хирургии и

ангиопластики с использованием материалов от минисибсов. С использованием пластинок роста тел позвонков новорожденных мини-свиней в Новосибирском НИИТО разработан метод получения хондротрансплантатов для коррекции дистрофических и травматических изменений хрящевой ткани, а также процессов роста при идиопатическом сколиозе (Тихонов, 2010).

Ранее нами было показано, что у сибирских мини-свиней широко распространены ретровирусы PERV всех трех типов (Никитин и др., 2008). Обогащенность геномов миниатюрных свиней ретровирусами, вероятно, обусловлена внесением их от пород-основателей. Особый интерес для ксенотрансплантации представляют животные, у которых не выявлено присутствие ретровирусов в геноме. Однако популяция сибирских мини-свиней была обследована нами ранее, в 2005 г. С тех пор скрининг популяции не проводился. Кроме того, для типирования ретровирусов в предыдущей работе мы использовали амплификацию только небольшого фрагмента гена *env*, что не позволяло идентифицировать полноразмерные геномы ретровирусов PERV.

Целью работы являлось изучение динамики популяции сибирских мини-свиней по локусам эндогенных ретровирусов PERV. Для идентификации полноразмерных геномов ретровирусов исследование проводили по двум локусам – *gag* и *env*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе Центра коллективного пользования «Генофонды пушных и сельскохозяйственных животных» ИЦиГ СО РАН. Были изучены основные хря-

ки-производители, свиноматки и случайная выборка молодняка в 2004 г. ($n = 160$) и 2013 г. ($n = 39$). Кровь брали из сердца после декапитации или прижизненно из передней полой вены. ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Идентификацию геномов PERV проводили методом ПЦР с праймерами, специфичными для фрагментов генов *gag*, *env-A*, *env-B* и *env-C* (Никитин и др., 2008). Результаты обрабатывали с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса в программе Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2005 г. нами было исследовано 160 сибирских миниатюрных свиней, из них 158 оказались носителями PERV типов А и С, 157 – типа В (табл.). У двух животных из 119 обследованных отсутствовал локус *gag*. Однако одно *gag*-негативное животное было положительно по локусу *env-A*, другое – по локусам *env-A* и *env-B*. Возможны два объяснения этому феномену. Известно, что геном свиньи содержит не только полноразмерные копии PERV, но также большое число дефектных провирусов, которым необходимо рекомбинировать, прежде чем они достигнут способности к производству полноценных вирионов (Юдин и др., 2011). Не исключено, что ДНК *gag*-негативных животных содержит «усеченный» провирус с делецией в гене *gag*. Второе объяснение связано с мутациями ДНК провируса в участках связывания с *gag*-специфичными праймерами. Поскольку считается, что геном свиньи может содержать от 6 до 10 способных к репликации провирусов, от 30 до 50 полноразмерных копий PERV и от 100 до 200 локусов, содержащих их частичную последовательность (Юдин и др.,

Таблица

Динамика структуры популяции мини-свиней по локусам эндогенных ретровирусов PERV

Год	Локусы, %							
	<i>env-A</i>		<i>env-B</i>		<i>env-C</i>		<i>gag</i>	
	+	–	+	–	+	–	+	–
2005	158 (98,75)	2 (1,25)	157 (98,12)	3 (1,88)	158 (98,75)	2 (1,25)	117 (98,32)	2 (1,68)
2013	36 (92,31)	3 (7,69)	35 (89,74)	4 (10,26)	39 (100)	0 (0)	39 (100)	0 (0)

2011), мы видим второе объяснение наиболее вероятным.

В 2013 г. из 39 животных 36 оказались носителями *env-A* и 35 – *env-B*. Все обследованные животные оказались положительными по локусам *env-C* и *gag*. Таким образом, с 2005 г. по 2013 г. в ходе селекции произошло достоверное повышение доли животных, свободных от ретровирусов типа В с 1,88 % до 10,26 % ($\chi^2 = 4,26$, $p = 0,04$). Наблюдаемая динамика может быть просто результатом генетического дрейфа, поскольку известно, что популяции сельскохозяйственных животных имеют низкую эффективную численность. Однако ранее нами было показано, что у мини-свиней, наряду с вертикальным переносом в ряду поколений, также, возможно, происходит горизонтальная передача инфекционных вирионов от особи к особи (Айтназаров, 2006). Повышение числа животных, свободных от PERV типа В, может быть связано с улучшением зоогигиенических условий содержания животных в последние годы.

Наше исследование показывает, что частота носителей полноразмерных геномов PERV типов А, В и С у современных сибирских мини-свиней очень велика. Мини-свиньи других пород также характеризуются высоким процентом носителей (Юдин и др., 2011). Поскольку существуют опасность активации вирусов PERV при ксенотрансплантации, а также способность к рекомбинации с эндогенными ретровирусами человека, в качестве доноров для ксенотрансплантации целесообразно выбирать особей, свободных хотя бы от одного из типов PERV.

ВЫВОДЫ

1. Частота носителей полноразмерных геномов PERV всех трех типов у сибирских мини-свиней очень высока.
2. В ходе селекции с 2004 г. по 2013 г. наблюдается достоверное повышение доли животных, свободных от вирусов типа В.
3. В качестве доноров для ксенотрансплантации целесообразно выбирать особей, свободных хотя бы от одного из типов PERV.

Работа поддержана грантом РФФИ (научный проект № 13-04-00968-а), грантом СО РАН (экспедиционный проект № 3э), Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № ФНМ-2012-05) и базовым бюджетным проектом № VI.53.12.

ЛИТЕРАТУРА

- Айтназаров Р.Б. Молекулярно-генетический анализ эндогенных ретровирусов у некоторых пород домашних свиней и диких кабанов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2006. 16 с.
- Никитин С.В., Юдин Н.С., Князев С.П. и др. Оценка частоты хромосом, содержащих свиные эндогенные ретровирусы, в популяциях домашней свиньи и дикого кабана // Генетика. 2008. Т. 44. № 6. С. 789–797.
- Тихонов В.Н. Лабораторные мини-свиньи, генетика и медико-биологическое использование. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 304 с.
- Юдин Н.С., Айтназаров Р.Б., Ермолаев В.И. Эндогенные ретровирусы свиньи: насколько велик риск при ксенотрансплантации? // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 340–350.
- Jin H., Inoshima Y., Wu D. *et al.* Expression of porcine endogenous retrovirus in peripheral blood leukocytes from ten different breeds // Transplant Infectious Disease. 2000. V. 2. No. 1. P. 11–14.

IDENTIFICATION OF WHOLE GENOMES OF ENDOGENOUS RETROVIRUSES IN SIBERIAN MINIATURE PIGS

R.B. Aitnazarov¹, N.S. Yudin^{1,2}, S.V. Nikitin¹, V.I. Ermolayev¹, M.I. Voevoda^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: autrus@bionet.nsc.ru;

² Research Institute of Internal Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy
of Medical Sciences, Novosibirsk, Russia

Summary

Study of the populational dynamics of Siberian miniature pigs for the *gag* and *env* loci of endogenous pig retroviruses is reported. Currently, the frequency of carriers of types A, B, and C of PERV genomes in minipigs is high. Their breeding conducted from 2005 till 2013 increased the percentage of animals free from type B retroviruses.

Key words: pig endogenous retroviruses, miniature pigs, xenografting, breeding.

УДК 57.052:57.053:577.25:612.829

РОЛЬ МОДУЛЯТОРНОГО МЕДИАТОРА СЕРОТОНИНА В ИНДУКЦИИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У *HELIX*

© 2014 г. Л.Н. Гринкевич, О.В. Воробьева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru

Поступила в редакцию 30 сентября 2013 г. Принята к публикации 15 октября 2013 г.

Одним из перспективных направлений нейробиологии является изучение эпигенетических механизмов формирования долговременной памяти, к которым относится посттрансляционная модификация гистонов, приводящая к ремоделированию хроматина и, соответственно, к индукции или репрессии генов, вовлекаемых в обучение. Популярным объектом в нейробиологии являются моллюски, обладающие относительно просто устроенной ЦНС и гигантскими нейронами. Нами ранее показано, что при формировании условного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix* происходит значительная индукция ацетилирования и метилирования гистона H3. Предположено что эти процессы регулируются через модуляторный медиатор серотонин, играющий важную роль в формировании оборонительного поведения. С целью изучения влияния серотонина на индукцию эпигенетических процессов нами проведены исследования по воздействию неселективного антагониста серотониновых рецепторов метиотепина на ацетилирование и метилирование гистона H3 при обучении *Helix*. Показано, что введение метиотепина снижает индуцированное обучением увеличение ацетилирования и метилирования гистона H3 в ЦНС виноградной улитки и сопровождается ухудшением долговременной памяти. Формирование долговременной памяти у метиотепин-обработанных животных может быть реверсировано введением ингибитора гистон деацетилаз NaB. Наши данные свидетельствуют о важной роли серотонина в индукции эпигенетических процессов в формировании условного оборонительного рефлекса у *Helix*.

Ключевые слова: эпигенетика, метилирование и ацетилирование гистонов, метиотепин, серотонин, память, моллюск *Helix*, ингибитор HDAC NaB.

ВВЕДЕНИЕ

Выяснение молекулярно-генетических и эпигенетических механизмов обучения и памяти является одной из сложнейших задач фундаментальной нейробиологии. Показано, что формирование долговременной памяти определяется перестройками нейрональных сетей и увеличением эффективности синаптической передачи, причем эти процессы невозможны без включения работы генома (Kandel, 2001, 2012; Alberini, 2009). Таким образом, изучение механизмов регуляции экспрессии генов при обучении становится чрезвычайно актуальным. В последние годы обнаружено, что наряду с активацией или репрессией ДНК-связывающихся

транскрипционных факторов (ТФ) для индукции экспрессии генов необходимо также вовлечение эпигенетических процессов, связанных с ремоделированием хроматина (Strahl, Allis, 2000; Berger, 2007). Важнейшую роль в ремоделировании хроматина играют фосфорилирование, ацетилирование и метилирование гистонов, а также метилирование ДНК. При этом фосфорилирование и ацетилирование гистонов, как правило, приводят к индукции экспрессии генов, а метилирование – как к индукции, так и репрессии, в зависимости от того, какие сайты и по какой аминокислоте они метилируются. Показано, что эти эпигенетические процессы вовлекаются и в формирование долговременной памяти (Levenson, Sweatt, 2006; Wood *et*

al., 2006). В настоящее время в этой области ведутся широкомасштабные исследования.

Одним из популярных объектов для изучения молекулярно-клеточных механизмов пластичности являются животные с относительно простой нервной системой, в частности моллюски. Применение модели фасилитации синаптической связи между нейронами в культуре позволило Э. Канделу и соавт. (Kandel, 2001, 2012) открыть и описать ряд базовых механизмов пластичности. На моллюсках также впервые была показана важная роль ацетилирования гистонов в формировании долговременной памяти (Guan *et al.*, 2002), что стимулировало в дальнейшем целую серию работ на позвоночных животных (Alarson *et al.*, 2004; Korzus *et al.*, 2004; Levenson *et al.*, 2004).

Для изучения молекулярных механизмов памяти в течение многих лет в качестве модели обучения мы используем выработку условного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix* (Grinkevich, Vasil'ev, 2000; Grinkevich *et al.*, 2008; Kharchenko *et al.*, 2010). Нами показано, что при формировании рефлекса пищевой аверзии в ЦНС *Helix* индуцируются как фосфорилирование и ацетилирование гистона H3 (Danilova *et al.*, 2010; Danilova, Grinkevich, 2012; Гринкевич, 2012а), так и его метилирование (Гринкевич, 2012б). При этом ацетилирование гистона H3 индуцируется через митогенаактивируемый внутриклеточный регуляторный каскад MAPK/ERK (Danilova, Grinkevich, 2012). У ювенильных животных, неспособных к формированию долговременных форм оборонительных рефлексов, подвергнутых обучению, в отличие от взрослых MAPK/ERK-каскад не активируется и индукции ацетилирования гистона H3 не происходит (Grinkevich *et al.*, 2008; Danilova, Grinkevich, 2012). Мы предположили, что в дисфункции MAPK/ERK-каскада может лежать незрелость определенных форм серотониновых рецепторов (Danilova, Grinkevich, 2012), так как серотонин играет важную роль в формировании оборонительного поведения моллюсков (Балабан, Захаров, 1992; Kandel, 2001; Barbas *et al.*, 2003; Гринкевич и др., 2006; Grinkevich *et al.*, 2008). У моллюсков серотонин опосредует действие ноцицептивных стимулов и вовлечен в формирование сенситизации и условных оборонительных рефлексов. Нами показано, что истощение пула серотонина

нейротоксином 5,7-ДОТ лежит в основе дисфункции MAPK/ERK-каскада (Grinkevich *et al.*, 2008) и приводит к нарушению у *Helix* формирования условных оборонительных рефлексов (Балабан, Захаров, 1992; Grinkevich *et al.*, 2008). Однако изучение влияния серотонина на ацетилирование и метилирование гистонов при обучении *Helix* не проводилось.

Следует отметить, что серотонинергическая система играет важнейшую роль и в функционировании нервной системы позвоночных животных. Полагают, что ее нарушения являются одной из основ таких заболеваний, как депрессия (Шишкина, Дыгало, 2010; Zhao *et al.*, 2013) и шизофрения (Kurita *et al.*, 2012, 2013), характеризующихся значительными ментальными нарушениями (Kuhn *et al.*, 2013). В последние годы начались интенсивные исследования возможности лечения этих заболеваний через фармацевтические воздействия на эпигенетические процессы (Kurita *et al.*, 2012; Yamawaki *et al.*, 2012).

Таким образом, с целью изучения вовлечения серотонинергической системы в индукцию эпигенетических процессов при формировании рефлекса пищевой аверзии у *Helix* в представленной работе нами проведены исследования по влиянию дисфункции серотониновых рецепторов на процессы ацетилирования и метилирования гистона H3 путем введения неселективного антагониста серотониновых рецепторов метиотепина. Ранее показано, что введение метиотепина нарушает выработку как сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки (Абрамова и др., 2005), так и ассоциативных рефлексов (Солнцева, Никитин, 2008). Кроме того, нами были проведены исследования по возможности реверсии долговременной памяти у животных, обработанных метиотепином, через индукцию процессов ацетилирования введением ингибитора гистондеацетилаз NaB.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на взрослых виноградных улитках *Helix lucorum*. В качестве модели обучения использовали условный рефлекс пищевого избегания (условный стимул – морковь, безусловный – удар током 8 мА, предъявление сочетаний с интервалом 15 мин). Перед

обучением животных трое суток содержали без корма. Спустя 1 час после получения животными 8 пар стимулов (по 4 сочетания в день) ЦНС извлекали и гомогенизировали.

Дисфункцию серотонинергической системы вызывали введением неспецифического антагониста серотониновых рецепторов метиотепина. Метиотепин вводили за 40 мин до обучения (доза 5 мкг/г веса). Инъекции производили в цефалопедалный синус через нечувствительную область тела улитки. Остальным животным вводили физиологический раствор.

Для индукции ацетилирования с целью влияния на процессы формирования долговременной памяти улиткам вводили ингибитор гистоновых деацетилаз бутират натрия (NaB) (Sigma). NaB растворяли в физиологическом растворе и вводили в количестве 1,2 мг на грамм веса животного (10 мкл) за час до обучения. Контрольной группе улиток вводили по 10 мкл физиологического раствора. Животных тестировали спустя 24 и 72 ч после обучения, предъявляя условный стимул (морковь), на который у улитки была выработана оборонительная реакция. При тестировании измерялся латентный период консуматорных реакций (время, которое улитка затрачивала на приближение к моркови до начала жевательных движений).

Вестерн-блот анализ. Исследования посттрансляционной модификации гистонов при обучении осуществляли методом Вестерн-блот анализа. Гомогенизацию ЦНС проводили в буфере: 10 mM Трис-HCl pH = 7,5, 1mM EDTA, 2,5 mM натрийпирофосфат, 1 mM β -глицерофосфат, 0,1 mM PMSF, 1 % коктейль протеазных ингибиторов (Sigma), 0,1 mM Na_3VO_4 , и 1 % Igepal CA-630. Белковую фракцию, содержащую гистоны, выделяли, согласно Левенсону (Levenson *et al.*, 2004a). Концентрацию белка в экстрактах определяли по методу Брэдфорд. Экстракты, содержащие искомые белки, разделяли электрофорезом в 12 %-м полиакриламидном геле (система Лэмли) на трис-глицериновом буфере (pH = 8,3) в присутствии 0,1 % SDS. В качестве маркеров молекулярного веса использовали белки («Novex»). Разделенные белки переносили на нитроцеллюлозные фильтры. Нитроцеллюлозные фильтры после проведения процедур, уменьшающих неспецифическую сорбцию (инкубация с 3-%-м молоком), последовательно

инкубировали в растворах, содержащих первичные и вторичные (конъюгированные с пероксидазой хрена) антитела, согласно рекомендации фирмы «Amersham pharmacia biotech», протокол для работы с ECL – western blotting analysis system. Инкубацию с первичными антителами осуществляли в течение ночи при 4 °C. Визуализацию и количественный анализ связавшихся антител проводили с использованием хемолюминесцентного метода (система ECL, фирма «Amersham»). Рентгеновские пленки сканировали. Количественный анализ осуществляли при помощи компьютерной программы Gel-Pro Analyzer.

В экспериментах применяли 3 типа антител: антитела к гистону H3, ацетилированному по лизину 14, антитела к гистону H3, триметилированному по лизину 4, и антитела к гистону H3, диметилированному по лизину 9 (Upstate Biotechnology, Millipore Corporation). Для оценки содержания гистонов применяли антитела к тотальным формам гистона H3 (Upstate Biotechnology, Millipore Corporation). Для каждого электрофореза рассчитывали отношения связывания антител к модифицированным формам гистона к тотальным формам. Контроли усреднялись. После чего в каждом электрофорезе рассчитывалось отношение к среднему контролю. Вторичные антитела фирмы «Amersham» (ECL-система) применяли в разведениях 1 : 1500.

Статистический анализ. Статистическая обработка проводилась методом ANOVA. Для сравнения средних в отдельных группах применяли следующие *post hoc*-тесты: Scheffe, LSD, Tukey. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ влияния антагониста серотониновых рецепторов метиотепина на ацетилирование гистона H3 при формировании рефлекса пищевой аверзии у *Helix*

Для изучения влияния метиотепина на ацетилирование гистона H3 при формировании рефлекса пищевой аверзии у *Helix* использовали

Вестерн-блот анализ с применением антител к гистону H3, ацетилированному по лизину 14. Анализ степени ацетилирования гистона H3, проводили в подглобочном комплексе ганглиев ЦНС виноградной улитки. Этот комплекс ганглиев составляет большую часть ЦНС моллюсков и контролирует оборонительное поведение. В нем находятся сенсорные, моторные, командные и модуляторные нейроны, включенные в сеть оборонительных рефлексов (Балабан, Захаров, 1992). ЦНС для экстракции гистонов извлекали спустя 1 час после обучения.

Проведенные анализы показали, что введение метиотепина значительно снижает индуцированное обучением увеличение ацетилирования гистона H3 в подглобочном комплексе ганглиев ЦНС *Helix* (рис. 1). Так, если у животных, которым перед обучением вводили физиологический раствор, уровень ацетилирования после обучения значительно превышал уровень у необученных животных ($2,4 \pm 0,4$, $p < 0,03$), то у животных, предварительно обработанных метиотепином, после обучения этот показатель снижался до ($0,9 \pm 0,4$) и достоверно не отличался от контроля ($p > 0,2$). При этом у обучавшихся животных, предварительно обработанных метиотепином, наблюдалось достоверное снижение уровня ацетилирования по отношению к обученным, которым вводили физиологический раствор ($p < 0,005$). Введение метиотепина не оказывало достоверного эффекта на ацетилирование гистона H3 у наивных животных ($0,9 \pm 0,5$, $p > 0,2$).

Анализ влияния метиотепина на метилирование гистона H3 при формировании рефлекса пищевой аверсии у *Helix*

Для оценки метилирования гистона H3 применяли антитела к гистону H3, триметилированному по лизину 4, и антитела к гистону H3, диметилированному по лизину 9. Эти модификации гистона H3 приводят к индукции экспрессии генов и их репрессии соответственно.

Исследования показали, что степень метилирования гистона H3, индуцируемая обучением под влиянием метиотепина, значительно снижалась как по активаторному, так и по ингибиторному сайтам (рис. 2) и составляла по активаторному сайту (лиз. 4) $0,74 \pm 0,02$, а по инги-

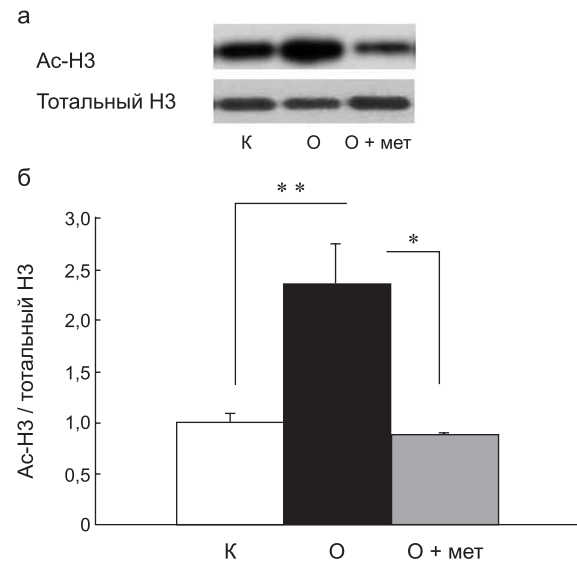


Рис. 1. Введение антагониста серотониновых рецепторов метиотепина предотвращает индуцированное обучением ацетилирование гистона H3.

а – репрезентативный иммуноблот с антителами к ацетилированному гистону H3 (Ac-H3) и общим формам гистона H3; б – по оси ординат – содержание ацетилированных форм гистона H3, отнесенное к общему количеству гистона H3 и контролю. К – контроль; О – обучение; О + мет – обучение с введением метиотепина.

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ (ANOVA Scheffe, LSD, Tukey).

биторному сайту (лиз. 9) – $0,85 \pm 0,01$. При этом у обученных животных, которым вводили физиологический раствор, уровень метилирования по активаторному сайту составлял $1,78 \pm 0,27$, а по ингибиторному сайту – $1,92 \pm 0,19$.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о важной роли серотонина как в индукции процессов ацетилирования гистона H3, так и его метилирования.

Ингибитор гистон деацетилаз NAB реверсирует формирование рефлекса пищевой аверсии у обработанных метиотепином животных *Helix*

Для оценки влияния антагониста серотониновых рецепторов метиотепина на формирование рефлекса пищевой аверсии улиткам за 40 мин до обучения вводили метиотепин (5 мкг/г). Животных тестировали через 24 и 72 ч после обучения, предъявляя условный стимул – морковку, на которую у улиток вырабатывали оборонительную реакцию. При тестировании

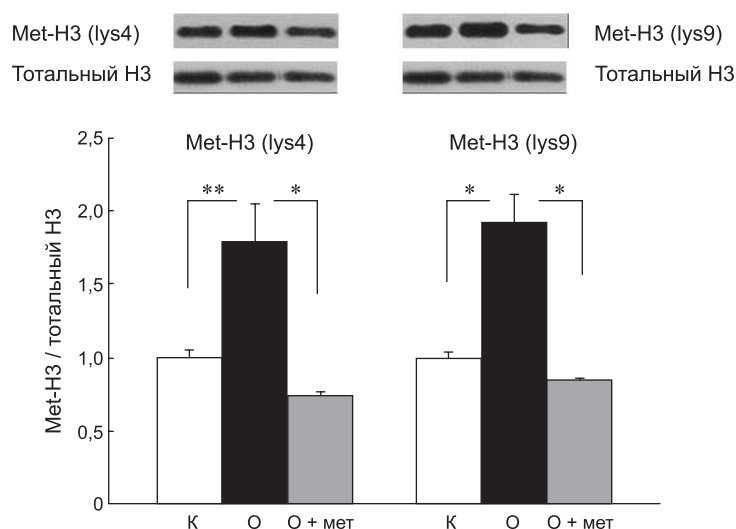


Рис. 2. Введение метиотемина предотвращает индуцированное обучением метилирование гистона H3.

Met-H3(lys4) – триметилирование гистона H3 по лизину 4; Met-H3(lys9) – диметилирование гистона H3 по лизину 9. К – контроль; О – обучение; О + мет – обучение с введением метиотемина.

* $p < 0,02$; ** $p < 0,01$ (ANOVA Scheffe Test; LSD Test; Tukey HSD test).

По оси ординат – содержание метилированных форм гистона H3, отнесенное к общему количеству гистона H3 и к контролю.

измерялся латентный период консуматорной реакции (время, которое улитка затрачивала на приближение к моркови до начала жевательных движений).

Было показано, что спустя 24 ч после обучения у животных, которым вводили физиоло-

гический раствор, латентный период консуматорной реакции увеличивался до $210 \% \pm 10 \%$ относительно наивных животных (100 %). Увеличение достоверно при $p < 0,001$ (ANOVA) (рис. 3). У животных, которым вводили метиоте-пин, также наблюдается увеличение латентного

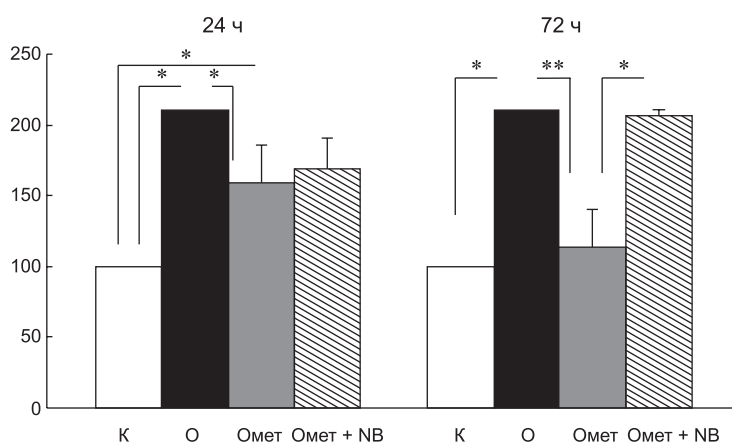


Рис. 3. Латентный период консуматорной реакции животных, подвергнутых процедуре обучения, относительно латентного периода до обучения.

Введение антагониста серотониновых рецепторов метиотемина ухудшает формирование долговременной памяти у *Helix*. Введение ингибитора гистон деацетилаз NaB способно ее реверсировать. По оси ординат – латентный период консуматорной реакции животных, подвергнутых процедуре обучения относительно латентного периода этих же животных до обучения (100 %) – в процентах. К – необученные животные; О – обученные животные; Омет – животные, которым перед обучением вводили метиоте-пин; Омет + NaB – животные, которым перед обучением вводили метиоте-пин и NaB.

* $p < 0,01$; ** $p < 0,002$ (ANOVA).

периода ($159 \% \pm 26 \%$), отличие от наивных – при $p < 0,01$. Однако введение метиотепина приводит к достоверному уменьшению латентного периода по сравнению с обученными животными, которым вводили физиологический раствор ($p < 0,024$). Таким образом, введение метиотепина снижает латентный период консуматорной реакции животных спустя 24 ч после обучения по отношению к обученным животным, которым вводили физиологический раствор.

Значительно больший эффект оказывает введение метиотепина на более длительные сроки хранения долговременной памяти. Спустя 72 ч после обучения латентный период консуматорной реакции животных, которым вводили метиотепин, составляет $114 \pm 26 \%$ и не отличается от наивных животных. По отношению к обученным животным, которым вводили физиологический раствор, уменьшение латентного периода составляет 94 % (210 % против 114 % ($p < 0,0002$)). Таким образом, введение метиотепина значительно ухудшает формирование долговременной памяти.

С целью проверки возможности улучшения долговременной памяти у обработанных метиотепином животных мы провели серию экспериментов с ингибированием гистондеацетилаз натрием бутиратом (NaB). Ранее нами было показано, что введение этого ингибитора способствует улучшению формирования долговременной памяти у ювенильных животных (Danilova, Grinkevich, 2012). NaB вводили за 1 ч до обучения (1,2 мг/г). Контрольной группе улиток инъецировали физиологический раствор. Животных тестировали спустя 24 и 72 ч после обучения.

Показано, что введение NaB на фоне введения метиотепина вызывает увеличение латентного периода консуматорной реакции по отношению к наивным животным (169 % через 24 ч после обучения и 206 % спустя 72 ч после обучения, отличие достоверно при $p < 0,005$ по отношению к наивным животным (100 %)). То есть эти животные стали обучаться. Более того, спустя 72 ч после обучения у животных, которым вводился NaB на фоне введения метиотепина, наблюдается увеличение латентных периодов по сравнению с животными, которым вводился только метиотепин ($114 \% \pm 24 \%$ метиотепин и $206 \% \pm 4 \%$ метиотепин + NaB),

отличие достоверно при $p < 0,01$. Таким образом, введение NaB предотвращает ухудшение памяти у животных с дисфункцией серотонин-эргической системы, вызванной блокадой серотониновых рецепторов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как отмечалось выше, серотонин играет исключительно важную роль в формировании оборонительных рефлексов моллюсков. Этот модуляторный медиатор вовлечен в формирование как ассоциативных, так и неассоциативных механизмов долговременной памяти (Балабан, Захаров, 1992; Kandel, 2001; Barbas *et al.*, 2003; Абрамова и др., 2005; Гринкевич и др., 2006; Grinkevich *et al.*, 2008). Нами было показано, что при формировании рефлекса пищевой аверзии у *Helix* серотонин вовлечен в активацию регуляторного каскада MAPK/ERK (Гринкевич и др., 2006; Grinkevich *et al.*, 2008). Блокада MAPK/ERK сопровождается снижением ацетилирования гистона H3, индуцируемого обучением, и приводит к неспособности формирования рефлекса (Danilova *et al.*, 2010; Danilova, Grinkevich, 2012; Гринкевич, 2012a). Наши новые данные об ингибирующем влиянии антагониста серотониновых рецепторов метиотепина на индуцируемое обучением ацетилирование гистона H3 расширяют полученные нами ранее данные и свидетельствуют о важной роли серотонина и серотониновых рецепторов в эпигенетических процессах, происходящих в нервной системе *Helix*.

Наиболее близко к нашим исследованиям лежит работа, выполненная на модели неассоциативного обучения – фасилитации синаптической связи нейронов моллюска *Aplysia* в культуре (Guan *et al.*, 2002). Авторами впервые было показано, что на промоторе гена *C/EBP*, экспрессия которого индуцируется при фасилитации, стимулируется серотонин-зависимое ацетилирование гистона H4. Позже на этой же модели была описана стимуляция серотонином ацетилирования гистонов H4 и H3 в промоторном участке гена синапсина (Hart *et al.*, 2011).

В 2004 г. появилась целая серия работ по формированию долговременной памяти у позвоночных животных, связанных с ацетилированием как гистона H3, так и H4 (Alarson *et al.*,

2004; Korzus *et al.*, 2004; Levenson *et al.*, 2004). Сравнительные исследования различных структур мозга при формировании различных типов условных рефлексов показали избирательность вовлечения гистонов H3 и H4 для разных форм обучения и для различных структур (Levenson *et al.*, 2004; Bredy *et al.*, 2007). Полагают, что данная специфичность обусловлена экспрессией различных форм гистон деацетилаз в различных клеточных популяциях (Takase *et al.*, 2013), а также различием регуляторных путей, вовлеченных в индукцию ацетилирования (Levenson *et al.*, 2004; Bredy *et al.*, 2007).

Следует отметить, что изучение регуляторных процессов, связанных с обучением, крайне сложно и еще плохо изучено в связи с их многообразием и конвергенцией друг с другом. Особенно это относится к регуляции метилирования гистонов. Как показано в последние годы, метилирование гистонов играет важнейшую роль в функционировании мозга (Akbarian, Huang, 2009; Gupta *et al.*, 2010). Идентифицировано несколько специфических гистоновых лизин-метилтрансфераз и деметилаз, которые контролируют метилирование и деметилирование определенных специфических сайтов гистонов (Akbarian, Huang, 2009). Изучение посмертного мозга больных с ментальными нарушениями и аутизмом показало наличие у этих пациентов мутаций в генах, кодирующих как H3K9-специфические метилтрансферазы (вовлечены в метилирование гистона H3 по ингибиторному сайту лизина 9), так и H3K4 – гистондеметилазы (деметилирующие активаторный сайт лизина 4) (Akbarian, Huang, 2009). Кроме того, показано, что одной из причин шизофрении могут быть нарушения в процессе дифференцировки экспрессии генов глутаматных (Stadler *et al.*, 2005) и GABA-эргических рецепторов (Akbarian, Huang, 2009), вызванные нарушениями метилирования гистона H3 по лизину 4.

Метилирование гистонов играет важную роль и в формировании долговременной памяти. Так, в промоторных участках генов фактора роста *bdnf* и ТФ *zif268*, экспрессия которых индуцируется обучением, наблюдается увеличение метилирования гистона H3 по активаторному сайту лизина 4 (Gupta *et al.*, 2010). При этом у мышей, лишенных H3K4-специфической гистон метилтрансферазы, долговременная

память нарушена. В этой же работе впервые показано, что при обучении может происходить увеличение степени метилирования гистона H3 и по ингибиторному сайту (H3K9). Увеличение степени метилирования по обоим этим сайтам наблюдалось и нами при обучении *Helix* (Гринкевич, 2012б), что позволяет говорить о вовлечении в обучение как экспрессии генов, так и репрессии. К настоящему времени описано несколько генов, экспрессия которых при обучении регулируется в противоположном направлении (Ressler *et al.*, 2002). Так, индуцируется экспрессия генов *c-fos*, *zif268*, *Nurr1*, кодирующих ТФ, а также стабилизатора NMDA – рецептора альфа-актина и протеиназного ингибитора 16с8. При этом ингибируется экспрессия ингибитора Са-кальмодулинового сигналинга Rс3/нейрогранина и стабилизатора GABA/Gly-рецепторов. Репрессия может касаться и ингибиторных транскрипционных факторов. Дальнейшие исследования в этой области представляются перспективными и могут пролить свет также на сложнейшие взаимодействия возбуждающих и тормозных путей в формировании долговременной памяти.

Интересными представляются полученные нами данные по вовлечению серотониновых рецепторов в индукцию не только процессов ацетилирования, но и метилирования, причем как по активаторному, так и ингибиторному сайтам. Параллельно с нами были получены сходные данные на мышах, нокаутных по серотониновому рецептору 5HT-2A. У этих животных при обучении наблюдается синхронное изменение как ацетилирования, так и метилирования гистона H3 в промоторном участке гена глутаматного рецептора (Kurita *et al.*, 2012). Однако в данной работе, в отличие от нашей, изменения затрагивают другие сайты ацетилирования и метилирования гистона H3. Наблюдаемое нами угнетение метиотепином метилирования гистона H3 по ингибиторному сайту, вероятно, свидетельствует о вовлечении серотонина и в тормозные системы, которые играют важную роль в формировании условных оборонительных рефлексов.

Таким образом, изучение регуляторных механизмов индукции метилирования гистонов при формировании долговременной памяти только начинается. Наша работа, демонстри-

рующая участие серотониновых рецепторов в индукции процессов метилирования, является одним из первых шагов в этом направлении.

Кроме того, нами показано, что нарушение формирования долговременной памяти, вызванное введением антагониста серотониновых рецепторов у *Helix*, может быть реверсировано через индукцию процессов ацетилирования введением ингибитора гистондеацетилаз NaB. Ранее нами была показана возможность индукции механизмов долговременной памяти у ювенильных животных с незрелой серотонинергической системой через введение этого же ингибитора (Danilova, Grinkevich, 2012). В настоящее время ингибиторы гистондеацетилаз интенсивно изучаются в связи с возможностью улучшения ментальных характеристик при их нарушениях (Fischer *et al.*, 2007; Abel, Zukin, 2008). Ингибиторы гистондеацетилаз влияют и на процессы метилирования. Так, в культуре нейронов, обработанных ингибитором деацетилаз NaB, происходит не только увеличение ацетилирования гистона H3, но и увеличение его метилирования по лизину 4 (Akbarian, Huang, 2009). Введение NaB перед обучением влияет также и на уровень метилирования гистона H3 по ингибиторному сайту лизина 9 (Gupta *et al.*, 2010). Таким образом, введение ингибиторов гистон деацетилаз может оказывать аддитивный эффект на улучшение ментальных процессов как через ацетилирование гистонов, так и через метилирование. Однако механизмы влияния индукции ацетилирования на процессы метилирования гистонов остаются плохо изученными.

Появились первые исследования, показывающие, что ингибиторы HDAC могут оказывать и прямое влияние на функционирование серотонинергической системы, в частности через изменение экспрессии транспортера серотонина (SERT) (Gill *et al.*, 2013), что может лежать в основе улучшения долговременной памяти, в формирование которой, как и в нашем случае, вовлечена серотонинергическая система.

ВЫВОДЫ

Введение неселективного антагониста серотониновых рецепторов метиотепина перед обучением снижает индуцированное обучением

увеличение ацетилирования и метилирования гистона H3 в ЦНС виноградной улитки и приводит к значительному ухудшению долговременной памяти. Таким образом, наши данные свидетельствуют о важной роли серотонина в индукции эпигенетических процессов при формировании рефлекса пищевой аверзии у *Helix*.

Нарушение формирования долговременной памяти, связанное с дисфункцией серотониновых рецепторов, может быть реверсировано индукцией процессов ацетилирования введением блокатора гистондеацетилаз NaB. Животные с дисфункцией серотонинергической системы могут служить удобной моделью для изучения дефектов долговременной памяти и использоваться для поиска веществ, ее улучшающих.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01681.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамова М.С., Нистратова В.Л., Москвитин А.А., Пивоваров А.С. Метиотепин-чувствительные серотониновые рецепторы вовлечены в постсинаптический механизм сенситизации оборонительной реакции виноградной улитки // Журн. высш. нерв. деятельности. 2005. Т. 55. № 3. С. 385–392.
- Балабан П.М., Захаров И.С. Обучение и развитие: общая основа двух явлений. М.: Наука, 1992. 152 с.
- Гринкевич Л.Н. Эпигенетика и формирование долговременной памяти // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012а. Т. 98. № 5. С. 553–574.
- Гринкевич Л.Н. Исследование метилирования гистона H3 при формировании долговременной памяти // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012б. Т. 98. № 9. С. 1111–1118.
- Гринкевич Л.Н., Лисачев П.Д., Баранова К.А., Харченко О.А. Сравнительный анализ активации MAP/ERK киназ в ЦНС животных, обладающих разной способностью к обучению // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2006. Т. 92. № 5. С. 536–545.
- Солнцева С.В., Никитин В.П. Нейрохимические механизмы консолидации ассоциативного аверсивного обучения на пищу у виноградной улитки // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2008. Т. 94. № 11. С. 1259–1269.
- Шишкина Т.Г., Дыгало Н.Н. Нейробиологические основы депрессивных расстройств и действия антидепрессантов // Журн. высш. нерв. деятельности. 2010. Т. 60. № 2. С. 138–152.
- Abel T., Zukin R.S. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders // Curr. Opin. Pharmacol. 2008. V. 8. No. 1. P. 57–64.
- Akbarian S., Huang H.S. Epigenetic regulation in human brain-focus on histone lysine methylation // Biol. Psychiatry. 2009. V. 65. No. 3. P. 198–203.

- Alarcon J.M., Malleret G., Touzani K. *et al.* Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP +/- mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration // *Neuron*. 2004. V. 42. No. 6. P. 947–959.
- Alberini C.M. Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity // *Physiol. Rev.* 2009. V. 89. No. 1. P. 121–145.
- Barbas D., DesGroseillers L., Castellucci V.F. *et al.* Multiple serotonergic mechanisms contributing to sensitization in aplysia: evidence of diverse serotonin receptor subtypes // *Learn Mem.* 2003. V. 10. P. 373–386.
- Berger S.L. The complex language of chromatin regulation during transcription // *Nature*. 2007. V. 447. P. 407–412.
- Bredy T.W., Wu H., Crego C. *et al.* Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear // *Learn Mem.* 2007. V. 14. No. 4. P. 268–276.
- Danilova A.B., Grinkevich L.N. Inability of juvenile snails for long-term memory formation depends on acetylation status of histone H3 and can be improved by NaB treatment // *PLoS ONE*. 2012. V. 7. Issue 7. e41828. P. 1–8.
- Danilova A.B., Kharchenko O.A., Shevchenko K.G., Grinkevich L.N. Histone H3 acetylation is asymmetrically induced upon learning in identified neurons of the food aversion network in the mollusk *Helix lucorum* // *Front. Behav. Neurosci.* 2010. V. 4. No. 180. P. 1–7.
- Fischer A., Sananbenesi F., Wang X. *et al.* Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodeling // *Nature*. 2007. V. 447. No. 7141. P. 178–182.
- Gill R.K., Kumar A., Malhotra P. *et al.* Regulation of intestinal serotonin transporter expression via epigenetic mechanisms: role of HDAC2 // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. V. 304. No. 4. P. 334–341.
- Grinkevich L.N., Vasil'ev G.V. Possible mechanisms of the regulation of genes expression during learning // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2000. V. 30. No. 3. P. 277–292.
- Grinkevich L.N., Lisachev P.D., Kharchenko O.A., Vasil'ev G.V. Expression of MAP/ERK kinase cascade corresponds to the ability to develop food aversion in terrestrial snail at different stages of ontogenesis // *Brain Res.* 2008. V. 1187. P. 12–19.
- Guan Z., Giustetto M., Lomvardas S. *et al.* Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure // *Cell*. 2002. V. 111. No. 4. P. 483–493.
- Guan J.S., Haggarty S.J., Giacometti E. *et al.* HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity // *Nature*. 2009. V. 459. No. 7243. P. 55–60.
- Gupta S., Kim S.Y., Artis S. *et al.* Histone methylation regulates memory formation // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. No. 10. P. 3589–3599.
- Hart A.K., Fioravante D., Liu R.Y. *et al.* Serotonin-mediated synapsin expression is necessary for long-term facilitation of the Aplysia sensorimotor synapse // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. No. 50. P. 18401–18411.
- Kandel E. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB // *Mol. Brain*. 2012. V. 5. No. 14. P. 1–12.
- Kandel E.R. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses // *Science*. 2001. V. 294. No. 5544. P. 1030–1048.
- Kharchenko O.A., Grinkevich V.V., Vorobiova O.V., Grinkevich L.N. Learning-induced lateralized activation of the MAPK/ERK cascade in identified neurons of the food-aversion network in the mollusk *Helix lucorum* // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2010. V. 94. No. 2. P. 158–166.
- Korzus E., Rosenfeld M.G., Mayford M. CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation // *Neuron*. 2004. V. 42. No. 6. P. 961–972.
- Kuhn M., Popovic A., Pezawas L. Neuroplasticity and memory formation in major depressive disorder: An imaging genetics perspective on serotonin and BDNF // *Restor Neurol. Neurosci.* 2013. [Epub ahead of print].
- Kurita M., Holloway T., García-Bea A. *et al.* HDAC2 regulates atypical antipsychotic responses through the modulation of mGlu2 promoter activity // *Nat. Neurosci.* 2012. V. 15. No. 9. P. 1245–1254.
- Kurita M., Moreno J.L., Holloway T. *et al.* Repressive epigenetic changes at the mGlu2 promoter in frontal cortex of 5-HT2A knockout mice // *Mol. Pharmacol.* 2013. V. 83. No. 6. P. 1166–1175.
- Levenson J.M., O'Riordan K.J., Brown K.D. *et al.* Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 40545–40559.
- Levenson J.M., Sweatt J.D. Epigenetic mechanisms: a common theme in vertebrate and invertebrate memory formation // *Cell Mol. Life Sci.* 2006. V. 63. P. 1009–1016.
- Ressler K.J., Paschall G., Zhou X.L., Davis M. Regulation of synaptic plasticity genes during consolidation of fear conditioning // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. No. 18. P. 7892–7902.
- Stadler F., Kolb G., Rubusch L. *et al.* Histone methylation at gene promoters is associated with developmental regulation and region-specific expression of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in human brain // *J. Neurochem.* 2005. V. 94. No. 2. P. 324–336.
- Strahl B.D., Allis C.D. The language of covalent histone modifications // *Nature*. 2000. V. 403. No. 6765. P. 41–45.
- Takase K., Oda S., Kuroda M., Funato H. Monoaminergic and neuropeptidergic neurons have distinct expression profiles of histone deacetylases // *PLoS One*. 2013. V. 8. No. 3. e58473 P. 1–19.
- Wood M.A., Hawk J.D., Abel T. Combinatorial chromatin modifications and memory storage: A code for memory // *Learn. Mem.* 2006. V. 13. P. 241–244.
- Yamawaki Y., Fuchikami M., Morinobu S. *et al.* Antidepressant-like effect of sodium butyrate (HDAC inhibitor) and its molecular mechanism of action in the rat hippocampus // *World J. Biol. Psychiatry*. 2012. V. 13. No. 6. P. 458–467.
- Zhao J., Goldberg J., Bremner J.D., Vaccadrino V. Association between promoter methylation of serotonin transporter gene and depressive symptoms: a monozygotic twin study // *Psychosom. Med.* 2013. V. 75. No. 6. P. 523–529.

ROLE OF THE MODULATORY MEDIATOR SEROTONIN IN THE INDUCTION OF EPIGENETIC PROCESSES DURING LONG TERM MEMORY FORMATION IN *HELIX*

L.N. Grinkevich, O.V. Vorobiova

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia,
e-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru

Summary

Epigenetic mechanisms controlling long-term memory formation are a promising field in neurobiology. They include posttranslational histone modifications, which lead to chromatin remodeling and thereby influences gene expression involved in learning. Mollusks are a popular model in neurobiology, because they have relatively simple CNSs with giant neurons. Previously, we found strong induction of histone H3 acetylation and methylation during food aversion conditioning in *Helix*. We think that these processes are regulated by modulatory mediator serotonin, playing an important role in avoidance behavior. To study the influence of serotonin on induction of epigenetic processes, we investigated the action of an unselective antagonist of serotonin receptors, metitepine, on the acetylation and methylation of histone H3 during *Helix* learning. We found that metitepine treatment prevented activation of methylation and acetylation of H3 induced by learning in the CNS of the snail and deteriorates long term memory formation. Long-term memory formation in metitepine-treated animals can be improved by treatment with histone deacetylase inhibitor NaB. Our data confirm the important role of serotonin in the induction of epigenetic processes during aversion conditioning in *Helix*.

Key words: epigenetics, histone methylation and acetylation, metitepine, serotonin, memory, *Helix* mollusk, NaB HDAC inhibitor.

УДК 575.1:577.2:595.773.4

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ АЗИАТСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ
DROSOPHILA MERCATORUM (DIPTERA; DROSOPHILIDAE)
ПО ФРАГМЕНТУ ГЕНА COI И УЧАСТКУ ITS1-ITS2 ГЕНОВ рРНК**

© 2014 г. **А.В. Иванников, О.В. Ваулин, Ю.А. Коромыслов, И.К. Захаров**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: IvAn@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 27 августа 2013 г. Принята к публикации 2 сентября 2013 г.

Вид неотропического происхождения, *Drosophila mercatorum*, представлен двумя подвидами – *mercatorum* и *pararepleta*. Синантропный подвид *D. mercatorum mercatorum* проник в Евразию в середине XX в. и к настоящему моменту широко распространился на территории Европы и бывшего СССР. Материалом для исследования были сборы *D. m. mercatorum* из природных азиатских популяций, лабораторная линия *D. mercatorum* № 2328 (имеющая некоторые морфологические отличия от азиатских диких), образцы видов *D. busckii* и *D. virilis* и последовательность гена COI *D. mercatorum* № DQ471607 из базы данных NCBI. Образцы были изучены на изменчивость последовательностей ДНК, используемых для определения видовой принадлежности, фрагмента гена 1-й субъединицы цитохромоксидазы (COI) и участка ITS1-ITS2 генов рРНК. По участку гена COI азиатские образцы *D. m. mercatorum* были идентичны между собой, но отличались как от образца линии № 2328, так и от последовательности из базы данных ДНК. По участку ITS1-ITS2 азиатские популяции *D. m. mercatorum* и линия № 2328 оказались идентичны. Малая степень различий по нуклеотидной последовательности фрагмента гена COI и отсутствие различий по участку ITS1-ITS2 генов рРНК указывают на то, что различия между азиатскими популяциями *D. m. mercatorum* и морфологически отличной линией № 2328 не выходят за рамки внутривидового разнообразия.

Ключевые слова: *Drosophila mercatorum*, инвазивный вид, популяция, ген, COI, ITS1-ITS2.

ВВЕДЕНИЕ

Неотропический вид *Drosophila* (*Drosophila*) *mercatorum* Patterson et Wheeler, 1942 внутри рода *Drosophila* относится к одноименному подроду, к группе видов *repleta*, а внутри группы *repleta* – к подгруппе *mercatorum* (Wasserman, 1982). Впервые вид *Drosophila mercatorum* был отмечен на Евразийском континенте в 1953 г. в Барселоне, Испания (Prevosti, 1953). В последующие два десятилетия *Drosophila mercatorum* встречались в небольших количествах в сборах дрозофилид в Испании и на Канарских о-вах (Monclús, 1964, 1976). В начале 1980-х гг. распространение вида в Старом Свете оставалось в границах Западного Средиземноморья (David,

Tsacas, 1980; Bächli, Rocha Pite, 1981; Wheeler, 1981; Monclús, 1984).

С начала 1990-х гг., судя по публикациям, происходила экспансия вида из Западного Средиземноморья на север Европы – в Великобританию (Bennett *et al.*, 1995), Нидерланды (Kraaijeveld, 1992) и на восток, вглубь континента – Украину и Западную Сибирь (Ivanikov *et al.*, 1993, 1998; Ivannikov, Zakharov, 1995). В 1994 г. вид *D. mercatorum* был впервые отмечен нами в Средней Азии – в Таджикистане (Ivannikov, Zakharov, 1995). В 2000 г. вид *D. mercatorum* был впервые обнаружен на Дальнем Востоке России, в г. Владивостоке, энтомологом Василием Сергеевичем Сидоренко и включен им в «Определитель насекомых Даль-

него Востока России» (Сидоренко, 2001). Таким образом, в течение последнего десятилетия XX в. вид *Drosophila mercatorum* заселил всю территорию Северной Евразии с запада на восток. За прошедшие два десятилетия нами были собраны образцы *D. mercatorum* в разных популяциях Западной Сибири и Средней Азии.

В фонде линий дрозофил лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН (Новосибирск) с середины 1980-х гг. содержится линия *Drosophila mercatorum* под номером 2328, полученная профессором Л.И. Корочкиным из фонда в Боулинг-Грин, США. В своих работах мы использовали эту линию для морфологического сравнения и постановки проверочных скрещиваний с представителями нового для фауны бывшего СССР вида, обнаруженными нами на Украине, в Средней Азии и в Западной Сибири (Новосибирск). Проверочные скрещивания в обоих направлениях во всех случаях демонстрировали полную репродуктивную совместимость, что в совокупности с морфологическими критериями дало нам основания определить обнаруженный вид как *Drosophila mercatorum*.

Необходимо отметить только одно морфологическое отличие *Drosophila mercatorum* азиатских популяций от мух линии № 2328 – это степень пигментации внешних покровов: мухи линии № 2328 более темные, имеют коричневую окраску, черные пятна и полосы и по общему цвету хитина приближаются к видам *Drosophila repleta* и *Drosophila virilis*, тогда как азиатские *D. mercatorum* – желтые и светло-коричневые, с серыми пятнами и полосами и по цвету похожи на *Drosophila busckii* и *Drosophila immigrans*.

Основываясь на том факте, что климатические условия континентальной Палеарктики (Западная Сибирь и Тянь-Шань) из всех планетарных областей обитания синантропных дрозофил в наибольшей степени отличаются от климатических условий неотропической Амазонии, а также и в связи с некоторыми различиями по окраске между имеющимися у нас азиатскими образцами *D. mercatorum* и мухами линии № 2328, мы сформулировали рабочую гипотезу, согласно которой азиатские линии *D. mercatorum* и фондовая линия № 2328 являются самостоятельными видами или подвидами, и проверяли эту гипотезу путем выявления возможных различий между ними на уровне ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили линия № 2328 *Drosophila mercatorum*, а также линии, основанные оплодотворенными в природе самками *Drosophila mercatorum*. Для этих линий, а также для представителей ряда других видов дрозофил было проведено секвенирование фрагментов гена COI мтДНК и участка ITS1-IRS2 генов рПНК (табл. 1).

Выделение ДНК производилось из имаго мух индивидуально по стандартной методике (Bender *et al.*, 1983). Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) фрагмента гена COI (первая субъединица цитохромоксидазы) мы успешно использовали праймеры, подобранные ранее для комаров рода *Anopheles* (Ваулин, Новиков, 2012). Состав праймеров – 5'-CGAGG-AATAG-TAGGA-ACTTC-3' (прямой) и 5'-CTGTA-AATAT-GTGAT-GAGCT-3' (обратный).

Состав реакционной смеси для ПЦР фрагмента гена COI: 1×PCR-buffer; 4 mM MgCl₂; 0,4 mM каждого dNTP; 1 mM каждого праймера и 1 ед. Taq-полимеразы. Температурный режим ПЦР: денатурация при 94 °C – 1 мин; отжиг при 50 °C – 1 мин; полимеризация при 72 °C – 1 мин; в последнем цикле стадия полимеризации продолжалась 5 мин при 72 °C.

Для ПЦР и секвенирования ITS1-ITS2 использовались 4 праймера, подобранные по данным анализа последовательностей генов рПНК *Drosophila melanogaster*, *D. virilis* и *D. pseudoobscura*, представленных в базе данных ДНК NCBI. Пара праймеров (5'-AGGTG-AACTG-CGGAA-CGGAA-GGATC-3' – прямой и 5'-GAGTG-ATCCA-CCGCT-TAGAG-3' – обратный) использовалась для ПЦР участка ITS1. Пара праймеров (5'-CTCTA-AGCGG-TGGAT-CACTC-3' – прямой и 5'-AGTCC-CATAT-GAGTT-GAGGT-TG-3' – обратный) – для ПЦР участка ITS2. Прямой праймер на участок ITS1 и обратный праймер на участок ITS2 использовались для наработки участка ITS1-ITS2 целиком и адекватного секвенирования участка 5,8S. Состав реакционной смеси для ПЦР всех трех нарабатываемых фрагментов, соответствующих участку ITS1-ITS2, был идентичен таковому при ПЦР фрагмента гена COI, за исключением состава праймеров. Температурный режим при ПЦР отличался

Таблица 1

Характеристика изученного материала

Географическое происхождение и год основания линии	Условное обозначение; вид, подвид	Изученность по фрагменту гена COI	Изученность по участку ITS1-ITS2 генов рРНК
Бишкек, 2004	D10 <i>D. m. mercatorum</i>	+	+
Бишкек, 2004	D12 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Новосибирск, 2005	D4 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Новосибирск, 2005	D7 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D5 <i>D. m. mercatorum</i>	—	+
Томск, 2006	D6 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D8 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D9 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D11 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D13 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D14 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Томск, 2006	D15 <i>D. m. mercatorum</i>	+	—
Неизвестно	D1 <i>D. m. mercatorum</i> , линия 2328	+	+
Неизвестно	D2 <i>D. virilis</i>	—	+
Неизвестно	D18 <i>D. busckii</i>	+	+

от температурного режима при ПЦР гена COI температурой отжига – 57 °С. Секвенирование проводилось с использованием ресурсов ЦКП «Геномика» СО РАН г. Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>. Изученные последовательности представлены в базе данных ДНК EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/ena/>) под номерами: HG798333-HG798350.

На основе полученных последовательностей с помощью программы NETWORK 4.6.0.0. (Bandelt *et al.*, 1999) по фрагменту гена COI была построена медианная сеть. По последовательностям гена COI и участка генов рРНК с помощью программы MEGA5 построены дендрограммы (Tamura *et al.*, 2011).

Также в анализ была включена последовательность фрагмента гена COI *Drosophila mercatorum* из базы данных ДНК (номер DQ471607). Географическое происхождение этого образца в базе данных не указано. Поскольку образец обозначен как *Drosophila mercatorum*, следовательно, он принадлежит номинальному подвиду – *Drosophila mercatorum mercatorum*, так как при упоминании ненормального подвида всегда указывается его второе подвидовое название, отличное от первого, видового.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для гена COI у изученных нами образцов *D. mercatorum* и *D. busckii* получены последовательности участка гена длиной 720 п.н. Делеций/вставок нуклеотидов не выявлено.

Построена медианная сеть по фрагменту гена COI для представителей вида *D. mercatorum* (рис. 1). С помощью алгоритма максимального правдоподобия построены дендрограммы как по участку гена COI, так и по участку генов рРНК (рис. 2, 3, 4).

Отметим, что все изученные азиатские образцы *D. mercatorum* идентичны по нуклеотидной последовательности рассматриваемого фрагмента гена COI. Образец из базы данных и имеющаяся у нас линия № 2328 *D. mercatorum* отличаются от азиатских образцов на одну аминокислотные замену, а друг от друга – на две.

ОБСУЖДЕНИЕ

Последовательности генов COI и участков транскрибируемых спейсеров генов рРНК широко используются для определения видового статуса групп особей. Гены мтДНК эволюцио-

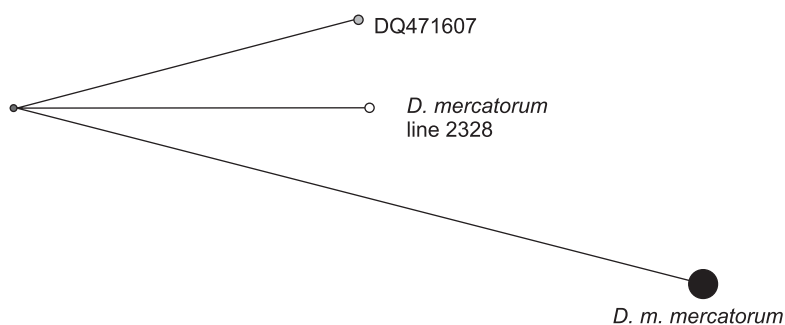


Рис. 1. Медианная сеть по фрагменту гена COI *D. mercatorum*.

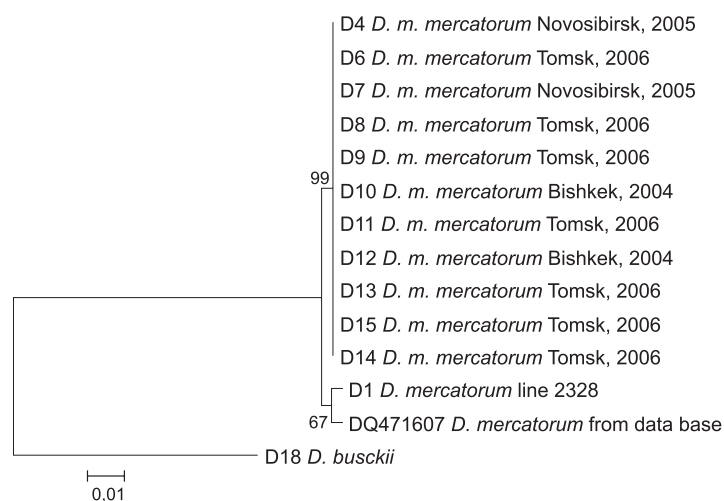


Рис. 2. Дендрограмма, построенная методом максимального правдоподобия при 1000 итераций бутстрепа по последовательности ДНК участка гена COI, для образцов *D. mercatorum*; укоренена на *D. busckii*.

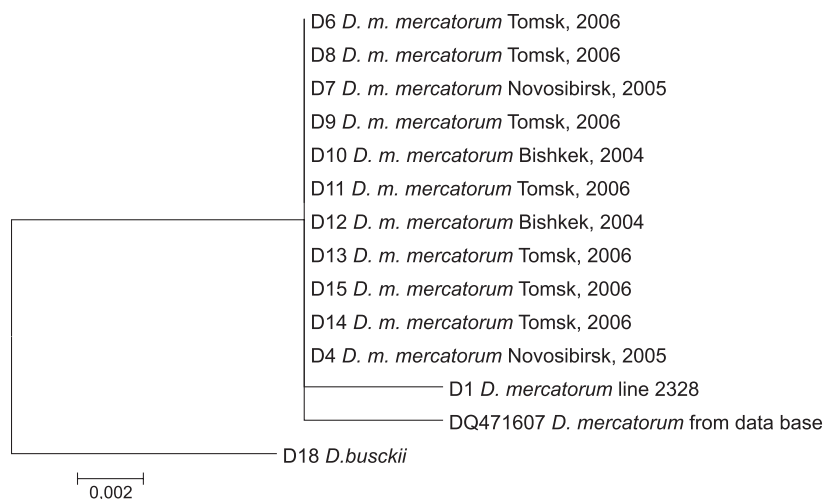


Рис. 3. Дендрограмма, построенная методом максимального правдоподобия по установленной для участка гена COI соответствующей аминокислотной последовательности, для образцов *D. mercatorum*; укоренена на *D. busckii*. В связи с тем, что большая часть последовательностей идентична, а остальные несут уникальные (т. е. не повторяющиеся у других образцов) аминокислотные замены, бутстреп не проводился.

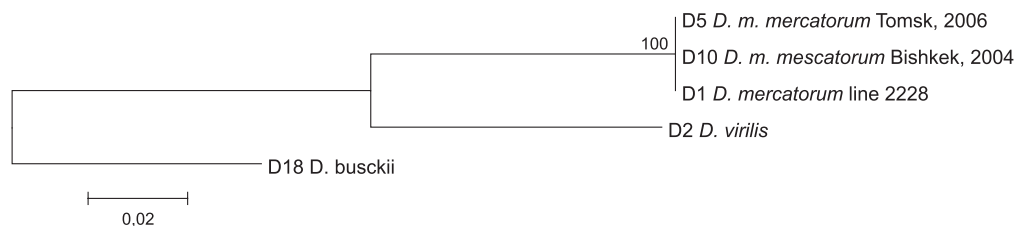


Рис. 4. Дендрограмма, построенная методом максимального правдоподобия при 1000 итераций бутстрепа по последовательности ДНК участка ITS1-ITS2 генов рРНК, для образцов *D. mercatorum*; укоренена на *D. virilis* и *D. busckii*.

нируют относительно быстро и для них в общем случае характерен больший эффект дрейфа генов по сравнению с ядерными аутосомными генами (Алтухов, Салменкова, 2002; Алтухов, 2003). В связи с этим при расхождении близких видов в какой-то момент времени должно произойти и расхождение по митохондриальным генам. В частности, технология ДНК-баркодинга предполагает, что расхождение особей из двух общностей на генетическое расстояние Кимуры (Kimura, 1980) 0,02 по гену COI достигается за 1 млн лет эволюции, это время, необходимое и достаточное для разделения на отдельные виды (Hebert *et al.*, 2003). Однако в парах наиболее близких видов расхождение по мтДНК может не наблюдаться. В частности, отсутствует дифференциация по участку гена ND5 мтДНК между хромосомными формами *Anopheles funestus* (Michel *et al.*, 2005). Аналогично отсутствует расхождение по гену COI у видов А и В *Anopheles messeae* (Ваулин, Новиков, 2010, 2012). В то же время в пределах одного вида может существовать несколько обособленных кластеров гаплотипов мтДНК, ассоциированных с разными штаммами эндосимбионта *Wolbachia* (Hurst, Jiggins, 2003; Илинский, Захаров, 2007). Значения мер генетических расстояний Кимуры для изученных нами образцов приведены в табл. 2. По данным таблицы видно, что дифференциация

по гену COI для образцов *D. mercatorum* составляет 0,006–0,008, т. е. не превышает «условно-видовой» уровень в 0,02. В то же время генетические расстояния между различными вариантами последовательности фрагмента гена COI *D. mercatorum*, с одной стороны, и последовательностью фрагмента гена COI *D. busckii*, с другой стороны, составляют около 0,15, т. е. значительно превышают этот порог.

Изменчивость по кластеру генов рРНК в большей степени ассоциирована с видовой принадлежностью особей. Это связано с тем, что гены рРНК представляют собой умеренные повторы, для которых характерен эффект согласованной эволюции повторов (Dover, Flavell, 1984). В общем случае все особи одного вида имеют одинаковый набор нуклеотидных замен в кластере генов рРНК или же сохраняют в геноме несколько основных вариантов последовательностей этих генов без эффектов генетического расщепления в популяциях (Beebe *et al.*, 2001; Wilkerson *et al.*, 2004). Очень близкие виды А и В *Anopheles messeae* различаются по 5 нуклеотидным заменам в участке ITS2 генов рРНК (Новиков и др., 2004; Ваулин, Новиков, 2010). Можно ожидать, что если образцы *D. mercatorum* являются разными видами *de facto*, то между ними будут наблюдаться различия по участку ITS1-ITS2 генов рРНК. Тем не

Таблица 2

Значения генетических расстояний Кимуры
между последовательностями гена COI изучаемых образцов

Образцы и их группы	Линия 2228 <i>D. mercatorum</i>	Последовательность № DQ471607 <i>D. mercatorum</i>	<i>D. busckii</i>
Азиатские образцы <i>D. mercatorum</i>	0,008	0,008	0,149
Линия 2228 <i>D. mercatorum</i>		0,006	0,153
Последовательность № DQ471607			0,150

менее различий по этому участку генома между проанализированными образцами выявлено не было. Таким образом, наша рабочая гипотеза о том, что азиатские *Drosophila mercatorum* могут рассматриваться в качестве самостоятельного вида, подтверждения не получила.

Обратим внимание на особенность изменчивости по митохондриальному гену COI у изученных нами азиатских образцов *Drosophila mercatorum*. Единообразие по этому участку ДНК всех изученных нами евразийских образцов можно интерпретировать как прохождение через «бутылочное горлышко» группы мигрантов, попавших в Евразию более полувека назад. В то же время малое количество информации об изменчивости гена COI *D. mercatorum* в неазиатских популяциях не позволяет считать этот вывод в высокой степени обоснованным.

Работа выполнена при финансовой поддержке по базовому проекту № VI.53.1.2.

ЛИТЕРАТУРА

- Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. 431 с.
- Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. 2002. Т. 38. № 9. С. 1173–1195.
- Ваулин О.В., Новиков Ю.М. Географическая изменчивость ITS2 рДНК и COI мтДНК и криптические виды малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae) // Информ. вестн. ВОГиС. 2010. Т. 14. № 3. С. 546–557.
- Ваулин О.В., Новиков Ю.М. Полиморфизм и межвидовая изменчивость нуклеотидной последовательности гена субъединицы I цитохромоксидазы (COI) у видов-двойников А и В *Anopheles messeae* и *An. beklemishevi* (Diptera: Culicidae) // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 2. С. 358–368.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Характеристика инфицированности цитоплазматическим эндосимбионтом *Wolbachia* популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Докл. АН. 2007. Т. 413. № 4. С. 561–563.
- Новиков Ю.М., Шевченко А.И., Ваулин О.В. О молекулярно-генетической дивергенции криптических видов таксона *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae) и филогении комплекса *maculipennis* // Вестн. Томского гос. ун-та. Приложение. Томск: ТГУ, 2004. № 10. С. 69–77.
- Сидоренко В.С. Семейство Drosophilidae // Определитель насекомых Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2001. Т. VI. Ч. 2. С. 211–241.
- Bächli G., Rocha Pite M.T. Drosophilidae of the Palearctic Region // The Genetics and Biology of Drosophila / Ed. M. Ashburner, H.L. Carson, J.N. Thompson Jr. V. 3a, Acad. Press, 1981. P. 169–196.
- Bandelt H.-J., Forster P., Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. No. 1. P. 37–48.
- Beebe N.W., Maung J., van den Hurk A.F., Ellis J.T., Cooper R.D. Ribosomal DNA spacer genotypes of the *Anopheles bancroftii* group (Diptera: Culicidae) from Australia and New Guinea // Insect Mol. Biol. 2001. V. 10. No. 5. P. 407–414.
- Bender W., Spierer P., Hognes D.S., Chambon P. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from *Ace* and *rosy* loci of *bithorax* loci in *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol. 1983. V. 168. No. 1. P. 17–33.
- Bennett H.J., Jenkinson L.S., Davis A.J. *Drosophila mercatorum* Patterson & Wheeler 1942 (Diptera: Drosophilidae): first record for the British Isles // Drosophila Inform. Serv. 1995. V. 76. P. 94–95.
- David J.R., Tsacas L. Cosmopolitan, subcosmopolitan and widespread species: different strategies within the Drosophilid family (Diptera) // C. R. Soc. Biogeogr. 1980. V. 57. No. 1. P. 11–26.
- Dobzhansky Th., Pavan C. Studies on Brazilian species of *Drosophila* / Separata do Bol. Facul. Fil. Cien. e Letr. Univ. S. Paulo, № 36 // Biologia Geral. 1943. No. 4. 72 p., with 7 plates.
- Dover G., Flavell R. Molecular coevolution: DNA divergence and the maintenance of function // Cell. 1984. V. 38. Is. 3. P. 622–623.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. Roy. Soc. London. 2003. Ser. B. V. 270. P. 313–321.
- Hurst G.D.D., Jiggins F.M. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts // Proc. Roy. Soc. B-Biol. Sci. 2005. V. 272. P. 1525–1534.
- Ivannikov A.V., Zakharov I.K. Distribution of *Drosophila mercatorum* into Eurasian continent // Drosophila Inform. Serv. 1995. No. 76. P. 107.
- Ivannikov A.V., Katokhin A.V., Sidorenko V.S. List of Drosophilidae (Diptera) of West Siberia // Far Eastern Entomol. 1998. No. 57. P. 12–16.
- Ivannikov A.V., Zakharov I.K., Skibitsky E.E. Synantropic *Drosophila* species in the Ukraine and Moldova // Drosophila Inform. Serv. 1993. No. 72. P. 87.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // J. Mol. Evol. 1980. V. 16. P. 111–120.
- Kraaijeveld A.R. First record of *Drosophila mercatorum* (Diptera: Drosophilidae) in northwestern Europe // Entomologische Berichten, Amsterdam. 1992. V. 52. P. 32. (цит. по: Bennett H.J., Jenkinson L.S., Davis A.J., 1995).
- Michel A.P., Guelbeogo W.M., Grushko O.B. et al. Molecular differentiation between chromosomally defined incipient species of *Anopheles funestus* // Insect Mol. Biol. 2005. V. 14. No. 4. P. 375–387.
- Monclús M. Distribución y ecología de *Drosophilidos* en España. I. Especies de *Drosophila* de la región Catalana // Genét. Ibér. 1964. V. 16. P. 143–165.
- Monclús M. Distribución y ecología de *Drosophilidos* en España. II Especies de *Drosophila* de las Islas Canarias, con la descripción de una nueva especie // Biol. R. Soc. Espanola Hist. Nat. (Biol.). 1976. V. 74. P. 197–213.

- Monclús M. *Drosophilidae* of Madeira, with the description of *Drosophila madeirensis* n. sp. // *Sonderdruck aus Z. f. zool. Systematik u. Evolutionstforschung*. 1984. Bd. 22. H. 2. S. 94–103.
- Patterson J.T., Wheeler M.R. Description of new species of the subgenera *Hirtodrosophila* and *Drosophila* // *Univ. Texas Publ.* 1942. V. 4213. P. 67–109.
- Prevosti A. Two newly introduced species of *Drosophila* found in Europe // *Drosophila Inform. Serv.* 1953. V. 27. P. 110.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. *et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. Evol.* 2011. V. 28. No. 10. P. 2731–2739.
- Wasserman M. Evolution of the *repleta* Group // *The Genetics and Biology of Drosophila* / Ed. M. Ashburner, H.L. Carson, J.N. Thompson Jr. Acad. Press, 1982. V. 3b. P. 61–139.
- Wheeler M.R. The *Drosophilidae*: A Taxonomic Overview // *The Genetics and Biology of Drosophila* / Ed. M. Ashburner, H.L. Carson, J.N. Thompson Jr. Acad. Press, 1981. V. 3a. P. 1–97.
- Wilkerson R.C., Reinert J.F., Li C. Ribosomal DNA ITS2 sequences differentiation six species in the *Anopheles crucians* complex (Diptera: Culicidae) // *J. Med. Entomol.* 2004. V. 41. No. 3. P. 392–401.

THE COMPARATIVE MOLECULAR GENETICAL STUDY OF ASIAN POPULATIONS OF *DROSOPHILA MERCATORUM* (DIPTERA; DROSOPHILIDAE) ON THE COI GENE AND ITS1-ITS2 rRNA GENES FRAGMENTS

A.V. Ivannikov, O.V. Vaulin, Yu.A. Koromyslov, I.K. Zakharov

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

Summary

The *Drosophila mercatorum* species of neotropical origin is composed of two subspecies: *mercatorum* and *pararepleta*. The *D. m. mercatorum* subspecies is synanthropic. It appeared in Eurasia in the middle of the 20th century and dispersed widely. The objects of the study were: *D. m. mercatorum* specimens from Asian populations, *D. mercatorum* laboratory stock 2328 (showing some morphological differences), *D. busckii* and *D. virilis* specimens, and the sequence of the COI gene of *D. mercatorum*, NCBI accession number DQ471607. The variability of standard DNA sequences used for species identification (COI fragment and ITS1-ITS2 fragment of rRNA genes) was investigated in these specimens. Asian specimens of *D. m. mercatorum* had identical COI sequences to each other but differed from sequences of stock 2328 and NCBI sequence. The Asian specimens and stock 2328 were identical in ITS1-ITS2 sequences. The low degree of nucleotide differences between the Asian specimens and morphological distinct stock 2328 in the nucleotide sequences of the COI gene fragment and absence of differences in ITS1-ITS2 of rRNA genes indicate that divergence between these two groups is within the intraspecies variation.

Key words: *Drosophila mercatorum*, invasive species, population, gene, COI, ITS1-ITS2.

УДК 575.22:595.779.4:591.557

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *WOLBACHIA* В ПОПУЛЯЦИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* Г. НАЛЬЧИК

© 2014 г. Р.А. Быков¹, Ю.Ю. Илинский^{1,2}, М.А. Волошина^{1,2}, И.К. Захаров^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: bykovra@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет

Поступила в редакцию 12 ноября 2013 г. Принята к публикации 22 декабря 2013 г.

Симбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена в природных популяциях *Drosophila melanogaster*. Частота встречаемости этой бактерии в популяциях *D. melanogaster* разных регионов может варьировать в широких пределах – от единичных особей до тотальной зараженности. Генотипическое разнообразие симбионта включает 6 генотипов: wMel, wMel2, wMel3, wMel4, wMelCS, wMelCS2. Повсеместно встречаются 2 генотипа *Wolbachia* – wMel и wMelCS, остальные относятся к редким генотипам, либо распространенным на ограниченной территории, либо встречающимся только в лабораторных линиях. Несмотря на уже проведенные исследования распространенности *Wolbachia* в популяциях *D. melanogaster* мира, имеется недостаточно данных о распространенности и генотипическом разнообразии этой бактерии в популяциях Евразии. В данном исследовании проведен анализ распространенности и генотипического разнообразия *Wolbachia* в природной популяции *D. melanogaster* г. Нальчик (Кабардино-Балкария). Показано, что генотипический состав *Wolbachia* и частота ее встречаемости в популяции на протяжении 4 лет стабильны. Генотипический состав *Wolbachia* характеризуется наличием двух генотипов, wMel и wMelCS, из которых наиболее представлен wMel. Нами не было обнаружено других генотипов *Wolbachia* в популяции *D. melanogaster* г. Нальчик.

Ключевые слова: *Wolbachia*, *Drosophila melanogaster*, генотип, популяции.

ВВЕДЕНИЕ

Симбиотическая бактерия *Wolbachia* – матерински наследуемый внутриклеточный микроорганизм, широко распространенный в популяциях различных членистоногих, а также встречающийся у некоторых видов нематод (Werren *et al.*, 1995; Hilgenboecker *et al.*, 2008; Zug, Hammerstein, 2012). Биологическое влияние бактерии на организм вида-хозяина крайне разнообразно и может выражаться в форме как мутуализма, так и паразитизма. По данным исследований от 40 до 70 % всего видового разнообразия современных членистоногих может быть инфицировано *Wolbachia* (Hilgenboecker *et al.*, 2008; Zug, Hammerstein, 2012).

Для рода *Drosophila* на апрель 2014 г. описано более 50 симбиотических ассоциаций *Drosophila* sp. – *Wolbachia* (GenBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>, <http://www.taxodros.uzh.ch/>). Одной из наиболее изученных симбиотических систем является система *D. melanogaster*–*Wolbachia*. Эндосимбионт *Wolbachia* распространен в популяциях *D. melanogaster* по всему миру. Частота встречаемости бактерии может варьировать в широких пределах: от единичных инфицированных особей до полностью зараженных популяций, однако в среднем она составляет около 50 % (Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Solignac *et al.*, 1994; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013).

Генотипическое разнообразие *Wolbachia* у *D. melanogaster* описывается на основании данных по полиморфизму генома бактерии. К настоящему моменту для этого вида описано 6 генотипов *Wolbachia*: wMel, wMelCS, wMelCS2, wMel2, wMel3 и wMel4. Эти генотипы отличаются между собой различными перестройками генома: встройкой мобильных элементов, инверсией участка генома и количеством повторов минисателлитных локусов (Riegler *et al.*, 2005, 2012; Ilinsky, 2013).

Наиболее распространена в природных популяциях *D. melanogaster* *Wolbachia* генотипа wMel, частота встречаемости которого среди инфицированных особей достигает 100 %. Генотип wMelCS также распространен в популяциях *D. melanogaster* по всему миру, однако частота встречаемости особей, несущих бактерию этого генотипа, очень низкая (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Nunes *et al.*, 2008; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013).

Генотип wMelCS2 характерен для восточноевропейских, среднеазиатских и алтайских популяций *D. melanogaster*, а также для популяций Кавказа (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров 2007а, б; Ilinsky, 2013). Генотип wMel2 обнаруживается в популяциях Юго-Восточной Азии (Riegler *et al.*, 2005; Nunes *et al.*, 2008). *Wolbachia* генотипа wMel4 была обнаружена в популяции *D. melanogaster* на полуострове Синай (Ilinsky, 2013). Генотип wMel3 был зафиксирован в единственной лабораторной линии *D. melanogaster* в Швеции и, скорее всего, не встречается в природных популяциях (Riegler *et al.*, 2005).

В данной работе проведено исследование распространенности и генетического разнообразия *Wolbachia* в природной популяции *D. melanogaster* г. Нальчик (Кабардино-Балкария, Россия). Показана стабильность поддержания инфицированности популяции в течение 4 лет на уровне около 66 %. Показано, что среди инфицированных особей преобладают носители *Wolbachia* генотипа wMel. Также был обнаружен генотип *Wolbachia* wMelCS2, ранее не замеченный в популяции исследуемого региона. Полученные данные дополняют общую картину по распространенности генотипов *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Линии *Drosophila melanogaster*

Сбор *D. melanogaster* проводился в начале сезона массового размножения (июнь) в районе частного сектора г. Нальчик с большим количеством фруктовых деревьев. От каждой оплодотворенной в природе самки было получено потомство, которое в дальнейшем велось как изосамочья линия. Поскольку *Wolbachia* наследуется по материнскому типу, то каждая изосамочья линия характеризовала статус инфицированности самки-основательницы. Всего в исследовании использовались 254 изосамочьи линии *D. melanogaster*, созданные на основе сборов из природной популяции г. Нальчик (Кабардино-Балкария) за 3 года: 2010 (85 изосамочьих линий), 2012 (103) и 2013 (66).

Выделение ДНК

Для выделения ДНК использовалась стандартная методика (Marum, 1961) с модификациями. Из каждой линии в анализ брали 2–3 самки. Гомогенизация проводилась в 200 мкл экстрагирующего буфера (10 mM TRIS-HCl (pH 8,0), 25 mM ЭДТА, 0,5 % SDS, 0,1 M NaCl) с последующей инкубацией при 56 °C в течение 1 часа. Растворение ДНК после преципитации проводилось в 50 мкл бидистиллированной воды. Выделенная ДНК хранилась при –20 °C.

Определение статуса инфицированности

Для определения статуса инфицированности каждой линии использовался метод ПЦР с праймерами, специфичными к гену *Wolbachia* *wsp* 81F 5'-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3', 691R 5'-AAAAATTAAACGCTACTCCA-3' (Zhou *et al.*, 1998). Определение генотипа *Wolbachia* проводилось с использованием праймеров, специфичных к полиморфным маркерам генома бактерии: двум локусам встройки инсерционной последовательности IS5 IS5-WD0516/7: F 5'-CCATCAAGGTCTCTTTCA-3', R 5'-TGCAAGGAAACTAAACCAG-3'; IS5-WD1310: F 5'-AGGAGAACTGGTCTACGC-3', R 5'-TGTTGCTGAGCTTTGCT-3', двум минисателлитным повторам VNTR (VNTR-141:

F 5'-GGAGTATTATTGATATGCG-3', R 5'-GACTAAAGGTTAGTTGCAT-3'; VNTR-105: F 5'-GCAATTGAAAATGTGGTGCC-3', R 5'-ATGACACCTTACTTAACCGTC-3') и инверсии в локусе WD0394-WD0541 F 5'-AAGTCTGT-CACGGTTGAG-3', R 5'-GTAAGAGATGCAG-TAAAGG-3' (Riegler *et al.*, 2005). Визуализация образцов проводилась посредством электрофореза в 1,5 %-м агарозном геле.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Инфицированность популяции

Анализ инфицированности внутриклеточной бактерией *Wolbachia* проведен для 254 линий *D. melanogaster* природной популяции г. Нальчик (Кабардино-Балкария) за три года сборов (табл. 1). Инфекция была выявлена во всех исследованных выборках. Наиболее высокий уровень инфицированности в популяции был выявлен для сборов 2010 г. – 72 %, наименьший – для выборки 2012 г. – 59 %. По результатам исследования уровень инфицированности популяции *D. melanogaster* Нальчика за 4 года существенно не изменился, а среднее значение инфицированности популяции составило 66 %.

Разнообразие генотипов *Wolbachia* в популяции *D. melanogaster* г. Нальчик

Анализ генотипического разнообразия *Wolbachia* среди инфицированных линий показал, что почти все они несут бактерию генотипа wMel (99 %), только две линии оказались инфицированы *Wolbachia* редкого генотипа

wMelCS2. Эти линии относятся к выборкам 2012 и 2013 гг. (табл. 2).

Нами не было выявлено ни одного случая инфицированности линии бактерией *Wolbachia* генотипов wMelCS, wMel2, wMel3 или wMel4. Все они относятся к числу редко встречающихся в природе генотипов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования распространенности симбиотической бактерии *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* мира показали, что бактерия встречается повсеместно со средней частотой инфицированности популяций около 50 % (Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Solignac *et al.*, 1994; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011). Появляются новые данные о распространенности и генотипическом разнообразии *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* Евразии (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013). В проведенном исследовании мы оценили степень инфицированности популяции *D. melanogaster* г. Нальчик бактерией *Wolbachia* за 3 года, а также охарактеризовали генотипическое разнообразие симбионта.

Уровень инфицированности популяции *D. melanogaster* Нальчика варьировал от 59 до 72 %. Сопоставляя полученные значения с результатами исследований, проведенных для природных популяций *D. melanogaster* мира (Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Solignac *et al.*, 1994; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013), можно

Таблица 1

Инфицированность эндосимбионтом *Wolbachia* выборок из популяции *D. melanogaster* г. Нальчик

Год сбора	Исследовано линий	Доля инфицированных линий	Доля неинфицированных линий
2010	85	0,72	0,28
2012	103	0,59	0,41
2013	66	0,67	0,33

Таблица 2

Генотипическое разнообразие *Wolbachia* в популяции *D. melanogaster* г. Нальчик

Год сбора	Исследовано инфицированных линий	Генотип <i>Wolbachia</i>		
		wMel	wMelCS2	Другие генотипы
2010	61	61	0	0
2012	61	60	1	0
2013	44	43	1	0

сделать вывод, что этот уровень не отличается от уровня инфицированности, характерного для природных популяций Евразии.

При анализе генотипического состава *Wolbachia* в популяции *D. melanogaster* г. Нальчик были выявлены только 2 из 6 описанных в настоящее время генотипов бактерии – wMel и wMelCS2. Генотип wMelCS2 относится к числу редких генотипов: в более ранних исследованиях показано, что этот генотип *Wolbachia* характерен для восточноевропейских и алтайских популяций *D. melanogaster* (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008). В этих исследованиях также анализировались выборки из популяции Нальчика, однако они были представлены единичными линиями. Все они оказались инфицированы *Wolbachia*, при этом был обнаружен только один генотип бактерии – wMel (Илинский, 2008). В нашем исследовании задействованы большие выборки, в связи с чем нам удалось зафиксировать редкий генотип wMelCS2. Не исключено, что в популяциях *D. melanogaster* Нальчика имеются особи, несущие *Wolbachia* генотипа wMelCS, который также встречается в некоторых популяциях Кавказа и других ближайших регионов (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров 2007а, б; Ilinsky, 2013).

Работа выполнена при финансовой поддержке по базовому бюджетному проекту № VI.53.1.2 и по гранту РФФИ №12-04-01319а.

ЛИТЕРАТУРА

- Илинский Ю.Ю. Эндосимбионт *Wolbachia* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Северной Евразии: Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2008. 154 с.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Характеристика инфицированности цитоплазматическим эндосимбионтом *Wolbachia* популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Докл. АН. 2007а. Т. 413. № 4. С. 561–563.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2007б. Т. 43. № 7. С. 905–915.
- Hilgenboecker K., Hammerstein P., Schlattmann P., Telschow A., Werren J.H. How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data // FEMS Microbiol. Lett. 2008. V. 281. P. 215–220.
- Hoffmann A.A., Clancy D.J., Merton E. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1994. V. 136. P. 993–999.
- Hoffmann A.A., Hercus M., Dagher H. Population dynamics of the *Wolbachia* infection causing cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1998. V. 148. P. 221–231.
- Ilinsky Y. Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes // PLoS ONE. 2013. V. 8. No. 1. e54373.
- Ilinsky Y., Zakharov I.K. Genetic correlation between types of mtDNA of *Drosophila melanogaster* and genotypes of its primary endosymbiont, *Wolbachia* // Drosophila Inf. Serv. 2006. V. 89. P. 89–91.
- Marmur J. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms // J. Mol. Biol. 1961. V. 3. P. 208–218.
- Nunes M.D.S., Nolte V., Schlotterer C. Nonrandom *Wolbachia* infection status of *Drosophila melanogaster* strains with different mtDNA haplotypes // Mol. Biol. Evol. 2008. V. 25. No. 11. P. 2493–2498.
- Richardson M.F., Weinert L.A., Welch J.J., Linheiro R.S., Magwire M.M. *et al.* Population genomics of the *Wolbachia* endosymbiont in *Drosophila melanogaster* // PLoS Genet. 2012. V. 8. No. 12. e1003129.
- Riegler M., Sidhu M., Miller W.J., O'Neill S.L. Evidence for a global *Wolbachia* replacement in *Drosophila melanogaster* // Curr. Biol. 2005. V. 15. P. 1428–1433.
- Riegler M., Iturbe-Ormaetxe I., Woolfit M., Miller W.J., O'Neill S.L. Tandem repeat markers as novel diagnostic tools for high resolution fingerprinting of *Wolbachia* // BMC Microbiol. 2012. V. 12. Suppl. 1. S. 12.
- Solignac M., Vautrin D., Rousset F. Widespread occurrence of the proteobacteria *Wolbachia* and partial cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* // C. R. Acad. Sci. Paris. 1994. V. 317. P. 461–470.
- Verspoor R.L., Haddrill P.R. Genetic diversity, population structure and *Wolbachia* infection status in a worldwide sample of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans* populations // PLoS ONE. 2011. V. 6. No. 10. e26318.
- Werren J.H., Windsor D., Guo L.R. Distribution of *Wolbachia* among neotropical arthropods // Proc. R. Soc. Lond. B. 1995. V. 262. P. 197–204.
- Zhou W., Rousset F., O'Neill S. Phylogeny and pcr-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences // Proc. Biol. Sci. 1998. V. 265. P. 509–515.
- Zug R., Hammerstein P. Still a host of hosts for *Wolbachia*: Analysis of recent data suggests that 40 % of terrestrial arthropod species are infected // PLoS ONE. 2012. V. 7. No. 6. e38544.

**PREVALENCE AND GENOTYPIC DIVERSITY
OF THE SYMBIOTIC BACTERIUM *WOLBACHIA*
IN THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* POPULATION OF NALCHIK**

R.A. Bykov¹, Yu.Yu. Ilinskii^{1,2}, M.A. Voloshina^{1,2}, I.K. Zakharov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: bykovra@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research University, Novosibirsk, Russia

The symbiotic bacterium *Wolbachia* is widespread in natural *Drosophila melanogaster* populations. Its frequency in *D. melanogaster* populations is broadly variable from occasional individuals to total infestation. Six genotypes are recognized in this symbiont: wMel, wMel2, wMel3, wMel4, wMelCS, and wMelCS2. Two of them are ubiquitous: wMel and wMelCS. Others occur either in local areas or in laboratory stocks. In spite of the studies of *Wolbachia* occurrence in *D. melanogaster* populations of the world, the information of its prevalence and genotypic diversity in Eurasian populations is still scarce. We analyze the prevalence and genotypic diversity of *Wolbachia* in the natural *D. melanogaster* population of the city of Nalchik. It is shown that the genotypic composition of *Wolbachia* and its frequency in the population have remained stable for four years. Two genotypes are present in the population: wMel and wMelCS, the former being predominant. We found no other *Wolbachia* genotypes in the Nalchik *D. melanogaster* population.

Key words: *Wolbachia*, *Drosophila melanogaster*, genotype, populations.

УДК 575,8:574

ПРОЦЕССЫ КОЭВОЛЮЦИИ В СИСТЕМЕ «ХИЩНИК–ЖЕРТВА». ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

© 2014 г. Ю.С. Букин^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт
Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия;

² Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет,
Иркутск, Россия,
e-mail: bukinyura@mail.ru

Поступила в редакцию 10 июля 2013 г. Принята к публикации 12 августа 2013 г.

В большинстве природных популяций кроме внутривидовой конкуренции за ресурсы среды существует определенное воздействие хищника. Характер и интенсивность взаимодействия жертв с хищниками могут влиять на ход конкурентного или симпатрического видообразования среди жертв и на процессы коэволюции или совместного видообразования. Математические методы позволяют разработать модели, достаточно точно описывающие все аспекты внутривидового и межвидового взаимодействия. В данной работе с помощью математического моделирования было исследовано влияние интенсивности межвидового взаимодействия на процесс конкурентного или симпатрического видообразования у жертв. Под интенсивностью взаимодействия понимается средняя доля жертв, уничтожаемых хищниками в единицу времени: чем больше средняя доля, тем больше интенсивность взаимодействия. В математических моделях интенсивность взаимодействия определяется значениями многих параметров. Изменение значения этих параметров будет влиять на интенсивность взаимодействия.

В ходе проведения исследований было установлено, что при достаточно большой интенсивности взаимодействия у жертв происходит значительное замедление процесса конкурентного видообразования. Жертвы в этой ситуации стремятся избежать влияния хищника, меняя свои адаптивные признаки. Другим важным результатом было то, что видообразование хищников происходит вслед за видообразованием у жертв тогда, когда вероятность мутационного изменения адаптивных признаков у хищников больше, чем у жертв.

Ключевые слова: видообразование, жертва, хищник, межвидовое взаимодействие, динамика популяций, математическое моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

В природных экосистемах достаточно распространено взаимодействие организмов по типу «хищник–жертва». С некоторыми допущениями к взаимодействию «хищник–жертва» близки отношения типа «паразит–хозяин». Современная биологическая наука накопила большое количество информации о процессах коэволюции хищников и жертв в естественных условиях (Abrams, 2000). Некоторые работы (Emerson, Kolm, 2005) показывают, что чем больше видов образовалось в экосистеме, тем

быстрее в ней будут появляться новые виды в силу стимулирующей роли к видообразованию межвидового взаимодействия. Это обстоятельство дополнительно привлекает интерес к исследованию процессов коэволюции.

Особую ценность при исследовании закономерностей процессов видообразования в подобных сообществах представляют молекулярно-генетические данные. С их помощью можно определить время дивергенции от общего предка хищников, жертв, паразитов и хозяев в тесно связанных сообществах. Если дивергентная эволюция хищников на виды про-

исходила вслед за видообразованием у жертв, то это четко будет прослеживаться при сравнении филогенетических деревьев, построенных на основе нуклеотидных замен. Доказательством процесса коэволюции хищников и жертв будет близость датировок филогенетических событий на их молекулярных деревьях.

Существует много примеров, когда данные молекулярной генетики указывают на четкую связь между эволюционными событиями у жертв и хищников, хозяев и паразитов (Simms, 1996; Sasaki, 2000), что подтверждает реальность коэволюции. Один из интереснейших примеров коэволюции в системе «хищник–жертва» описан в работе Forbes с соавт. (2009). Ученые установили, что мухи вида *Rhagoletis pomonella*, личинки которой живут в плодах боярышника, в течение короткого времени стали родоначальником нового вида, личинки которого стали вредителем яблони. Это стало стимулом видообразования у наездников, паразитирующих на этих мухах. Новые виды наездников строго привязаны к своему виду мух, являющихся вредителями либо боярышника, либо яблони.

Вместе с тем ряд исследований показывает, что хищники или паразиты могут выбирать только одну из вновь образующихся линий жертв (Barker *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2004).

Известны случаи, когда моменты появления жертвы и хищника (паразитов и хозяев) сильно разнесены по времени, что также указывает на отсутствие коэволюции. В озере Байкал, например, обитают пресноводные губки и паразитирующие на них амфиподы (ракообразные), по молекулярно-генетическим данным паразитический вид амфипод образовался гораздо раньше байкальских губок (Sherbakov *et al.*, 1998; Macdonald *et al.*, 2005; Meixner *et al.*, 2007). Довольно странным обстоятельством является и то, что, несмотря на все богатство видового разнообразия Байкала, на сегодняшний день нет ни одного описанного примера строгой совместной коэволюции видов, взаимодействующих по принципу «хищник–жертва».

Практически все, что происходит в природных сообществах, можно исследовать с помощью теоретических математических и компьютерных моделей. Для описания закономерностей изменения численности популяции при взаимодействии «хищник–жертва» разра-

ботано множество математических подходов, в том числе и обобщенная модель Колмогорова (Колмогоров, 1972; Свирежев, Логофет, 1978). На основе этих исследований ряд авторов предлагает математические и компьютерные модели для описания процессов эволюции и коэволюции организмов при подобном типе взаимодействия (Takasu *et al.*, 1993; Dieckmann, Law, 1996; Takasu, 1998, 2003; Doebeli, Dieckmann, 2000).

Одной из самых простых моделей эволюции является модель симпатрического видообразования (Dieckmann, Doebeli, 1999; Dieckmann *et al.*, 2004). Видообразование в этой модели происходит вследствие конкуренции за ресурсы среды и приводит в дальнейшем к перераспределению экологических ниш. При исследовании данной модели было установлено, что скорость видообразования во многом зависит от вероятности мутации, приводящей к изменению адаптивных признаков. В более поздней работе эти же авторы предлагают усложненную модель, в которой на популяцию организмов, эволюционирующую по способу симпатрического видообразования, влияет хищник (Doebeli, Dieckmann, 2000). Основываясь на результатах этих работ и на собственных исследованиях (Semovski *et al.*, 2003; Семовский и др., 2004), мы предлагаем новую модель видообразования в популяциях организмов, взаимодействующих по типу «хищник–жертва».

Основной проблемой, которая решалась в ходе моделирования, было определение параметров системы, при которых возможен процесс коэволюции хищника и жертвы. Исследовался вопрос, от чего зависит возможность дивергенции у хищников вслед за видообразованием у жертвы. Кроме того, исследовалось влияние интенсивности взаимодействия (средней доли организмов популяции жертв, уничтожаемых хищниками в единицу времени) на видообразование в популяции жертвы.

ОПИСАНИЕ МОДЕЛИ

В соответствии с идеями, предложенными в работах Дюбели, Дикмана и Семовского (Doebeli, Dieckmann, 2000; Semovski *et al.*, 2003; Семовский и др., 2004), рассмотрим две популяции организмов: хищника и жертвы. Каждый организм, как в популяции хищников,

так и у жертв, обладает некоторым полигенным, непрерывным признаком: x – значение признака жертв, y – значение признака хищников. Если в процессе размножения встречаются самка и самец из популяции жертв со значениями признака x_1 и x_2 соответственно, то признак потомка x_p определяется как среднее арифметическое признаков родителей $x_p = (x_1 + x_2) / 2$ (Гинзбург, 1984). Аналогично определяется признак потомка хищников $y_p = (y_1 + y_2) / 2$. Признак организмов из популяции жертв определяет адаптацию к условиям окружающей среды и способность уйти от преследования хищником. Признак организмов из популяции хищников определяет способность употреблять в пищу жертв с определенным значением x . В качестве примеров таких признаков могут быть размер тела у жертв и размер пасти у хищников. При наследовании признака от родителей у потомка может произойти «мутация» – изменение состояния признака потомка с некоторой вероятностью P_1 для жертв и P_2 для хищников. Значение нового состояния признака после мутации для жертв x'_p определяется гауссовым распределением со средним значением x_p и откло-

нением σ_m . Параметр σ_m определяет мутационный размах изменения признака. У хищников мутационное изменение значения признака происходит аналогично таковому у жертв с тем же значением параметра σ_m . При размножении у хищников и у жертв самки с самцами образуют репродуктивные пары, каждая самка выбирает себе самца с вероятностью $1 - \sqrt{(x_1 - x_2)^2} / M$, где x_1 и x_2 – значения признаков самца и самки. Параметр M определяет признаковую изоляцию между организмами. Если признаки самки и самца отличаются больше, чем на M , то пару они образовать не могут. Значение M в модели для хищников и для жертв одинаково. Следует заметить, что по биологическому смыслу значение параметра M должно быть значительно больше $3\sigma_m$, иначе одно мутационное событие может сразу приводить к появлению репродуктивно изолированных особей. Пол потомка определяется случайным образом.

Обозначим $N_1(x, t)$ в модели общее число жертв с признаком x в момент времени t , $N_2(y, t)$ – число хищников. Общая система уравнений динамики популяций будет выглядеть следующим образом:

$$\begin{aligned} \frac{dN_1(x, t)}{dt} &= \alpha N_1(x, t) \left(1 - \frac{\int_{x_{\min}}^{x_{\max}} C(x - x') N_1(x') dx'}{K(x)} \right) - p \beta_1 N_1(x, t) \int_{y_{\min}}^{y_{\max}} C'(x - y) N_2(y) dy \\ \frac{dN_2(y, t)}{dt} &= -d N_2(y, t) + p \beta_2 N_2(y, t) \int_{x_{\min}}^{x_{\max}} C'(y - x) N_1(x) dx, \end{aligned} \quad (1)$$

где α – плодовитость жертв, $K(x)$ – емкость среды (распределение ресурсов), $C(x - x')$ – функция, определяющая интенсивность конкуренции организмов в популяции жертв с различными значениями признаков за ресурс. Параметр β_1 определяет интенсивность влияния популяции хищников на популяцию жертв. Параметр d есть коэффициент смертности для хищников. Параметр β_2 определяет интенсивность притока питательного вещества от жертв к хищникам. Функция $C'(y - x)$ определяет возможность для хищников со значением признака y употребить жертв со значениями признака x . Параметр p определяет интенсивность межвидового взаимодействия; изменение данного параметра пропорционально меняет воздействие хищников на популяцию жертв. Увеличение параметра p

приводит к общему увеличению числа жертв, выедаемых хищником за единицу времени, и к увеличению плодовитости хищников, что в итоге и является увеличением интенсивности взаимодействия рассматриваемых популяций. В дальнейшем в модели изменение интенсивности взаимодействия определялось варьированием значения параметра p .

Явный вид функции $K(x)$ в модели будет следующим: $K(x) = K_0 \frac{1}{\sigma_k \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\frac{(x - \bar{x})^2}{2\sigma_k^2} \right]$, т. е. ресурсы среды распределены по нормальному закону с параметрами $\bar{x}$ и σ_k , при этом $\bar{x}$ будет наиболее оптимальным значением признака для жертв (жертвам с таким признаком доступно больше всего ресурсов). Параметр K_0 определяет максимальное количество жертв в модели.

Функция $C(x - x')$ имеет следующий вид:

$$C(x - x') = \frac{1}{\sigma_c \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\frac{(x - x')^2}{2\sigma_c^2} \right].$$

Значение функции $C(x - x')$ уменьшается при увеличении модуля разности между значениями признаков взаимодействующих особей. Из этого следует, что чем дальше отстоят друг от друга жертвы на оси признака, тем меньше они конкурируют. Параметр σ_c показывает то, как быстро убывает конкуренция по мере увеличения разности между x и x' . Увеличение σ_c приводит к уменьшению локальной конкуренции и увеличению интенсивности конкуренции с особями, далекими по значению признака.

Функция $C'(x - y)$ в модели имеет следующий вид: $C'(x - y) = \frac{1}{\sigma_p \sqrt{2\pi}} \exp \left[-\frac{(x - y)^2}{2\sigma_p^2} \right]$.

Значение данной функции уменьшается при увеличении разности по модулю между x и y : чем больше данная разность, тем меньше возможности у хищника с признаком y употребить жертву с признаком x . Параметр σ_p определяет то, как быстро у хищника с признаком y убывает возможность употреблять жертву с признаком x по мере увеличения модуля разности между x и y .

В уравнении (1) интеграл $\int_{x_{\min}}^{x_{\max}} C(x - x') N_1(x') dx'$ определяет попарное взаимодействие (конкуренцию за ресурс) между всеми жертвами, интеграл $\int_{y_{\min}}^{y_{\max}} C'(x - y) N_2(y) dy$ определяет возможность для жертв с признаком x быть съеденными всеми хищниками и хищником с признаком y , интеграл $\int_{x_{\min}}^{x_{\max}} C'(y - x) N_1(x) dx$ определяет возможность для хищников с признаком y употребить какую-либо из жертв с признаком x .

Под видообразованием в модели понимается процесс формирования групп особей, репродуктивно изолированных от других групп особей в пространстве полигенного признака (x для жертв и y для хищников). Под видами в модели как раз и будут подразумеваться такие группы особей.

Описание метода, с помощью которого производилось численное исследование (решение) интегро-дифференциального уравнения (1) модели, дано в Приложении.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЧИСЛЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Перед началом расчета в модели задавались следующие начальные условия: исходный средний признак для жертвы $x_0 = 0,03$, исходный средний признак для хищника $y_0 = 0,045$, начальная вариабельность признаков жертв $\Delta x = 0,006$, начальная вариабельность признака хищников $\Delta y = 0,006$. Стартуя с данных начальных условий, мы проводили численные эксперименты, варьируя значения параметров модели, с целью определения характера эволюционного процесса.

В первую очередь мы оценили, как интенсивность взаимодействия «хищник–жертва» влияет на конкурентное симпатрическое видообразование у жертв. Для этого в модели варьировалось значение параметра p в пределах от 0,1 до 1,1 с шагом в 0,1, все остальные параметры были фиксированы, а именно: $P_1 = P_2 = 0,01$, $\sigma_m = 0,003$, $M = 0,06$, $\alpha = 0,6$, $\beta_1 = 0,00077$, $\beta_2 = 0,0015$, $d = 0,25$, $K_0 = 1500$, $\bar{x} = 0,3$, $\sigma_k = 0,01$, $\sigma_c = 0,01$, $\sigma_p = 0,01$. Параметры были выбраны таким образом, чтобы в отсутствие хищника у жертв с течением времени начиналась устойчивая дивергенция на виды из-за конкуренции за ресурсы среды (диверсификация экологических ниш). В процессе численного моделирования мы оценивали время, прошедшее от начала эксперимента до наступления видообразования у жертв. С каждым из значений параметра p проводилось несколько численных экспериментов, затем последовательность эволюционных событий в модели визуализировалась в виде деревьев эволюции адаптивного признака. В результате выяснилось, что при увеличении интенсивности взаимодействия (увеличения параметра p) процесс видообразования у жертв замедлялся, при этом в среднем увеличивалось время, необходимое для появления двух дочерних видов из одного начального. При $p = 1,1$ видообразование у жертв вообще прекращалось. Деревья эволюции признака жертв и хищников при различной интенсивности взаимодействия представлены на рис. 1. В итоге увеличение интенсивности взаимодействия приводит к тому, что жертвы, меняя свои признаки, в первую очередь, вынуждены приспосабливаться к влиянию хищника, т. е. признак в популяции жертв изменяется в

попытке избежать давления хищника. Признак хищника, в свою очередь, под воздействием отбора стремится к такому значению, которое позволяет наиболее интенсивно поедать жертву. При $p = 1,1$ наблюдалось колебание признака жертв в районе наиболее оптимального признака $\bar{x} = 0,3$; признак хищников также колебался вслед за признаком жертв (см. рис. 1). Подобное изменение признака у жертв в этом случае возникает из-за того, что, стремясь уйти от влияния хищника, жертвы попадают в зону с низким количеством ресурсов среды, т. е. маленьким значением $K(x)$. При этом на жертв начинает

преимущественно действовать направленный отбор, который приближает их признаки к $\bar{x}$, что и вызывает наблюдаемые колебания. При данных значениях параметров у хищников не происходит видовая дивергенция вслед за жертвой. Хищники выбирали только одну из вновь образовавшихся групп жертв.

В предыдущих исследованиях (Dieckmann, Doebeli, 1999; Doebeli, Dieckmann, 2000; Dieckmann *et al.*, 2004) было установлено, что скорость процесса конкурентного видообразования зависит от вероятности мутации. Чем больше вероятность мутации, тем быстрее происхо-

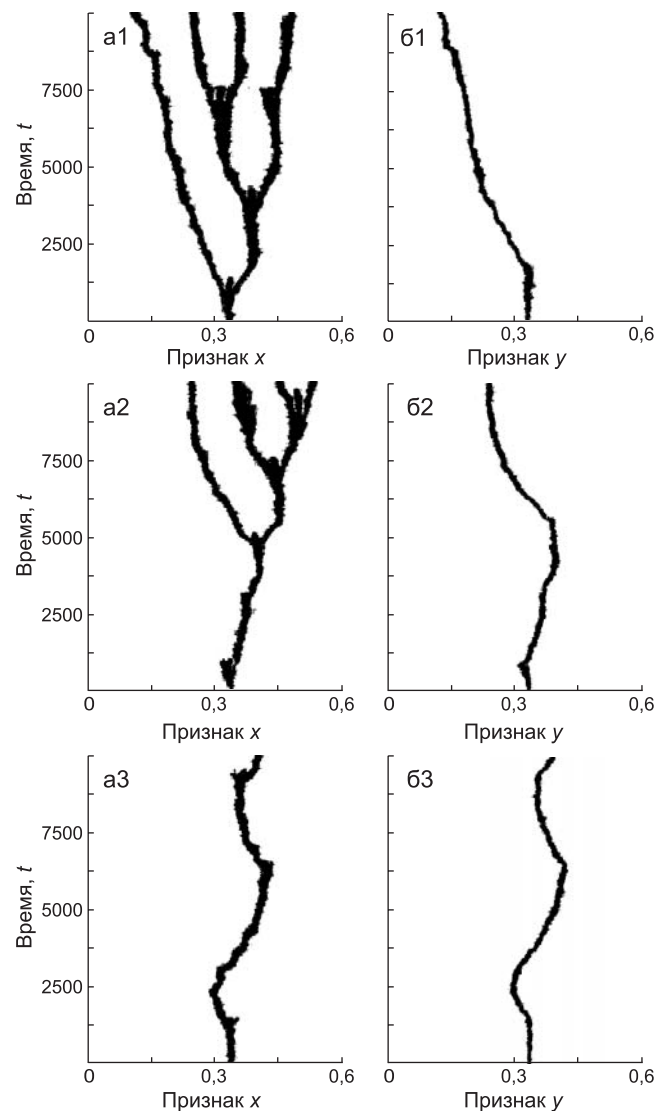


Рис. 1. Деревья эволюции во времени адаптивного признака жертв (a1, a2, a3) и хищников (b1, b2, b3) при различных значениях параметра p – интенсивности взаимодействия: a1 и b1 $p = 0,1$, a2 и b2 $p = 0,5$, a3 и b3 $p = 1,1$. Увеличение параметра p тормозит процесс конкурентного видообразования у жертв.

дит процесс конкурентного симпатрического видообразования. В следующем численном эксперименте мы оценили совместное влияние параметров интенсивности взаимодействия (p) и вероятности мутации у жертвы (P_1). Значение параметра p варьировалось от 0,1 до 1 с шагом в 0,1, при каждом p вероятность мутации P_1 варьировалась от 0,01 до 0,02 с шагом 0,001. С каждым из указанных значений параметров проводилось 30 независимых испытаний и оценивалось среднее время с момента начала эксперимента до наступления видообразования у жертв. Двумерный график зависимости среднего времени до наступления видообразования от вероятности мутации и интенсивности взаимодействия приведен на рис. 2. Результаты моделирования показали, что увеличение вероятности мутации P_1 сокращает время до наступления видообразования у жертв при всех исследованных значениях p . Таким образом, более высокие значения вероятностей мутации у жертв нивелируют воздействие хищников на процесс конкурентного симпатрического видообразования у жертв.

Далее мы попытались выяснить, возможен ли в нашей модели процесс коэволюции, т. е. видообразование у хищников вслед за видообразованием у жертв. Анализ поведения модели при различных значениях параметров показал, что хищник начинает дивергировать вслед за жертвой, только если значение вероятности мутации у хищников было больше, чем у жертв ($P_2 > P_1$). Результаты этих расчетов представлены на рис. 3.

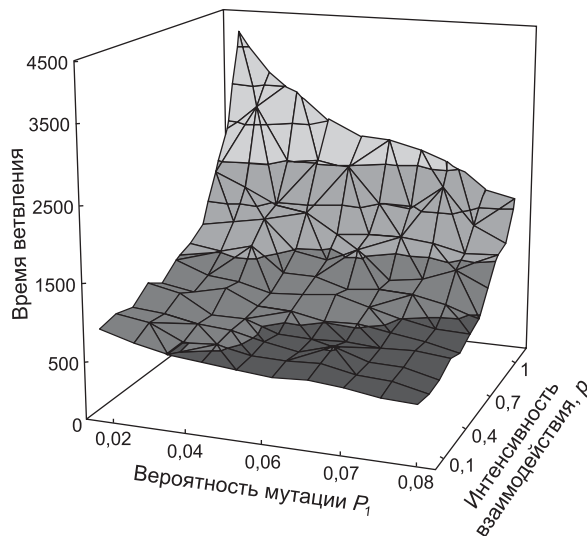


Рис. 2. Зависимость времени до начала эволюционного ветвления у жертв от интенсивности взаимодействия p и вероятности мутационного изменения признака у жертв P_1 .

Итак, как показывает наша модель, влияние хищника на жертву может изменять динамику процессов видообразования. Хищник при достаточно сильном воздействии на жертву вынуждает их приспосабливаться к его влиянию, а не к конкурентному перераспределению экологических ниш. Сам же хищник может дивергировать вслед за жертвами, только если скорость эволюции адаптивных признаков у хищников выше, чем у жертв. Результаты моделирования показывают, что в зависимости

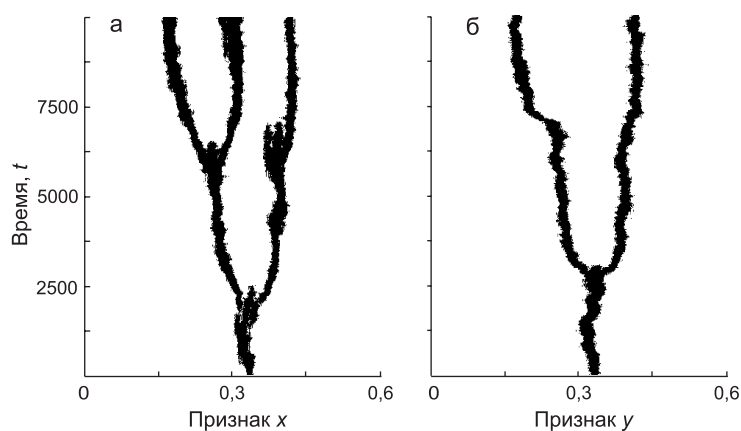


Рис. 3. Коэволюционное видообразование в популяции хищников вслед за жертвами.

а и б – деревья эволюции во времени адаптивного признака жертв и хищников соответственно. Вероятность мутационного изменения признака у хищников P_2 больше, чем у жертв P_1 ($P_2 > P_1$).

от значений параметров возможны различные сценарии развития эволюционных событий.

Авторы статьи выражают благодарность Д.Ю. Щербакову, И.Б. Мезандронцеву, А.В. Натягановой (Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск) и У. Дикману (Международный институт прикладного системного анализа, Лаксимбург, Австрия) за ценные замечания и обсуждения результатов работы.

Работа выполнена при поддержке темы бюджетного финансирования VI.61.1.3.

ЛИТЕРАТУРА

- Гинзбург Э.Х. Описание наследования количественных признаков. Н.: Наука, 1984. 250 с.
- Загускин В.Л. Справочник по численным методам решения уравнений. М.: ФИЗМАТГИЗ, 1960. 216 с.
- Колмогоров А.Н. Качественное изучение математических моделей популяций // Проблемы кибернетики. 1972. Вып. 25. М.: Наука, 1972. С. 100–106.
- Свирижев Ю.М., Логофет Д.О. Устойчивость биологических сообществ. М.: Наука, 1978. 352 с.
- Семовский С.В., Букин Ю.С., Щербаков Д.Ю. Модели симпатрического видообразования в изменяющихся условиях среды // Сиб. экол. журнал. 2004. Т. 5. С. 621–627.
- Abrams P.A. The evolution of predator-prey interactions: Theory and evidence // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 2000. V. 31. P. 79–105.
- Barker S.C., Whiting M., Johnson K.P., Murrell A. Phylogeny of the lice (Insecta, Phthiraptera) inferred from small subunit rRNA // *Zool. Scripta*. 2003. V. 32. No. 5. P. 407–414.
- Bukin Ju.S., Pudovkina T.A., Sherbakov D.Ju., Sitnikova T.Ya. Genetic flows in a structured one-dimensional population: Simulation and real data on Baikalian Polychaetes M. Godlewskii // *In silico Biol.* 2007. V. 7. No. 3. P. 277–284.
- Dieckmann U., Doebeli M. On the origin of species by sympatric speciation // *Nature*. 1999. V. 400. P. 354–357.
- Dieckmann U., Doebeli M., Johan A., Metz J., Tautz D. Adaptive Speciation. Cambridge Univ. Press, 2004. 446 p.
- Dieckmann U., Law R. The dynamical theory of coevolution: a derivation from stochastic ecological processes // *Math. Biol.* 1996. V. 34. P. 579–612.
- Doebeli M., Dieckmann U. Evolutionary branching and sympatric speciation caused by different types of ecological interactions // *Am. Nat.* 2000. V. 156. P. 77–101.
- Emerson B.C., Kolm N. Species diversity can drive speciation // *Nature*. 2005. V. 434. P. 1015–1017.
- Forbes A.A., Powell T.H.Q., Stelinski L.L., Smith J.J., Feder L.J. Sequential sympatric speciation across trophic levels // *Science*. 2009. V. 323. No. 5915. P. 776–779.
- Macdonald K.S., Yampolsky L., Emmett Duffy J. Molecular and morphological evolution of the amphipod radiation of Lake Baikal // *Mol. Phylogenet. Evolut.* 2005. V. 35. P. 323–343.
- Meixner M.J., Carsten Luter C., Eckert C. *et al.* Phylogenetic analysis of freshwater sponges provide evidence for endemism and radiation in ancient lakes // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2007. V. 45. P. 875–886.
- Sasaki A. Host-parasite coevolution in a multilocus gene-for-gene system // *Proc. Roy. Soc. Biol. Sci. Ser.* 2000. V. 267. P. 2183–2188.
- Semovski S.V., Bukin Y.S., Sherbakov D.Y. Speciation and neutral molecular evolution in one-dimensional closed population // *Intern. J. Modern Physics*. 2003. V. 14. P. 973–983.
- Sherbakov D.Y., Kamaltynov R.M., Ogarkov O.B., Verheyen E. Patterns of evolutionary change in Baikalian gammarids inferred from DNA sequences (Crustacea, Amphipoda) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 1998. V. 10. P. 160–167.
- Simms E.L. The evolutionary genetics of plant-pathogen systems // *Bioscience*. 1996. V. 46. P. 136–143.
- Smith V.S., Page R.D.M., Johnson K.P. Data incongruence and the problem of avian louse phylogeny // *Zool. Scripta*. 2004. V. 33. No. 3. P. 239–259.
- Takasu F. Modelling the arms race in avian brood parasitism // *Evol. Ecol.* 1998. V. 12. P. 969–987.
- Takasu F. Co-evolutionary dynamics of egg appearance in avian brood parasitism // *Evol. Ecol. Res.* 2003. V. 5. P. 345–362.
- Takasu F., Kawasaki K., Nakamura H. *et al.* Modeling the population dynamics of a cuckoo-host association and the evolution of host defenses // *Am. Nat.* 1993. V. 142. P. 819–839.

Приложение

Для исследования описанной модели использовалась индивидуально ориентированная схема с Эйлеровым приближением (Загускин, 1960) и дискретным значением численности организмов, что позволило от интегрирования в левой части уравнения (1) перейти к суммированию.

На основе этих предположений был разработан компьютерный алгоритм, состоящий из нескольких частей, аналогичный алгоритму, предложенному в работах (Semovski *et al.*, 2003; Семовский и др., 2004; Bukin *et al.*, 2007). Первоначально в системе задавалось определенное количество жертв и хищников с начальными значениями признаков x и y . Затем рассчитывалось количество жертв, рождающихся на данной итерации: $N_{gr} = \alpha N_1(x, t)\Delta t$, где Δt – достаточно малый промежуток времени. Общее количество жертв увеличивается на N_{gr} . Затем в соответствии с уравнением (1) для каждой жертвы рассчитывается величина G_i по формуле:

$$G_i = \left[\frac{\alpha \sum_{j=1}^{j=N_1} C(x_i - x_j)}{K(x_i)} + p\beta_1 \sum_{j=1}^{j=N_2} C'(x_i - y_j) \right] \Delta t.$$

Количество жертв, элиминирующихся из-за конкуренции и влияния хищника N_{gd} , подсчитывается как сумма всех G_i : $N_{gd} = \sum_{i=1}^{i=N_1} G_i$. Затем из всей популяции жертв элиминируются N_{gd} особей с наибольшим значением G_i . Особи с наибольшим значением G_i больше подвержены риску умереть из-за конкуренции и быть съеденными.

Для каждого хищника в модели подсчитывается величина H_i по формуле:

$$H_i = p\beta_2 \sum_{j=1}^{j=N_1} C'(x_j - y_i)\Delta t.$$

Количество хищников, родившихся на данном итерационном шаге N_{hr} , подсчитывается как сумма H_i : $N_{hr} = \sum_{i=1}^{i=N_2} H_i$. При образовании репродуктивной пары у хищников количество потомков такой пары N_p подсчитывается как сумма H_i обоих родителей: $N_p = H_1 + H_2$. Если подсчитанное количество потомков N_p является не целым числом, то его целая часть интерпретируется как достоверно появившееся количество потомков. Дробная часть N_p интерпретируется как вероятность появления потомка. Соответственно, чем больше показатели H_i для данной репродуктивной пары, тем больше потомков она даст. Таким образом, реализуется селективное преимущество у хищников.

Затем для хищников подсчитывается количество организмов N_{hd} , которое элиминируется в течение текущей итерации в соответствии с уравнением (1) по формуле $N_{hd} = dN_2\Delta t$. Из всей популяции хищников случайным образом элиминируется N_{hd} особей.

Значение величины Δt при численных расчетах подбиралось таким образом, чтобы изменение численности жертв от одного шага итерации до другого не превышало 10 %. Этим обеспечивалась достаточная адекватность численных расчетов.

COEVOLUTION IN «A PREDATOR–PREY» SYSTEM: AN ECOGENETIC MODEL

Yu.S. Bukin^{1,2}

¹ Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia;

² National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk, Russia,

e-mail: bukinyura@mail.ru

Summary

In most natural populations, intraspecies competition for natural resources is supplemented by a predator impact. We suppose that the mode and intensity of the interaction between a prey and its predator affects the course of competitive or sympatric speciation among the prey and processes of co-evolution or co-speciation. Mathematical methods allow development of models precisely describing all sides of intra and interspecies interactions. In this paper, we use mathematical modeling to investigate the effect of the intensity of interspecies interactions on competitive or sympatric speciation inside a prey population. The intensity of the interaction is the average number of prey which predators eat in a unit of time: the higher is the number of prey eaten by predators, the greater is the intensity of the interaction. In mathematical models, the intensity of such interaction is determined by many parameters. Changes in these parameters will affect the intensity of the interaction. It was found that sufficiently high intensity of interaction slows down competitive speciation among the prey. The preys in this case, seeking to avoid the impact of predators by altering their adaptive traits. Another important result was that the speciation of predators follows prey speciation when the probability of mutational changes in adaptive traits of predators exceeds that in the prey.

Key words: speciation, prey, predator, interspecies interactions, population dynamics, mathematical modeling.

УДК 577.2

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ МОГУТ КОНТРОЛИРОВАТЬ ПРОЦЕСС ТРАНСКРИПЦИИ НА СТАДИИ ЭЛОНГАЦИИ пре-мРНК

© 2014 г. В.М. Меркулов, Т.И. Меркулова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: merkti@niboch.nsc.ru

Поступила в редакцию 1 ноября 2013 г. Принята к публикации 10 декабря 2013 г.

Регуляторные транскрипционные факторы – белки, распознающие определенные последовательности ДНК, – осуществляют избирательную регуляцию уровня транскрипции различных наборов генов в зависимости от стадии онтогенеза, типа клеток и внешних условий. Согласно устоявшимся представлениям, эти белки контролируют процесс транскрипции на стадии сборки преинициаторного комплекса Пол II. Однако постепенно накапливаются данные о том, что регуляторные транскрипционные факторы могут принимать участие и в контроле процесса элонгации. Настоящий обзор посвящен систематизации таких данных.

Ключевые слова: РНК полимеразы II, ассоциированная с промотором пауза, факторы транскрипции, позитивный фактор элонгации P-TEFb.

ВВЕДЕНИЕ

Транскрипция белок-кодирующих генов эукариотических организмов осуществляется РНК-полимеразой II (Пол II) при участии множества белков с различными функциями. Среди этих белков особое место занимают транскрипционные факторы (ТФ), которые делятся на две группы, неравные по объему, но не по значимости. В меньшую группу, насчитывающую несколько десятков белков, входят базальные ТФ – специализированные белки (или белковые комплексы), функция которых состоит в распознавании промоторов генов и формировании преинициаторного комплекса Пол II, а также в осуществлении первых шагов транскрипции. Показано, что минимальный набор базальных ТФ, необходимый для корректной инициации транскрипции, включает TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF и TFIIH (Fuda *et al.*, 2009; Juven-Gershon, Kadonaga, 2010). Функция регуляции интенсивности транскрипции выполняется другой, гораздо более многочисленной группой белков, называемых регуляторными ТФ.

Эти белки распознают определенные последовательности ДНК-сайты связывания ТФ в регуляторных районах генов и благодаря этому свойству осуществляют избирательный контроль экспрессии генов. Известно, что они играют ведущую роль в обеспечении необходимого уровня транскрипции тех или иных наборов генов в различных типах клеток, а также его изменения в ответ на разнообразные сигналы внешней и внутренней среды. Установлено также, что ТФ вносят основной вклад в определение и поддержание клеточного фенотипа (Takahashi, Yamanaka, 2006; Wernig *et al.*, 2007; Vaquerizas *et al.*, 2009; White, Stephens 2010; DeLaForest *et al.*, 2011). По последним оценкам, доля регуляторных ТФ от всех белков, экспрессирующихся у животных, составляет примерно 5 %, в частности геном человека содержит около 1 500 генов, кодирующих эти факторы (Vaquerizas *et al.*, 2009; Charoensawan *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2012).

Согласно устоявшимся представлениям, регуляторные ТФ контролируют процесс транскрипции на стадии сборки преинициаторного

комплекса Пол II. Связываясь с опознаваемыми ими сайтами в промоторных или отдаленных регуляторных районах генов, эти белки вступают во множество белок-белковых взаимодействий (с коактиваторными, корепрессорными, медиаторными, хроматин-ремоделирующим комплексами, а также непосредственно с базальными факторами транскрипции), что приводит к формированию преинициаторного комплекса в районе старта транскрипции (в случае активации) или же препятствует формированию этого комплекса (в случае репрессии гена) (Hochheimer, Tjian, 2003; Roeder, 2005; Меркулова и др., 2013). Однако известно, что регуляция транскрипции может происходить не только на стадии инициации, но и на стадии элонгации (Fuda *et al.*, 2009; Nechaev, Adelman, 2011). Имеются также данные о том, что ряд регуляторных ТФ принимает участие и в контроле процесса элонгации пре-мРНК. Целью настоящего обзора являются систематизация и анализ этих данных.

Начало транскрипции, пауза, переход к продуктивной элонгации

Одним из важнейших событий, необходимых для начала транскрипции или так называемой ранней элонгации, является фосфорилирование С-концевого домена (CTD) самой большой субъединицы Пол II циклин-зависимой киназой 7 (cdk7), которая является субъединицей базального фактора транскрипции TFIIN (Nechaev, Adelman, 2011). С-концевой домен (CTD) самой большой субъединицы Пол II представляет собой многократный повтор гептапептида с консенсусной последовательностью YSPTSPS (Egloff *et al.*, 2010). У приматов этот повтор состоит из 52 звеньев (Taube *et al.*, 2002). cdk7 фосфорилирует гептапептид по остатку серина в позиции 5, что, как полагают, дестабилизирует взаимодействие Пол II со связанными с промотором факторами и способствует сходу полимеразы с промотора (Nechaev, Adelman, 2011). Затем Пол II транскрибирует первые 20–50 нуклеотидов (ранняя элонгация) и делает остановку, прежде чем перейти к так называемой продуктивной элонгации, в результате которой будет синтезирован полноразмерный транскрипт (Min *et al.*, 2011; Kwak *et al.*, 2013)

(рис.). Остановка Пол II вблизи промотора называется ассоциированной с промотором паузой и обусловлена главным образом взаимодействием фермента с двумя мультибелковыми комплексами – представителями группы факторов элонгации транскрипции DSIF и NELF (Nechaev, Adelman 2011; Yamaguchi *et al.*, 2013). Показано, что остановка Пол II в начале транскрипции способствует успешному осуществлению целого ряда сопряженных с транскрипцией процессов, таких, например, как кэпирование пре-мРНК и сборка сплайсосомы (Mandal *et al.*, 2004; Glover-Cutter *et al.*, 2008).

Ассоциированная с промотором пауза в движении Пол II преодолевается за счет привлечения позитивного фактора элонгации транскрипции P-TEF-b, в состав которого входят циклин-зависимая протеинкиназа 9 (Cdk9) и один из циклинов (CycT1, CycT3 или CycK) (Taube *et al.*, 2002; Lenasi, Barboric, 2010; Nechaev, Adelman, 2011; Yamaguchi *et al.*, 2012; Fuda, Lis, 2013). Cdk9 осуществляет фосфорилирование гептапептида в составе CTD самой большой субъединицы Пол II по остатку серина в позиции 2, С-концевого домена Spt5 субъединицы DSIF, а также NELF (Chen *et al.*, 2009; Lenasi, Barboric, 2010; Nechaev, Adelman, 2011). В результате этих событий NELF диссоциирует, DSIF из негативного фактора элонгации транскрипции превращается в позитивный, присоединяется ряд других факторов элонгации и происходит синтез полноразмерных молекул пре-РНК (Peterlin, Price, 2006; Yamaguchi *et al.*, 2012; Nechaev, Adelman, 2013) (рис.).

Продолжительность ассоциированной с промотором паузы может контролироваться различными регуляторными системами клетки, что играет существенную роль в регуляции экспрессии множества генов (Lis *et al.*, 2000; Rahl *et al.*, 2010; Diamant, Dikstein, 2013; Saunders *et al.*, 2013). К настоящему времени для нескольких регуляторных ТФ показано участие в контроле этой стадии процесса транскрипции.

Участие регуляторных ТФ в регуляции процесса элонгации пре-мРНК

с-Мус. Транскрипционный фактор с-Мус является активатором пролиферации, а также одним из основных факторов плюрипотентно-

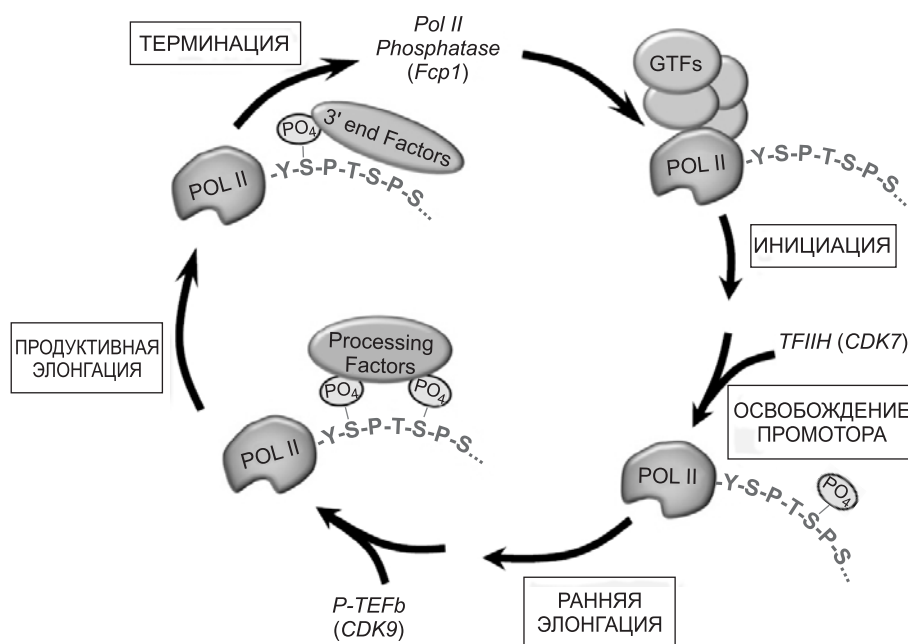


Рис. Схема транскрипционного цикла РНК-полимеразы II.

Pol II – РНК-полимераза II; GTFs – базальные факторы транскрипции (по: (Diamant, Dikstein, 2013)).

сти эмбриональных стволовых клеток (Lüscher, Vervoorts, 2012; Buganim *et al.*, 2013). Впервые роль с-Мус в регуляции элонгации была показана на примере преодоления ассоциированной с промотором паузы в ходе транскрипции гена *cad* хомяка. Было показано, что с-Мус не требуется для формирования преинициаторного комплекса Пол II на промоторе этого гена и ранней элонгации. Активацию же экспрессии гена *cad* с-Мус осуществляет, взаимодействуя с Е-боксом (сайтом связывания этого белка) в районе +55/+75 п.н. ниже старта транскрипции и привлекая Р-ТЕФ-б за счет связывания с циклиновыми боксами СусТ1. После этого происходит фосфорилирование СДТ самой большой субъединицы Пол II по остатку серина в позиции 2 и синтезируется полноразмерный транскрипт (Miltenberger *et al.*, 1995; Eberhardy, Farnham, 2001, 2002). Позднее в результате проведения полногеномных исследований было установлено, что, взаимодействуя с Р-ТЕФ-б, с-Мус помогает Пол II перейти к эффективной элонгации в случае почти трети генов, экспрессирующихся в эмбриональных стволовых клетках мыши. С использованием специфического ингибитора активности с-Мус – 10058-F4 было показано, что инактивация этого белка приводит

к существенному уменьшению числа молекул Пол II, осуществляющих продуктивную транскрипцию генов-мишеней с-Мус, в то время как плотность Пол II в районе их промоторов остается неизменной. При этом наблюдается значительное снижение фосфорилирования СДТ по остатку серина в позиции 2 при неизменном уровне фосфорилирования остатка серина в позиции 5. Кроме того, методом иммунопреципитации хроматина было выявлено связывание с-Мус в участках размером ~ 1 т.п.н., включающих промоторы исследуемых генов. В целом полученные авторами данные убедительно показывают, что преодоление ассоциированной с промотором паузы в ходе транскрипции является основным механизмом регуляторного действия с-Мус, по крайней мере, в эмбриональных стволовых клетках (Rahl *et al.*, 2010).

AIRE. Для транскрипционного фактора AIRE, ключевого регулятора тканеспецифичной экспрессии антигенов (Zumer *et al.*, 2013), так же, как и для с-Мус, предполагается, что основным механизмом его действия является не стимуляция сборки преинициаторного комплекса Пол II, а преодоление ассоциированной с промотором паузы. Во-первых, показано, что AIRE способен образовывать комплекс с субъ-

единицей P-TEF-b – циклином T1 как в условиях *in vitro*, так и в живой клетке. Во вторых, на примере генов-мишеней AIRE *Ins2* и *Spt1* установлено, что хотя в отсутствие AIRE Пол II находится в промоторных районах этих генов в медуллярных эпителиальных клетках тимуса, синтез полноразмерных пре-мРНК при этом не происходит. И наконец, получены доказательства того, что AIRE привлекает P-TEF-b к месту остановки Пол II вблизи промоторов генов *Ins2* и *Spt1* и тем самым обеспечивает возможность продуктивной элонгации соответствующих пре-мРНК (Oven *et al.*, 2007).

Рецепторы эстрогенов и андрогенов. Рецептор эстрогенов (ER) – представитель группы лиганд-активируемых факторов транскрипции – также способен привлекать P-TEF-b к местам остановки Пол II и, соответственно, стимулировать процесс элонгации. Подробно такой механизм изучен на примере стимуляции эстрогенами экспрессии протоонкогена *MYB*. В регуляции экспрессии этого гена ключевую роль играет остановка в движении Пол II (Bender *et al.*, 1987; Watson, 1988). Однако в отличие от широко распространенной паузы вблизи промотора, которая может иметь определяющее значение для регуляции большого числа генов (Guenther *et al.*, 2007), в гене *MYB* остановка Пол II происходит на расстоянии 1,7 т.п.н. ниже старта транскрипции в интроне 1 (Thompson *et al.*, 1997). Предполагается, что эта остановка вызвана наличием в данном районе последовательности, потенциально способной формировать шпильно-петлевую структуру. Показано, что ER связывается с ДНК вблизи этого участка либо непосредственно, либо за счет контактов с неким другим белком и привлекает P-TEF-b, в результате чего усиливается фосфорилирование гептапептида в составе CTD самой большой субъединицы Пол II по остатку серина в позиции 2 и восстанавливается эффективная транскрипция (Mitra *et al.*, 2012).

Специфическое связывание ER с циклином T1 (субъединицей P-TEF-b) в условиях как *in vitro*, так и *in vivo* было подтверждено в работе Виттманна и соавт. (Wittmann *et al.*, 2005). Более того, на модельных системах ими был вскрыт механизм ингибирующего действия белка EDG1 (HEXIM1) на активацию транскрипции под действием эстрогенов. Этот белок является

известным ингибитором P-TEF-b и, соответственно, блокатором продуктивной элонгации (Dey *et al.*, 2007). Оказалось, что EDG1 конкурирует с ER за связывание с циклином T1 (субъединицей P-TEF-b) и таким образом ингибирует эстрогенную индукцию (Wittmann *et al.*, 2005).

Доказательства возможности участия ER в регуляции процесса элонгации в ходе транскрипции сотен генов были получены с помощью биоинформационного анализа результатов полногеномных экспериментов по иммунопреципитации хроматина (ChIP-seq) и изучения транскриптомов в клеточной линии MCF7 в контроле и при обработке эстрогенами. В результате сопоставления имеющихся данных было показано, что, хотя Пол II обнаруживается в промоторных районах многих генов-мишеней ER в отсутствие эстрогенов, гормональная обработка приводит к существенному повышению плотности Пол II на промоторах эстроген-индуцируемых генов и уменьшению этой плотности в районах промоторов генов, репрессируемых эстрогенами. Кроме того, в присутствии гормона в культуральной среде в случае эстроген-индуцируемых генов резко повышается синтез полноразмерных молекул пре-РНК по сравнению с продукцией коротких транскриптов, считываемых с прилежащих к промотору участков. При этом ER, как правило, колокализован с Пол II и P-TEF-b в промоторных районах (Osmanbeyoglu *et al.*, 2013). Таким образом, очевидно, что ER служит регулятором как инициации транскрипции, так и продуктивной элонгации.

Данные, свидетельствующие об участии в регуляции не только инициации синтеза мРНК, но и ее элонгации, получены также и для рецептора андрогенов (AR). Показано, что андрогены активируют экспрессию *PSA* (антиген, специфичный для простаты), который является геном-мишенью этих гормонов, за счет стимуляции процесса транскрипционной элонгации. Также установлено взаимодействие AR с протеинкиназной субъединицей P-TEF-b (Lee *et al.*, 2001).

NF-κB. Участие NF-κB в контроле элонгации транскрипции лучше всего изучено на примере гена, кодирующего интерлейкин 8. Методом иммунопреципитации хроматина была заре-

гистрирована колокализация NF-κB и P-TEF-b в промоторной области этого гена в клетках A549K9, обработанных TNFα, известным активатором IKK- NF-κB сигнального пути. Кроме того, было показано, что в присутствии NF-κB усиливается фосфорилирование CTD по остатку серина в положении 2 и Пол II вступает в стадию элонгации транскрипции IL-8. Был также установлен непосредственный контакт субъединицы NF-κB – RelA с P-TEF-b и показано, что так же, как и c-Myc, этот белок привлекает P-TEF-b к промоторным районам за счет связывания с циклиновыми боксами CysT1 (Barboric *et al.*, 2001; Nowak *et al.*, 2008). При этом оказалось, что для взаимодействия RelA с P-TEF-b необходимо фосфорилирование RelA по остатку серина в позиции 276 трансактиваторного домена этого белка, что, как было установлено ранее (Zhong *et al.*, 1998), требуется и для взаимодействия RelA с CPB/P300 и другими коактиваторами и, соответственно, активации транскрипции (Nowak *et al.*, 2008). Такой же механизм активации транскрипции обнаружен для другого гена-мишени NF-κB – *Gro-β* (Nowak *et al.*, 2008).

На примере генов *IL-8* и *ICAM1* был обнаружен очень интересный факт негативного влияния рецептора глюкокортикоидных гормонов (GR) на активируемую NF-κB экспрессию на стадии элонгации. Было показано, что GR, связываясь с димеризационным доменом RelA, препятствует фосфорилированию CTD самой большой субъединицы Пол II по остатку серина в позиции 2 и считыванию полноразмерных мРНК с этих генов (Nissen, Yamamoto, 2000). На основании полученных позднее данных (Barboric *et al.*, 2001; Nowak *et al.*, 2008) предполагается, что связывание GR мешает взаимодействию RelA с P-TEF-b (Diamant, Dikstein, 2013).

Ikaros. Экспрессирующийся в гемопоэтических клетках Ikaros является одним из транскрипционных факторов, осуществляющих регуляцию экспрессии генов β-глобинового локуса человека (Keys *et al.*, 2008), который включает гены ε-, Gγ-, Aγ-, β- и δ-глобинов и LCR (locus control region), расположенный на расстоянии 10 т.п.н. выше гена ε-глобина (Mahajan *et al.*, 2007). В эритроидных клетках желточного мешка эмбрионов трансгенных мышей, несущих полный β-глобиновый локус человека, Ikaros активирует транскрипцию гена

γ-глобинов (Bottardi *et al.*, 2011). Оказалось, что Ikaros принимает участие по крайней мере в трех процессах, необходимых для экспрессии этих генов. Прежде всего, установлено, что этот белок взаимодействует с транскрипционным фактором GATA1 и привлекает BRG1 (один из ключевых корегуляторов транскрипции эукариотических генов (Trotter, Archer, 2008)) одновременно к LCR и промоторным районам генов γ-глобинов, что обеспечивает контакт между этими отдаленными друг от друга областями (Kim *et al.*, 2009; Bottardi *et al.*, 2011). Показано также, что Ikaros способствует сборке преинициаторного комплекса за счет привлечения TBP (ТАТА-бокс связывающего белка – ведущей субъединицы базального фактора транскрипции TFIID) и Пол II к промоторам этих генов. Кроме того, Ikaros оказался необходимым и для превращения Пол II в способную к продуктивной элонгации форму. Это осуществляется за счет взаимодействия Ikaros с субъединицей P-TEF-b – протеинкиназой Cdk9, фосфорилирующей CTD самой большой субъединицы Пол II по остатку серина в положении 2 (Bottardi *et al.*, 2011).

Runx1. Регуляторные транскрипционные факторы могут не только стимулировать процесс продуктивной элонгации, но и блокировать его, ингибируя экспрессию гена посредством этого механизма. Помимо блокирования транскрипции генов *IL-8* и *ICAM1* рецептором глюкокортикоидных гормонов (Nissen, Yamamoto, 2000), еще одним примером может служить репрессия гена *CD4* транскрипционным фактором Runx1. Этот фактор является одним из ключевых регуляторов гематопоеза и ангиогенеза и служит активатором или репрессором множества генов (Маркова и др., 2012). В незрелых тимоцитах Runx1 подавляет экспрессию гена *CD4*, связываясь с двумя опознаваемыми им сайтами в сайленсере, расположенном в интроне 1 этого гена на расстоянии ~ 2 т.п.н. относительно старта транскрипции (Sawada *et al.*, 1994; Taniuchi *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 2005). Показано, что Runx1 способен связываться с CysT1 посредством своего ингибиторного домена и таким образом инактивировать P-TEF-b. В результате этого с гена *CD4* не считывается полноразмерная пре-мРНК и Пол II регистрируется только в районе промотора этого гена (Jiang *et al.*, 2005).

ОБСУЖДЕНИЕ

Транскрипционный цикл, осуществляемый Пол II, может быть разделен на 4 основные стадии: 1) образование преинициаторного комплекса на промоторе гена и инициацию транскрипции; 2) раннюю элонгацию; 3) продуктивную элонгацию и 4) терминацию транскрипции (рис.) (Nechaev, Adelman, 2011; Diamant, Dikstein, 2013). Избирательность процесса сборки преинициаторного комплекса на промоторах конкретных генов, в первую очередь, определяется строением их регуляторных районов, включающих те или иные наборы сайтов связывания для различных регуляторных факторов транскрипции. Эти факторы играют ведущую роль в тканеспецифичности экспрессии генов, а также обеспечении необходимого уровня их транскрипции в зависимости от стадии клеточной дифференцировки и внешних сигналов (Vaquerizas *et al.*, 2009; Меркулова и др., 2013; Zhang, Glass, 2013). Механизм действия регуляторных транскрипционных факторов на стадии инициации транскрипции заключается в привлечении к району промотора как базальных факторов транскрипции, так и различных коактиваторных, корепрессорных, медиаторных и хроматин-ремоделирующих комплексов, что в итоге формирует площадку для посадки Пол II и стимулирует начало транскрипции (Nechaev, Adelman, 2011; Меркулова и др., 2013; Poss *et al.*, 2013).

Переход от ранней элонгации к процессу синтеза полноразмерных пре-мРНК (преодоление ассоциированной с промотором паузы в движении Пол II) также является объектом строгого контроля со стороны регуляторных систем клетки (Lis *et al.*, 2000; Rahl *et al.*, 2010; Diamant, Dikstein, 2013; Saunders *et al.*, 2013). Поскольку в различных ситуациях такому контролю оказываются подвержены различные наборы генов, логично предполагать, что белки, способные опознавать определенные последовательности ДНК, т. е. идентифицировать гены, должны быть его неизменными участниками. Такими белками являются регуляторные ТФ. И действительно, для целого ряда этих белков (с-Мус, AIRE, ER, AR, GR, NF-κB, Ikaros, Runx1) показана вовлеченность в процесс регуляции элонгации пре-мРНК. Известные в насто-

ящее время механизмы такого участия сводятся к взаимодействию ТФ с позитивным фактором элонгации Р-TEFb, при этом для большинства факторов (с-Мус, AIRE, ER, AR, NF-κB, Ikaros) показано, что такое взаимодействие приводит к преодолению паузы в движении Пол II вдоль гена, но известны и случаи блокировки элонгации (Runx1). Тем не менее, можно предполагать, что механизмы участия ТФ в контроле процесса элонгации могут быть более разнообразными. В частности, показано, что связывание белка HSF с промоторными районами генов теплового шока *D. melanogaster* является необходимым, но недостаточным условием для привлечения Р-TEFb и преодоления ассоциированной с промотором паузы и эффективной транскрипции этих генов. На основании полученных данных авторы предполагают существование многоступенчатого процесса белок-белковых взаимодействий с участием неидентифицированных пока белков (Lis *et al.*, 2000; Guertin, Lis, 2010). Вторым примером является механизм преодоления ассоциированной с промотором паузы в процессе транскрипции гена CD80 мыши, когда после связывания NF-κB происходит последовательное привлечение к промотору коактиваторов Р/CAF, CBP и p300, и только после этого наблюдается присоединение Р-TEFb (Sharma *et al.*, 2007).

В целом, данных об участии регуляторных ТФ в регуляции стадии элонгации транскрипции пока немного. Однако, представляется очевидным, что это, главным образом, связано с существенными затратами и методическими трудностями в получении однозначных доказательств вовлеченности регуляторных ТФ в контролирование этого процесса. По-видимому, с накоплением данных о полногеномных картинах связывания как регуляторных транскрипционных факторов, так и позитивных и негативных факторов элонгации транскрипции и самой Пол II в различных ее состояниях, а также с развитием работ по детальному изучению формирующихся в ходе транскрипции белок-белковых взаимодействий число таких примеров будет непрерывно увеличиваться.

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта № VI.58.1.12.

ЛИТЕРАТУРА

- Маркова Е.Н., Петрова Н.В., Разин С.В., Кантидзе О.Л. Транскрипционный фактор Runx1 // Молекуляр. биология. 2012. Т. 46. № 6. С. 846–859.
- Меркулова Т.И., Ананько Е.А., Игнатьева Е.В., Колчанов Н.А. Регуляторные коды транскрипции геномов эукариот // Генетика. 2013. Т. 49. № 1. С. 37–54.
- Barboric M., Nissen R.M., Kanazawa S. *et al.* NF-kappaB binds P-TEFb to stimulate transcriptional elongation by RNA polymerase II // Mol. Cell. 2001. V. 8. P. 327–337.
- Bender T.P., Thompson C.B., Kuehl W.M. Differential expression of c-myc mRNA in murine B lymphomas by a block to transcription elongation // Science. 1987. V. 237. P. 1473–1476.
- Bottardi S., Zmiri F.A., Bourgoin V. *et al.* Ikaros interacts with P-TEFb and cooperates with GATA-1 to enhance transcription elongation // Nucl. Acids Res. 2011. V. 39. P. 3505–3519.
- Buganim Y., Faddah D.A., Jaenisch R. Mechanisms and models of somatic cell reprogramming // Nat. Rev. Genet. 2013. V. 14. P. 427–439.
- Charoensawan V., Wilson D., Teichmann S.A. Genomic repertoires of DNA-binding transcription factors across the tree of life // Nucl. Acids Res. 2010. V. 38. P. 7364–7377.
- Chen Y., Yamaguchi Y., Tsugeno Y. *et al.* DSIF, the Paf1 complex, and Tat-SF1 have nonredundant, cooperative roles in RNA polymerase II elongation // Genes Dev. 2009. V. 23. P. 2765–2777.
- DeLaForest A., Nagaoka M., Si-Tayeb K. *et al.* HNF4A is essential for specification of hepatic progenitors from human pluripotent stem cells // Development. 2011. V. 138. P. 4143–4153.
- Dey A., Chao S.H., Lane D.P. HEXIM1 and the control of transcription elongation: from cancer and inflammation to AIDS and cardiac hypertrophy // Cell Cycle. 2007. V. 6. P. 1856–1863.
- Diamant G., Dikstein R. Transcriptional control by NF-κB: elongation in focus // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1829. P. 937–945.
- Eberhardy S.R., Farnham P.J. c-Myc mediates activation of the cad promoter via a post-RNA polymerase II recruitment mechanism // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. P. 48562–48571.
- Eberhardy S.R., Farnham P.J. Myc recruits P-TEFb to mediate the final step in the transcriptional activation of the cad promoter // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. P. 40156–40162.
- Egloff S., Szczepaniak S.A., Dienstbier M. *et al.* The integrator complex recognizes a new double mark on the RNA polymerase II carboxyl-terminal domain // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 20564–20569.
- Fuda N.J., Ardehali M.B., Lis J.T. Defining mechanisms that regulate RNA polymerase II transcription *in vivo* // Nature. 2009. V. 461. P. 186–192.
- Fuda N.J., Lis J.T. A new player in Pol II pausing // EMBO J. 2013. V. 32. P. 1796–1808.
- Glover-Cutter K., Kim S., Espinosa J., Bentley D.L. RNA polymerase II pauses and associates with pre-mRNA processing factors at both ends of genes // Nat. Struct. Mol. Biol. 2008. V. 15. P. 71–78.
- Guenther M.G., Levine S.S., Boyer L.A. *et al.* A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells // Cell. 2007. V. 130. P. 77–88.
- Guertin M.J., Lis J.T. Chromatin landscape dictates HSF binding to target DNA elements // PLoS Genet. 2010. V. 6. e1001114.
- Hochheimer A., Tjian R. Diversified transcription initiation complexes expand promoter selectivity and tissue-specific gene expression // Genes Dev. 2003. V. 17. P. 1309–1320.
- Jiang H., Zhang F., Kurosu T., Peterlin B.M. Runx1 binds positive transcription elongation factor b and represses transcriptional elongation by RNA polymerase II: possible mechanism of CD4 silencing // Mol. Cell. Biol. 2005. V. 25. P. 10675–10683.
- Juven-Gershon T., Kadonaga J.T. Regulation of gene expression via the core promoter and the basal transcriptional machinery // Dev. Biol. 2010. V. 339. P. 225–229.
- Keys J.R., Tallack M.R., Zhan Y. *et al.* A mechanism for Ikaros regulation of human globin gene switching // Br. J. Haematol. 2008. V. 141. P. 398–406.
- Kim S.I., Bultman S.J., Kiefer C.M. BRG1 requirement for long-range interaction of a locus control region with a downstream promoter // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 2259–2264.
- Kwak H., Fuda N.J., Core L.J., Lis J.T. Precise maps of RNA polymerase reveal how promoters direct initiation and pausing // Science. 2013. V. 339. P. 950–953.
- Lee D.K., Duan H.O., Chang C. Androgen receptor interacts with the positive elongation factor P-TEFb and enhances the efficiency of transcriptional elongation // J. Biol. Chem. 2001. V. 27. P. 9978–9984.
- Lenasi T., Barboric M. P-TEFb stimulates transcription elongation and pre-mRNA splicing through multilateral mechanisms // RNA Biol. 2010. V. 7. P. 145–150.
- Lis J.T., Mason P., Peng J. *et al.* P-TEFb kinase recruitment and function at heat shock loci // Genes Dev. 2000. V. 14. P. 792–803.
- Lüscher B., Vervoorts J. Regulation of gene transcription by the oncoprotein MYC // Gene. 2012. V. 494. P. 145–160.
- Mahajan M.C., Karmakar S., Weissman S. Control of beta globin genes // J. Cell Biochem. 2007. V. 102. P. 801–810.
- Mandal S.S., Chu C., Wada T. *et al.* Functional interactions of RNA-capping enzyme with factors that positively and negatively regulate promoter escape by RNA polymerase II // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 7572–7577.
- Miltenberger R.J., Sukow K.A., Farnham P.J. An E-box-mediated increase in cad transcription at the G1/S-phase boundary is suppressed by inhibitory c-Myc mutants // Mol. Cell. Biol. 1995. V. 15. P. 2527–2535.
- Min I.M., Waterfall J.J., Core L.J. *et al.* Regulating RNA polymerase pausing and transcription elongation in embryonic stem cells // Genes Dev. 2011. V. 25. P. 742–754.
- Mitra P., Pereira L.A., Drabsch Y. *et al.* Estrogen receptor-α recruits P-TEFb to overcome transcriptional pausing in intron 1 of the MYB gene // Nucl. Acids Res. 2012. V. 40. P. 5988–6000.
- Nechaev S., Adelman K. Pol II waiting in the starting gates: Regulating the transition from transcription initiation into productive elongation // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1809. P. 34–45.
- Nissen R.M., Yamamoto K.R. The glucocorticoid receptor

- inhibits NF-kappaB by interfering with serine-2 phosphorylation of the RNA polymerase II carboxy-terminal domain // *Genes Dev.* 2000. V. 14. P. 2314–2329.
- Nowak D.E., Tian B., Jamaluddin M. *et al.* RelA Ser276 phosphorylation is required for activation of a subset of NF-kappaB-dependent genes by recruiting cyclin-dependent kinase 9/cyclin T1 complexes // *Mol. Cell. Biol.* 2008. V. 28. P. 3623–3638.
- Osmanbeyoglu H.U., Lu K.N., Oesterreich S. *et al.* Estrogen represses gene expression through reconfiguring chromatin structures // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. P. 8061–8071.
- Oven I., Brdicková N., Kohoutek J. *et al.* AIRE recruits P-TEFb for transcriptional elongation of target genes in medullary thymic epithelial cells // *Mol. Cell. Biol.* 2007. V. 27. P. 8815–8823.
- Peterlin B.M., Price D.H. Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb // *Mol. Cell.* 2006. V. 23. P. 297–305.
- Poss Z.C., Ebmeier C.C., Taatjes D.J. The Mediator complex and transcription regulation // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2013.
- Rahl P.B., Lin C.Y., Seila A.C. *et al.* c-Myc regulates transcriptional pause release // *Cell.* 2010. V. 141. P. 432–445.
- Roeder R.G. Transcriptional regulation and the role of diverse coactivators in animal cells // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. P. 909–915.
- Saunders A., Core L.J., Sutcliffe C. *et al.* Extensive polymerase pausing during *Drosophila* axis patterning enables high-level and pliable transcription // *Genes Dev.* 2013. V. 27. P. 1146–1158.
- Sawada S., Scarborough J.D., Killeen N., Littman D.R. A lineage-specific transcriptional silencer regulates CD4 gene expression during T lymphocyte development // *Cell.* 1994. V. 77. P. 917–929.
- Sharma M., George A.A., Singh B.N. *et al.* Regulation of transcript elongation through cooperative and ordered recruitment of cofactors // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 20887–20896.
- Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // *Cell.* 2006. V. 126. P. 663–676.
- Taniuchi I., Osato M., Egawa T. *et al.* Differential requirements for Runx proteins in CD4 repression and epigenetic silencing during T lymphocyte development // *Cell.* 2002. V. 111. P. 621–633.
- Taube R., Lin X., Irwin D. *et al.* Interaction between P-TEFb and the C-terminal domain of RNA polymerase II activates transcriptional elongation from sites upstream or downstream of target genes // *Mol. Cell Biol.* 2002. V. 22. P. 321–331.
- Thompson M.A., Flegg R., Westin E.H., Ramsay R.G. Microsatellite deletions in the c-myc transcriptional attenuator region associated with over-expression in colon tumour cell lines // *Oncogene.* 1997. V. 14. P. 1715–1723.
- Trotter K.W., Archer T.K. The BRG1 transcriptional coregulator // *Nucl. Recept. Signal.* 2008. V. 6. e004.
- Vaquerizas J.M., Kummerfeld S.K., Teichmann S.A., Luscombe N.M. A census of human transcription factors: function, expression and evolution // *Nat. Rev. Genet.* 2009. V. 10. P. 252–263.
- Watson R.J. A transcriptional arrest mechanism involved in controlling constitutive levels of mouse c-myc mRNA // *Oncogene.* 1988. V. 2. P. 267–272.
- Wernig M., Meissner A., Foreman R. *et al.* *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state // *Nature.* 2007. V. 448. P. 318–324.
- White U.A., Stephens J.M. Transcriptional factors that promote formation of white adipose tissue // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010. V. 318. P. 10–14.
- Wittmann B.M., Fujinaga K., Deng H., Ogba N., Montano M.M. The breast cell growth inhibitor, estrogen down regulated gene 1, modulates a novel functional interaction between estrogen receptor alpha and transcriptional elongation factor cyclin T1 // *Oncogene.* 2005. V. 24. P. 5576–5588.
- Yamaguchi Y., Shibata H., Handa H. Transcription elongation factors DSIF and NELF: promoter-proximal pausing and beyond // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1829. P. 98–104.
- Zhang D., Glass C. Towards an understanding of cell-specific functions of signal-dependent transcription factors // *J. Mol. Endocrinol.* 2013.
- Zhang H.M., Chen H., Liu W. *et al.* Animal TFDB: a comprehensive animal transcription factor database // *Nucl. Acids Res.* 2012. V. 40. P. D144–149.
- Zhong H., Voll R.E., Ghosh S. Phosphorylation of NF-kappa B p65 by PKA stimulates transcriptional activity by promoting a novel bivalent interaction with the coactivator CBP/p300 // *Mol. Cell.* 1998. V. 1. P. 661–671.
- Zumer K., Saksela K., Peterlin B.M. The mechanism of tissue-restricted antigen gene expression by AIRE // *J. Immunol.* 2013. V. 190. P. 2479–2482.

REGULATORY TRANSCRIPTION FACTORS MAY PARTICIPATE IN POST-INITIATION CONTROL OF TRANSCRIPTION

V.M. Merkulov, T.I. Merkulova

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: merkti@niboch.nsc.ru

Summary

Sequence-specific (regulatory) transcription factors selectively regulate the transcription levels of different sets of eukaryotic genes depending on cell type, developmental stage, and external signals. Recruitment of the RNA-polymerase II transcription initiation apparatus to promoters by regulatory transcription factors is generally recognized as the key mechanism responsible for transcription control by these proteins. However, recent data indicate that regulatory transcription factors may also be involved in transcription elongation control. These data are summarized here.

Key words: RNA-polymerase II, promoter-proximal pausing, transcription factors, positive transcription elongation factor b (P-TEFb).

УДК 576.32/.36

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА СПЕРМАТОЗОИДОВ И ФИБРОБЛАСТОВ МЫШИ МЕТОДОМ Hi-C

© 2014 г. Н.Р. Баттулин^{1,2}, В.С. Фишман^{1,2}, А.А. Хабарова¹,
М.Ю. Помазной¹, Т.А. Шнайдер^{1,2}, Д.А. Афонников^{1,2}, О.Л. Серов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия,
e-mail: battulin@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 10 сентября 2013 г. Принята к публикации 22 ноября 2013 г.

Пространственная организация генома эукариот играет важную роль в регуляции активности генов. Недавно разработанный метод Hi-C позволяет изучать хромосомные контакты в масштабе всего генома, однако до сих пор Hi-C не применялся для исследования пространственной организации генома половых клеток. В данной работе мы создали Hi-C ДНК-библиотеки из сперматозоидов и фибробластов мыши, а также оценили качество полученных библиотек. В результате работы показано, что метод Hi-C можно применять для исследования пространственной организации плотно упакованного генома сперматозоидов.

Ключевые слова: трехмерная организация генома, Hi-C, половые клетки, соматические клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Пространственная организация генома эукариот играет важную роль в регуляции активности генов. До недавнего времени единственной возможностью исследования пространственной организации генома в ядре клеток было использование методов световой и электронной микроскопии. Несмотря на то что многие фундаментальные основы архитектуры ядра были открыты при помощи именно этих методик, микроскопия имеет ряд серьезных недостатков, ограничивающих получение новых знаний об организации генома. Среди таких ограничений можно выделить невозможность привязки микроскопических структур к конкретным последовательностям в масштабе всего генома, а также не достаточно высокое пространственное разрешение. Однако в последнее время активно развивались молекулярно-биологические методы, позволяющие реконструировать физические контакты разных районов хромосом. Первым

методом для исследования пространственного взаимодействия двух специфических районов генома без привлечения микроскопии был метод 3C (chromosome conformation capture – захват конформации хромосом) (Dekker *et al.*, 2002). Позже на основе метода 3C было разработано целое семейство методов исследования пространственной организации генома (см. обзор (Баттулин и др., 2012)). В 2009 г. появилась модификация метода 3C, позволяющая картировать хромосомные контакты в масштабе всего генома, метод получил название Hi-C (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009). Метод Hi-C дает возможность исследования новых аспектов организации и функционирования генома соматических и стволовых клеток. Так, было показано, что геном в клетках млекопитающих организован в так называемые «топологические домены» – протяженные участки хромосом, для которых характерно большое количество внутридоменных контактов. Причем характер распределения топологических доменов по ге-

ному остается одним и тем же и в соматических клетках (фибробласты и нейроны головного мозга), и в эмбриональных стволовых клетках. Более того, топологические домены эволюционно консервативны и не отличаются у человека и мыши. Таким образом, организация в топологические домены, по-видимому, представляет собой фундаментальную характеристику генома млекопитающих (Kalhor *et al.*, 2012). Проведение подобных полногеномных исследований стало возможным лишь в последние 5 лет, и пока остаются неизвестными механизмы, поддерживающие и устанавливающие структуру топологических доменов. Возможно, что общие принципы пространственной организации генома устанавливаются на самых ранних стадиях развития, или же они уже существуют в геноме половых клеток при оплодотворении.

Известно, что у млекопитающих организация генетического материала сперматозоидов сильно отличается от организации генома соматических клеток. Для уменьшения размера сперматозоида при его созревании происходят специальные преобразования, которые, в первую очередь, касаются ядра. Ядро уплотняется за счет уникального механизма конденсации хроматина, при котором из ядра практически полностью удаляются гистоны, а ДНК связывается с особыми белками – протаминами. Стоит подчеркнуть, что ни одна из молекулярно-биологических методик определения взаимодействующих районов ДНК не применялась на половых клетках, в частности сперматозоидах, поэтому неизвестно, выполняются ли общие принципы пространственной организации генома, обнаруженные у соматических клеток, в геноме сперматозоидов. Поэтому определение взаимодействующих районов ДНК в ядре сперматозоида является актуальной научной задачей.

ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА В СПЕРМАТОЗОИДАХ

В отличие от всех других клеточных типов, большинство локусов ДНК в ядре сперматозоидов связаны не с гистонами, а с другими белками – протаминами. Протамины представляют собой относительно небольшие положительно заряженные белки. У большинства исследованных

млекопитающих «традиционная» гистоновая укладка хроматина в сперматозоиде сохраняется лишь в небольшой (порядка 1 %) части генома. Интересно, что человек выбивается из общего правила, по некоторым данным, от 10 до 15 % генома сперматозоидов человека имеют гистоновую упаковку (Bench *et al.*, 1996; Gatewood *et al.*, 1990; Wykes, Krawetz, 2003). Специфическую упаковку генома сперматозоиды приобретают по мере созревания. Реорганизация и компактизация хроматина, по-видимому, происходят сходным образом у всех млекопитающих. По мере созревания сперматозоида хроматин переходит из «открытого» активного состояния к очень компактному, электронно-плотному, полностью неактивному состоянию. Все наши современные знания о тонкой организации генома сперматозоидов получены на основе данных электронной и атомно-силовой микроскопии. Так, по данным электронной микроскопии, ДНК в сперматиде организована типичным для соматических клеток способом, т. е. формирует ~ 11 нм узелки и 30 нм фибриллы (Horowitz *et al.*, 1994). Позднее такая структура преобразуется в фибриллы диаметром 50–100 нм, значительно больше нуклеосом. По мере дальнейшей конденсации хроматина эти фибриллы объединяются и становятся настолько плотными, что не могут быть разрешены методами электронной микроскопии. Более глубокий анализ структуры ДНК зрелых сперматозоидов возможен только при применении специальных методов деконденсации хроматина. Исследование частично деконденсированного хроматина сперматозоидов методами электронной микроскопии показало существование двух типов структурных единиц различного размера. Первый тип имеет характерный размер порядка нуклеосомы (цилиндр с диаметром ~ 10 нм и высотой ~ 5 нм), второй имеет форму тора с диаметром 60–100 нм, толщиной в 20 нм и с отверстием в центре. Интересно, что тороиды, с помощью которых компактизируются участки ДНК около 50 т.п.н., *in vitro* образуются спонтанно при смешивании ДНК и протаминов (Brewer *et al.*, 1999).

Тем не менее такие структурные особенности хроматина соматических клеток, как хромосомные территории, петлевые домены и районы прикрепления к матриксу (matrix attachment regions, MAR), по-видимому, сохраняются и в

хроматине сперматозоидов даже после замены гистонов и общей конденсации хроматина. FISH с использованием хромосомоспецифических зондов показала наличие хромосомных территорий в ядре зрелого сперматозоида человека (Zalenskaya *et al.*, 2004). Стоит подчеркнуть, что описанные структуры были открыты методами микроскопии и до сих пор нет данных, позволяющих связать эти структуры с конкретными последовательностями ДНК в масштабе всего генома. Поэтому не известно, сохраняется ли типичная для соматических и стволовых клеток пространственная организация генома с помощью топологических доменов (Dixon *et al.*, 2012) в сперматозоидах.

До настоящего времени не было опубликовано работ по исследованию пространственной организации генома в сперматозоидах 3С методами. Поэтому остается неизвестным, возможно ли исследование очень плотного хроматина сперматозоидов методами 3С. В данной работе мы создали Hi-C ДНК-библиотеки из сперматозоидов и фибробластов мыши, а также оценили качество полученных библиотек. В результате работы показано, что метод Hi-C можно применять для исследования пространственной организации плотноупакованного генома сперматозоидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приготовление библиотеки взаимодействующих районов ДНК проводили по методике, описанной ранее (Kalhor *et al.*, 2012), с модификациями. Подвижные сперматозоиды выделяли из придатков семенника мышей линии C57/bl по методике, описанной Brykczynska с соавт. (2010). Выделенные подвижные сперматозоиды фиксировали в суспензии, а затем собирали центрифугированием, как описано Belton с соавт. (2012). Эмбриональные фибробласты выделяли из 12,5-дневных эмбрионов мыши линии C57/bl, как описано в работе Kruglova с соавт. (2010). Фиксацию фибробластов проводили в прикрепленном к культуральному пластику состоянии, как описано Belton с соавт. (2012), затем собирали скрепером. Для дальнейших процедур использовали образцы, содержащие по 25 млн фиксированных клеток. Лизис клеток, иммобилизацию хроматина на магнитных шариках и обработку хроматина

эндонуклеазой рестрикции *Hind*III проводили по методике, описанной Kalhor с соавт. (2012). Для достраивания липких концов ДНК использовали смесь дезоксинуклеозид-5'-трифосфатов dATP, dTTP, dGTP и biotin-14-dCTP. Лигирование сближенных в пространстве концов молекул ДНК проводили по методике, описанной ранее (Kalhor *et al.*, 2012). Удаление биотинилированных нуклеотидов с концов молекул ДНК, не участвовавших в лигировании, проводили с помощью T4 полимеразы по методике, описанной Belton с соавт. (2012). После обработки T4 полимеразой проводили оценку качества ДНК библиотеки. Наличие признаков деградации ДНК проверяли при помощи электрофореза в 0,8 %-м агарозном геле. Наличие продуктов лигирования сближенных в пространстве концов молекул ДНК проверяли полимеразной цепной реакцией с праймерами mGAPDH3 TATCAA GGGTGCCCGTCACCTTCAGC и mGAPDH4 GGGCTTTTATAGCACGGTTATAAAGT, условия проведения ПЦР описаны Belton с соавт. (2012). Подготовку ДНК-библиотек к секвенированию и секвенирование проводили, как описано Kalhor с соавт. (2012). Секвенирование проводили на платформе Illumina GAII.

Обработка данных секвенирования

Первичные данные массового параллельного секвенирования (МПС) в формате fastq после слияния парных ридов (листинг скрипта для слияния парных ридов доступен по запросу) были проанализированы с использованием библиотек hiclib и mirnylib, разработанных Imakaev *et al.*, 2012 (исходный код доступен по адресу: <https://bitbucket.org/mirnylab/hiclib>). Для запуска скриптов использовался вычислительный кластер Новосибирского государственного университета (<http://www.nusc.ru/>) под управлением ОС SUSE Linux Enterprise Server 11. Для картирования последовательностей, полученных в результате секвенирования, была использована версия генома *Mus musculus* mm9 (доступно для скачивания на сайте <http://genome.ucsc.edu/index.html>). Картирование было проведено программой Bowtie. Для анализа результатов картирования использовались данные лог-файлов программы Bowtie и пакета hiclib, а также данные размера базы данных fragment_dataset.hdf5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Создание и проверка качества ДНК-библиотек Hi-C

Для того чтобы показать, возможно ли использование метода Hi-C для исследования пространственной организации генома сперматозоидов, мы приготовили ДНК-библиотеки методом Hi-C из сперматозоидов и фибробластов мыши. Эмбриональные фибробласты мыши были выбраны в качестве контрольной линии соматических клеток. Для приготовления Hi-C библиотеки мы использовали модификацию метода Hi-C, названную «связанный конформационный захват» (tethered conformation capture). Связанный конформационный захват позволяет уменьшить вероятность появления артефактных последовательностей в библиотеке Hi-C по сравнению с традиционным методом (Kalhor *et al.*, 2012).

Проверка качества полученных библиотек является важным этапом работы, поскольку массовое параллельное секвенирование является дорогостоящей процедурой. Без привлечения секвенирования судить о качестве библиотек можно по таким параметрам, как: 1) отсутствие признаков деградации ДНК; 2) наличие продуктов лигирования сближенных в пространстве молекул ДНК.

Важной характеристикой ДНК-библиотеки Hi-C является длина молекул ДНК в библио-

теке. Распределение длин фрагментов в ДНК-библиотеках определяли электрофорезом в 0,8 % агарозном геле, результаты представлены на рис. 1, а. Видно, что основная масса библиотеки представлена молекулами длиной более 10 000 п.н. При этом доля коротких фрагментов (менее 3 000 п.н.) незначительна, что говорит о высоком качестве библиотек. То есть молекулы ДНК не подвергались деградации при приготовлении библиотек. Деградация Hi-C библиотек может происходить по различным причинам, таким как фрагментация ДНК во время гомогенизации клеток, недостаточное количество ингибиторов протеаз на стадии лизиса клеток, термическая деградация при растворении хроматина, переваривание специфическими нуклеазами, присутствующими в клетках. В любом случае деградация молекул ДНК приводит к увеличению количества артефактных взаимодействий в получаемых данных, а значит, резко снижает их качество.

В Hi-C библиотеке информацию о пространственном расположении молекул ДНК в ядре несут молекулы, являющиеся продуктами лигирования сближенных в пространстве концов ДНК. Формирование таких продуктов лигирования является результатом трех ферментативных реакций: расщепление ДНК эндонуклеазой рестрикции, достраивание образовавшихся липких концов ДНК полимеразой и лигированием концов ДНК (Lieberman-Aiden *et al.*, 2009). Недостаточная эффективность про-

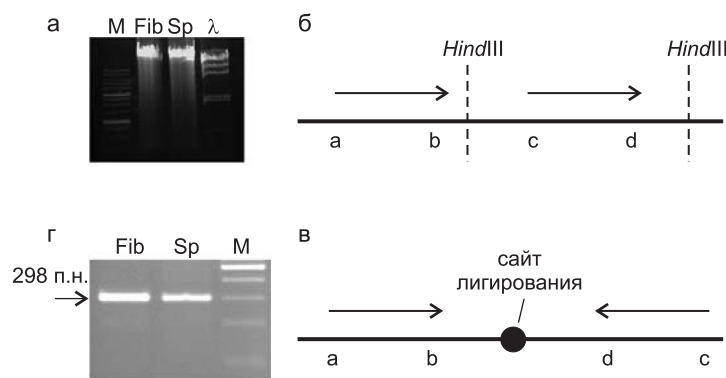


Рис. 1. Проверка качества Hi-C ДНК библиотек фибробластов и сперматозоидов мыши.

а – электрофореграмма Hi-C библиотек в 0,8 %-м агарозном геле. Fib – Hi-C библиотека фибробластов, Sp – Hi-C библиотека сперматозоидов, M – маркер длины 1000 bp, λ – ДНК фага λ, гидролизованная эндонуклеазой *Hind*III; б – схема ориентации сайтов отжига праймеров для 3С ПЦР в геноме; в – схема ориентации сайтов отжига праймеров для 3С ПЦР после приготовления Hi-C библиотеки; г – результаты 3С-ПЦР, ожидаемый размер продукта амплификации – 298 п.н. Fib – Hi-C библиотека фибробластов, Sp – Hi-C библиотека сперматозоидов, M – маркер длины 100 bp.

хождения любой из этих реакций может привести к невозможности получения качественных результатов, поэтому важно показать наличие продуктов лигирования в ДНК-библиотеке до проведения секвенирования. Для проверки наличия в библиотеке продуктов лигирования сближенных в пространстве молекул ДНК мы провели стандартную 3С-ПЦР для участка гена *Gapdh* мыши. На рис. 1, б, в представлены схемы ориентации сайтов отжига праймеров в геноме (рис. 1, б) и после приготовления Hi-C библиотеки (рис. 1, в). Как видно из схемы, при использовании данной пары праймеров продукт ПЦР может получиться только при лигировании смежных рестрикционных фрагментов. ПЦР с использованием праймеров *Gapdh3-Gapdh4* показал присутствие ожидаемого фрагмента в обеих библиотеках (рис. 1, г). Следовательно, все этапы приготовления библиотек прошли успешно, библиотеки готовы к проведению массового параллельного секвенирования.

Секвенирование библиотек проводили на платформе Illumina GAII по методике парного секвенирования (paired-end sequencing) с длиной прочтения 50 п.н. В результате было получено 119,35 млн ридов для Hi-C библиотеки сперматозоидов и 153,37 млн ридов для Hi-C библиотеки эмбриональных фибробластов мыши (рис. 2). Для того что-

бы оценить качество полученных данных, все дальнейшие манипуляции с данными секвенирования выполнялись параллельно с данными по секвенированию Hi-C библиотеки эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), опубликованными ранее (Dixon *et al.*, 2012). Далее проводили картирование ридов на геном мыши. Левый и правый концы каждого рида (5' и 3' соответственно) картировали отдельно по методике, описанной в работе Имакаева с соавт. (Imakaev *et al.*, 2012). Количество достоверно картированных ридов для каждой из библиотек представлено на рис. 2. Далее проводили фильтрацию картированных ридов от артефактных последовательностей, которые могли возникнуть на этапе приготовления ДНК библиотек и которые не несут информации о пространственной конфигурации молекул ДНК. В результате из дальнейшего анализа были исключены риды, картированные только с одной из сторон, риды, возникшие в результате замыкания в кольцо отдельного фрагмента ДНК, и риды, картированные далеко от сайта узнавания *HindIII* в геноме. Фильтрацию проводили по методике, описанной в работе Имакаева с соавт. (Imakaev *et al.*, 2012). Количество ридов, картированных с двух сторон и прошедших фильтрацию, представлено на рис. 2. Именно данные, прошедшие фильтрацию, несут информацию

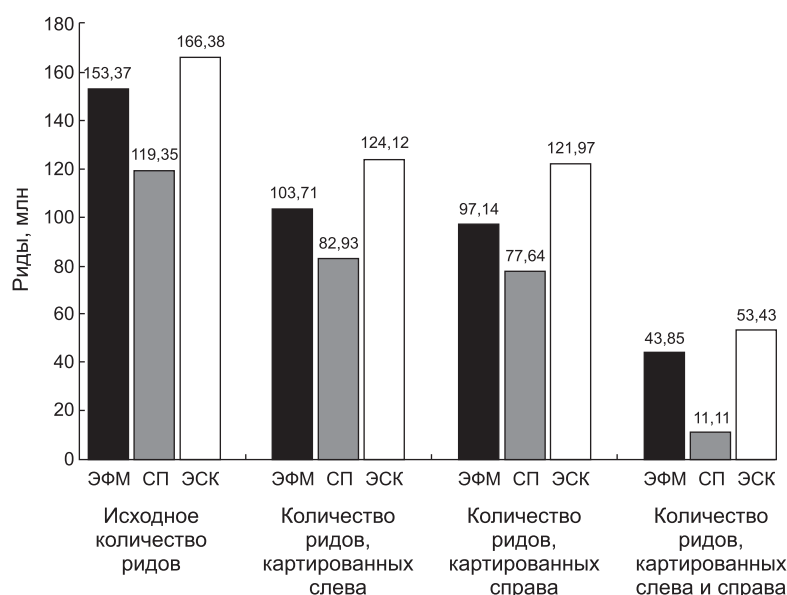


Рис. 2. Изменение количества ридов библиотек Hi-C по мере прохождения этапов обработки данных.

ЭФМ – данные для Hi-C библиотеки фибробластов; СП – сперматозоидов; ЭСК – эмбриональных стволовых клеток.

о пространственной организации исследуемого генома. Можно отметить, что доля качественных данных в разных библиотеках неодинакова. Так, для Hi-C библиотеки фибробластов доля ридов, картированных с двух сторон и прошедших фильтрацию, составляет ~ 29 %, для Hi-C библиотеки сперматозоидов ~ 9 %, а для Hi-C библиотеки ЭСК ~ 32 %. По-видимому, более плотная укладка генома сперматозоидов приводит к возникновению большего количества артефактных последовательностей в процессе приготовления Hi-C библиотеки, что уменьшает долю информативных ридов в исходных данных. Однако можно сделать вывод, что плотная укладка генома сперматозоида, тем не менее, не препятствует получению качественных данных с помощью метода Hi-C.

Для того чтобы оценить, насколько полно полученные данные отражают реальную картину пространственной конфигурации генома, важно понять, насколько полно полученные данные покрывают геном. Всего в геноме мыши около 840 000 рестрикционных фрагментов *HindIII*. Мы оценили количество рестрикционных фрагментов *HindIII*, для которых была получена информация об их пространственных взаимодействиях. Для Hi-C библиотеки фибробластов количество таких фрагментов *HindIII* составило около 760 000, для Hi-C библиотеки сперматозоидов – 730 000, для контрольных данных по ЭСК – 770 000. Поскольку не все фрагменты можно картировать, например, фрагменты в районе повторов ДНК не поддаются однозначному картированию, а некоторые фрагменты плохо секвенируются из-за особенностей первичной структуры ДНК, то естественно, что в полученных данных мы не можем увидеть все фрагменты *HindIII*. Однако факт, что в полученных данных и для фибробластов, и для сперматозоидов имеется информация о пространственных взаимодействиях значительной части фрагментов *HindIII*, позволяет заключить, что полученные данные достаточно полно покрывают весь геном.

Еще одна важная характеристика данных Hi-C – это количество взаимодействий между различными фрагментами генома. Если предположить, что каждый рестрикционный фрагмент может взаимодействовать с любым другим рестрикционным фрагментом, то получится бо-

лее 10^{11} различных вариантов таких взаимодействий. Мы оценили количество различных взаимодействий в полученных данных. Для Hi-C библиотеки фибробластов число уникальных взаимодействий составило около 36,3 млн, для Hi-C библиотеки сперматозоидов – 9,12 млн, для контрольных данных по ЭСК – 49,54 млн. Видно, что реальное число взаимодействий, наблюдаемое в эксперименте, значительно ниже теоретически возможного, поскольку, вероятно, не все они существуют *in vivo*. Кроме того, для того чтобы наблюдать в данных 10^{11} возможных комбинаций взаимодействий, необходимо секвенировать Hi-C библиотеку с глубиной не менее чем 10^{11} ридов, что невозможно на современном уровне развития технологии секвенирования. Однако можно сделать вывод, что количество уникальных взаимодействий фрагментов генома в полученных данных для фибробластов и сперматозоидов по порядку величины незначительно отличается от количества уникальных взаимодействий фрагментов генома для опубликованных данных по ЭСК (Dixon *et al.*, 2012). А значит, полученных данных достаточно для исследования общих принципов пространственной организации генома половых и соматических клеток.

Таким образом, мы впервые применили метод Hi-C для получения ДНК-библиотеки взаимодействующих районов генома сперматозоида. Было показано, что применение методики приготовления ДНК библиотеки взаимодействующих районов генома методом Hi-C позволяет получать качественные данные для исследования пространственной организации генома сперматозоидов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, № 2012-1.2.1-12-000-1013-014 соглашение № 8095, а также при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-31367 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

Баттулин Н.Р., Фишман В.С., Орлов Ю.Л. и др. 3С-методы в исследованиях пространственной организации ге-

- нома // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 4/2. С. 872–878.
- Belton J.-M., McCord R.P., Gibcus J.H. *et al.* Hi-C: A comprehensive technique to capture the conformation of genomes // *Methods*. 2012. V. 58. No. 3. P. 268–276.
- Bench G.S., Friz A.M., Corzett M.H. *et al.* DNA and total protamine masses in individual sperm from fertile mammalian subjects // *Cytometry*. 1996. V. 23. No. 4. P. 263–271.
- Brewer L.R., Corzett M., Balhorn R. Protamine-induced condensation and decondensation of the same DNA molecule // *Science*. 1999. V. 286. No. 5437. P. 120–123.
- Brykczynska U., Hisano M., Erkek S. *et al.* Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010. V. 17. No. 6. P. 679–587.
- Dekker J., Rippe K., Dekker M. *et al.* Capturing chromosome conformation // *Science*. 2002. V. 295. P. 1306–1311.
- Dixon J.R., Selvaraj S., Yue F. *et al.* Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions // *Nature*. 2012. V. 485. P. 376–380.
- Gatewood J.M., Cook G.R., Balhorn R. *et al.* Isolation of four core histones from human sperm chromatin representing a minor subset of somatic histones // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. No. 33. P. 20662–20666.
- Horowitz R.A., Agard D.A., Sedat J.W. *et al.* The three-dimensional architecture of chromatin in situ: electron tomography reveals fibers composed of a continuously variable zig-zag nucleosomal ribbon // *J. Cell. Biol.* 1994. V. 125. No. 1. P. 1–10.
- Imakaev M., Fudenberg G., McCord R.P. *et al.* Iterative correction of Hi-C data reveals hallmarks of chromosome organization // *Nat. Meth.* 2012. V. 9. P. 999–1003.
- Kalhor R., Tjong H., Jayatilaka N. *et al.* Genome architectures revealed by tethered chromosome conformation capture and population-based modeling // *Nat. Biotechnol.* 2012. V. 30. P. 90–98.
- Kruglova A.A., Matveeva N.M., Gridina M.M. *et al.* Dominance of parental genomes in embryonic stem cell/fibroblast hybrid cells depends on the ploidy of the somatic partner // *Cell Tissue Res.* 2010. V. 340. No. 3. P. 437–450.
- Lieberman-Aiden E., van Berkum N.L., Williams L. *et al.* Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome // *Science*. 2009. V. 326. P. 289–293.
- Wykes S.M., Krawetz S.A. The structural organization of sperm chromatin // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. No. 32. P. 29471–29477.
- Zalenskaya I.A., Zalensky A.O. Non-random positioning of chromosomes in human sperm nuclei // *Chromosome Res.* 2004. V. 12. No. 2. P. 163–173.

INVESTIGATION OF THE SPATIAL GENOME ORGANIZATION OF MOUSE SPERM AND FIBROBLASTS BY THE Hi-C METHOD

N.R. Battulin^{1,2}, V.S. Fishman^{1,2}, A.A. Khabarova¹, M.Yu. Pomaznoy¹,
T.A. Shnaider^{1,2}, D.A. Afonnikov^{1,2}, O.L. Serov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: battulin@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

The spatial organization of an eukaryotic genome plays an important role in the control of nuclear gene expression. The new Hi-C method allows investigation of the three-dimensional architecture of whole genomes. It has not been applied to study of the spatial configuration of a germ cell genome hitherto. Here we describe a protocol for production and quality control of Hi-C libraries from fibroblasts and sperm cells. Our results demonstrate that the Hi-C method can be used for studying the spatial organization of the densely packed sperm genome.

Key words: spatial genome organization, Hi-C, germ cells, somatic cells.

УДК 57.052:57.053:577.25:612.829

ИНДУКЦИЯ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ИНГИБИРОВАНИЕМ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ РЕВЕРСИРУЕТ ФОРМИРОВАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У ПЛОХО ОБУЧАЮЩИХСЯ ЖИВОТНЫХ С ДИСФУНКЦИЕЙ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ

© 2014 г. О.В. Воробьева, Л.Н. Гринкевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru

Поступила в редакцию 5 декабря 2013 г. Принята к публикации 16 января 2014 г.

Одной из актуальных задач нейробиологии является изучение механизмов формирования долговременной памяти и поиск путей ее улучшения. Удобной моделью для этих целей являются животные с нарушенным функционированием серотонинергической системы. Так, выключение серотонинергических нейронов введением нейротоксина 5,7-ДОТ приводит к неспособности моллюска *Helix* к образованию условного оборонительного рефлекса пищевой аверзии. Причем нами было показано, что в формирование пищевой аверзии вовлекаются эпигенетические процессы, в частности ацетилирование и метилирование гистонов, а их нарушение делает животных неспособными к формированию долговременной памяти. Целью данной работы являлось исследование возможности реверсии формирования долговременной памяти у ДОТ-обработанных животных через индукцию процессов ацетилирования. Было показано, что введение ингибиторов гистондеацетилаз NaB и Трихостатина А значительно увеличивает способность ДОТ-обработанных животных к формированию рефлекса пищевой аверзии. Полученные данные свидетельствуют о важной роли серотонина в эпигенетических процессах, лежащих в основе формирования данного вида долговременной памяти, и возможности через индукцию процессов ацетилирования существенно улучшать ее характеристики. Модель «нейродегенерации», полученная на основе выключения серотонинергических нейронов, может быть полезной для дальнейшего изучения эпигенетических механизмов нарушения долговременной памяти и скрининга веществ, влияющих на ее формирование.

Ключевые слова: эпигенетика, ацетилирование гистонов, серотонин, память, моллюск *Helix*, нейротоксин 5,7-ДОТ, ингибиторы гистондеацетилаз NaB, TSA.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных задач нейробиологии является изучение механизмов формирования долговременной памяти и поиск путей ее улучшения. В последние годы в этой области наметился существенный прогресс, в значительной мере связанный с открытиями в области эпигенетики. Наибольший интерес исследователей прикован к ацетилированию гистонов, так как ацетилирование приводит к индукции экспрессии генов, вовлекаемых в формирова-

ние нейрональной пластичности, а нарушение ацетилирования лежит в основе ряда нейродегенеративных патологий, сопровождающихся значительным ухудшением памяти (Wood *et al.*, 2006; Fischer *et al.*, 2007; Abel, Zukin, 2008). Уровень ацетилирования гистонов контролируется ферментами гистонацетилтрансферазами (HAT) и гистондеацетилазами (HDAC) (de Ruijter *et al.*, 2003; Sweatt, 2009). HAT катализируют перенос ацетильной группы с ацетил-КоА на лизинового остаток белков, обладают специфичностью по ацетилированию различных сайтов гистонов

(Jin *et al.*, 2011) и, кроме того, участвуют в ацетилировании ряда негистоновых белков, в том числе транскрипционных факторов (ТФ), таких как p53, GATA-1, Myo-D и NFkB (Spange *et al.*, 2009). При этом ацетилирование увеличивает ДНК-связывающую активность ТФ и, соответственно, индуцирует транскрипцию. Гистондеацетилазы контролируют деацетилирование и также отличаются значительным разнообразием. HDACs класса I (1,2,3,8) – это ядерные белки, которые экспрессируются повсеместно. HDACs класса II (4,5,6,7,9,10) экспрессируются ткане- и клеточно-специфично и курсируют между ядром и цитоплазмой (de Ruijter *et al.*, 2003). Оба класса HDACs важны для работы нервной системы. Показано, что HDACs вовлекаются в регуляцию синаптической пластичности и формирование долговременной памяти (Alarson *et al.*, 2004; Korzus *et al.*, 2004). И, как обнаружено буквально в последние годы, при этом наблюдается избирательное вовлечение различных HDACs в формирование разных видов условных и безусловных рефлексов (Guan *et al.*, 2009; Bahari-Javan *et al.*, 2012; Mungenast, Tsai, 2012; Sando *et al.*, 2012).

В настоящее время ведутся интенсивные исследования, направленные на возможность через индукцию процессов ацетилирования (путем применения блокаторов гистондеацетилаз) влиять на ментальные характеристики (Fischer *et al.*, 2007; Abel, Zukin, 2008). Исторически ингибиторы HDACs начали впервые применять для лечения раковых заболеваний у людей. Эти ингибиторы задерживают клеточный рост и индуцируют дифференцировку (Ververis *et al.*, 2013). Для блокирования HDACs используют бутираты, вальпроевую кислоту, а также Трихостатин А (ТСА) и SAHA, которые обладают некоторой специфичностью эффекта по отношению к определенным классам HDACs и различной проникающей способностью через гематоэнцефалический барьер. Показана принципиальная возможность применения ингибиторов HDACs для улучшения ментальных характеристик при заболеваниях, в патогенезе которых лежат эпигенетические нарушения, в том числе болезни Хантингтона, Паркинсона, Альцгеймера, ишемические инсульты, депрессия и шизофрения (Abel, Zukin, 2008). Высказываются оптимистические прогнозы

и по возможности применения блокаторов HDACs для улучшения ментальных процессов, нарушенных при старении (Peleg *et al.*, 2010). В этих областях в данное время ведутся широкомасштабные исследования. Однако в связи со сложностью устройства ЦНС и регуляторных систем, вовлеченных в индукцию экспрессии генов, полученные данные часто носят фрагментарный и противоречивый характер.

Существенную роль в изучении молекулярных механизмов долговременной памяти сыграли животные с простыми нервными системами, в том числе моллюски. Применение модели фасилитации синаптической связи между нейронами моллюска *Aplysia* в культуре позволило открыть и описать ряд базовых механизмов пластичности, в том числе показать важную роль ацетилирования гистонов в формировании долговременной памяти (Guan *et al.*, 2002; Levenson, Sweatt, 2006; Kandel, 2012).

Нами в качестве модели обучения используется выработка условного оборонительного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix lucorum*. Было показано, что значительную роль в формировании этого рефлекса играют ацетилирование и метилирование гистона H3 (Danilova *et al.*, 2010; Danilova, Grinkevich, 2012; Гринкевич, 2012а, б), а также ацетилирование ряда негистоновых белков (Данилова и др., 2010). При этом ацетилирование индуцируется через внутриклеточный регуляторный каскад MAPK/ERK, который в свою очередь активируется медиатором серотонином (Grinkevich *et al.*, 2008; Danilova *et al.*, 2010; Гринкевич, 2012а). Серотонин в ЦНС моллюсков опосредует действие безусловного ноцицептивного стимула и играет важнейшую роль в формировании оборонительных рефлексов (Балабан, Захаров, 1992; Гринкевич и др., 2006; Grinkevich *et al.*, 2008; Kandel, 2012). Селективное выключение серотонинергических нейронов взрослых животных при введении нейротоксина 5,7-диокситриптамина (5,7-ДОТ) предотвращает активацию регуляторного каскада MAPK/ERK и значительно ухудшает способность животных к обучению (Гринкевич и др., 2006; Grinkevich *et al.*, 2008). Действие 5,7-ДОТ на поведенческом и клеточном уровнях у моллюсков подробно описано в литературе (Балабан, Захаров, 1992). Показано, что эффект 5,7-ДОТ на серотонинергические

нейроны и поведение животных сохраняется 1,5–2 месяца, что позволяет использовать ДОТ-обработанных животных в качестве модельных объектов для изучения механизма нейродегенерации и способов устранения ее механизма негативных последствий.

Следует отметить, что серотонинергическая система играет важнейшую роль и в функционировании нервной системы позвоночных животных. Полагают, что ее нарушение является одной из основ таких заболеваний, как депрессия (Шишкина, Дыгало, 2010; Zhao *et al.*, 2013) и шизофрения (Kurita *et al.*, 2012, 2013), характеризующихся значительными ментальными нарушениями (Kuhn *et al.*, 2013). Предполагается возможность лечения этих заболеваний через влияние на процессы ацетилирования (Kurita *et al.*, 2012; Yamawaki *et al.*, 2012).

Целью данной работы является изучение возможности реверсии формирования долговременной памяти у моллюска *Helix* с дисфункцией серотонинергических нейронов, вызванной введением нейротоксина 5,7-ДОТ через индукцию процессов ацетилирования. Индукцию ацетилирования осуществляли путем введения животным перед обучением двух различных ингибиторов гистондеацетилаз – натрия бутирата (NaB) и Трихостатина (ТСА).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При выработке условного оборонительного рефлекса пищевой аверзии у виноградной улитки условным стимулом являлась морковь, безусловным – удар электрическим током (8 мА). Морковь располагали на расстоянии 1 см от головы животного. Сочетанные предъявления пищи и тока осуществляли каждые 15–20 минут. Животные получали 8 сочетаний в течение двух дней. Тестирование проводили спустя четверо суток после обучения, предъявляя условный стимул – морковь. При тестировании измерялся латентный период консуматорной реакции (время, которое улитка затрачивала на приближение к моркови до начала жевательных движений). Если животное не начинало поедать пищу в течение 150 с, тест прекращали.

Дисфункцию серотонинергических нейронов осуществляли путем введения нейротоксина 5,7-диокситриптамина. Этот нейротокс-

син вызывает истощение пула серотонина в серотонинергических нейронах, что приводит к селективному выключению серотонинергических нейронов, дегенерации серотониновых терминалей и на поведенческом уровне – к невозможности формирования долговременных форм условных оборонительных рефлексов. Нейротоксин 5,7-ДОТ вводили в дозе 20 мкг на 1 грамм веса животного в два этапа с интервалом 6 дней. Животных брали в эксперимент спустя 7 дней после последней инъекции. 5,7-ДОТ растворяли в физиологическом растворе для моллюсков. Инъекции производили в цефалопедалный синус через нечувствительную область тела улитки. Остальным животным, используемым в эксперименте, вводили физиологический раствор.

Для индукции ацетилирования с целью влияния на процессы формирования долговременной памяти улиткам перед каждой серией обучения вводили ингибитор гистоновых деацетилаз бутират натрия (NaB) или Трихостатин А (ТСА). NaB растворяли в физиологическом растворе и вводили в количестве 1,2 мг на 1 грамм веса животного (10 мкл) за час до обучения. ТСА вводили в количестве (2 мкг/г). Контрольной группе улиток инъецировали по 10 мкл физиологического раствора.

Статистическая обработка проводилась методом ANOVA. Для сравнения средних в отдельных группах применяли *post hoc* тесты Scheffe и LSD. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние ингибитора гистондеацетилаз NaB на формирование рефлекса пищевой аверзии у животных с дисфункцией серотонинергических нейронов

Проведенные сравнительные исследования показали, что при формировании условного рефлекса пищевой аверзии рефлекса у виноградной улитки происходит значительное увеличение латентного периода консуматорной реакции. При этом у животных с дисфункцией серотонинергических нейронов введением ней-

ротоксина 5,7-ДОТ, подвергнутых процедуре обучения, увеличения латентного периода не наблюдалось. Тестирование через 4 суток после обучения (рис. 1). Так, латентный период консуматорной реакции у обученных животных, не обработанных ДОТ, значительно возрастал и достоверно отличался от латентного периода у этих животных до обучения (143 ± 16 с и 50 ± 6 с соответственно, $p < 0,004$). При этом у ДОТ-обработанных животных, подвергнутых обучению, латентный период составлял всего 76 ± 18 с и достоверно не отличался от латентного периода у этих животных до обучения. Более того, латентный период консуматорной реакции ДОТ-обработанных животных, подвергнутых обучению, при $p < 0,02$ достоверно отличался от латентного периода обученных животных, не обработанных ДОТ. Таким образом, введение 5,7-ДОТ приводило к неспособности этих животных к формированию долговременной памяти.

С целью изучения возможности реверсии долговременной памяти у ДОТ-обработанных животных этим животным перед обучением ввели ингибитор гистон деацетилаз NaB (1,2 мг/г),

который ингибирует HDAC классов 1 и 2. При этом у животных значительно возрастал латентный период консуматорной реакции, который достоверно отличался как от латентного периода этих животных до обучения ($p < 0,003$), так и по отношению к ДОТ-обработанным животным, которым NaB не вводили ($p < 0,03$) (рис. 1). Более того, латентный период консуматорной реакции у подвергнутых обучению ДОТ-обработанных животных, которым вводили NaB, достоверно не отличался от латентного периода обученных животных, не обработанных ДОТ. Таким образом, введение NaB реверсировало формирование долговременной памяти у ДОТ-обработанных животных.

Влияние ингибитора гистондеацетилаз ТСА на формирование рефлекса пищевой аверсии у животных с дисфункцией серотонинергических нейронов

Другой группе ДОТ-обработанных животных перед обучением ввели Трихостатин А. Этот блокатор гистондеацетилаз ингибирует HDAC классов 1, 2 и 4. Как видно из рис. 2,

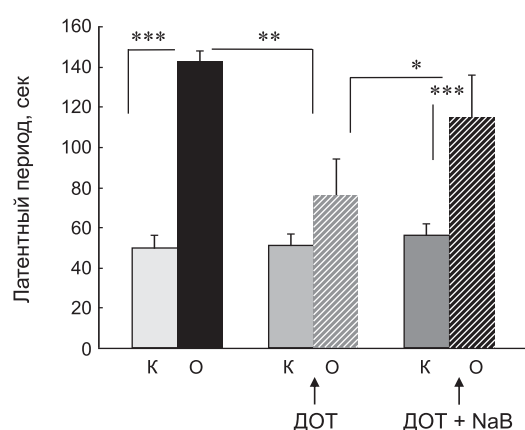


Рис. 1. Влияние нейротоксина 5,7-ДОТ и ингибитора гистондеацетилаз NaB на формирование рефлекса пищевой аверсии у *Helix*.

Введение нейротоксина 5,7-ДОТ нарушает формирование долговременной памяти. Введение ингибитора гистондеацетилаз NaB ее реверсирует. По оси ординат – латентный период консуматорной реакции животных до обучения и после процедуры обучения. К – животные до обучения; О – обученные животные; ДОТ – животные, которым вводили 5,7-ДОТ; ДОТ + NaB – животные, которым вводили 5,7-ДОТ и NaB. * $p < 0,04$; ** $p < 0,02$; *** (ANOVA). $F(5,28) = 10,719$ $p < 0,0001$.

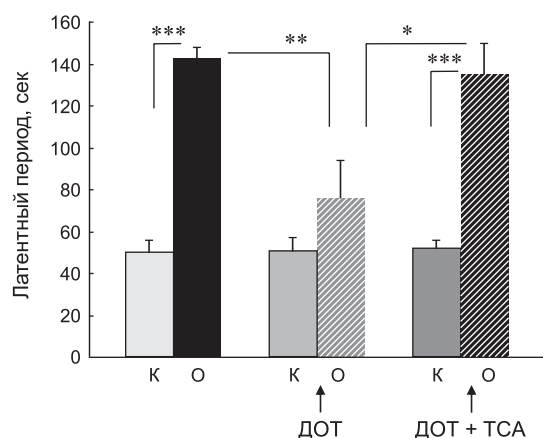


Рис. 2. Влияние нейротоксина 5,7-ДОТ и ингибитора гистондеацетилаз ТСА на формирование рефлекса пищевой аверсии у *Helix*.

Введение ингибитора гистондеацетилаз ТСА реверсирует формирование долговременной памяти у ДОТ-обработанных животных. По оси ординат – латентный период консуматорной реакции животных до и после обучения. К – животные до обучения; О – обученные животные; ОДОТ – животные, которым вводили 5,7-ДОТ; ДОТ + ТСА – животные, которым вводили 5,7-ДОТ и ТСА. * $p < 0,03$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,003$ (ANOVA). $F(5,27) = 17,224$ $p < 0,00001$.

введение ТСА также оказывает значительный протектирующий эффект.

Показано, что латентный период консуматорной реакции у ДОТ-обработанных животных, которым вводили ТСА, значительно возрастает как по отношению к латентному периоду этих животных до обучения (52 ± 4 и 135 ± 4 соответственно, $p < 0,002$), так и к латентному периоду (76 ± 18) ДОТ-обработанных животных, подвергнутых обучению, которым ТСА не вводили (достоверно при $p < 0,03$). Кроме того, введение ТСА ДОТ-обработанным животным перед обучением, как и в случае введения NaB, приближало их латентный период к уровню обученных животных, не обработанных ДОТ. То есть ДОТ-обработанные животные, которым вводили ингибитор гистондеацетилаз ТСА, также стали обучаться.

Таким образом, введение перед обучением ингибиторов HDAC как NaB, так и ТСА, реверсирует формирование долговременной памяти у животных с дегенерацией серотонинергических терминалей, вызванной введением нейротоксина 5,7-ДОТ. Эффективность воздействия этих ингибиторов гистондеацетилаз на формирование долговременной памяти сравнима.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из важнейших задач современности является поиск веществ, способных улучшить формирование долговременной памяти, особенно в случае ее нарушения при различных заболеваниях, в том числе и нейродегенеративных. В этой связи интенсивно исследуются ингибиторы гистондеацетилаз, которые влияют на формирование долговременной памяти через индукцию эпигенетических процессов, главным образом процессов ацетилирования. В нашей работе в качестве модели «нейродегенерации» использовалось выключение работы серотониновых нейронов у моллюска *Helix lucorum* нейротоксином 5,7-ДОТ. Эти животные не способны к формированию долговременных форм условных оборонительных рефлексов. Нами было показано, что введением ингибиторов гистондеацетилаз NaB и ТСА перед обучением можно реверсировать формирование долговременной памяти у этих ДОТ-обработанных животных. Причем эффективными оказались оба

используемых HDAC ингибитора. Особенно наглядно эффект проявляется при тестировании животных спустя 4 дня после обучения, что подтверждает данные, полученные на позвоночных, о возможности индукции долговременной памяти ингибиторами HDAC даже при значительных ее нарушениях, в том числе и связанных с нейродегенерацией (Fischer *et al.*, 2007), и свидетельствует об эволюционной консервативности эпигенетических процессов.

Ранее нами было показано, что ацетилирование как гистона H3, так и негистоновых белков играет значительную роль в формировании пищевой аверзии у *Helix* (Danilova *et al.*, 2010; Danilova, Grinkevich, 2012). При этом ацетилирование индуцируется через внутриклеточный регуляторный каскад MAPK/ERK, который, в свою очередь, активируется медиатором серотонином (Grinkevich *et al.*, 2008; Danilova *et al.*, 2010). Более того, позднее созревание серотонинергической системы у ювенильных моллюсков является одной из причин их неспособности к формированию долговременных форм оборонительных рефлексов (Балабан, Захаров, 1992). При этом у ювенильных животных наблюдается MAPK/ERK-зависимая дисрегуляция ацетилирования гистона H3 и ряда негистоновых белков (Данилова и др., 2010; Danilova, Grinkevich, 2012). Стимулирование ацетилирования введением NaB способно значительно улучшить у них формирование долговременной памяти.

Наши новые данные об эффективности применения ингибиторов HDAC для реверсии долговременной памяти взрослых животных с дисфункцией серотонинергических нейронов свидетельствуют, с одной стороны, о важной роли серотонина в эпигенетических механизмах долговременной памяти, а с другой, о возможности применения ингибиторов HDAC для коррекции памяти не только у ювенильных, но и у взрослых животных с «нейродегенерацией» серотонинергических нейронов. При этом ингибиторы HDAC могут оказывать комплексный эффект на формирование долговременной памяти через стимулирование ацетилирования как гистонов, так и ряда негистоновых белков с дальнейшим изменением экспрессии нижележащих генов, вовлекаемых в формирование длительных пластических перестроек. В настоящее время ведутся интенсивные исследования

по скринингу белков, вовлекаемых в процессы формирования долговременной памяти, экспрессия которых связана с ацетилированием. Такие данные уже получены для раннего гена *C/ebp* (Guan *et al.*, 2002), *Bdnf promoter1/2*, *Erg1*, *Fos*, *Camk2a*, *Creb1* и субъединиц MNDA рецепторов (Guan *et al.*, 2009).

Однако дискуссионными остаются вопросы о специфичности индукции процессов ацетилирования через введение ингибиторов HDAC и их побочных эффектах, так как применяемые в настоящее время блокаторы, такие как TSA, бутираты и SAHA, ингибируют широкие классы HDAC и теоретически должны вызывать массовое гиперацетилирование и, соответственно, массовую индукцию экспрессии генов. Однако интересным и пока плохо объяснимым фактом является то, что индукция гиперацетилирования ингибиторами HDACs влияет на экспрессию не более 20 % генов (Ververis *et al.*, 2013). Главным образом изменение касается от 1 до 7 % генов (Ruijter *et al.*, 2003). При этом наблюдается индукция экспрессии примерно половины из них, а остальные, напротив, ингибируются (Ververis *et al.*, 2013). Предполагается, что одной из причин этого явления может быть различие корепрессорных комплексов, связывающихся с различными HDAC, которые, в свою очередь, подвергаются модификациям через различные механизмы (Ruijter *et al.*, 2003). А с другой стороны, для изменения экспрессии генов еще требуется, как минимум, активация или ингибирование соответствующих ТФ, а их наборы различны в промоторах разных генов. И более того, их активация регулируются через различные внутриклеточные регуляторные системы, которые, соответственно, должны быть синхронно активируемы (Alberini, 2009; Гринкевич, 2012а).

Что касается долговременной памяти, то исследования последних лет показали избирательное вовлечение различных HDACs в формирование различных видов условных и безусловных рефлексов (Guan *et al.*, 2009; Mungenast, Tsai, 2012; Bahari-Javan *et al.*, 2012). Эта специфика может объясняться опять же как отличием их корепрессорных комплексов, так и различным профилем экспрессии HDACs в функционально отличных нейронах (Takase *et al.*, 2013). HDAC1 (но не другие виды HDACs)

вовлечена в затухание гиппокамп-зависимой памяти, связанной с боязнью окружения (Bahari-Javan *et al.*, 2012). При этом ее индукция сопровождается деацетилированием гистона H3 по лизину 9 и увеличением метилирования гистона H3 по этой же позиции в гиппокампе. Установлена различная роль HDAC1 и HDAC2 в формировании долговременной памяти (Guan *et al.*, 2009). Эти HDAC дифференциально регулируют подгруппы генов, вовлекаемых в синаптическую пластичность и память. При этом HDAC2 в отличие от HDAC1 более эффективно экспрессируется в нервной системе, подвергается посттрансляционной модификации и более эффективно ингибируется ингибиторами HDAC. Кроме того, *Hdac1*-дефицитные мыши гибнут в эмбриогенезе, тогда как *Hdac2*-дефицитные мыши живучи и обладают улучшенной памятью.

Очень интересной HDAC является HDAC4, принадлежащая ко второму классу. Она курсирует между ядром и цитоплазмой и негативно влияет на синтез белков, включенных в синаптическую пластичность и память (Sando *et al.*, 2012). Ее активация достигается транслокацией, которая регулируется через NMDA рецепторы и фосфорилирование. На HDAC4 не действуют ингибиторы HDAC.

Показано, что активность гистондеацетилаз увеличивается при старении в структурах, связанных с памятью, в гиппокампе и коре (Dos Santos *et al.*, 2013). При этом с возрастом нарушается ацетилирование гистона H4 по лизину 12 (Peleg *et al.*, 2010). Применение ингибиторов HDAC способно реверсировать ацетилирование по этому сайту и улучшить долговременную память.

В настоящее время ведутся поиски селективных ингибиторов HDAC. Так, описан ингибитор Crebinostat (Fass *et al.*, 2013), который ингибирует преимущественно деацетилазы класса 1. При этом Crebinostat индуцирует ацетилирование гистонов H3 и H4, CREB-зависимую экспрессию нижележащих генов и формирование гиппокамп-зависимых видов условных рефлексов.

Эффекты применения ингибиторов могут носить достаточно сложный характер воздействия на молекулярные события в мозге. Так, показано, что TSA оказывает положительный

эффект на экспрессию гена *Bdnf* экзона 1 в нейронах гиппокампа и, соответственно, на ментальные процессы через увеличение ацетилирования гистона H3 по лиз 9 и 14 (Tian *et al.*, 2010). При этом, однако, происходит также синхронное ТСА-зависимое ацетилирование гистона H3 по этим же позициям в промоторе *Hdac1*, что, соответственно, индуцирует экспрессию этой гистондеацетилазы. То есть индуцируется компенсаторная реакция (отрицательная обратная связь). Более того, показано, что индукция ацетилирования бутиратом натрия может приводить к затуханию рефлекса (Stafford *et al.*, 2012). Таким образом, в ЦНС происходит конвергенция эпигенетических процессов, отражающих взаимодействие активаторных и тормозных путей, вовлеченных в формирование долговременной памяти.

Появились первые работы, показывающие, что ингибиторы HDAC способны стимулировать экспрессию генов не только через увеличение степени ацетилирования гистонов, но и через индукцию метилирования активаторных сайтов гистонов (Akbarian, Huang, 2009). Однако механизмы взаимодействия еще плохо изучены. Нами ранее обнаружено, что в формирование рефлекса пищевой аверзии у *Helix* наряду с ацетилированием вовлекается и метилирование гистона H3 (Гринкевич, 2012б). Дальнейшие исследования на моделях нейродегенерации (введение нейротоксина 5,7 ДОТ) позволят нам понять взаимосвязь процессов ацетилирования гистонов с их метилированием. Кроме того, высказываются положения, что ингибиторы HDAC могут оказывать и прямое влияние на функционирование серотонинергической системы, в частности через изменение экспрессии транспортера серотонина (SERT) (Gill *et al.*, 2013), что, в свою очередь, может лежать в основе улучшения долговременной памяти, в формирование которой, как и в нашем случае, вовлечена серотонинергическая система.

Полученные нами новые данные о возможности реверсии долговременной памяти у ДОТ-обработанных взрослых животных с нарушенной работой серотониновой системы через введение ингибиторов гистондеацетилаз свидетельствует о важной роли серотонина в эпигенетических процессах, лежащих в основе формирования условного рефлекса пищевой аверзии у моллюс-

ка *Helix*. Модель «нейродегенерации», полученная на основе выключения серотонинергических нейронов, может быть полезной для дальнейшего изучения эпигенетических механизмов долговременной памяти и скрининга веществ, влияющих на ее формирование.

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-04-01681 и № 11-04-01968.

ЛИТЕРАТУРА

- Балабан П.М., Захаров И.С. Обучение и развитие: общая основа двух явлений. М.: Наука, 1992. 152 с.
- Гринкевич Л.Н., Лисачев П.Д., Баранова К.А., Харченко О.А. Сравнительный анализ активации MAP/ERK киназ в ЦНС животных, обладающих разной способностью к обучению // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2006. Т. 92. № 5. С. 536–545.
- Гринкевич Л.Н. Эпигенетика и формирование долговременной памяти // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012а. Т. 98. № 5. С. 553–574.
- Гринкевич Л.Н. Исследование метилирования гистона H3 при формировании долговременной памяти // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012б. Т. 98. № 9. С. 1111–1118.
- Данилова А.Б., Лисачев П.Д., Гринкевич Л.Н. Сравнительные исследования MAPK/ERK-зависимого ацетилирования белков в ЦНС взрослых и ювенильных *Helix* при формировании долговременной памяти // Информ. вестн. ВОГиС. 2010. Т. 14. № 2. С. 312–319.
- Шишкина Т.Г., Дыгало Н.Н. Нейробиологические основы депрессивных расстройств и действия антидепрессантов // Журн. высш. нерв. деятельности. 2010. Т. 60. № 2. С. 138–152.
- Abel T., Zukin R.S. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders // Curr. Opin. Pharmacol. 2008. V. 8. No. 1. P. 57–64.
- Akbarian S., Huang H.S. Epigenetic regulation in human brain-focus on histone lysine methylation // Biol. Psychiatry. 2009. V. 65. No. 3. P. 198–203.
- Alarcon J.M., Malleret G., Touzani K., Vronskaya S., Ishii S., Kandel E.R., Barco A. Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP +/- mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration // Neuron. 2004. V. 42. No. 6. P. 947–959.
- Alberini C.M. Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity // Physiol. Rev. 2009. V. 89. No. 1. P. 121–145.
- Bahari-Javan S., Maddalena A., Kerimoglu C., Wittnam J., Held T., Bähr M., Burkhardt S., Delalle I., Kügler S., Fischer A., Sananbenesi F. HDAC1 regulates fear extinction in mice // J. Neurosci. 2012. V. 32. No. 15. P. 5062–5073.
- Danilova A.B., Kharchenko O.A., Shevchenko K.G., Grinkevich L.N. Histone H3 acetylation is asymmetrically induced upon learning in identified neurons of the food aversion network in the mollusk *Helix lucorum* // Front. Behav. Neurosci. 2010. V. 4. No. 180. P. 1–7.
- Danilova A.B., Grinkevich L.N. Inability of juvenile snails for

- long-term memory formation depends on acetylation status of histone H3 and can be improved by NaB treatment // *PLoS ONE*. 2012. V. 7. Issue 7. e41828. P. 1–8.
- Dos Santos Sant' Anna G., Rostirola Elsner V., Moysés F., Reck Cechinel L., Agustini Lovatel G., Rodrigues Siqueira I. Histone deacetylase activity is altered in brain areas from aged rats // *Neurosci. Lett.* 2013. pii: S0304-3940(13)00920-8. doi: 10.1016/j.neulet.2013.10.016.
- Fass D.M., Reis S.A., Ghosh B., Hennig K.M., Joseph N.F., Zhao W.N., Nieland T.J., Guan J.S., Kuhnle C.E., Tang W., Barker D.D., Mazitschek R., Schreiber S.L., Tsai L.H., Haggarty S.J. Crebinostat: a novel cognitive enhancer that inhibits histone deacetylase activity and modulates chromatin-mediated neuroplasticity // *Neuropharmacology*. 2013. V. 64. P. 81–96.
- Fischer A., Sananbenesi F., Wang X., Dobbin M., Tsai L.H. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodeling // *Nature*. 2007. V. 447. No. 7141. P. 178–182.
- Gill R.K., Kumar A., Malhotra P., Maher D., Singh V., Dudeja P.K., Alrefai W., Saksena S. Regulation of intestinal serotonin transporter expression via epigenetic mechanisms: role of HDAC2 // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. V. 304. No. 4. P. 334–341.
- Grinkevich L.N., Lisachev P.D., Kharchenko O.A., Vasil'ev G.V. Expression of MAP/ERK kinase cascade corresponds to the ability to develop food aversion in terrestrial snail at different stages of ontogenesis // *Brain Res.* 2008. V. 1187. P. 12–19.
- Guan Z., Giustetto M., Lomvardas S., Kim J.H., Miniaci M.C., Schwartz J.H., Thanos D., Kandel E.R. Integration of long-term-memory-related synaptic plasticity involves bidirectional regulation of gene expression and chromatin structure // *Cell*. 2002. V. 111. No. 4. P. 483–493.
- Guan J.S., Haggarty S.J., Giacometti E., Dannenberg J.H., Joseph N., Gao J., Nieland T.J., Zhou Y., Wang X., Mazitschek R., Bradner J.E., DePinho R.A., Jaenisch R., Tsai L.H. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity // *Nature*. 2009. V. 459. No. 7243. P. 55–60.
- Jin Q., Yu L.R., Wang L., Zhang Z., Kasper L.H., Lee J.E., Wang C., Brindle P.K., Dent S.Y., Ge K. Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation // *EMBO J.* 2011. V. 30. No. 2. P. 249–62.
- Kandel E. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB // *Mol. Brain*. 2012. V. 5. No. 14. P. 1–12.
- Korzus E., Rosenfeld M.G., Mayford M. CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation // *Neuron*. 2004. V. 42. No. 6. P. 961–972.
- Kuhn M., Popovic A., Pezawas L. Neuroplasticity and memory formation in major depressive disorder: An imaging genetics perspective on serotonin and BDNF // *Restor. Neurol. Neurosci.* 2013. [Epub ahead of print].
- Kurita M., Moreno J.L., Holloway T., Kozlenkov A., Mocci G., García-Bea A., Hanks J.B., Neve R., Nestler E.J., Russo S.J., González-Maeso J. Repressive epigenetic changes at the mGlu2 promoter in frontal cortex of 5-HT2A knockout mice // *Mol. Pharmacol.* 2013. V. 83. No. 6. P. 1166–1175.
- Kurita M., Holloway T., García-Bea A., Kozlenkov A., Friedman A.K., Moreno J.L., Heshmati M., Golden S.A., Kennedy P.J., Takahashi N., Dietz D.M., Mocci G., Gabilondo A.M., Hanks J., Umali A., Callado L.F., Gallitano A.L., Neve R.L., Shen L., Buxbaum J.D., Han M.H., Nestler E.J., Meana J.J., Russo S.J., González-Maeso J. HDAC2 regulates atypical antipsychotic responses through the modulation of mGlu2 promoter activity // *Nat. Neurosci.* 2012. V. 15. No. 9. P. 1245–1254.
- Levenson J.M., Sweatt J.D. Epigenetic mechanisms: a common theme in vertebrate and invertebrate memory formation // *Cell Mol. Life Sci.* 2006. V. 63. P. 1009–1016.
- Mungenast A.E., Tsai L.H. Cognitive function in health and disease: the role of epigenetic mechanisms // *Neurodegener. Dis.* 2012. V. 10. No. 1/4. P. 191–194.
- Peleg S., Sananbenesi F., Zovoilis A. *et al.* Altered histone acetylation is associated with age dependent memory impairment in mice // *Science*. 2010. V. 328. No. 5979. P. 753–756.
- de Ruijter A.J., van Gennip A.H., Caron H.N., Kemp S., van Kuilenburg A.B. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family // *Biochem. J.* 2003. V. 370. Pt 3. P. 737–749.
- Sando R., Goukko N., Pieraut S., Liao L., Yates J., 3rd, Maximov A. HDAC4 governs a transcriptional program essential for synaptic plasticity and memory // *Cell*. 2012. V. 151. No. 4. P. 821–834.
- Spange S., Wagner T., Heinzel T., Kramer O.H. Acetylation of non-histone proteins modulates cellular signalling at multiple levels // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009. V. 41. P. 185–198.
- Stafford J.M., Raybuck J.D., Ryabinin A.E., Lattal K.M. Increasing histone acetylation in the hippocampus-infralimbic network enhances fear extinction // *Biol. Psychiatry*. 2012. V. 72. No. 1. P. 25–33.
- Sweatt J.D. Experience-dependent epigenetic modifications in the central nervous system // *Biol. Psychiatry*. 2009. V. 65. P. 191–197.
- Takase K., Oda S., Kuroda M., Funato H. Monoaminergic and neuropeptidergic neurons have distinct expression profiles of histone deacetylases // *PLoS One*. 2013. V. 8. P. 3. P. 1–19.
- Tian F., Marini A.M., Lipsky R.H. Effects of histone deacetylase inhibitor Trichostatin A on epigenetic changes and transcriptional activation of Bdnf promoter 1 by rat hippocampal neurons // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010. No. 1199. P. 186–193.
- Ververis K., Hiong A., Karagiannis T.C., Licciardi P.V. Histone deacetylase inhibitors (HDACIs): multitargeted anticancer agents // *Biologics*. 2013. V. 7. P. 47–60.
- Wood M.A., Hawk J.D., Abel T. Combinatorial chromatin modifications and memory storage: A code for memory // *Learn. Mem.* 2006. V. 13. P. 241–244.
- Yamawaki Y., Fuchikami M., Morinobu S., Segawa M., Matsumoto T., Yamawaki S. Antidepressant-like effect of sodium butyrate (HDAC inhibitor) and its molecular mechanism of action in the rat hippocampus // *World J. Biol. Psychiatry*. 2012. V. 13. No. 6. P. 458–467.
- Zhao J., Goldberg J., Bremner J.D., Vaccadrino V. Association between promoter methylation of serotonin transporter gene and depressive symptoms: a monozygotic twin study // *Psychosom. Med.* 2013. V. 75. No. 6. P. 523–529.

INDUCTION OF ACETYLATION PROCESSES IN ANIMALS WITH SEROTONERGIC NEURON DYSFUNCTION REVERSES THEIR CAPABILITY OF LONG-TERM MEMORY FORMATION

O.V. Vorobiova, L.N. Grinkevich

Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia,
e-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru

Summary

The major tasks of neurobiology include the understanding of mechanisms governing long-term memory formation and search for means to improve memory. Animals with dysfunction of the serotonergic system are a convenient model for investigation of memory processes. The ablation of serotonergic neurons by the neurotoxin 5,7-DOT leads to inability of the mollusks to form an aversive food avoidance reflex. Previously we have found that epigenetic processes, such as histone methylation and acetylation, are involved in the formation of food aversion, and that disturbance of these processes leads to inability to form long-term memory. The goal of the current study was to investigate the possibility to reverse long-term memory in DOT-treated animals through the induction of acetylation processes. We found that treatment with histone deacetylase inhibitors NaB and Trichostatin A significantly increased the ability of DOT-treated animals to form the food aversion reflex. The results point to an important role of serotonin in the induction of the epigenetic processes mediating the formation of this type of long-term memory. By induction of acetylation processes, we managed to improve memory parameters significantly. Our “Neurodegeneration” model, based on ablation of serotonergic neurons, can be useful in studies of the epigenetic mechanisms underlying long-term memory destruction and screening of compounds crucial for memory formation.

Key words: epigenetics, histone acetylation, serotonin, memory, *Helix* mollusk, neurotoxin 5,7-DOT, histone deacetylase inhibitors NaB and TCA.

УДК 577.21

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ЦИТОКИНА IL-12 В МАКРОФАГАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ИХ ОБРАБОТКИ ДИОКСИНОМ

© 2014 г. Д.Ю. Ощепков¹, Е.В. Кашина¹, Е.В. Антонцева¹,
Е.А. Ощепкова¹, В.А. Мордвинов¹, Д.П. Фурман^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: diman@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 17 декабря 2013 г. Принята к публикации 16 января 2013 г.

Интерлейкин-12 (IL-12) является важнейшим провоспалительным цитокином, синтезируемым макрофагами, однако данные о влиянии диоксина на его экспрессию до сих пор фрагментарны. Наличие выявленных нами ранее потенциальных DRE (dioxin responsive elements) в регуляторных районах генов *IL12A* и *IL12B*, кодирующих субъединицы цитокина IL-12p35 и IL-12p40 соответственно, предполагает возможность прямой активации этих генов через связывание DRE с комплексом диоксин/AhR/ARNT.

В настоящей работе связывающая способность этих DRE доказана с помощью гель-шифт анализа. Исследование динамики экспрессии генов *IL12A* и *IL12B* на модели макрофагоподобных клеток человека линии U937 не выявило влияния диоксина на уровень экспрессии гена *IL12A*. В то же время выявлена кратковременная активация, а затем падение экспрессии гена *IL12B*. Наблюдаемая динамика может объясняться прямой активацией экспрессии диоксин-содержащим комплексом и последующим подавлением экспрессии в результате оксидативного стресса, вызываемого диоксином. Таким образом, известный факт влияния диоксина на иммунную систему может быть связан в том числе и с различным его влиянием на динамику экспрессии генов, кодирующих субъединицы IL-12.

Ключевые слова: макрофаг, диоксин, интерлейкин-12.

ВВЕДЕНИЕ

Интенсивное техногенное воздействие на биосферу приводит к увеличению содержания в окружающей среде ксенобиотиков различной природы, в частности диоксинов, к которым относятся сотни веществ. Среди них наибольшую опасность для человека представляет 2-,3-,7-,8-тетрахлородибензо-пара-диоксин (ТХДД) как наиболее токсичный из всех соединений диоксинового ряда (Walker *et al.*, 1999; Zodrow *et al.*, 2004).

Действие диоксина на организм человека носит системный характер и вызывает широкий спектр негативных дозозависимых эффектов

в отношении фактически всех жизненных функций. На иммунную систему он оказывает сильное супрессорное влияние, подавляя как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ (Mandal, 2005). При интоксикации диоксином создаются предпосылки для развития целого ряда иммунопатологий, включающих как иммунодефицитные, так и гиперактивированные состояния, на фоне которых развиваются аллергические, аутоиммунные и онкологические заболевания, меняются восприимчивость организма к инфекционным агентам и характер течения вызванных ими заболеваний (Steenland *et al.*, 2004; Knerr, Schrenk, 2006; Neff-LaFord *et al.*, 2007; Schulz *et al.*, 2013). Диоксин способен

нарушать иммунные реакции организма даже в минимальных дозах, что позволяет квалифицировать его как иммунотоксикант (Kerkvliet, 2012). Отметим, что механизмы реализации иммунотоксических эффектов диоксина до конца не выяснены. Токсическое действие диоксина, как и его метаболизм, опосредуется арилгидрокарбонным рецептором (AhR) – лиганд-активируемым транскрипционным фактором из семейства bHLH/PAS (Connor, Aylward, 2006), который участвует в регуляции экспрессии генов, содержащих опознаваемые этим фактором специфические сайты – так называемые dioxin responsive elements (DRE). В отсутствие лиганда AhR находится в цитоплазме клетки в комплексе с димером белка-шаперона Hsp90, кошапероном p23, иммуофилин-подобным белком AIP (Aryl hydrocarbon receptor-Interacting Protein), известным также как ARA9 или XAP2. После связывания с лигандом комплекс перемещается в ядро и диссоциирует (Fujii-Kuriyama, Kawajiri, 2010). Оставшийся связанным с лигандом AhR димеризуется с белком ARNT (AhR Nuclear Translocator) из того же семейства bHLH. Комплекс лиганд/AhR/ARNT функционирует как транскрипционный фактор. Связываясь с последовательностями DRE в регуляторных районах генов-мишеней, он инициирует транскрипцию целой батареи генов (Boutros *et al.*, 2004; Connor, Aylward, 2006; Marshall, Kerkvliet, 2010). Коровой консенсусной последовательностью DRE является 5'-TNGCGTG-3' (Boutros *et al.*, 2004). При взаимодействии комплекса лиганд/AhR/ARNT с DRE AhR контактирует с 5'-TNGC, а ARNT – с GTG-3' полусайтами консенсусной последовательности (Sun *et al.*, 2004).

Лигандами AhR служит большая группа химических веществ как эндогенного происхождения (билирубин, простагландины, метаболиты триптофана и др.), так и ксенобиотиков (полиароматические углеводороды, бифенилы и др.) (Denison, Nagy, 2003). Сильная токсичность ТХДД обусловлена его высокой аффинностью к AhR, с которым он, как лиганд, образует устойчивый комплекс.

С активацией AhR лигандами различной природы связано модулирование экспрессии многих генов в клетках различных типов, в том числе и клетках иммунной системы, участ-

вующих в реализации как врожденного, так и приобретенного иммунитета (Kerkvliet, 2012; Nguyen *et al.*, 2013; Schulz *et al.*, 2013).

Существенный компонент пула иммунокомпетентных клеток составляют макрофаги, обеспечивающие первое звено иммунной защиты организма. Они осуществляют фагоцитоз чужеродных макромолекул и бактерий, в кооперации с Т- и В-лимфоцитами реализуют и регулируют иммунный ответ, способны при определенных условиях оказывать цитотоксическое действие на опухолевые клетки (Gordon, Taylor, 2005). С их участием происходит формирование неспецифического клеточного и гуморального иммунитета, а в качестве антигенпрезентирующих клеток они входят и в систему специфического иммунитета. Коммуникативными и эффекторными средствами макрофагов служат нарабатываемые ими медиаторы, в том числе интерлейкины. Одним из ключевых интерлейкинов является провоспалительный IL-12p70 – гетеродимерный белок, состоящий из двух субъединиц, IL-12p35 и IL-12p40, кодируемых генами *IL12A* и *IL12B* соответственно (Biswas *et al.*, 2012). Известно, что IL-12 усиливает пролиферацию и цитолитическую активность Т-клеток и натуральных киллеров, индуцирует продукцию интерферона гамма и обладает уникальной способностью к активации Т-хелперов, тем самым стимулируя клеточный иммунитет против патогенных микробов и опухолевых клеток. Кроме IL-12p70, субъединица IL-12p40 входит в состав IL-23, также секретируемого макрофагами и играющего значительную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний (Gee *et al.*, 2009; Hamza *et al.*, 2010).

С учетом места IL-12 в функционировании иммунной системы человека в целом и макрофагов как одной из важнейших ее составляющих представляется актуальным исследование механизмов влияния диоксина на экспрессию его субъединиц, однако данные такого рода в литературе до сих пор отсутствуют. Ранее нами (Furman *et al.*, 2009) были предсказаны DRE в регуляторных районах генов обеих субъединиц IL-12, что могло обеспечить их реакцию на этот иммунотоксикант. В настоящей работе ставилась задача экспериментальной проверки функциональности выявленных DRE на модели культуры клеток U937 человека как одного из

наиболее адекватных объектов для исследования ответа макрофагов на диоксин *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались следующие реактивы: [α - 32 P]АТФ (6000 Ci/mmol) (Costa Mesa, CA); Taq ДНК полимеразы (НПО «СибЭнзим», Россия); DNase I RNase-free (Fermentas, США); набор для проведения обратной транскрипции HighCapacity cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, США); реакционная смесь М-435 для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR GreenI (ЗАО «Синтол», Россия); этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA) (Хеликон, Россия); бромистый этидий (Sigma-Aldrich, США); бромфеноловый синий (Sigma-Aldrich, США); агароза (Hybaid-AGS, Германия); ДНК-маркер 100 п.н. (10 фрагментов от 100 до 1000 п.н.) (СибЭнзим, Россия); 2,3,7,8-ТХДД (чистота > 99,99 %) (ЗАО «НПО Экрос», Россия); диметилсульфоксид (DMSO, Me₂SO) (чистота > 99,99 %); таблетированный препарат натрий-фосфатного буфера (Amresco, США); форбол-12-миристен-13-ацетат (ФМА, Sigma-Aldrich, США); коктейль ингибиторов протеаз (Pierce, США); фенилметилсульфонилфторид (ФМСФ) (Sigma-Aldrich, США); пенициллин-стрептомицин (Sigma-Aldrich, США); среда RPMI 1640 (ООО «Биолот», Россия); фетальная бычья сыворотка («Hyclone», США).

Поиск сайтов связывания арилгидрокарбонового рецептора

Поиск DRE в регуляторных районах генов проводился с помощью программного пакета SITECON (<http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/programs/sitecon/>, Oshchepkov *et al.*, 2004) в соответствии с процедурой, описанной ранее (Furman *et al.*, 2009). Для идентификации DRE параметры метода были выбраны таким образом, чтобы ошибка I рода (недопредсказание) равнялась нулю, что означает распознавание программой всех последовательностей из обучающей выборки. Анализировались участки генов *IL12A* и *IL12B* от -2000 до +600 относительно старта транскрипции. Последовательности были извлечены из БД UCSC Genome Browser database (Meyer *et al.*, 2013).

Клеточная культура

Исследования проводили с использованием перевиваемой клеточной линии промоноцитов человека U937, полученной из коллекции клеточных культур ГНЦ ВБ «Вектор». С целью получения макрофагального фенотипа клетки в течение 48 ч инкубировали с ФМА в концентрации 0,2 мкг/мл, после чего отмывали стерильным натрий-фосфатным буфером и на 3 суток помещали в полную среду (RPMI 1640 (10 % FBS)), не содержащую ФМА. Полученные макрофагоподобные клетки обрабатывались 10 нМ 2,3,7,8-ТХДД (опыт) или 0,1 % (v/v) диметилсульфоксидом (контроль) в течение 15 мин; 1 ч; 2; 3; 4,5 и 6 ч. Далее клетки использовали для получения суммарной РНК и ядерного экстракта.

Количественная ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ)

Суммарная РНК выделялась с помощью набора Aurum Total RNA Mini Kit производства «Bio-Rad». Качество и количество выделенной РНК оценивалось на приборе Agilent 2100 Bioanalyzer (RIN $\geq$ 8 для всех проб) согласно инструкции производителя, а также электрофорезом РНК в 1 %-м агарозном геле. ДНК-азную обработку проводили набором DNase I, RNase-free фирмы «Fermentas» согласно инструкции производителя. Для синтеза кДНК использовали набор High Capacity cDNA Archive Kit производства «Applied Biosystems». Уровень экспрессии генов *IL12A*, *IL12B*, *CYP1A1*, *ATF3* определяли методом количественной ПЦР в реальном времени при использовании набора реактивов для ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I производства ЗАО «Синтол» на приборе ABI PRISM 7000. В качестве эндогенного контроля использовали ген домашнего хозяйства бета-актин (*ACTB*). Дизайн праймеров осуществлялся с помощью программы Primer Express® Software v2.0 (Applied Biosystems) (табл. 1).

Метод задержки ДНК-зонда в геле белками ядерного экстракта

Получение белкового экстракта ядер из U937 макрофагов проводили следующим методом: 10^7 клеток инкубировали с 1 мл лизирующего

Таблица 1

Последовательности праймеров,
использованных для количественной ПЦР в реальном времени

Ген	Структура прямого праймера	Структура обратного праймера
<i>IL12A</i>	tcccatgccttcaccactc	cttcagaagtgcagggtaaaattc
<i>IL12B</i>	ggaccttgaccagagcag	ctcgccctctttgtgacagg
<i>ATF3</i>	cctctgcgctggaatcagtc	ttctttctcgtcgctcttttt
<i>CYP1A1</i>	cccagctcagctcagtacct	gaggccagaagaaactccgt
<i>ACTB</i>	tggcattgccgacaggat	cggagtactgcgctcagga

буфера (10 mM Hepes, 10 mM KCl, 1 mM ДТТ, 0,5 mM спермидин, 0,15 mM спермин, 0,1 mM ЭДТА, 0,1 mM ЭГТА, 0,5 mM ПМСФ, коктейль ингибиторов протеаз «Pierce») в течение 15 мин на льду, затем добавляли 62 мкл 10 %-го NP-40 и центрифугировали в течение 5 мин при 4 °C, 400 g. Осадок ядер лизировали в буфере (20 mM Hepes, 420 mM NaCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM ЭДТА, 1 mM ДТТ, 25 %-й глицерин, коктейль ингибиторов протеаз «Pierce») в течение 20 мин на льду, после чего центрифугировали в течение 10 мин при 4 °C, 10000 g. Супернатант, содержащий суммарный белок ядер, отбирали в чистую пробирку, измеряли концентрацию на спектрофотометре по методу Бредфорда, фасовали на аликвоты и хранили при –72 °C. В качестве ДНК-зондов использовали двуцепочечные олигонуклеотиды, соответствующие районам расположения предсказанных сайтов связывания AhR. Введение метки в ДНК-зонд осуществляли с помощью достройки укороченных 3'-концов фрагментом Кленова ДНК-полимеразы I. Реакцию вели 5 мин при комнатной температуре в 10 мкл реакционной смеси, содержавшей 0,01 mM олигонуклеотида, 1 мкл 10× буфера для мечения (500 mM Трис-HCl pH = 8,0, 100 mM NaCl, 100 mM MgCl₂, 1 mM ДТТ, 2 mM dГТФ, 2 mM dТТФ, 2 mM dСТФ), 2 единицы активности фрагмента Кленова, 10 мкКи (α -32P) dATФ. Для очистки олигонуклеотидов от невключившейся метки реакционную смесь наносили на ионообменную бумагу ДЕАЕ-81 и промывали 0,25 M KН₂РO₄.

Анализ связывания фрагментов ДНК с белками ядерных экстрактов проводили по следующей методике: белковый ядерный экстракт инкубировали с обработанной ультразвуком

ДНК спермы лосося (из расчета 1 мкг ДНК на 7 мкг суммарного белка) в течение 10 мин на льду для предотвращения неспецифического связывания белков с ДНК-зондом. После этого 4 мкг экстракта добавляли к пробам, содержащим 50 pM радиоактивно меченого ДНК-зонда и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин. Электрофорез вели в 4,5 % ПААГ в 0,5×TBE при 40 °C. Гель выдерживали в фиксирующем растворе, высушивали и экспонировали с рентгеновской пленкой.

Иммуноферментный анализ

Анализ содержания цитокина IL-12p70 методом ИФА проводился в кондиционной среде, полученной после 6 ч культивирования макрофагов U937 с концентрацией 10 нМ 2,3,7,8-ТХДД и 0,1 % (v/v) DMSO. Содержание оценивалось с помощью коммерческого набора IL-12p70 ELISA kit (#KAC1568, BioSource (USA)), согласно инструкции производителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате биоинформатического анализа промоторных районов генов *IL12A* и *IL12B* было выявлено четыре потенциальных DRE, обнаруживших сходство с консенсусной последовательностью DRE (табл. 2).

Позиция выявленных сайтов вблизи старта транскрипции обоих генов является дополнительным аргументом в пользу их классификации как потенциальных DRE (Sun *et al.*, 2004; Fujita *et al.*, 2006), что делает их вероятными участниками регуляции этих генов при воздействии диоксида.

Таблица 2
Предсказанные DRE
в генах субъединиц цитокина IL-12

Ген	№	Позиция сайта относительно старта транскрипции	Последовательность сайта
IL12B	1	–598*	cacAcGCGTGcaca
	2	–660	aaaCtGCGTGtacc
	3	–1010	tgtCtGCGTGtacc
IL12A		–612*	accCtGCGTGccct
Консенсусная последовательность			TNGCGTG

* Выделены сайты, подвергнутые экспериментальной проверке.

Проверка связывающей способности потенциальных DRE с белковыми комплексами, содержащими AhR, была проведена методом задержки в геле. Были проверены два DRE из промоторных районов каждого из генов, кодирующих субъединицы гетеродимера IL-12, самых близких к старту транскрипции (выделены в табл. 2). В качестве контроля использовали DRE из энхансера гена *CYP1A1*. В результате связывающая способность этих двух сайтов подтвердилась (рис. 1).

На рис. 1 приведен радиоавтограф электрофоретического разделения ДНК-белковых комплексов, образованных после инкубации ³²P-меченых DRE-содержащих олигонуклеотидов с белками ядерного экстракта, выделен-

ного из клеток, обработанных ТХДД (10 нМ) в течение 24 часов.

На рис. 1 видно, что при добавлении белков экстрактов ядер к α -P32-меченым олигонуклеотидам образуется несколько ДНК-белковых комплексов. Комплекс «1» (верх) содержит AhR, так как он ослабляется при добавлении антител к AhR (дорожки, помеченные знаком «+») к белкам экстракта ядер. Видно также, что при этом образуется менее подвижный комплекс «S», включающий в себя помимо олигонуклеотида и белкового комплекса также и антитела к AhR (суперсдвиг).

На рис. 2 приведены оценки экспрессии генов, кодирующих белки двух субъединиц IL-12, и контрольного гена *CYP1A1* при действии диоксина. Ген *CYP1A1* выбран в качестве контроля, поскольку является одним из генов универсальной системы биотрансформации ксенобиотиков, экспрессирующихся во множестве тканей, в том числе и в макрофагах, в ответ на обработку диоксином (Sciullo *et al.*, 2009). Характер изменения экспрессии этого гена согласуется с литературными данными: уровень мРНК демонстрирует устойчивое нарастание в зависимости от времени воздействия диоксином.

В то же время динамика экспрессии генов *IL12A* и *IL12B* на тех же временных интервалах принципиально различна. Уровень мРНК *IL12A* сохраняется фактически неизменным вне зависимости от времени экспозиции диоксином, тогда как экспрессия *IL12B* возрастает более чем в 2 раза через 1 ч с момента воздействия,

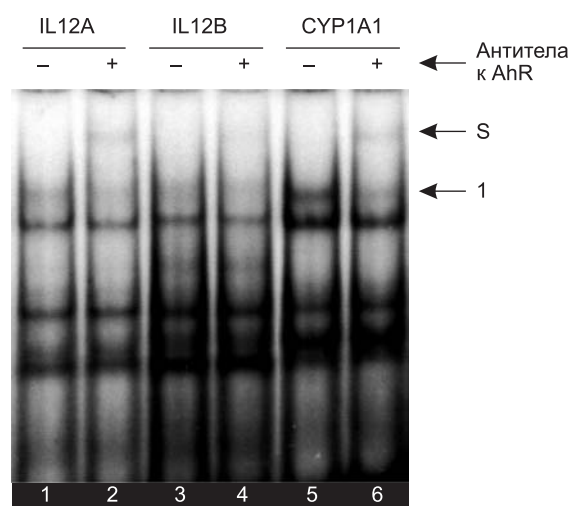


Рис. 1. Связывание белков экстрактов ядер с α -P32-мечеными олигонуклеотидами, соответствующими DRE из IL12A и сайту № 1 из IL12B, а также контрольному DRE из энхансера гена *CYP1A1*.

1 – полоса задержки, соответствующая AhR-содержащему белковому комплексу с олигонуклеотидом; S – суперсдвиг.

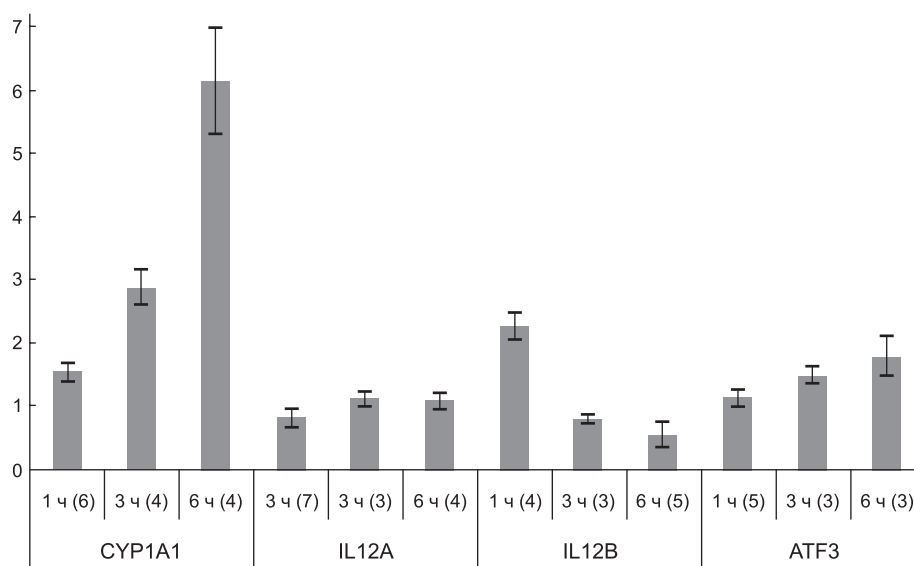


Рис. 2. Ранние эффекты воздействия 2,3,7,8-ТХДД на содержание мРНК генов *IL12A*, *IL12B*, *CYP1A1*, *ATF3* в макрофагоподобных клетках U937.

Клетки были обработаны 2,3,7,8-ТХДД в концентрации 10 нМ в течение 1, 3 и 6 ч. Экспрессия генов оценивалась методом ПЦР в реальном времени, данные нормализовались к уровню экспрессии гена домашнего хозяйства АСТВ. Уровень экспрессии мРНК дан относительно контрольного уровня – уровня мРНК в клетках, обработанных 0,1 % DMSO. По оси абсцисс приведена временная развертка, по оси ординат – значения относительной экспрессии мРНК со стандартной ошибкой, в скобках приведено количество экспериментов.

а к 6 ч показывает выраженное снижение до уровня, в 2 раза ниже контрольного.

ОБСУЖДЕНИЕ

В регуляторных районах генов *IL12A* и *IL12B* было выявлено 4 сайта, локализация которых позволяет рассматривать их как кандидаты на роль DRE. Нуклеотидные последовательности этих сайтов незначительно отличаются от канонической консенсусной последовательности TNGCGTG. Первый нуклеотид консенсусной последовательности во всех четырех выявленных потенциальных DRE отличался от консенсусного Т и соответствовал А в сайте № 1 в *IL12B* и С в сайте в *IL12A* и сайтах № 2, 3 в *IL12B*. Поскольку действие ксенобиотиков на активность индуцибельных генов опосредуется AhR и обусловлено его связыванием с DRE, мы проверили выявленные сайты на связывающую активность с AhR-содержащим комплексом. Два из них – ближайшие к старту транскрипции в каждом из генов (сайт **accCtGCGTGccct** в позиции –612 гена *IL-12A* и **cacAcGCGTGcaca** в позиции –598 гена *IL12B*) – продемонстриро-

вали способность связывать AhR-содержащий комплекс *in vitro*: в эксперименте по задержке в геле был получен положительный результат (рис. 1). Необходимо отметить, что отличия от консенсусной последовательности проверенного нами сайта гена *IL12A* и сайтов № 2 и 3 в гене *IL12B* совпадают, что дает основание приписать этим непроверенным нами сайтам AhR-связывающую способность.

Дополнительным аргументом в пользу функциональности упомянутых DRE как сайтов связывания AhR является их положение относительно области сверхчувствительности к ДНКазе (DNase hypersensitive area, DHA). Как правило, регуляторные районы и промоторы чувствительны к ДНКазе, так что расположение сайта в таком районе косвенно свидетельствует в пользу его функциональности. Основываясь на данных проекта ENCODE (Raney *et al.*, 2011), мы проверили локализацию выявленных DRE относительно DHA. Поскольку данные по макрофагальной линии в библиотеке ENCODE отсутствуют, мы ориентировались на данные для типов клеток, также способных синтезировать IL-12: В-клеток, моноцитов и В-лимфоцитов

(Watford *et al.*, 2003). Оказалось, что все выявленные сайты из регуляторных зон обоих генов попадают в ДНА. При этом два максимально близких к старту транскрипции DRE, № 1 и № 2 из *IL12B* (–598 и –660), обнаруживаются в ДНА, выявленных для 4-клеточных линий из библиотеки ENCODE, в том числе и для В-клеточной линии CD20+; сайт из *IL12A* – в ДНА, выявленном для двух В-лимфоцитарных клеточных линий GM19238 и GM19240. DRE № 3, удаленный на 1010 п.о. от старта транскрипции *IL12B*, располагается в зоне ДНА 104 клеточных линий, в том числе моноцитарной клеточной линии Monocytes-CD14+_RO01746, В-клеточной линии CD20+ и В-лимфоцитарных клеточных линиях GM19238 и GM19240. Таким образом, этот участок можно, видимо, рассматривать как универсальный регуляторный элемент гена *IL12B*.

Наблюдаемое достоверное (более чем двукратное) увеличение уровня мРНК *IL12B* через 1 час после воздействия диоксина соответствует времени максимальной транслокации транскрипционного комплекса AhR в ядро (Komura *et al.*, 2001) и свидетельствует о прямой активации гена *IL12B* через его связывание с выявленным DRE.

Происходящее далее падение экспрессии *IL12B* после трех- и шестичасовой экспозиции диоксина может быть следствием оксидативного стресса, который является одним из проявлений токсического действия диоксина на различные типы клеток, в том числе и на макрофаги (Alsharif *et al.*, 1994; Stohs, 1990). Показано, что оксидативный стресс стимулирует экспрессию транскрипционного фактора ATF3 (Jin *et al.*, 2008), который выступает негативным регулятором экспрессии *IL12B* в макрофагах (Gilchrist *et al.*, 2006; Zheng, Abraham, 2013).

Исходя из этих данных, мы провели исследование экспрессии *ATF3* после воздействия диоксина. Как видно из рис. 2, уровень экспрессии *ATF3* после 1 часа обработки не меняется, однако увеличивается более чем в 1,5 раза и более чем в 2 раза после трехчасовой и шестичасовой экспозиции соответственно. Наблюдаемая динамика отрицательно коррелирует с экспрессией *IL12B*.

Несмотря на наличие DRE в гене *IL12A*, его экспрессия при воздействии диоксина не

меняется. Учитывая постоянный уровень экспрессии *IL12A* и характер динамики изменений экспрессии *IL12B*, следовало ожидать снижения содержания IL12p70 в зависимости от времени экспозиции диоксина. Действительно, проведенная методом ELISA оценка показала, что после 4,5 и 6 ч воздействия диоксина содержание белка IL-12 находится на границе чувствительности метода (данные не приведены). Этот результат согласуется с литературными данными о снижении содержания белка IL12p70 после воздействия ТХДД на лабораторных животных (Fujimaki *et al.*, 2002; Ciftci *et al.*, 2010; Simones, Shepherd, 2011).

Совокупность полученных результатов позволяет предложить двойной механизм регуляции экспрессии гена *IL12B* при воздействии диоксина. Сначала происходит прямая активация его транскрипции диоксин-содержащим комплексом арил-гидрокарбонового рецептора через DRE в его промоторе и/или энхансере. Затем вследствие оксидативного стресса, вызванного воздействием ТХДД, увеличивается экспрессия ATF3, что ведет к существенному снижению экспрессии *IL12B* и, как следствие, IL-12 в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования на модели макрофагоподобных клеток U937 выявлена различная реакция генов *IL12A* и *IL12B* на диоксин. Факт различной индуцибельности генов, кодирующих субъединицы IL-12 под воздействием других факторов, был известен и ранее (Babik *et al.*, 1999; Gee *et al.*, 2009; Hamza *et al.*, 2010; Jalah *et al.*, 2013), однако различная индуцибельность этих генов в ответ на диоксин показана впервые. Этот эффект, в свою очередь, может сказываться на содержании цитокинов, в состав которых входят соответствующие субъединицы, в частности цитокина IL-23, в состав которого входит субъединица IL-12p40. Таким образом, воздействие диоксина на экспрессию субъединиц IL-12p35 и IL-12p40 может изменять баланс цитокинов, статус иммунной системы и характеристики иммунного ответа, что, в свою очередь, может частично объяснять широкий спектр эффектов диоксина на иммунную систему. Для более детального

изучения механизма регуляции экспрессии *IL12B* и выяснения дозо-зависимого эффекта при воздействии диоксина необходимы дополнительные исследования.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-01736-а. Авторы выражают благодарность М.Ю. Шаманиной за ценные замечания при обсуждении работы.

ЛИТЕРАТУРА

- Alsharif N.Z., Lawson T., Stohs S.J. Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin is mediated by the aryl hydrocarbon (Ah) receptor complex // *Toxicology*. 1994. V. 92. No. 1/3. P. 39–51.
- Babik J.M., Adams E., Tone Y., Fairchild P.J., Tone M., Waldmann H. Expression of murine IL-12 is regulated by translational control of the p35 subunit // *J. Immunol*. 1999. V. 162. No. 7. P. 4069–4078.
- Biswas S.K., Chittezhath M., Shalova I.N., Lim J.Y. Macrophage polarization and plasticity in health and disease // *Immunol. Res.* 2012. V. 53. No. 1/3. P. 11–24.
- Boutros P.C., Moffat I.D., Franc M.A., Tuomisto J., Okey A.B. Dioxin-responsive AHRE-II gene battery: identification by phylogenetic footprinting // *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. V. 321. No. 3. P. 707–715.
- Ciftci O., Tanyildizi S., Godekmerdan A. Protective effect of curcumin on immune system and body weight gain on rats intoxicated with 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2010. V. 32. No. 1. P. 99–104.
- Connor K.T., Aylward L.L. Human response to dioxin: aryl hydrocarbon receptor (AhR) molecular structure, function, and dose-response data for enzyme induction indicate an impaired human AhR // *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 2006. V. 9. No. 2. P. 147–171.
- Denison M.S., Nagy S.R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2003. V. 43. P. 309–334.
- Fujii-Kuriyama Y., Kawajiri K. Molecular mechanisms of the physiological functions of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor, a multifunctional regulator that senses and responds to environmental stimuli // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2010. V. 86. No. 1. P. 40–53.
- Fujimaki H., Nohara K., Kobayashi T., Suzuki K., Eguchi-Kasai K., Tsukumo S., Kijima M., Tohyama C. Effect of a single oral dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on immune function in male NC/Nga mice // *Toxicol. Sci.* 2002. V. 66. No. 1. P. 117–24.
- Fujita H., Samejima H., Kitagawa N., Mitsuhashi T., Washio T., Yonemoto J., Tomita M., Takahashi T., Kosaki K. Genome-wide screening of dioxin-responsive genes in fetal brain: bioinformatic and experimental approaches // *Cong. Anom.* 2006. V. 46. P. 135–143.
- Furman D.P., Oshchepkova E.A., Oshchepkov D.Yu., Shamanina M.Yu., Mordvinov V.A. Promoters of the genes encoding the transcription factors regulating the cytokine gene expression in macrophages contain putative binding sites for aryl hydrocarbon receptor // *Comput. Biol. Chem.* 2009. V. 33. No. 6. P. 465–468.
- Gee K., Guzzo C., Che Mat N.F., Ma W., Kumar A. The IL-12 family of cytokines in infection, inflammation and autoimmune disorders // *Inflamm. Allergy Drug Targets*. 2009. V. 8. No. 1. P. 40–52.
- Gilchrist M., Thorsson V., Li B., Rust A.G., Korb M., Roach J.C., Kennedy K., Hai T., Bolouri H., Aderem A. Systems biology approaches identify ATF3 as a negative regulator of Toll-like receptor 4 // *Nature*. 2006. V. 441. No. 7090. P. 173–178.
- Gordon S., Taylor P.R. Monocyte and macrophage heterogeneity // *Nat. Rev. Immunol.* 2005. V. 5. No. 12. P. 953–964.
- Hamza T., Barnett J.B., Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications // *Int. J. Mol. Sci.* 2010. V. 26. No. 11(3). P. 789–806.
- Jalah R., Rosati M., Ganneru B., Pilkington G.R., Valentin A., Kulkarni V., Bergamaschi C., Chowdhury B., Zhang G.M., Beach R.K., Alicea C., Broderick K.E., Sardesai N.Y., Pavlakis G.N., Felber B.K. The p40 subunit of interleukin (IL)-12 promotes stabilization and export of the p35 subunit: implications for improved IL-12 cytokine production // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. No. 9. P. 6763–6776.
- Jin M.H., Hong C.H., Lee H.Y., Kang H.J., Han S.W. Enhanced TGF-beta1 is involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced oxidative stress in C57BL/6 mouse testis // *Toxicol. Lett.* 2008. V. 178. No. 3. P. 202–209.
- Kerkvliet N.I. TCDD: an environmental immunotoxicant reveals a novel pathway of immunoregulation – a 30-year odyssey // *Toxicol. Pathol.* 2012. V. 40. No. 2. P. 138–142.
- Knerr S., Schrenk D. Carcinogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in experimental models // *Mol. Nutr. Food Res.* 2006. V. 50. No. 10. P. 897–907.
- Komura K., Hayashi S., Makino I., Poellinger L., Tanaka H. Aryl hydrocarbon receptor/dioxin receptor in human monocytes and macrophages // *Mol. Cell Biochem.* 2001. V. 226. No. 1/2. P. 107–118.
- Mandal Prabir K. Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology // *J. Comp. Physiol. (B)*. 2005. V. 175. P. 221–230.
- Marshall N.B., Kerkvliet N.I. Dioxin and immune regulation: emerging role of aryl hydrocarbon receptor in the generation of regulatory T cells // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010. V. 1183. P. 25–37.
- Meyer L.R., Zweig A.S., Hinrichs A.S., Karolchik D., Kuhn R.M., Wong M., Sloan C.A., Rosenbloom K.R., Roe G., Rhead B., Raney B.J., Pohl A., Malladi V.S., Li C.H., Lee B.T., Learned K., Kirkup V., Hsu F., Heitner S., Harte R.A., Haeussler M., Guruvadoo L., Goldman M., Giardine B.M., Fujita P.A., Dreszer T.R., Diekhans M., Cline M.S., Clawson H., Barber G.P., Haussler D., Kent W.J. The UCSC Genome Browser database: extensions and updates 2013 // *Nucl. Acids Res.* 2013. V. 41. P. 64–69.
- Neff-LaFord H., Teske S., Bushnell T.P., Lawrence B.P. Aryl hydrocarbon receptor activation during influenza virus infection unveils a novel pathway of IFN-gamma production by phagocytic cells // *J. Immunol.* 2007. V. 179. No. 1. P. 247–255.

- Nguyen N.T., Hanieh H., Nakahama T., Kishimoto T. The roles of aryl hydrocarbon receptor in immune responses // *Int. Immunol.* 2013. V. 25. No. 6. P. 335–343.
- Oshchepkov D.Y., Vityaev E.E., Grigorovich D.A., Ignatieva E.V., Khlebodarova T.M. SITECON: a tool for detecting conservative conformational and physicochemical properties in transcription factor binding site alignments and for site recognition // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. 208–212.
- Raney B.J., Cline M.S., Rosenbloom K.R., Dreszer T.R., Larned K., Barber G.P., Meyer L.R., Sloan C.A., Malladi V.S., Roskin K.M., Suh B.B., Hinrichs A.S., Clawson H., Zweig A.S., Kirkup V., Fujita P.A., Rhead B., Smith K.E., Pohl A., Kuhn R.M., Karolchik D., Haussler D., Kent W.J. ENCODE whole-genome data in the UCSC genome browser (2011 update) // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. P. 871–875.
- Schulz V.J., Smit J.J., Pieters R.H. The aryl hydrocarbon receptor and food allergy // *Vet. Q.* 2013. V. 33. No. 2. P. 94–107.
- Sciullo E.M., Dong B., Vogel C.F., Matsumura F. Characterization of the pattern of the nongenomic signaling pathway through which TCDD-induces early inflammatory responses in U937 human macrophages // *Chemosphere.* 2009. V. 74. No. 11. P. 1531–1537.
- Simones T., Shepherd D.M. Consequences of AhR activation in steady-state dendritic cells // *Toxicol. Sci.* 2011. V. 119. No. 2. P. 293–307.
- Steenland K., Bertazzi P., Baccarelli A., Kogevinas M. Dioxin revisited: developments since the 1997 IARC classification of dioxin as a human carcinogen // *Environ. Health Perspect.* 2004. V. 112. No. 13. P. 1265–1268.
- Stohs S.J. Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) // *Free Radic. Biol. Med.* 1990. V. 9. No. 1. P. 79–90.
- Sun Y.V., Boverhof D.R., Burgoon L.D., Fielden M.R., Zacharewski T.R. Comparative analysis of dioxin response elements in human, mouse and rat genomic sequences // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. 4512–4523.
- Walker N.J., Portier C.J., Lax S.F., Crofts F.G., Li Y., Lucier G.W., Sutter T.R. Characterization of the dose-response of *CYP1B1*, *CYP1A1*, and *CYP1A2* in the liver of female Sprague-Dawley rats following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999. V. 154. P. 279–286.
- Watford W.T., Moriguchi M., Morinobu A., O'Shea J.J. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003. V. 14. No. 5. P. 361–368.
- Zheng S., Abraham C. NF- κ B1 inhibits NOD2-induced cytokine secretion through ATF3-dependent mechanisms // *Mol. Cell. Biol.* 2013. V. 33. No. 24. P. 4857–4871.
- Zodrow J.M., Stegeman J.J., Tanguay R.L. Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in zebrafish // *Aquat. Toxicol.* 2004. V. 66. P. 25–38.

DYNAMICS OF IL12 CYTOKINE EXPRESSION IN HUMAN MACROPHAGES AFTER TREATMENT WITH DIOXIN

**D.Y. Oshchepkov¹, E.V. Kashina¹, E.V. Antontseva¹,
E.A. Oshchepkova¹, V.A. Mordvinov¹, D.P. Furman^{1,2}**

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: diman@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Summary

Interleukin IL-12 is a key proinflammatory cytokine, synthesized by macrophages, but the information concerning the dioxin effect on its expression is still fragmentary. The presence of previously identified potential dioxin responsive elements (DREs) in the regulatory regions of *IL12A* and *IL12B* genes, encoding IL-12 subunits IL-12p35 and IL-12p40, respectively, suggests direct activation of these genes by binding of the dioxin/AhR/ARNT complex to DREs. This work proves the binding capacity of these DREs by gel shift assay. The study of the dynamics of *IL12A* and *IL12B* gene expression in the human macrophage cell line U937 revealed no influence of dioxin on *IL12A* expression. In contrast, activation of *IL12B* gene expression with subsequent inhibition was noted. The observed dynamics can be explained by direct activation of the expression by the dioxin-containing complex and subsequent inhibition of the expression because of oxidative stress caused by dioxin. Thus, the well-known dioxin influence on the immune system can be associated with the difference in the dioxin effect on the expression dynamics of the genes encoding IL-12 subunits.

Key words: macrophage, dioxin, IL-12.

УДК 591.3:591.5:616.12-008.331.1

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕДЕНИЯ КРЫС С НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНДУЦИРУЕМОЙ СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ (НИСАГ) В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2014 г. И.О. Мешков, Т.А. Алехина, Т.А. Морева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: kirachan@yandex.ru

Поступила в редакцию 3 февраля 2014 г. Принята к публикации 24 мая 2014 г.

Гипертонический статус матери может повлиять на поведенческие показатели ее потомства в раннем онтогенезе. Крысы линии с наследственно индуцируемой стрессом артериальной гипертонией (НИСАГ) отстают по показателям моторного развития от крыс линии WAG в течение первой недели жизни, однако на протяжении второй недели развития демонстрируют более высокую двигательную активность в тесте открытого поля. Методом главных компонент были установлены более высокий уровень исследовательской активности крысят линии НИСАГ и повышенная «адаптивность» по сравнению с крысятами линии WAG на третьей неделе постнатального развития. По соматическим показателям (рост вибрисс и образование шерстного покрова) к концу 2-й недели жизни межлинейных различий не было обнаружено.

Ключевые слова: модель индуцируемой стрессом артериальной гипертонии, неонатальное развитие, двигательная активность.

Важность определения предшествующих черт гипертонической болезни имеет очевидное значение как для теоретической науки, так и для практического здравоохранения. Современными научными исследованиями в области медицины достаточно убедительно показано, что беременные женщины, страдающие гипертензией и составляющие группу риска для ряда заболеваний, оказывают негативное влияние на развитие своего плода (Gilbert *et al.*, 2007; Sato *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2013). Моделью такого симптома гипертонического заболевания может служить линия крыс со спонтанной гипертензией SHR (spontaneously hypertensive rats). Детеныши из помётов крыс этой линии демонстрируют задержку развития моторных навыков и отставание в прибавлении массы тела по сравнению с крысятами из контрольной линии WKY (Wistar Kyoto) (Bassan *et al.*, 2005).

Крысы линии НИСАГ являются моделью наследственной индуцируемой стрессом формы

артериальной гипертонии. Предрасположенность особей из линии НИСАГ к повышению артериального давления раскрывается в полной мере при наличии внешних стрессовых воздействий (Маханова и др., 1997; Маркель и др., 2002). В то же время беременность часто сопряжена с состоянием эмоционального стресса, которое может оказывать негативное влияние на здоровье самой матери и ее потомства (Beydoun, Saftlas, 2008). Исходя из этих данных, крысят линии НИСАГ следует считать подходящим объектом для исследования влияния гипертензивного статуса беременной самки на развитие моторики ее потомства. Кроме того, изучение локомоторной и исследовательской активности крысят линии НИСАГ поможет установить возраст, начиная с которого у них проявляются особенности поведения, характерные для взрослых крыс этой линии.

В настоящем исследовании были поставлены следующие задачи: оценка темпов общего

развития, сенсорных и моторных характеристик крысят гипертензивной линии НИСАГ и контрольной линии WAG на протяжении первых двух недель жизни и изучение двигательной активности у крысят обеих линий в конце третьей недели жизни.

МЕТОДИКА

Работа выполнена на крысятах двух инбредных линий – НИСАГ и WAG. Эксперименты проводили в соответствии с правилами Совета европейского сообщества (Директива 86/609/ЕЕС от 24 ноября 1986 г.). Беременных и кормящих самок содержали в стандартных условиях вивария Института цитологии и генетики СО РАН со свободным доступом к воде и корму. В экспериментах было использовано 22 помета от крыс линий НИСАГ и 24 помета от крыс линии WAG.

Определение уровня артериального давления (АД) у самцов и самок НИСАГ и WAG, выбранных для скрещивания, выполнялось за несколько дней до рассадки в клетки. Величину артериального давления (АД) у тестируемых крыс измеряли под эфирным рауш-наркозом непрямой способом (tail-cuff method) на оборудовании фирмы «BioPack» (США).

Общая оценка развития крысят. К экспериментальным процедурам допускался помет, содержащий от 7 до 10 крысят. На 1-й, 7-й и 13-й день с момента рождения крысят взвешивали и измеряли длину вибрисс. Темпы развития шерстного покрова и время открытия двух глаз оценивали визуально.

Тесты по проявлению моторных реакций. Двигательную активность крысят исследовали по четным дням с момента рождения (2-й, 4-й и т. д., до 14-го включительно). Крысенка помещали в центр площадки (20 × 30 см) хвостом к экспериментатору и в течение 1 мин снимали на видеокамеру «Canon PowerShot A490». Температуру на площадке поддерживали на уровне температуры гнезда: 30–35 °С.

Регистрировали показатели двигательной активности крысят и продолжительность неподвижности крысенка за время теста: повороты головы, круговые движения телом (повороты корпусом), поступательные движения, продолжительность умываний. С 1-го по 7-й день

регистрировали время, когда крысенек перевернется со спины и встанет на все четыре лапы.

Тест «открытое поле» (возраст крысят 21–23 дня). Всего протестировано по 26 особей от линий НИСАГ и WAG. Тест «открытое поле» проводили на площадке размером 50 × 50 см и с нарисованной сеткой с квадратами 5 × 5 см. За центральную область открытого поля принимали квадрат размером 20 × 20 см, расположенный в центре площадки.

Крысенка высаживали в центр открытого поля. Регистрировали число пересеченных квадратов за каждую минуту наблюдения, суммарное число пересеченных квадратов, число вертикальных стоек и умываний, время перехода из центра открытого поля на периферию, суммарное время нахождения в центральной области, число оставленных болюсов.

Статистический анализ. Расчеты были выполнены с использованием программного пакета STATISTICA 6.0. Все значения поведенческих параметров представлены в виде средних с их стандартными ошибками ($M \pm SE$). Влияние генотипа и пола на поведенческие характеристики определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Достоверность различий между группами тестируемых животных определяли с помощью post-hoc-теста (Tukey HSD). Для выявления факторов изменчивости поведения использовали метод главных компонент.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Уровень АД у самок НИСАГ до скрещивания составлял $157 \pm 1,27$ мм рт. стб., у самок WAG – $113 \pm 1,25$ мм рт. стб. ($F_{1,40} = 622,94$, $p < 0,005$). Уровень АД у самцов НИСАГ находился в диапазоне 170–190 мм рт. стб., у самцов WAG 115–120 мм рт. стб.

Набор массы тела, темпы роста вибрисс и развитие шерстного покрова. Самцы НИСАГ весили в первый день меньше, чем крысята из контрольной линии ($6,4 \pm 0,11$ г у НИСАГ против $7,0 \pm 0,08$ г у WAG, $F_{1,55} = 16,313$, $p < 0,001$). Однако масса тела у самцов НИСАГ в конце первой недели оказалась достоверно выше по сравнению с особями контрольной линии ($14,04 \pm 0,25$ г у НИСАГ против $12,13 \pm 0,16$ г у WAG, $F_{1,50} = 38,718$, $p < 0,001$). На 13-й день

с момента рождения межлинейных различий по массе тела между крысятами обеих линий обнаружено не было ($F_{1,48} = 2,982, p > 0,09$).

Вибриссы у самцов НИСАГ в первый день с момента рождения оказались короче, чем у самцов WAG ($1,8 \pm 0,10$ мм у НИСАГ против $2,6 \pm 0,13$ мм у WAG, $F_{1,55} = 22,179, p < 0,001$). Иных межлинейных различий по длине вибрисс на 7-й и 13-й день жизни обнаружено не было (на 7-й день: $F_{1,50} = 2,040, p > 0,1$; на 13-й день, соответственно, $F_{1,48} = 0,284, p > 0,5$).

Темпы роста шерстного покрова у обеих линий оказались одинаковыми. На 5-й день с момента рождения на спине крысенка при визуальном осмотре заметны первые волосы. На 12-й день шерстный покров уже полностью скрывал кожу крысенка. Первые волосы на брюхе заметны при визуальном осмотре на 10-й день с момента рождения. К концу второй недели жизни—началу третьей шерстный покров уже полностью скрывал кожу на брюхе крысенка.

Глаза открылись на 15–16-й день развития. Межлинейных и половых различий по срокам открытия глаз у крысят линий НИСАГ и WAG не обнаружено.

Двигательная активность крысят в течение первой недели жизни. На протяжении всего эксперимента не было обнаружено достоверных половых различий по динамике показателей внутри каждой линии, поэтому в дальнейшем выборки самцов и самок одной и той же линии, протестированные в один и тот же промежуток времени, объединялись.

В течение первой недели жизни крысята линии НИСАГ дольше сохраняли неподвижность при тестировании, реже совершали повороты головой и телом по сравнению с крысятами из контрольной линии (рис. 1, а, б). В то же время в течение первой недели у крысят обеих линий наблюдалось падение показателя суммарной длительности нахождения в неподвижном состоянии при учащении совершаемых круговых движений телом и поворотов головой (рис. 1, г).

С 1-го по 4-й день длительность переворотов со спины на четыре лапы у крысят НИСАГ была достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем у крысят линии WAG. На 5-й день показатель длительности переворотов у крысят НИСАГ снизился до среднего значения

$5,5 \pm 2,54$ секунд и перестал достоверно различаться с таковым у крысят линии WAG (рис. 1, в).

Двигательная активность крысят в течение второй недели жизни. На второй неделе жизни у крысят НИСАГ и WAG наблюдалась иная динамика развития моторики, нежели в течение первой недели. Уже на 8-й день жизни крысята НИСАГ реже застывали, чаще совершали повороты корпусом и поступательные движения в продольном направлении по сравнению с контрольной линией (рис. 1, б; 2, а). Различия по поступательным движениям вперед сохранялись и в дальнейшем, вплоть до 14-го дня, кроме того, на протяжении второй недели жизни этот показатель являлся наиболее выраженным в спектре всей двигательной активности у крысят НИСАГ. Повышение длительности и в целом выраженности поступательных движений вперед у крысят WAG наблюдалось только на 10-м дне жизни (рис. 2, а).

Длительная неподвижность у крысят обеих линий перестает наблюдаться начиная с 12-го дня (рис. 1, г). С этого времени у крысят обеих линий просматривалось передвижение на четырех лапах при поднятом над поверхностью корпусом. На 14-й день жизни подавляющая часть крысят, участвовавших в эксперименте, демонстрировала способность к перемещению в продольном направлении с приподнятым над поверхностью телом.

Умыванием считалось следующее стереотипное движение: крысенок сводит вместе передние лапы и трет ими свою мордочку, что напоминает умывание у взрослых крыс. Этот вид двигательной активности был отмечен у нескольких особей из обеих линий уже на 8-й день постнатального развития. На 14-й день жизни значение суммарной длительности умываний у крысят НИСАГ оказалось достоверно выше, чем у детенышей из пометов линии WAG ($6,1 \pm 0,71$ секунд у НИСАГ против $3,5 \pm 0,5$ секунд у WAG, $F_{1,80} = 9,68, p < 0,01$).

В целом на протяжении второй недели жизни детеныши от пометов линии НИСАГ демонстрировали более высокую двигательную активность по сравнению с крысятами из контрольной линии.

Моторика передних и задних конечностей (рис. 2, б, в). В самом начале второй недели

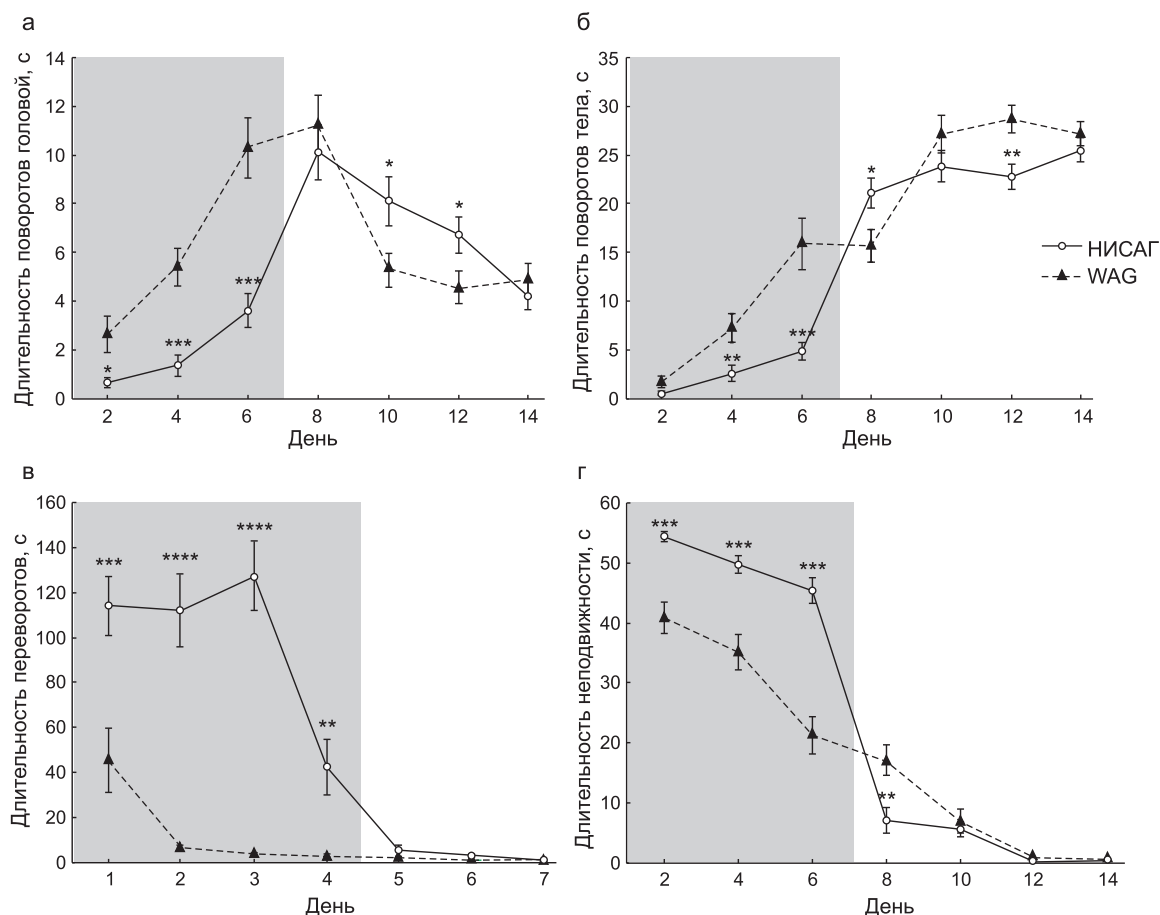


Рис. 1. Динамика развития моторики у крысят линий НИСАГ и WAG в течение первых двух недель жизни.

а – повороты головой; б – повороты туловищем; в – длительность переворотов; г – суммарная длительность застывания. Затемненная часть графика отображает период, в течение которого наблюдалась задержка развития у крысят линии НИСАГ. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

жизни, на 8-й день с момента рождения, у крысят НИСАГ было отмечено большее число движений, способствующих передвижению особи, по сравнению с контрольной линией, причем как передними, так и задними лапами. На 10-й день жизни у крысят WAG двигательная активность передних лап выше, чем у особей линии НИСАГ, межлинейных различий по моторике задних лап не обнаружено. На 12-й день жизни не было найдено межлинейных различий по двигательной активности передних лап, однако активность задних лап у крысят НИСАГ была выше. Наконец на 14-й день с момента рождения крысята обеих линий начали передвигаться с отрывом корпуса от поверхности и совершать при движении полноценные шаги передними и задними лапами. В это же время повторилась ситуация, наблюдавшаяся в начале

второй недели жизни: крысята НИСАГ совершали большее число шагов как передними, так и задними лапами.

Двигательная активность крысят на 21-й день развития (табл. 1). В первые две минуты тестирования крысята линии WAG пересекали большее число квадратов и двигались быстрее по сравнению с крысятами из линии НИСАГ. Показатель отношения числа квадратов, пересеченных за первую минуту, к числу квадратов, пересеченных за пятую, у крысят НИСАГ достоверно превышал таковой у крысят WAG. Однако по суммарному числу пересеченных квадратов за время тестирования межлинейных различий выявлено не было.

Суммарная длительность переходов у крысят НИСАГ оказалась больше, чем у детенышей из помётов линии WAG; суммарная продолжи-

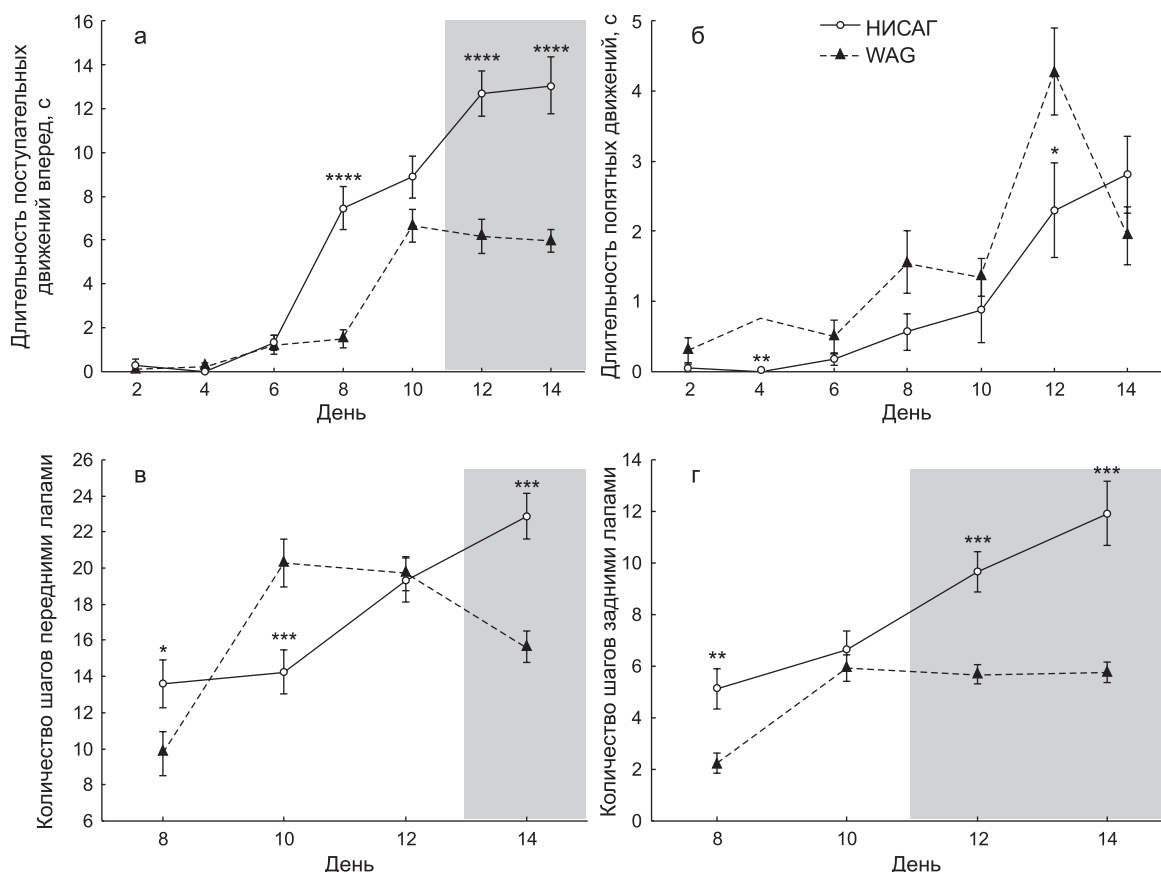


Рис. 2. Поступательные движения вперед, моторики передних и задних конечностей у крысят линий НИСАГ и WAG.

а – поступательные движения вперед в течение первых двух недель жизни; б, в – движения передних и задних лап. Затемненная часть графика отображает период, в течение которого у крысят линии НИСАГ более высокая двигательная активность. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

тельность стоек и умываний у крысят НИСАГ достоверно больше, чем у особей из контрольной линии.

Методом главных компонент были выделены три фактора, которые берут на себя более половины общей дисперсии поведенческих признаков, т. е. существуют три основные причины, которые обуславливают главную долю изменчивости по поведению у крысят линий НИСАГ и WAG (табл. 2).

Основную положительную нагрузку на первую компоненту дают следующие характеристики поведения: число пересеченных квадратов за вторую, третью и пятую минуту и за все время тестирования, а также суммарное время горизонтальной двигательной активности. Поведенческие показатели, дающие в первую компоненту значительный

отрицательный вклад, отсутствуют, поэтому по содержанию первую компоненту можно определить как «моторную». Значительный вклад, притом только отрицательный, дают во вторую компоненту параметры, характеризующие двигательную активность особи в первую минуту с момента высадки в открытое поле, и отношение числа пересеченных квадратов в первую минуту к числу пересеченных квадратов в пятую. Значение 2-й компоненты можно интерпретировать как резкость или быстроту спада двигательной активности крысят на протяжении теста.

Показатели 2-й компоненты указывают на состояние тревожности особей (Маркель, 1981; Маркель и др., 1988) и с учетом отрицательного знака корреляций этой компоненты можно обозначить ее как «адаптивную».

Таблица 1

Показатели в ТОП у крысят линий НИСАГ и WAG в 3-недельном возрасте

Поведенческий показатель	НИСАГ	WAG	Фактор генотипа
Пересеченные квадраты за 1-ю минуту	54,2 ± 5,47**	79,1 ± 6,13	$F_{1,50} = 9,217, p < 0,01$
за 2-ю минуту	28,9 ± 3,90*	43,2 ± 4,80	$F_{1,50} = 5,335, p < 0,05$
за 3-ю минуту	26,0 ± 3,59	24,2 ± 4,39	$F_{1,50} = 0,108, p > 0,7$
за 4-ю минуту	24,7 ± 3,35†	15,8 ± 3,21	$F_{1,50} = 3,695, p < 0,06$
за 5-ю минуту	21,7 ± 3,75	19,3 ± 5,38	$F_{1,50} = 0,132, p > 0,7$
Суммарное число пересеченных квадратов	155,4 ± 13,59	181,5 ± 12,10	$F_{1,50} = 2,048, p > 0,1$
Отношение числа квадратов за 1-ю минуту к 5-й	18,3 ± 7,18***	85,3 ± 17,08	$F_{1,50} = 13,067, p < 0,001$
Суммарная длительность переходов (с)	69,3 ± 5,28*	53,8 ± 3,39	$F_{1,50} = 6,108, p < 0,05$
Длительность умываний (с)	56,0 ± 3,66**	35,5 ± 4,70	$F_{1,50} = 11,865, p < 0,01$
Длительность вертикальных стоек (с)	35,4 ± 3,14**	23,9 ± 2,58	$F_{1,50} = 7,959, p < 0,01$
Длительность пребывания в центре открытого поля при высадке (с)	3,9 ± 0,57	3,8 ± 0,53	$F_{1,50} = 0,002, p > 0,9$
Длительность пребывания в центре открытого поля (с)	9,0 ± 1,44	6,8 ± 1,30	$F_{1,50} = 1,187, p > 0,2$
Длительность застываний (с)	2,4 ± 1,59	8,0 ± 4,01	$F_{1,50} = 1,695, p > 0,18$
Число болюсов	0,5 ± 0,17	0,5 ± 0,21	$F_{1,50} = 0,000, p > 0,99$

Примечание. † 0,06 < p < 0,05; * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001.

Таблица 2

Вклад поведенческих показателей в первые три главные компоненты

Поведенческий показатель	Номер компоненты		
	1 (27,1 %)	2 (16,4 %)	3 (13,5 %)
Пересеченные квадраты за 1-ю минуту	0,43	-0,78 ☼	-0,07
за 2-ю минуту	0,64 ●	-0,40	0,20
за 3-ю минуту	0,63 ●	-0,22	-0,43
за 4-ю минуту	0,22	0,48	-0,29
за 5-ю минуту	0,59 ●	0,29	0,14
Суммарное число пересеченных квадратов	0,89 ●●	-0,35	-0,12
Отношение числа квадратов за 1-ю минуту к числу за 5-ю	-0,43	-0,67 ☼	-0,01
Общая локомоторная активность (с)	0,84 ●●	0,21	0,14
Длительность умываний (с)	-0,03	0,45	-0,49
Длительность вертикальных стоек (с)	0,44	0,33	-0,25
Длительность пребывания в центре открытого поля при высадке (с)	0,18	0,24	0,72 ●
Суммарная длительность пребывания в центре открытого поля (с)	0,46	0,09	0,69 ●
Длительность застываний (с)	-0,44	-0,35	0,22
Число болюсов	0,30	-0,22	-0,42

Примечание. ●● – положительный вклад в компоненту больше либо равно 0,75; ● – больше либо равно 0,5; ☼ – меньше либо равно -0,5.

Значение третьей компоненты можно однозначно интерпретировать как показатель длительности нахождения особи в центральной части открытого поля.

Различия между линиями НИСАГ и WAG наблюдаются только по второй компоненте изменчивости (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Обнаруженные в настоящей работе различия при формировании моторных реакций головы, тела и конечностей у крысят линий НИСАГ и WAG, а также последующие различия в их поведении являются следствием, по крайней мере, двух сочетанных немодифицируемых факторов. Во-первых, созревание двигательного аппарата определяется генетическими особенностями исследуемых линий, и, во-вторых, на развитие крысенка влияет наличие артериальной гипертензии у матери. И действительно, при перекрестном воспитании, когда мать, страдающую гипертензией, заменяют на нормотензивную, у крысят НИСАГ снижается артериальное давление уже в молодом возрасте, и по сравнению с крысами, воспитываемыми своими собственными родителями в линии НИСАГ, гипертензия у них развивается с задержкой по времени (Амстиславский и др., 1998).

Проявление способности поворачивать голову и тело, ходить с приподнятым над поверхностью корпусом и передвигаться в продольном направлении у крысят линий НИСАГ и WAG наблюдалось в сроки, не отличающиеся от тех, что были установлены в классических работах по изучению развития моторики у крысят других линий, неотягощенных какими-либо наследственными патологиями (Altman, Sudarshan, 1975; Geisler *et al.*, 1993). Однако одинаковые сроки появления перечисленных способностей у крысят линий НИСАГ и WAG вовсе не означают отсутствия межлинейных различий по показателям активности моторных реакций и динамики их развития.

В первую неделю развития у крысят линии НИСАГ обнаружено отставание в формировании по активности двух основных моторных подсистем – движению головы и тела по сравнению с крысятами WAG (рис. 1, а, б). Суммарно это выразилось в большем времени неподвиж-

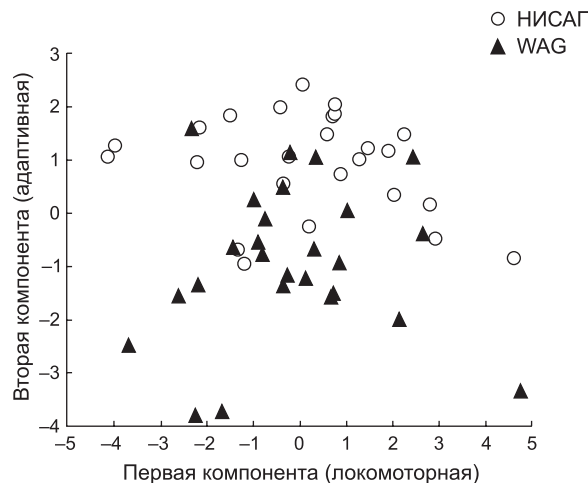


Рис. 3. Расположение особей линий НИСАГ и WAG в координатах двух первых главных компонент.

ности у них в период, во время которого, по мнению ряда авторов (Eilam, Golani, 1988; Исенгулова и др., 2009), происходит стабилизация функциональных состояний мозга при переходе их к внеутробному развитию. Кроме того, в течение первых 4 дней жизни крысята линии НИСАГ медленнее по сравнению с крысятами из контрольной линии совершали перевороты из положения на спине в позу стояния на 4 лапах. Последние факты говорят о том, что снижение уровня моторной активности, нескоординированность движений и повышенная длительность реакций застывания свидетельствуют о замедленном развитии крыс гипертензивной линии в начале неонатального развития. Сходная задержка развития двигательных навыков, но уже по спектру рефлексов, наблюдалась в первую неделю жизни у крысят гипертензивной линии SHR. По числу переворотов, разворачиванию на наклоненной площадке (негативный геотаксис) и избеганию края площадки крысята из линии SHR набрали меньшее количество баллов относительно контрольной линии WKY (Bassan *et al.*, 2005).

Судя по ходу кривых развития двух моторных подсистем – осей движения головы и тела (рис. 1, а, б), – в конце первой недели и начале второй (6–8-й день) у крысят произошли резкие изменения. Именно в этот период у крысят линии WAG движения корпуса затормаживаются, а в линии НИСАГ тот же показатель резко увеличивается, опережая по

своему значению время движения корпуса у крысят WAG (рис. 1, б). Что касается поворотов головы, то в начале второй недели ход кривых у двух линий изменяется и покато идет вниз (рис. 1, а). Ряд исследователей называют этот период критическим и связывают его с началом формирования кортикоспинального тракта (Clarac *et al.*, 2004). Кортикоспинальные проекции развиваются последними по сравнению с проекциями, исходящими из стволовых ядер, и начинают функционировать в конце первой постнатальной недели (Schreyer, Jones, 1982). «Пребывание» аксонов в этот тракт заканчивается только к концу второй недели (Auclair *et al.*, 1993). Формирование кортикоспинального тракта повышает возможность контролировать процессы движения телом при участии функционирования коры головного мозга, что и выразилось в изменении хода кривых моторных подсистем у крыс НИСАГ и WAG.

На второй постнатальной неделе динамика развития разного рода движений у двух линий изменилась. Количество поступательной моторики у крысят НИСАГ резко возросло по сравнению с крысятами WAG (рис. 2, а). Свой вклад в поступательные движения внесло созревание мускульной системы передних (рис. 2, б) и задних лап (рис. 2, в). Кроме того, в конце второй недели показано большее число актов умывания у крысят НИСАГ, что указывает на более продвинутый этап развития тонких движений передних конечностей.

Наблюдения за локомоторной активностью у крысят на 21-й день развития показали, что детеныши из пометов линии WAG движутся в первые минуты тестирования по периферии открытого поля быстрее, чем крысята линии НИСАГ, часто замирая на 1–2 секунды. Отмечено, что двигательная активность в первые минуты теста открытого поля мотивирована скорее страхом, нежели исследованием (Маркель, 1981; Маркель и др., 1988). Более того, быстрые побежки, чередующиеся с замиранием у взрослых крыс, считаются проявлением повышенного уровня тревоги (Плюснина, 2004). Что касается крысят WAG, то у них на резкий спад двигательной активности в течение 5 мин тестирования указывает высокий показатель отношения числа пересеченных квадратов с первой минуты к пятой – 85,3 (табл. 1), что

свидетельствует о повышенном уровне тревожности. Некоторый вклад в показатель снижения локомоторной активности, несомненно, вносит и габитуация крыс WAG (Leussis, Bolivar, 2006), но по сравнению с крысами НИСАГ, у которых аналогичный показатель спада равняется 18,3 (табл. 1), этот вклад незначительный. Напротив, крысята линии НИСАГ проявляют постоянную подвижность, редко задерживаются в одном и том же квадрате, часто меняют местоположение, постоянно проявляют наряду с горизонтальной вертикальную двигательную активность, что в сумме свидетельствует о повышенной исследовательской мотивации. Разные показатели общей двигательной активности у крыс НИСАГ и WAG не выявили различий по первой локомоторной компоненте изменчивости. Однако по второй компоненте, которую можно охарактеризовать как «адаптивную», различия очевидны (рис. 3). Из рис. 3 видно, что крысы линии НИСАГ в 3-недельном возрасте легче приспосабливаются к обстановке теста открытого поля, чем крысы WAG.

Особый интерес представляет сравнение поведения крысят в возрасте 21 день со взрослыми крысами НИСАГ. Так же, как и взрослые крысы (Маркель, 1981; Маркель и др., 1988; Мешков и др., 2012), молодые особи уже на третью неделю жизни чаще принимают стойки, дольше совершают умывания, активнее передвигаются в последние минуты тестирования и в целом проявляют бóльшую подвижность. О том же свидетельствуют эксперименты Л.В. Лоскутовой с соавт. (2006), проводимые на взрослых крысах НИСАГ в приподнятом крестообразном лабиринте. Эти животные находятся в закрытых рукавах меньший промежуток времени и имеют меньшее количество переходов из светлой части лабиринта в темную, а также дольше присутствуют в центре лабиринта, что указывает на сниженное состояние тревожности по сравнению с контрольными животными Вистар и WAG. Преимущественное развитие моторных реакций у крысят НИСАГ в 3-недельном возрасте по сравнению с крысятами WAG может лечь в основу исследовательской мотивации у взрослых крыс гипертензивной линии.

Таким образом, полученные данные показывают, что в начале неонатального периода у крыс гипертензивной линии наблюдается

задержка развития по двигательным признакам, а в течение второй постнатальной недели и на 21-й день количество двигательных реакций у крысят НИСАГ стало преобладать над таковыми у крысят WAG. В период социализации (в 3-недельном возрасте) у крысят проявляются черты поведения, характерные для взрослых особей исследуемой линии – появляется повышенная исследовательская активность и большая адаптивность в условиях теста открытого поля. Полученные результаты настоящего исследования подтверждают, что развитие двигательных систем в раннем постнатальном онтогенезе является сложным многоступенчатым и скоординированным процессом, зависящим в большей степени от генетических программ развития линий НИСАГ и WAG, чем от сенсорных влияний внешней среды.

ВЫВОДЫ

1. Крысята линии НИСАГ отстают по показателям моторного развития от крысят линии WAG в течение первой недели жизни, однако на протяжении второй недели развития демонстрируют более высокую двигательную активность на открытой площадке.

2. Различия в поведении в тесте открытого поля на третьей неделе постнатального развития между особями линий НИСАГ и WAG указывают на повышенную исследовательскую активность крысят линии НИСАГ и повышенную «адаптивность» по сравнению с крысятами линии WAG при попадании их в новую обстановку.

3. Крысята линий НИСАГ и WAG на протяжении первых трех недель развития демонстрируют существенные различия по показателям двигательной активности и не обнаруживают различий к концу второй недели в росте вибрисс и в темпах образования шерстного покрова.

ЛИТЕРАТУРА

Амстиславский С.Я. Влияние материнской среды на артериальное давление и рефлекс испуга у крыс с наследственной артериальной гипертензией // Рос. физиол. журн. им. Сеченова. 1998. Т. 84. № 8. С. 783–790.
Исенгулова А.А., Зарайская И.Ю., Мирошниченко И.В. Особенности динамики соматического развития и формирования поведенческих актов у крысят линии Вистар

при периодическом длительном удалении из гнезда в период молочного вскармливания // Журн. высш. нервн. деятельности. 2009. Т. 59. № 5. С. 610–615.
Лоскутова Л.В., Дубровина Н.И., Маркель А.Л. Сравнительный анализ сохранения условной реакции пассивного избегания у крыс с разными формами наследственной артериальной гипертензии // Рос. физиол. журнал. 2006. Т. 92. № 4. С. 440–448.
Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте «открытого поля» // Журн. высш. нервн. деятельности. 1981. Т. 31. № 2. С. 301–307.
Маркель А.Л., Галактионов Ю.К., Ефимов В.М. Факторный анализ поведения крыс в тесте открытого поля // Журн. высш. нервн. деятельности. 1988. Т. 38. № 5. С. 855–863.
Маркель А.Л., Дымшиц Г.М., Шмерлинг М.Д., Якобсон Г.С. Гены, стресс, гипертензия // Бюл. СО РАМН. 2002. Т. 2. С. 35–40.
Маханова Н.А., Антонов А.Р., Маркель А.Л., Якобсон Г.С. Онтогенетическая динамика артериального давления и характеристик ЭКГ у крыс линии НИСАГ с наследственной артериальной гипертензией // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 1997. Т. 123. № 6. С. 709–713.
Мешков И.О., Алехина Т.А., Морев Т.А., Маркель А.Л. Характеристика поведения гипертензивных крыс линии НИСАГ // Журн. высш. нервн. деятельности. 2012. Т. 62. № 2. С. 233–242.
Плюснина И.З. Двигательная активность – исследование или «паника»? // Рос. физиол. журн. Приложение. Часть 1. 2004. Т. 90. № 8. С. 84.
Altman J., Sudarshan K. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat // Anim. Behav. 1975. V. 23. No. 4. P. 896–920.
Auclair F., Bélanger M. C., Marchand R. Ontogenetic study of early brain stem projections to the spinal cord in the rat // Brain. Res. Bull. 1993. V. 30. No. 3/4. P. 281–289.
Bassan H., Bassan M., Pinhasov A., Kariv N., Giladi E., Gozes I., Harel S. The pregnant spontaneously hypertensive rat as a model of asymmetric intrauterine growth retardation and neurodevelopmental delay // Hypertens. Pregnancy. 2005. V. 24. No. 3. P. 201–211.
Beydoun H., Saftlas A.F. Physical and mental health outcomes of prenatal maternal stress in human and animal studies: a review of recent evidence // Paediatr. Perinat. Epidemiol. 2008. V. 22. No. 5. P. 438–466.
Clarac F., Brocard F., Vinay L. The maturation of locomotor networks // Progr. Brain. Res. 2004. V. 143. P. 57–66.
Eilam D., Golani I. The ontogeny of exploratory behavior in the house rat (*Rattus rattus*): the mobility gradient // Dev. Psychobiol. 1988. V. 21. No. 7. P. 679–710.
Geisler H.C., Westerga J., Gramsbergen A. Development of posture in the rat // Acta Neurobiol. Exp. (Wars). 1993. V. 53. No. 4. P. 517–523.
Gilbert W.M., Young A.L., Danielsen B. Pregnancy outcomes in women with chronic hypertension: a population-based study // J. Reprod. Med. 2007. V. 52. No. 11. P. 1046–1051.
Leussis M.P., Bolivar V.J. Habituation in rodents: a review of behavior, neurobiology, and genetics // Neurosci. Biobehav. Rev. 2006. V. 30. No. 7. P. 1045–1064.

- Sato Y., Benirschke K., Marutsuka K., Yano Y., Hatakeyama K., Iwakiri T., Yamada N., Kodama Y., Sameshima H., Ikenoue T., Asada Y. Associations of intrauterine growth restriction with placental pathological factors, maternal factors and fetal factors; clinicopathological findings of 257 Japanese cases // *Histol. Histopathol.* 2013. V. 28. No. 1. P. 127–132.
- Schreyer D.J., Jones E.G. Growth and target finding by axons of the corticospinal tract in prenatal and postnatal rats // *Neurosci.* 1982. V. 7. No. 8. P. 1837–1853.
- Su C-Y., Lin H-C., Cheng H-C., Yen A.M., Chen Y-H., Kao S. Pregnancy outcomes of anti-hypertensives for women with chronic hypertension: a population-based study // *PLoS One.* 2013. V. 8. No. 2. e53844.

BEHAVIOR OF RAT NEONATES WITH INHERITED STRESS-INDUCED ARTERIAL HYPERTENSION

I.O. Meshkov, T.A. Alekhina, T.A. Moreva

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: kirachan@yandex.ru

Summary

The present work concerns the development of locomotor activity, rates of weight gain, vibrissa growth, and time of eyelid opening in two inbred rat strains in the early development. The strains were: rats with inherited stress-induced arterial hypertension (ISIAH) and Wistar Albino Glaxo (WAG) rats as control. Different dynamics of weight gain and vibrissae growth were shown. However, the strains did not differ in the rate of hair growth and time of eyelid openings. Pups of the ISIAH strain exhibited a delay in behavioral maturation in the first week of postnatal development compared to WAG pups of the same age and showed higher locomotor activity in the second week. Differences in behavior between ISIAH and WAG strains in the open field test in the third week revealed higher levels of exploratory behavior and adaptability of ISIAH pups in the novel environment than in WAG pups. Thus, pups of the ISIAH and WAG strains differed significantly in indices of motor development within the first three weeks of postnatal development but not in vibrissa growth, hair coat formation, or eye opening by the end of the 2nd week.

Key words: model of inherited stress induced arterial hypertension, neonatal development, locomotor activity.

УДК 577.21:633.11:632.937.14

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУЛЕНТНОСТИ *PUCCINIA RECONDITA* ROB. EX DESM. SYN.: *PUCCINIA TRITICINA* ERIKSS. В СРЕДНЕМ ПОВОЛЖЬЕ

© 2014 г. Л.Г. Тырышкин¹, В.Г. Захаров², В.В. Сюков³

¹ ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии,
Санкт-Петербург, Россия;

² ГНУ Ульяновский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Россельхозакадемии, пос. Тимирязевский, Ульяновская область, Россия;

³ ГНУ Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова
Россельхозакадемии, пос. Безенчук, Самарская область, Россия,
e-mail: vsyukov@mail.ru

Поступила в редакцию 3 сентября 2013 г. Принята к публикации 15 октября 2013 г.

По результатам исследований 2011–2012 гг. выявлена принадлежность ульяновской и безенчукской популяций *Puccinia recondita* к единому ареалу формообразования и распространения листовой ржавчины. В то же время показана значительная схожесть структуры средневожской популяции со структурой популяций из Северного Кавказа и Северо-Западного региона России. Во всех регионах отсутствуют клоны, вирулентные к *Lr 9* и *Lr 41*. Низкими частотами характеризуются гены вирулентности *plr19*, *plr24*, *plr28*, *plr29*, *plr47*.

Ключевые слова: листовая бурая ржавчина, яровая пшеница, гены вирулентности, гены устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Листовая бурая ржавчина (возбудитель *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. syn.: *Puccinia triticina* Erikss) – одна из наиболее распространенных и вредоносных болезней мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. во многих зонах возделывания культуры, в том числе и в Среднем Поволжье Российской Федерации. Потери урожая в Поволжье от бурой листовой ржавчины достигают 30 %, при орошении – 35 %, а в годы сильных эпифитотий доходят до 60 % (Крупнов, 1997; Крупнов и др., 2000; Лебедев, 1998; Сюков, 2003). Наиболее экономически выгодным и экологически безопасным методом борьбы с листовой ржавчиной является возделывание устойчивых сортов. Целенаправленное создание таких сортов требует знания частот вирулентности патогена к известным генам устойчивости, их динамики, сходства по данному признаку субпопуляций из различных

частей регионов. Такого рода исследования позволяют идентифицировать эффективные на данный момент гены резистентности к болезни, предполагать сроки сохранения ими своей эффективности, а также разрабатывать программы их рационального территориального размещения.

Изучение полиморфизма средневожской популяции *Puccinia recondita* в 1990-е гг. проводились Е.Д. Коваленко с соавт. (2001). По их данным, в Самарской области выявлено 37 генотипов *Puccinia recondita*, имеющих от 6 до 18 генов вирулентности, среди которых наиболее часто встречаются средне- и высоковирулентные генотипы, несущие от 13 до 18 генов вирулентности. В последующие годы такая работа не проводилась по ряду причин, в том числе и из-за отсутствия бурой ржавчины в регионе в течение 2009–2010 гг.

Цель настоящего исследования – изучение вирулентности *P. recondita* из двух областей

Среднего Поволжья в сравнении с популяциями из других регионов России в 2011–2012 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Монопустульные изоляты *P. recondita* выделяли из популяций патогена, собранных в Среднем Поволжье (пос. Безенчук Самарской области и пос. Тимирязевский Ульяновской области) в 2011–2012 гг., а также в Северо-Западном регионе (г. Пушкин) и Северном Кавказе (г. Дербент) в 2012 г., и поддерживали на отрезках листьев универсально восприимчивого сорта пшеницы Ленинградка. Всего из каждой популяции было выделено и проанализировано по 100 изолятов возбудителя листовой ржавчины пшеницы.

Семена почти изогенных линий пшеницы сорта Thatcher с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr* 1, *Lr* 2a, *Lr* 9, *Lr* 10, *Lr* 12, *Lr* 13, *Lr* 14a, *Lr* 15, *Lr* 17, *Lr* 19, *Lr* 20, *Lr* 21, *Lr* 22a, *Lr* 23, *Lr* 24, *Lr* 25, *Lr* 26, *Lr* 32, *Lr* 34, *Lr* 35, *Lr* 36, *Lr* 37, *Lr* 41 (= *Lr* 39), *Lr* 45, а также образцов с генами *Lr* 27+31, *Lr* 28, *Lr* 29, *Lr* 46, *Lr* 47, *Lr* 48 и *Lr* 49 высевали в кюветы на смоченную водой вату. После прорастания семян кюветы помещали на светоустановку (20–22 °С, постоянное освещение – 2 500 люкс). Семена линий и образцов с генами устойчивости *Lr* 1, *Lr* 2a, *Lr* 10, *Lr* 14a, *Lr* 15, *Lr* 17, *Lr* 20, *Lr* 21, *Lr* 22a, *Lr* 23, *Lr* 25, *Lr* 26, *Lr* 27+31, *Lr* 32, *Lr* 34, *Lr* 35, *Lr* 36, *Lr* 37 высевали в почву в ящики и выращивали до колошения в климатической камере (22 °С, постоянное освещение – 2 500 люкс).

Отрезки первых листьев (длина 0,7–1 см) выращенных на вате растений линий и образцов с *Lr* генами устойчивости раскладывали в строчку на смоченную водой вату и инокулировали монопустульными изолятами возбудителя листовой ржавчины. Аналогично отрезки флаг-листьев выращенных в почве образцов раскладывали на вату и заражали изолятами *P. recondita*. Тип реакции на заражение патогеном учитывали на 6–7-е сутки после инокуляции по шкале Майнса и Джексона (Mains, Jackson, 1926): 0 – отсутствие симптомов болезни; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза; 4 – крупные пустулы без некроза. Типы реакции

0–2 соответствуют авирулентности, типы 3 и 4 – вирулентности патогена. Типы реакции отрезков листьев изучаемого набора образцов совпадали с типами реакций на заражение интактных растений теми же клонами (данные не приводятся).

Для оценки степени сходства популяций *P. recondita* из разных регионов использовали метод парных корреляций (Большев, Смирнов, 1983).

В полевых условиях оценку развития болезни и типа реакции линий и образцов пшеницы проводили на естественных фонах развития листовой ржавчины на полях Пушкинских лабораторий ВИР, Самарского, Ульяновского НИИ сельского хозяйства.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В стадии проростков низкой эффективностью устойчивости (частота вирулентных изолятов более 50 % по крайней мере в одной из популяций) в 2011 г. характеризовались образцы с генами резистентности *Lr*: 1, 10, 12, 13, 14a, 17, 21, 22a, 25, 26, 27+31, 32, 34, 36, 37, 46, 48, 49 (табл. 1).

Выявлена высокая степень сходства частот вирулентности ульяновской и безенчукской популяций патогена. Коэффициент корреляции между частотами вирулентности к образцам пшеницы на стадии проростков составил 0,975, а при учете только образцов, обладающих четко выраженной дифференцирующей способностью (без учета линий и образцов с *Lr*-генами 9, 14a, 19, 22a, 24, 41), $-r = 0,958$.

Ни в одной из популяций не выявлено изолятов *P. recondita*, вирулентных к линиям с генами *Lr* 9, *Lr* 19, *Lr* 24, *Lr* 41; низкая частота (менее 20 %) изолятов возбудителя листовой ржавчины, вирулентных к проросткам, была характерна для линий с генами *Lr* 2a, *Lr* 28, *Lr* 47.

Аналогичная картина наблюдается и при анализе частот вирулентности к взрослым растениям. Коэффициент корреляции между частотами вирулентности составил 0,967, а при учете образцов, обладающих только четко выраженной дифференцирующей способностью (без учета линий с *Lr* 15 и *Lr* 35), $-r = 0,960$.

В стадии флаг-листа низкие частоты (до 20) вирулентности изолятов патогена выявлены для

изученных линий с генами устойчивости *Lr*: 2a, 15, 23, 26, 36 и 37.

Высокие значения коэффициентов корреляции, а также практически одинаковые частоты вирулентности к *Lr*-генам в обеих популяциях указывают на то, что, по-видимому, эти геогра-

фические точки относятся к единой зоне формообразования патотипов *Puccinia recondita*.

Интересным является факт отсутствия в двух изучаемых субпопуляциях патотипов с аллелем вирулентности *plr* 19. В зонах Нижнего и Среднего Поволжья ген устойчивости *Lr* 19 полностью потерял свою эффективность уже к концу прошлого века (Вьюшков и др., 2012). Двухлетнее отсутствие листовой ржавчины на посевах пшеницы в изучаемых регионах (2009–2010 гг.) привело, по-видимому, к радикальному изменению структуры популяции *Puccinia recondita*. Отметим также отсутствие в популяциях вирулентности к гену *Lr* 24, хотя, по данным саратовских исследователей (Маркелова, 2007), в последние годы наблюдается резкое нарастание частот вирулентности к данному гену. Наши исследования, тем не менее, показывают, что регионы Среднего и Нижнего Поволжья относятся к единому ареалу распространения листовой ржавчины (Вьюшков и др., 2012).

По результатам изучения в 2012 г. на стадии проростков абсолютно эффективными к четырём популяциям возбудителя листовой ржавчины являются только гены *Lr* 9, *Lr* 19 и *Lr* 41; хотя в одной из изучаемых популяций отмечено наличие редких клонов, вирулентных к генам *Lr* 24, *Lr* 28, *Lr* 29 и *Lr* 47 (табл. 2).

В основном эти данные подтверждаются и анализом вирулентностей монопустульных изолятов (табл. 3). Не выявлено клонов *Puccinia recondita*, вирулентных к генам *Lr* 9 и *Lr* 41. В некоторых популяциях обнаружены минорные патотипы, вирулентные к *Lr* 19, *Lr* 24, *Lr* 28, *Lr* 29 и *Lr* 47. При этом клоны, вирулентные к *Lr* 19, обнаружены только в популяциях Среднего Поволжья; к *Lr* 24, *Lr* 28 и *Lr* 29 – в популяциях Среднего Поволжья и Пушкина, а к *Lr* 47 – в популяциях из Ульяновска и Пушкина.

Коэффициенты корреляции между частотами вирулентности к образцам пшеницы на стадии проростков в 4 популяциях *Puccinia recondita* приведены в табл. 4. Наибольшая степень сходства отмечается для выборок изолятов из Безенчука и Ульяновска, что подтверждает вывод об их близости, сделанный по результатам анализа 2011 г.

Однако высокодостоверные коэффициенты корреляции между частотами вирулентностей и в остальных популяциях дают основание

Таблица 1

Частота клонов возбудителя
листовой ржавчины пшеницы,
вирулентных к образцам
с *Lr* генами устойчивости (2011 г.)

Ген устойчи- вости	Тимирязевский		Безенчук	
	1-й лист	флаг- лист	1-й лист	флаг- лист
<i>Lr</i> 1	94	92	71	70
<i>Lr</i> 2a	8	8	17	17
<i>Lr</i> 9	0	—*	0	—
<i>Lr</i> 10	90	78	94	82
<i>Lr</i> 12	94	—	98	—
<i>Lr</i> 13	94	—	98	—
<i>Lr</i> 14a	100	76	98	69
<i>Lr</i> 15	17	1	38	2
<i>Lr</i> 17	96	34	96	41
<i>Lr</i> 19	0	—	0	—
<i>Lr</i> 20	48	35	43	34
<i>Lr</i> 21	80	46	88	43
<i>Lr</i> 22a	100	55	98	61
<i>Lr</i> 23	24	6	27	6
<i>Lr</i> 24	0	—	0	—
<i>Lr</i> 25	88	36	88	31
<i>Lr</i> 26	53	12	47	9
<i>Lr</i> 27+31	80	25	84	33
<i>Lr</i> 28	7	—	12	—
<i>Lr</i> 29	23	—	17	—
<i>Lr</i> 32	92	36	94	29
<i>Lr</i> 34	94	45	96	41
<i>Lr</i> 35	74	0	75	0
<i>Lr</i> 36	86	21	63	17
<i>Lr</i> 37	38	5	55	8
<i>Lr</i> 41	0	—	0	—
<i>Lr</i> 46	92	—	84	—
<i>Lr</i> 47	5	—	7	—
<i>Lr</i> 48	90	—	94	—
<i>Lr</i> 49	94	—	96	—

* Не тестировалось.

говорить о как минимум тесной связанности ареалов формирования и распространения изучаемого патогена в настоящее время. Полученные данные несколько расходятся с широко

распространенным мнением о существовании относительно изолированных популяций в различных географических регионах России (Gulyaeva *et al.*, 2010).

Таблица 2

Типы реакции линий и сортов
с *Lr* генами устойчивости
на заражение популяциями возбудителя
листовой ржавчины пшеницы.
2012 г. Камера, стадия проростков

Ген устойчивости	Улья-новск	Безен-чук	Дербент	Пушкин
<i>Lr</i> 1	3	3	3	3
<i>Lr</i> 2a	3	3	3	3
<i>Lr</i> 3c	3	3	3	3
<i>Lr</i> 9	0	0	0	0
<i>Lr</i> 10	3	3	3	3
<i>Lr</i> 12	3	3	3	3
<i>Lr</i> 13	3	3	3	3
<i>Lr</i> 14a	3	3	3	3
<i>Lr</i> 15	3	3	3	3
<i>Lr</i> 17	3	3	3	3
<i>Lr</i> 18	3	3	3	3
<i>Lr</i> 19	0	0	0	0
<i>Lr</i> 20	3	X	X	X
<i>Lr</i> 21	3	3	3	3
<i>Lr</i> 22a	3	3	3	3
<i>Lr</i> 23	3	3	3	3
<i>Lr</i> 24	0	е. п.	е. п.	е. п.
<i>Lr</i> 25	3	3	3	3
<i>Lr</i> 26	3	3	3	3
<i>Lr</i> 27+31	3	3	3	3
<i>Lr</i> 28	е. п.*	е. п.	е. п.	е. п.
<i>Lr</i> 29	е. п.	е. п.	е. п.	е. п.
<i>Lr</i> 32	3	3	3	3
<i>Lr</i> 34	3	3	3	3
<i>Lr</i> 35	3	3	3	3
<i>Lr</i> 36	3	3	3	3
<i>Lr</i> 37	3	X	X	3
<i>Lr</i> 41	0	0	0	0
<i>Lr</i> 45	3	3	3	3
<i>Lr</i> 47	0	0	е. п.	0
<i>Lr</i> 48	3	3	3	3
<i>Lr</i> 49	3	3	3	3

Таблица 3

Частота клонов возбудителя
листовой ржавчины пшеницы,
вирулентных к образцам
с *Lr* генами устойчивости (2012 г.)

Ген устойчивости	Улья-новск	Безен-чук	Дербент	Пушкин
<i>Lr</i> 1	34	73	45	61
<i>Lr</i> 2a	53	69	61	70
<i>Lr</i> 3c	91	85	89	85
<i>Lr</i> 9	0	0	0	0
<i>Lr</i> 10	95	97	99	93
<i>Lr</i> 12	87	100	98	99
<i>Lr</i> 13	93	100	95	95
<i>Lr</i> 14a	91	89	98	95
<i>Lr</i> 15	42	43	49	52
<i>Lr</i> 17	59	51	44	58
<i>Lr</i> 18	45	67	38	25
<i>Lr</i> 19	2	8	0	0
<i>Lr</i> 20	31	40	67	91
<i>Lr</i> 21	57	71	65	54
<i>Lr</i> 22a	100	100	100	100
<i>Lr</i> 23	55	89	83	79
<i>Lr</i> 24	2	1	0	1
<i>Lr</i> 25	48	57	78	78
<i>Lr</i> 26	42	56	87	49
<i>Lr</i> 27+31	81	88	79	98
<i>Lr</i> 28	7	3	0	2
<i>Lr</i> 29	5	2	0	2
<i>Lr</i> 32	95	100	100	97
<i>Lr</i> 34	97	97	96	100
<i>Lr</i> 35	66	67	78	81
<i>Lr</i> 36	76	68	78	75
<i>Lr</i> 37	47	70	87	78
<i>Lr</i> 41	0	0	0	0
<i>Lr</i> 45	51	47	46	39
<i>Lr</i> 46	90	91	96	89
<i>Lr</i> 47	2	0	0	1
<i>Lr</i> 48	95	94	97	97
<i>Lr</i> 49	93	98	91	89

* е. п. – единичные пустулы.

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между частотами вирулентности к *Lr* генам в популяциях *Puccinia recondita*. 2012 г.

Популяции	Ульяновск	Безенчук	Дербент
По всем образцам			
Пушкин	0,916	0,927	0,960
Ульяновск		0,951	0,927
Безенчук			0,944
По образцам с высокой дифференцирующей способностью			
Пушкин	0,729	0,665	0,814
Ульяновск		0,860	0,771
Безенчук			0,736

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследований 2011–2012 гг. выявлена принадлежность ульяновской и безенчукской популяций *Puccinia recondita* к единому ареалу формообразования и распространения листовой ржавчины. В то же время показана значительная схожесть структуры средневолжской популяции со структурой популяций из Северного Кавказа и Северо-Западного региона России. Во всех регионах отсутствуют клоны, вирулентные к *Lr 9* и *Lr 41*. Низкими частотами характеризуются гены вирулентности *plr19*, *plr24*, *plr28*, *plr29* и *plr47*.

ЛИТЕРАТУРА

- Большев Л.Н., Смирнов Н.В. Таблицы математической статистики. М., 1983. 416 с.
- Вьюшков А.А., Мальчиков П.Н., Сюков В.В., Шевченко С.Н. Селекционно-генетическое улучшение яровой пшеницы: Изд. 2-е испр. и доп. Самара: «Известия Самарского научного центра РАН», 2012. 266 с.
- Коваленко Е.Д., Коломиец Т.М., Жемчужина А.И. и др. Информационный отчет по договору «Изучение структуры популяций наиболее опасных возбудителей болезней зерновых культур и создание сортов, устойчивых к факультативным и облигатным патогенам». Б. Вяземы, 2001. 22 с.
- Крупнов В.А. Стратегия генетической защиты пшеницы от листовой ржавчины в Поволжье // Вестн. РАСХН. 1997. № 6. С. 12–15.
- Крупнов В.А., Воронина С.А., Сибикеев С.Н., Елесин В.А. Увеличение генетического разнообразия саратовских пшениц // Проблемы и пути преодоления засухи в Поволжье // Сб. науч. тр. НИИСХ Юго-Востока. Саратов, 2000. Ч. 1. С. 249–274.
- Лебедев В.Б. Ржавчина пшеницы в Нижнем Поволжье. Саратов, 1998. 295 с.
- Маркелова Т.С. Иммунологические основы и методы создания исходного материала пшеницы для селекции на устойчивость к болезням в Поволжье: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Саратов, 2007. 24 с.
- Сюков В.В. Генетические аспекты селекции яровой мягкой пшеницы в Среднем Поволжье: Дис. ... д-ра биол. наук. Безенчук, 2003. 170 с.
- Gulyaeva E., Kosman E., Dmitriev A., Baranova O. Population structure of *Puccinia tritici* in Russia during 2007, assessed by virulence and molecular markers // Abstracts of Oral and Poster Presentations of 8th Intern. Wheat Conf. St.-Petersburg, 2010. P. 258–259.
- Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia tritici* Erikss // Phytopathology. 1926. V. 16. P. 89–120.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF *PUCCINIA RECONDITA* ROB. EX DESM. SYN.: *PUCCINIA TRITICI* ERIKSS. VIRULENCE IN MIDDLE VOLGA REGION

L.G. Tyryshkin¹, V.G. Zakharov², V.V. Syukov³

¹ All-Russian Institute of Plant Industry, Russia;

² Ulyanovsk Research Institute of Agriculture, Ulyanovsk, Russia;

³ Samara Research Institute of Agriculture, Samara, Russia, e-mail: vsyukov@mail.ru

Summary

According to a study conducted in 2011–2012, *Puccinia recondita* populations from Ulyanovsk and Bezenchuk share one geographic range of leaf rust variety formation and dispersal. At the same time, a significant similarity between the structures of the Middle Volga population and of populations from North Caucasus and Northwestern Russia was shown. Clones virulent to *Lr 9* and *41* were absent from all regions examined. The virulence genes *plr19*, *plr24*, *plr28*, *plr29*, *plr47* occurred at low frequencies.

Key words: leaf rust, spring wheat, virulence genes, genes for resistance.

УДК 631.11:633.16

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ И СЕЛЕКЦИОННАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЯЧМЕНЯ СИБИРИ

© 2014 г. Н.А. Сурин, Н.В. Зобова, Н.Е. Ляхова

ГНУ Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Россельхозакадемии, Красноярск, Россия,
e-mail: zobovnat@mail.ru

Поступила в редакцию 1 сентября 2013 г. Принята к публикации 7 октября 2013 г.

Обзор результатов селекции сибирских скороспелых сортов ярового ячменя с высокой продуктивностью, озерненностью колоса, устойчивостью к экстремальным факторам, пленчатых и голозерных форм разного назначения.

Ключевые слова: яровой ячмень, селекция, устойчивость к экстремальным факторам, спектры гордеинов.

Сибирь – крупнейший регион нашей страны. Контрастность почвенно-климатических условий, связанная с коротким вегетационным периодом, поздним прекращением заморозков весной и ранним наступлением их осенью, частым проявлением региональных типов засух и, напротив, ливневых осадков в период формирования зерна, обуславливает необходимость возделывания раннеспелых, приспособленных к местным условиям сортов ячменя.

На преобладающей территории Сибири (Омская область и Алтайский край) растения почти ежегодно испытывают недостаток влаги. Значительные площади Восточной Сибири, куда входят республики Хакасия, Тыва, Бурятия и Читинская область, расположены в сухостепной зоне. Наиболее благоприятной территорией для возделывания ячменя, как и других зерновых культур, является лесостепная зона, расположенная в центральной части Западной и Восточной Сибири.

Почвенный покров земледельческих территорий Западной Сибири довольно разнообразен – от выщелоченных и обыкновенных черноземов, обладающих высоким потенциальным и эффективным плодородием, до почв солонцеватого типа. Засоленные почвы низкоплодородны и слабо используются в сельском хозяйстве. В северных районах южной тайги и

подтайги господствуют дерново-подзолистые и серые лесные почвы с повышенной кислотностью почвенного раствора ($\text{pH} = 4,0\text{--}5,5$). Таких почв насчитывается свыше 1 млн га. В основном это слабо гумусированные почвы, с низкой обеспеченностью питательными веществами, особенно азотом. В степных районах Тывы, Хакасии, Бурятии и Читинской области распространены каштановые почвы и южные маломощные черноземы.

Контрастность почвенно-климатических условий Сибири обуславливает необходимость возделывания на ее территории различных сортов ячменя, способных более эффективно использовать биоклиматические ресурсы регионов.

Становление селекционной работы с ячменем в Сибири связано со сбором местного исходного материала, прошедшего длительную эволюцию в экстремальных условиях этого региона. На ценность местного исходного материала для селекции неоднократно обращал свое внимание Н.И. Вавилов (1965, 1987). При этом он особо отметил целесообразность использования для гибридизации местных форм из Восточной Сибири, выделяя при этом их скороспелость, повышенную устойчивость к ранневесенним засухам, способность формировать высококачественное зерно в условиях дождливой и прохладной осени.

Гениальность научного прогноза Н.И. Вавилова нашла свое подтверждение в сортах, созданных сибирскими селекционерами. Индивидуальный отбор из местных сортов-популяций, проведенный на первых этапах селекционной работы (1907–1940 гг.) основоположниками сибирской селекции И.И. Кораблиным, В.Е. Писаревым, А.В. Тохтуевым и Е.А. Солодовниковой, привел к созданию таких великолепных сортов ячменя, как Червонец, Пионер, Омский 11464, Омский 13709, Боец, Заларинец, Онохойский 566, Нарымский 1/4. По ботанической принадлежности первые сорта отнесены к *var. pallidum*. Как и их родители, они сохранили устойчивость к суровому климату, неприхотливость к условиям произрастания и скороспелость. Среди них особую популярность и распространение получил шестирядный сорт Червонец, выносливость которого к воздействию экстремальных факторов в сочетании со скороспелостью способствовала довольно интенсивному его внедрению в хозяйствах Восточной Сибири. В то же время слабая устойчивость к полеганию и поражению пыльной головней, мелкое невыравненное зерно, препятствующее отделению зерна ячменя от семян злостного сорняка – овсюга, поникание и ломкость колоса при созревании ограничивали распространение этого сорта в зонах районирования. Такая же участь коснулась и других сортов ранней селекции. Вместе с тем выдающиеся биологические признаки первых селекционных сортов послужили основой широкого привлечения их для гибридизации.

Обращают на себя внимание незначительные колебания по срокам созревания местных раннеспелых образцов по сравнению со среднеспелыми и поздними сортами. Так, отдельные образцы из Республики Тыва (КК-14697, 14743) и Читинской области (К-4816, 4822) созревали в одно и то же время в контрастные по условиям увлажнения и температурному режиму годы. Максимальная разница по годам этих образцов не превышала 3–5 дней, тогда как у более позднеспелых форм этот период растягивался на 12–19 дней.

Изучение большого набора местных образцов Сибири позволило сконцентрировать фонд раннеспелых ячменей, представляющих ценность для селекции.

К числу раннеспелых образцов с вегетационным периодом 63–68 дней относятся местные образцы Читинской (КК-4816, 4817, 4819, 4821, 4822, 4830, 4831, 18043), Тюменской (КК-4961, 17202, 17203, 17204) и Иркутской областей (КК-10379, 2956, 4136, Тулунский 283, Заларинец, Червонец) (Сурин, 1967). Отдельные местные образцы Красноярского края (КК-2948, 5820), Омской (К-4961), Иркутской (Червонец), Читинской областей (КК-4815, 4819), республик Бурятия (КК-4084, 4820) и Саха (КК-7977, 10745) положительно сочетают в себе скороспелость с высокой озерненностью главного колоса. Заслуживают внимания также местные образцы Красноярского края, которые наряду с высокой озерненностью образуют повышенное число продуктивных стеблей.

Оценка хозяйственных характеристик местных сортов ячменя Сибири сопровождалась определением электрофоретических спектров запасных белков ячменя и их идентификацией (Шевцова, Зобова, 2008). Среди 23 идентифицированных по спектрам гордеинов раннеспелых форм ячменя 11 оказались гетерогенными по этому признаку, что характерно для местных стародавних форм (табл. 1). Разнообразие формул гордеинов составило 14 вариантов, из них с наибольшей частотой встречались варианты 44.1.3, 2.39.2 и 2.3.2, с преобладанием первого варианта, характерного для читинских ячменей, но отмеченного и в других регионах. Подчеркнем, что эти формулы практически не встречаются у современных сортов, однако, если рассматривать варианты отдельных блоков гордеинов, то вариант HRD A2, доминирующий у современных форм, имеет большую частоту и у раннеспелых образцов, а HRD A44, представляющий третью часть из выборки, у современных сибирских сортов не встречается. По блоку HRD B наибольшую частоту имеет вариант B1, который все чаще наблюдается у современных сортов. Из остальных вариантов только HRD B8 достаточно часто встречается у сортов западносибирской селекции.

Таким образом, современные формы обеднены аллелями вариантов блоков гордеинов, характерных для раннеспелых местных форм, что необходимо учитывать в селекции на скороспелость.

Таблица 1

Сравнение частоты встречаемости вариантов формул и блоков гордеинов
у местных скороспелых сортов ячменя Сибири

Формулы гордеинов	Частота встречаемости, %	Варианты HRD A, %	Частота встречаемости, %	Варианты HRD B	Частота встречаемости, %
44.1.3	6,4	A2	14,3	B1	8,2
2.39.2	4,5	A44	6,9	B39	4,55
2.3.2	3,5	A18	0,5	B3	3,5
2.8.2	1,8	A46	0,5	B8	2,3
2.1.3	1	A24	0,8	B19	2,0
Другие	4,3	Другие	0	Другие	3,5

Из числа скороспелых образцов высокими показателями озерненности и крупности зерна выделяются ячмени Омской области (К-4964) и Республики Тыва (К-14705).

Продуктивность отдельного растения может служить одним из показателей при оценке местных образцов на урожайность. Среди сортообразцов с максимальной продуктивностью выделяются местные ячмени Тюменской (К-17203) и Иркутской областей (К-4836), Красноярского (КК-16013, 5820, 8335) и Алтайского краев (КК-11697, 16519). В основном это образцы шестирядных ячменей, локализация которых приурочена к подтаежным зонам и залесенным лесостепным районам Сибири. Несмотря на низкую продуктивную кустистость, шестирядные ячмени формируют урожай в основном за счет продуктивности главного колоса и этим превосходят двурядные ячмени, потенциальная продуктивная кустистость которых в силу короткого вегетационного периода в этих условиях практически не реализуется. Хозяйственный коэффициент ($K_{\text{хоз.}}$) у лучших сортов шестирядного ячменя составляет 40–55 %, тогда как у более позднеспелых сортов двурядного ячменя – 28–35 %. Масса зерна с одного растения у шестирядных сортов достигает 3,1–3,5 г или в 1,5–2,0 раза выше по сравнению с двурядными (Сурин и др., 1979).

Вместе с тем мелкое зерно, неустойчивая к полеганию соломина, ломкость колоса при перестое, сильная восприимчивость к головневым болезням, ставили их в невыгодное положение. В 1960-х годах была поставлена задача по устранению «проблемных» мест в генетической основе лучших местных шестирядных ячменей Сибири.

Селекционная оценка 485 шестирядных сортообразцов из местной коллекции ВИР выявила перспективность использования сортов Канады и США. В основном они представлены разновидностями *pallidum* и *ricotense*. Некоторая общность климата северных районов США, Канады и Сибири в сочетании с достигнутым прогрессом североамериканской селекции позволили выделить лучшие сорта по таким селекционным признакам, как скороспелость, урожайность, устойчивость к полеганию, болезням и вредителям.

Достоинством изучаемых сортов Канады и США являются высокая озерненность главного колоса, не уступающая местным образцам Сибири, и более высокая масса 1000 зерен (свыше 47 г). К сортам с такими характеристиками относятся Vantage, Gateway, Keystone, Conquest, Fort, Erie, Husky, Nobarb, Ouninn c.s.1024, Nord, Fox, Moor 515, Lico и др. Крупность зерна при оптимальном или повышенном числе зерен этих сортов обеспечивает им довольно высокую продуктивность главного колоса. В сравнительных испытаниях они превосходили по урожаю районированные сорта на 18–25 % (Сурин, Ляхова, 1985а).

Вместе с этим сорта Канады и США показали в целом невысокую устойчивость к региональным типам засух Сибири по сравнению с местными ячменями.

К числу других достоинств сортов из этих стран относятся высокая устойчивость к полеганию и поражению пыльной головней на фоне искусственного заражения (Traill, Vantage, Fox, Keystone, Conquest). Устойчивость сортов Fox, Keystone, Conquest к пыльной головне обуслов-

лена геном Un_6 , что позволяет использовать их в качестве эффективных доноров в селекции на иммунитет. Особую ценность для селекции представляет сорт Fox, положительно сочетающий в себе высокую озерненность, массу 1000 зерен и продуктивность главного колоса (табл. 2).

Важно отметить, что сорт Fox, как и эфиопский образец Jet, на основе которого он создан, показал высокую устойчивость ко всем распространенным в Сибири видам головни. Исследованиями А. Широкова и А. Шорохова (1977) в условиях Свердловской области выявлена устойчивость сортов Keystone, Conquest, Fort и Fox к полосатому гельминтоспориозу, что повышает их селекционную ценность. У сортов Fox и Gateway установлено, что высокая их продуктивность сопряжена с более интенсивным развитием листового аппарата. Так, в опытах Красноярского НИИСХ сорта Fox, Fort, Husky, Gateway и другие формировали урожай зеленой массы 250–270 ц/га или на 70 ц/га выше сорта Червонец. Это указывает на возможность создания для условий Сибири сортов двоякого использования на зерно и зерносенаж. С учетом того, что эти сорта имеют гладкие ости, ценность зерносенажной массы возрастает.

Из шестирядных сортов местной селекции широко привлекался для скрещивания сорт Червонец. Была поставлена задача создания сортов с более крупным зерном, оптимальным числом зерен в главном колосе, непонижающим колосом с гладкими остями, устойчивой к полеганию соломиной; невосприимчивых к поражению пыльной головней, при сохранении при этом лучших биологических свойств сорта Червонец. Так, от скрещивания сорта Червонец с отдельны-

ми сортами Канады и США в Красноярском НИИСХ было создано 5 сортов: Агул, Рассвет, Агул 2, Енисей, Соболек.

Сорта Агул и Рассвет по фенотипу практически не отличаются от сорта Червонец, вместе с тем формируют более крупное зерно и крепкую, устойчивую к полеганию соломину. Однако у сорта Агул выявлена сильная восприимчивость к поражению пыльной головней на фоне искусственного заражения. Включение в схему беккросных скрещиваний сорта Keystone позволило перевести сорт Агул на иммунную основу; в результате новый сорт ячменя Агул 2 показал высокую устойчивость к пыльной головне на фоне искусственного заражения.

Сорта Енисей и Соболек, созданные с участием шестирядных сортов Червонец, Vantage, Fox и других родительских форм, относятся к сортам интенсивного типа, характеризуются повышенной устойчивостью к полеганию, колосовым и листовым болезням. С учетом тесной сопряженности числа зерен в колосе шестирядных ячменей с общим урожаем в Красноярском НИИСХ проведена работа по созданию «целевых» или «базовых» линий с максимальной выраженностью указанного признака (табл. 3).

Сравнительная оценка отобранных из гибридных популяций линий ячменя с максимальным числом зерен в главном колосе подтвердила их преимущество перед селекционными сортами и лучшими по этому признаку местными образцами из коллекции ВИР (табл. 4).

В настоящее время эти линии широко используются в селекции шестирядного ячменя и на их основе создан перспективный селекционный материал.

Таблица 2

Характеристика отдельных шестирядных сортов ячменя Канады и США, привлекаемых для скрещивания с сортом Червонец (Красноярский край)

Сорт	Вегетационный период, дней	Продуктивная кустистость, шт.	Высота растений, см	Устойчивость к полеганию, балл	Число зерен в колосе, шт.	Масса 1000 зерен, г	Масса зерен с 1 растения, г
Червонец	72	2,0	73,3	7	52,0	39,8	2,8
Gateway	72	1,8	69,4	8	51,6	45,3	3,2
Husky	77	1,7	76,5	8	53,2	46,7	3,1
Vantage	77	1,6	68,4	9	40,5	49,2	2,8
Fox	75	1,9	85,0	9	54,0	46,7	3,5

Таблица 3

Характеристика селекционных линий ячменя с максимальным числом зерен в колосе

Сорт, линия	Происхождение	Разновидность	Количество выделенных растений, шт.	Среднее число зерен в главном колосе		Частота колосьев с числом зерен 70 шт. в колосе, %	
				Красноярский НИИСХ	Дагестанская опытная станция ВИР	Красноярский НИИСХ	Дагестанская опытная станция ВИР
Червонец	Иркутская обл.	Pallidum	98	60,8	59,1	7,5	4,1
T-63	Местный Китая к-18440 × Винер	Himalayense	279	74,6	58,6	73,4	46,2
A-1305	Гибрид 01-036 × (Möör 515 × Åsa)	Pallidum	194	65,1	64,2	24,9	27,8
H-440	T-63 × A-1035	Himalayense	197	71,0	65,9	53,3	25,6
H-465	A-1305 × T-63	Coeleste	170	69,4	71,8	45,5	53,5
H-319	(Åsa × Möör 515) × Saicara	Pallidum	243	82,2	73,6	95,3	69,6

Следует отметить, что с увеличением количественных параметров колоса существенно выросла нагрузка на верхнюю часть стебля. Во время налива зерна стебель перегибается в своей верхней части, не выдерживая нагрузки, и при созревании колос обламывается, что приводит к большим потерям урожая. Особенно сильно это проявилось у сорта Соболек, который с 1996 г. занесен в Госреестр РФ по 11-му региону. В настоящее время ведется усиленный поиск генетических источников с утолщенной подколосовой шейкой, способной выдерживать нагрузку высокоозерненных колосьев. Во всяком случае, полученные линии с максимальным числом зерен представляют ценность в селекции шестирядного ячменя.

Сравнительная оценка ячменя в различных зонах Сибири выявила перспективность возделывания в лесостепных и степных районах региона двурядных ячменей.

Погодные условия в этих районах благоприятствуют возделыванию ячменя с более продолжительным вегетационным периодом и создают условия для интенсивного формирования продуктивных стеблей на растении. Генетическая предрасположенность двурядных ячменей к большему кущению по сравнению с шестирядными ячменями реализуется здесь в большей степени, чем в подтаежных районах. Так, средние показатели продуктивной кустистости в наших опытах с 218 образцами дву-

Таблица 4

Характеристика сортов и гибридов ячменя с максимальной продуктивностью

Сорт, каталог	Число растений, шт.	Средний показатель		
		Число зерен в колосе, шт.	Масса 1000 зерен, г	Масса зерна с главного колоса, г
Образцы коллекции				
Червонец	67	63,1	42,0	2,6
к-3221	20	64,6	46,0	3,0
Nover	83	77,4	50,6	3,4
Montcalm	22	58,7	53,6	3,0
к-19114	77	66,9	47,4	2,7
Селекционные линии				
T-63	128	78,3	57,3	4,2
A-1305	193	72,1	54,4	3,2
H-440	165	78,7	54,6	3,6
H-465	77	76,5	56,4	3,5
H-319	149	87,4	52,4	4,0

рядного ячменя из коллекции ВИР составили 2,7, а у 191 образца шестирядного ячменя – 1,9 продуктивных стеблей на 1 растение (Сурин, 1967). Повышенная продуктивная кустистость двурядных ячменей обеспечивает им выносливость к засухе. Другим ценным качеством

двурядных ячменей является крупность зерна, позволяющая полностью отделить его от семян овсяга при подработке.

К настоящему времени селекционерами Сибири созданы высокопродуктивные сорта с двурядным строением колоса. В основном это среднеспелые сорта, обладающие высоким потенциалом урожайности – до 7–8 т/га. За последние 40 лет в Сибири создано около 40 сортов двурядного ячменя, в том числе в Красноярском НИИСХ – 7, Тулунской ГСС – 2, Кемеровском НИИСХ – 3, ИЦиГ СО РАН – 2, СибНИИРС – 6, АНИЗиС – 3, СибНИИСХ – 13, Бурятском НИИСХ – 2 сорта. В основном это засухоустойчивые, приспособленные к местным условиям сорта.

Следует отметить, что в селекции двурядного ячменя сохраняется та же закономерность, которая была отмечена в селекции многорядного ячменя. Преобладающее число сортов (70 %) создано с участием местных образцов. Большой вклад в результативность селекции привнесли Омский 13709 (9 сортов, 22 %) и сорта местной селекции (14 сортов, 35 %). Хорошую сортообразующую способность показал стародавний сорт ячменя Кировской селекции Винер, с участием которого выведено 5 сортов, или 12 % от общего их числа. С учетом того, что этот сорт многие годы возделывался в Сибири, адаптировался к местным условиям, его вполне можно приравнивать к сибирскому исходному материалу.

Характерной особенностью местных и селекционных сортов двурядного ячменя является их способность приостанавливать ростовые процессы при наступлении засух и бурно их возобновлять при выпадении осадков, что вполне согласуется с исследованиями В.Ф. Альтергот и С.С. Мордкович (1973).

Учитывая полигенный характер признака засухоустойчивости, который связан не только с морфологическими и физиологическими свойствами, но также с типом роста и развития растения, использование местных и селекционных сортообразцов ячменя дает положительные результаты селекции на этот признак (Сурин, Ляхова, 1985б).

Широкое изучение исходного материала ячменя в различных научных учреждениях Сибири позволило выделить лучшие генетические источники засухоустойчивости, с участием

которых созданы сорта, положительно сочетающие эти свойства с повышенной урожайностью. К сортам такого типа относятся Наран (Бурятский НИИСХ), Красноярский 80, Кедр, Вулкан (Красноярский НИИСХ), Ача (СибНИИРС), Омский 80, Омский 85, Омский 86, Омский 88 (СибНИИСХ) и др. Кроме устойчивости к региональным типам засух перечисленные сорта выносливы к поздним весенним и ранним осенним заморозкам, неравномерному выпадению осадков, поражению болезнями и вредителями. Одновременно с этим возникает необходимость создания сортов, устойчивых к комплексу экстремальных факторов.

Селекционная программа повышения адаптивности новых сортов с помощью селекции была разработана в 70-х годах прошлого столетия в Красноярском НИИСХ. Суть ее заключается в объединении с помощью конвергентных скрещиваний в одном сорте генетической плазмы наиболее распространенных сортов ранней селекции (Винер, Донецкий 650, Целинный 5, Красноуфимский 95 и Омский 13709).

Оценка 50 линий, выделенных по паровому предшественнику (интенсивный фон), и 3–4-зерновой культуры после пара (экстенсивный фон) показала, что на интенсивном фоне средняя прибавка урожая к районированному сорту Красноярский 80 составила 6,6 %, в то время как на экстенсивном фоне – 19,8 %. По итогам оценки выделены лучшие линии, превышающие стандарт по паровому и зерновому предшественникам (табл. 5). Достоинство отдельных линий – повышенная устойчивость к кислым почвам (рН 4,5–5,0).

Сравнение 23 линий (табл. 6) по урожайности в двух зонах по двум фонам позволило сузить группу лидеров до 7 линий: Ф-24-1483, В-3-4408, Б-57-4849, У-20-706, У-95-1041, В-3-4398, У-97-1066 (Сурин и др., 2003).

Определение и анализ спектров гордеинов этих линий показали, что половина из них (7 из 14) гетерогенна по составу запасных белков. Среди установленных формул гордеинов явно преобладает вариант 2.17.3, далее следуют варианты 2.25.1 и 2.1.3 (табл. 6).

Анализ по Брандту-Снедекору встречаемости определенных формул гордеинов среди 14 адаптивных линий, выделившихся по продуктивности на разных полевых фонах (табл. 6),

Таблица 5

Сравнительная оценка отдельных адаптивных линий ярового ячменя
на интенсивном, экстенсивном фонах и кислых почвах Красноярского края

Линии	Происхождение	Урожайность, % к стандарту			Параметры экологической пластичности		
		Предшественник		рН4,5	по Эберхарту		по Неттевичу, % к стандарту
		Пар	Зерновые		bi	D²bi	
Превосходят стандарт по пару и зерновым							
У-95-1041	(Винер × Донецкий 650) × (Винер × Омский 13709)	120	130	133	1,10	22	171
Превосходят стандарт по зерновым и на кислых почвах							
У-98-1070	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Донецкий 650)	112	129	166	0,98	48	192
У-99-1091	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Красноуфимский 95)	111	144	172	1,02	84	202
Превосходят стандарт по зерновым							
Т-132-352	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Целинный 5)	109	140	147	0,96	69	176
У-20-704	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Донецкий 650)	106	143	98	1,07	136	145
У-20-706	(Винер × Омский 13/09) × (Винер × Донецкий 650)	114	129	121	1,06	47	158
У-99-1095	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Красноуфимский 95)	114	129	145	1,07	17	167
У-97-1066	(Винер × Донецкий 650) × (Винер × Целинный 5)	113	135	131	1,06	31	170
У-98-1071	(Винер × Омский 13709) × (Винер × Донецкий 650)	105	136	150	0,95	40	173
Ф-24-1483	(Винер × Красноуфимский 95) × (Винер × Омский 13709)	112	149	93	0,97	77	147
Превосходят стандарт на кислых почвах							
Т-136-368	(Винер × Целинный 5) × (Винер × Омский 13709)	107	127	162	0,94	17	189
У-96-1050	(Винер × Донецкий 650) × (Винер × Омский 13709)	107	105	219	0,87	69	216
У-96-1051	(Винер × Донецкий 650) × (Винер × Омский 13709)	97	93	202	0,83	69	178
У-101-1111	(Винер × Красноуфимский 95) × (Винер × Донецкий)	109	115	163	1,01	55	164
НСР 5%		19	28	56			

показал отсутствие однородности частот (на уровне значимости 5 %, при $\chi^2 = 12,848$), что свидетельствует о наличии существенных преимуществ вариантов формул (2.17.3, 2.25.1 и 2.1.3). Для 7 адаптивных линий, выделившихся по продуктивности на интенсивных полевых фонах, неоднородность частот встречаемости

их формул, подтвержденная этим анализом (на уровне значимости 5 %, при $\chi^2 = 10,862$), связана с преобладанием в выборке формулы (2.17.3). На экстенсивных фонах и суммарно по двум фонам и зонам это преимущество переходит к формуле (2.25.1) (унаследованной от южных засухоустойчивых форм), но достоверность этого не

Таблица 6

Частота встречаемости формул гордеинов
лучших по ранговому критерию адаптивных линий на соответствующих фонах

Условия выделения линий	Частоты встречаемости формул гордеинов					Всего генотипов, шт.
	2.17.3	2.25.1	2.1.3	2.13.3	другие	
Все линии	6,5	3,5	3	0,5	0,5	14
Интенсивный фон в 2 зонах	4,5	1,0	1,0	0,5	–	7
Экстенсивный фон в 2 зонах	2,5	3,0	1,5	–	–	7
Центральная лесостепь по 2 фонам	2,5	2,5	1,5	–	0,5	7
Южная лесостепь по 2 фонам	3,0	2,0	2,0	–	–	7
Суммарно по 2 фонам и 2 зонам	2,0	3,0	2,0	–	–	7
Кислые почвы по пару	4	5	1	–	1	11

подтверждается, так как для остальных исследованных вариантов распределение частот встречаемости было однородным. Таким образом, на интенсивных фонах имеют преимущество биотипы с формулой гордеинов (2.17.3), а на экстремальных – (2.25.1) и (2.1.3). Современные сорта красноярской селекции имеют эти формулы запасных белков (2.17.3) – у Красноярского 80, Кедра, Буяна, Омский 90; (2.25.1) – у Бахуса), с той поправкой, что HRD B1 чаще встречается в сочетании 12.1.3 (у сортов Ача, Оскар, Омский 91), а не 2.1.3 (Нарымчанин).

От скрещивания сортов [(Винер × Донецкий 650) × (Винер × Красноуфимский 95)] в Красноярском НИИСХ создан сорт Бахус (синоним У-95-1041), занесенный в Госреестр РФ с 2003 г. по 11-му региону. В Государственном сортоиспытании находится сорт Оленек [(Винер × Красноуфимский 95) × (Винер × Донецкий 650) × Ача] и Арат [(Донецкий 8 × (Винер × Донецкий 650) × (Винер × Красноуфимский 95)].

В годы проявления сильной листовой инфекции новые сорта и отдельные адаптивные линии проявили более высокую толерантность в сравнении со стандартными сортами.

В настоящее время селекционный материал, созданный с участием адаптивных линий в Красноярском НИИСХ, преобладает во всех селекционных питомниках и показывает стабильные урожаи по годам. Результаты создания аналогов с повышенными адаптивными свойствами достаточно полно отражены в научных публикациях (Сурин и др., 1995, 2000, 2011; Сурин, 2001, 2012).

По нашему мнению, создание новых сортов ячменя с повышенной устойчивостью к экстремальным факторам за счет их способности более эффективно использовать природные биоклиматические ресурсы в течение всего вегетационного периода позволит поднять урожайность по непаровым предшественникам и в хозяйствах с невысокой культурой земледелия на 25–30 %. Наличие таких сортов позволит более разумно размещать посевы ячменя в ротациях севооборота.

Большим достоинством в селекции двурядного ячменя в Сибири является создание сортов пивоваренного направления. Впервые здесь созданы сорта такого типа – Ача (СибНИИРС), Никита (Кемеровский НИИСХ), Сигнал (АНИИЗиС и СибНИИРС), Омский 91 (СибНИИСХ). К сожалению, жесткие требования со стороны пивоваренной промышленности и экстремальность сибирского климата являются серьезным препятствием в создании собственной сырьевой базы пивоваренного ячменя.

Совершенно новым направлением в селекции ячменя в Сибири является создание голозерных сортов. В Красноярском НИИСХ и СибНИИСХ в 2001–2006 гг. было изучено свыше 500 образцов голозерного ячменя, что позволило выделить лучшие из них для селекции. По своей продуктивности заслуживают внимания сорт Белорусский 76, а также селекционные линии, созданные в Кемеровском НИИСХ, – Н-5/95 F₈, Н-28/96 F₄, Н-19/95 F₈, Н-11/95 F₈ и др. В основном это представители двурядного ячменя (var. *nudum*).

За сравнительно короткий период в научных учреждениях Сибири было создано более 300 гибридных комбинаций, из которых выделены высокопродуктивные линии голозерного ячменя.

С использованием сложных скрещиваний в СибНИИСХ и Красноярском НИИСХ выведены первые голозерные сорта, занесенные в Госреестр РФ – Омский голозерный 1 [(Голозерный × Омский 88) × (Голозерный × Омский 91)], Омский голозерный 2 [(Голозерный × Нутанс 4304) × (смесь *ricotense*+*pallidum*)], Оскар (Белорусский 76 × Баган). По продуктивности эти сорта практически не уступают пленчатым стандартам и превосходят их по содержанию белка.

Таким образом, генетический резерв современных сибирских сортов ярового ячменя, сформированный с участием местных и селекционных форм отечественного и зарубежного происхождения, позволяет полноценно обеспечивать использование биоклиматического потенциала региона.

ЛИТЕРАТУРА

- Альтергот В.Ф., Мордкович С.С. Роль повышенной температуры в комплексном действии засухи на растение // Физиология приспособления растений к почвенным условиям. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1973. С. 128–150.
- Вавилов Н.И. Основные задачи советской селекции и пути их осуществления: Избр. тр. М.; Л., 1965. Т. 5. С. 305–324.
- Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции. М.: Наука, 1987. 506 с.
- Сурин Н.А. Итоги изучения скороспелых ячменей в лесостепной зоне Красноярского края // Тр. Красноярского НИИСХ. Красноярск, 1967. Т. 4. С. 92–100.
- Сурин Н.А. Селекция ячменя на повышение адаптивности в экстремальных условиях Восточной Сибири // Зерновые и кормовые культуры России. Зерноград, 2001. С. 241–242.
- Сурин Н.А. Совершенствование адаптивных свойств ячменя с использованием стародавних и современных методов селекции // Селекция сельскохозяйственных культур на высокий генетический потенциал, урожайность и качество. Тюмень, 2012. С. 30–40.
- Сурин Н.А., Зобова Н.В., Ляхова Н.Е. Создание сортов ярового ячменя, максимально использующих биоклиматический потенциал // Задачи селекции и пути их решения в Сибири: Докл. генет.-селект. школы. Новосибирск, 2000. С. 147–152.
- Сурин Н.А., Ляхова Н.Е. Селекционная ценность шестирядного ячменя // Селекция и семеноводство. 1985а. № 1. С. 33–34.
- Сурин Н.А., Ляхова Н.Е. Селекция ярового ячменя на засухоустойчивость в Восточной Сибири // Селекция зерновых и кормовых культур для районов недостаточного увлажнения. Новосибирск, 1985б. С. 112–119.
- Сурин Н.А., Ляхова Н.Е., Андропова Т.М. Направления и результаты селекции ярового ячменя // Селекция и семеноводство. 1979. № 6. С. 10–11.
- Сурин Н.А., Ляхова Н.Е., Зобова Н.В. Потенциал засухоустойчивости сортов ярового ячменя красноярской селекции // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2003. № 2. С. 7–11.
- Сурин Н.А., Ляхова Н.Е., Зобова Н.В. и др. Технология повышения адаптивности ярового ячменя в Сибири с помощью селекции. Красноярск: Гротеск, 2011. 46 с.
- Сурин Н.А., Тимина М.А., Ляхова Н.Е. Селекция ячменя на адаптивность в условиях Сибири // Селекция сельскохозяйственных культур на адаптивность и особенности семеноводства в Сибири. Новосибирск, 1995. С. 91–93.
- Шевцова Л.Н., Зобова Н.В. Агроэкологическая детерминация ярового ячменя Восточной Сибири по гординокодирующим локусам. Красноярск: Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2008. 146 с.
- Широков А.И., Шорохов А.В. Изучение устойчивости сортообразцов ячменя к гельминтоспориозу в условиях Предуралья Свердловской области // Тр. Уральского НИИСХ. Свердловск, 1977. Т. 19. Вып. 2. С. 30–35.

THE GENETIC POTENTIAL OF BARLEY IN SIBERIA AND ITS IMPORTANCE FOR BREEDING

N.A. Surin, N.V. Zobova, N.E. Lyahova

Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture, Russian Academy of Agricultural Sciences,
Krasnoyarsk, Russia, e-mail: zobovnat@mail.ru

Summary

The results of breeding of hulled and naked Siberian spring barley varieties for various purposes, characterized by early ripening, high productivity, large seed sets, and tolerance of adverse environmental factors, are reviewed.

Key words: spring barley, breeding, stress tolerance, hordein spectra.

УДК 633.11

КАВКАЗСКИЙ ЦЕНТР ФОРМООБРАЗОВАНИЯ ДИКИХ ДИ- И ТЕТРАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЦ: ЭКСПЕДИЦИЯ «АРМЕНИЯ-2013»

© 2014 г. Н.П. Гончаров¹, А.Ш. Меликян², М.Г. Арутюнян²,
М.Ц. Оганесян², Л.В. Оганесян², Р.Р. Садоян³, О.А. Ляпунова⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: gonch@bionet.nsc.ru;

² Армянский национальный аграрный университет, Ереван, Республика Армения,
e-mail: pgr_lab@mail.ru;

³ Научный центр земледелия, Эчмиадзин, Республика Армения;

⁴ ГНУ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, С.-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 17 декабря 2013 г. Принята к публикации 19 января 2014 г.

Представлены результаты работы международной экспедиции в Республике Армения летом 2013 г. Важным результатом экспедиционных работ является определение нескольких местообитаний пшеницы *Triticum araraticum* Jakubz. и *T. boeoticum* Boiss.

Ключевые слова: центры происхождения, пшеницы, биоразнообразие, Н.И. Вавилов.

Когда идешь — обязательно что-нибудь найдешь,
но не обязательно то, что искал.

Дж. Толкин

Поиск генетического разнообразия диких пшениц и их сородичей в районах автохтонного земледелия, путей и возможности его сохранения становится все более актуальной задачей. Дикая природа исчезает, так как идет интенсивное строительство, меняются традиционные технологии возделывания растений и землепользования, характер ирригации, забрасываются высокогорные поля, по границам которых часто произрастают дикие предки культурных растений, в том числе и пшеницы, и их сородичи.

Армения входит в состав переднеазиатского центра происхождения культурных растений и характеризуется значительным биоразнообразием. Интерес к Армении как центру разнообразия диких пшениц особенно велик, так как 3 из 4 диких видов пшениц произрастают здесь (Дорофеев и др., 1979). В 1925 г. в районе Еревана впервые была обнаружена дикая пшеница-однозернянка *Triticum urartu* Thum. ex Gandil.

Местонахождение — в окрестностях селений Гегадар, Вохчаберд и Джрвеж Котайкского марза. В настоящее время показано, что она является донором генома А⁴ для всех полиплоидных пшениц. Для сохранения ее естественных местообитаний в республике в 1980-е годы был создан Эребунийский заповедник (Гандилян, Авакян, 2001) (рис. 1, 2). В нем кроме *T. urartu* произрастают: другой вид однозернянок *T. boeoticum* Boiss.; тетраплоидная ($2n = 28$) дикая пшеница *T. araraticum* Jakubz.¹; дикая рожь *Secale vavilovii* Grossh. s.l.; дикие ячмени и ряд видов-сородичей культурных растений, а также значительное число эндемичных для Армении цветковых растений. Всего определено произрастание в заповеднике около 300 видов цветковых растений.

¹ Вид *T. araraticum*, как и *T. urartu*, впервые был описан по экземплярам, собранным в Армении (Макушина, 1938; Макушина-Горошенко, 1948; Якубцинер, 1947, 1948).

ИЦиГ СО РАН совместно с Национальным аграрным университетом Армении (г. Ереван) была организована международная агроботаническая экспедиция, в состав которой входили заведующий лабораторией генофонда и селекции растений АрмНАУ, доктор сельскохозяйственных наук А.Ш. Меликян и научные сотрудники лаборатории кандидат биологических наук М.Г. Арутюнян и М.Ц. Оганесян (рис. 3).

Экспедиция проходила в сжатые сроки: с 7 по 14 июля 2013 г., обусловленные жарким сухим летом и дружным созревaniem диплоидных пшениц практически на всей территории республики. Сборы и мониторинг ареалов пшениц были проведены по маршруту Ереван – Эребунийский заповедник – Вохчаберд – Ацаван – Гегадир – Гарни – Гегард – Ереван; Ереван – Эчмиадзин – Ереван; Ереван – Веди – Лусашог – Шагап – Арени – Ехегнадзор – Агавнадзор – Горис – Мегри – Горис – Агавнадзор – Ехегнадзор – Гетап – Арени – Шагап – Лусашог – Веди – Ереван с незначительными радиальными маршрутами (рис. 4).

Главная задача международной экспедиции – продолжение поиска и сбора семян диких пшениц и их сородичей в районах автохтонного земледелия, выяснение границ и особенностей распространения их видов в горных и предгорных районах. Маршруты экспедиции в Армянском нагорье были связаны с районом древней земледельческой культуры и возможными местами культивирования пшениц. Кроме того, представлял интерес сбор родственного пшеницам диплоидного вида *Aegilops squarrosa* L. – донора генома D полиплоидных пшениц. Практическое значение экспедиции обусловлено возможностью оценки биоразнообразия диких видов пшениц, проведения мониторинга для уточнения их современного ареала с последующим определением филогенетических отношений в роде *Triticum* L. и проведением интрогрессивной гибридизации для расширения генного пула возделываемых видов пшениц.

На рис. 5, а–е представлены фотографии образцов диких ди- (а, в) и тетраплоидного видов пшениц (д, е) и их сородичей, а именно ржи (б) и *Ae. squarrosa* (г), сделанные во время экспедиции.

В отличие от местообитаний в других изученных нами регионах, местообитания *T. boeoticum* в Армении локальны и в настоящее время не представляют собой значительных массивов. Они чаще всего расположены на границах хозяйственных посевов хлебных злаков, в основном вдоль полевых дорог (реже автотрасс) и/или неудобий (в основном либо на крутых склонах полей, либо по обрывам на их краях) (рис. 6).

Мониторинг диких видов пшениц Армении давно не проводился, их современные ареалы не известны. Последний раз единичный образец *T. araraticum* var. *araxicum* поступил в коллекцию ВИР в 1984 г., сборы диплоидной пшеницы *T. boeoticum* – в 1976 г., а сборы *T. urartu* были осуществлены М.Г. Туманяном в начале 1930-х годов (Туманян, 1930) и поступили в коллекцию ВИР в 1934 г. через Н.И. Вавилова². Для сохранения *T. urartu* в 1980-е годы был создан Эребунийский заповедник, единственное место в Закавказье, где встречался этот вид, но он давно не посещался российскими ботаническими экспедициями. Мы, к сожалению, по не зависящим от нас причинам также не смогли собрать в заповеднике *T. urartu*. Несмотря на то что в свое время были описаны 6 армянских разновидностей этой пшеницы, в живом виде сохранились не все из них. В табл. 1 представлено число образцов, собранных в результате проведения экспедиции. Важным результатом экспедиционных работ является обнаружение в нескольких точках вида пшеницы *T. araraticum* (Эребунийский заповедник, питомник Армсад (по выезду из Гегадир), старая дорога на Ехегнадзор через село Урцадзор).

При выращивании собранных нами образцов, высеванных в осеннюю вегетацию 2013 г. в экспериментальной теплице ИЦиГ СО РАН, все образцы ди- и тетраплоидных пшениц и *Ae. squarrosa* оказались озимыми. В.Ф. Дорофеев (Dorofeev, 1968) также отмечал, что все собранные им образцы диплоидной пшеницы *T. boeoticum* были озимыми. У *T. araraticum*

² Заметим, что в то время никто из исследователей еще не выделял из *T. boeoticum* ssp. *thaoudar* (Reut. ex Hausskn.) Grossh. (см., например, Туманян, 1930) *T. urartu* в качестве самостоятельного вида. В 1937 г. М.Г. Туманян (1937б) опубликовал первое описание *T. urartu*, причем как еще одного подвида *T. boeoticum*. Диагноз же *T. urartu* как самостоятельного вида будет дан через 35 лет (Гандилян, 1972а).



Рис. 1. Здесь начинается уникальный заповедник пшениц.



Рис. 2. Карта Эребунийского заповедника.

вообще только единственный образец описан как яровой (Goncharov, 1998).

Вертикальная зональность, пестрота микроклиматов и почв создают предпосылки для переопыления пшениц с видами-сородичами

и появления спонтанных гибридов в некоторых районах Армении. Особенно часто можно встретить на границах полей мягкой пшеницы ее гибриды с *Ae. cylindrica* Host. Это обуславливает появление сложных популяций с наличием



Рис. 3. Члены международной экспедиции (слева направо) М.Г. Арутюнян, Н.П. Гончаров и А.Ш. Меликян в Эребунийском заповеднике в зарослях пшениц беотийской и араратской.

спонтанных гибридов, как правило, стерильных во втором поколении, которые могут быть использованы в качестве исходного материала для интрогрессий и получения фертильных форм посредством их беккроссирования на мягкую

пшеницу. Один из таких спонтанных гибридов был описан П.А. Гандилянцем (19726) как *Aegiloriticum cylindroaestivum* Gandil. (рис. 7).

Для растениеводства сегодняшнего дня и будущего важно не только сохранить генофонд,



Рис. 4. Маршрут экспедиции.



Рис. 5. Дикие виды пшениц и их сородичи: а и в – популяция и отдельный колос *T. boeoticum*; б – дикая рожь *Secale vavilovii*; г – колос эгилопса *Ae. squarrosa*; д – *T. araraticum*; е – осыпавшиеся колоски *T. araraticum*.

но не менее важно и то, чтобы он работал. Для этого в лаборатории генофонда и селекции растений АрмНАУ разработаны методики создания амфиплоидов с целью их использования для проведения интрогрессий хозяйственно важных признаков диких пшениц в возделываемые виды. Значительный интерес представляет созданный и сохраняемый в лаборатории генофонд рукотворных (синтетических) амфиплоидов. Такие амфиплоиды использовались для создания новых видов растений или новых со-

четаний хозяйственно важных признаков у уже существующих видов. В лаборатории созданы и поддерживаются *T. sinskoboeoticum* Gandil. (TRI 17923), *T. boeoticourarticum* Gandil. (TRI 17924), *T. boeoticotaushii* (TRI 17925) (рис. 8), *T. sinskourarticum* Gandil. (TRI 17926), *Aegilotriticum taushourarticum* Gandil. (TRI 17927) (Гандилян и др., 1986; Гандилян, 1990). Вопрос о ботаническом статусе автополиплоидов *T. tetraurartu* Gandil. (геном $A^uA^uA^uA^u$), *T. tetraboeoticum* (синоним *T. erevani* Thum. (Туманян, 1937a) и

Таблица 1

Число образцов диких видов пшениц
и их сородичей, собранных экспедицией
ИЦиГ СО РАН в Армении в 2013 г.

№	Вид	Число собранных образцов		
		Всего	В том числе поли-морфных	Процент, %
1	<i>T. boeoticum</i>	15	5	30
2	<i>T. araraticum</i>	6	0	0
3	<i>S. vavilovii</i>	4	4	100
4	<i>Ae. squarrosa</i>	8	0	0

T. tetramonococcum (оба с геномом A^bA^bA^bA^b) требует детального обсуждения, так как такие полиплоиды до сих пор не включены в объем рода (Goncharov, 2011). Они, скорее, являются мутантами, а не видами, и их место – в генети-

ческих коллекциях. Также требует специального рассмотрения ботанический статус некоторых других амфиплоидов с нехарактерным для диких и возделываемых полиплоидных пшениц сочетанием геномов (Goncharov, 2011).

В лаборатории генофонда и селекции растений АрмНАУ хранятся значительный по объему гербарий, большая коллекция семян диких видов пшениц и их сородичей, архив академика М.Г. Туманяна, обнаружившего ветвистоколосую спельту, позже названную *T. vavilovii* Jakubz. (рис. 9).

Во время экспедиции имелась возможность ознакомиться с работой местного генбанка и Научного центра земледелия (бывший знаменитый Институт земледелия МСХ Армении, г. Эчмиадзин), издававшего специализированный ведомственный сборник под названием «Пшеница». Научный центр находится в 20 км от Еревана в древнейшем городе республи-



Рис. 6. Местообитания *T. boeoticum* – обрыв на краю поля (а) и граница поле-дорога (б), у высохшего арыка (в). В последнем случае рядом в одном ценозе растут единичные растения *T. araraticum*, *T. boeoticum* и *Ae. squarrosa*. г – дачный поселок Вардаблур (б. село Шорбулах) – пшеничная «Мекка» (фото со стороны заповедника).

ки Эчмиадзине. Он был основан в 1926 г. и являлся самым крупным и мощным центром сельскохозяйственной науки в республике. При центре имеется Мердзаванский опорный пункт, расположенный в предгорной зоне Араратской равнины на высоте 943 м над уровнем моря. В Научном центре ведутся работы теоретического и прикладного характера в отделах селекции и семеноводства и в лабораториях биохимии, агрохимии, агроэкологии и генетического мониторинга. В лаборатории генетического мониторинга ведутся исследования, направленные на изучение мутагенного воздействия пестицидов на растения и человека, а также их влияния на экологию при сочетании с физиологически активными веществами, используемыми в сельскохозяйственном производстве республики.

Научно-исследовательские работы, направленные на усовершенствование и внедрение новых эффективных технологий ведения земледелия и растениеводства, ведутся не только на экспериментальных базах Эчмиадзина и Мердзавана, но и во всех сельскохозяйственных зонах республики (в соответствии с почвенно-климатическими условиями республика разделена на IX сельскохозяйственных зон). Особое внимание уделяется сохранению и расширению биоразнообразия основных для сельского хозяйства республики полевых культур – пшеницы и зернобобовых культур. Произрастающие на территории Армении стародавние сорта пшеницы адаптированы к разнообразным почвенно-климатическим условиям и являются донорами ряда хозяйственно ценных признаков (Садоян, 2013). В этой связи ведутся работы по сохранению местного ценного генофонда пшеницы с целью его дальнейшего использования в современных селекционных программах. Учеными Научного центра ведутся работы по обобщению данных об агробиологической и генетической характеристике (по генам гибридной депрессивности) староместных и селекционных сортов пшениц Армении начиная с 1780-х гг. (Садоян, 2008).

Научный центр земледелия активно сотрудничает с международными центрами ICARDA (Международный центр сельскохозяйственных исследований в засушливых регионах) и CIMMYT (Международный центр улучшения

AEGILOPS CYLINDRICA HOST X
TRITICUM AESTIVUM L. ՀԻԲՐԻԴԻ
ՁԵՎԱԳՈՅԱՑՈՒՄԸ

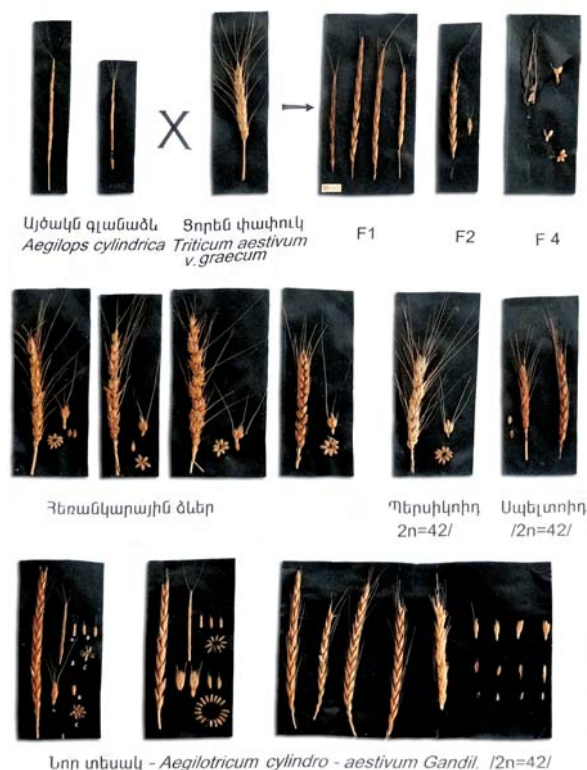


Рис. 7. *Aegilotriticum cylindroaestivum*.

Схема составлена П.А. Гандиляном.



Рис. 8. Колосья родительских форм.

1 – *T. boeoticum*; 2 – *Ae. squarrosa* и амфиплоида *T. boeoticum* × *Ae. squarrosa* (3–4), созданного П.А. Гандиляном.



Рис. 9. Колос ветвистоколосой пшеницы *T. vavilovii* Jakubz. и его прорисовка (вверху безостая разновидность (а), внизу – с остевидными придатками(б)).

Пшеница Вавилова. *T. vavilovii* – эндемик Армянского нагорья. Впервые обнаружен в районе озера Ван. Ксерофит (Вавилов, 1935; Гандилян, 1974), обладает засухоустойчивостью и зноевыносливостью (Пшеницы ..., 1976), устойчив к некоторым грибным болезням (Bariana *et al.*, 2002. Р.). Это единственный вид спельт, у которого отсутствует ломкоколосость (Туманян, 1957). После созревания имеет менее одревесневшие колосковые чешуи, чем *T. spelta*. Все образцы озимые.

пшеницы и кукурузы). В 1997–2012 гг. по совместным программам было получено и испытано 8 660 образцов озимой пшеницы, 8 300 образцов озимого ячменя и 3 380 – зернобобовых культур. В результате районированы 4 сорта озимой мягкой пшеницы, 4 сорта озимого ячменя и 6 сортов зернобобовых культур (рис. 10). Полученные в Научном центре сорта озимой мягкой пшеницы дают до 70 ц/га. В настоящее время проходят Государственное сортоиспытание еще 5 сортов пшеницы, 2 сорта озимого ячменя и 8 сортов зернобобовых культур.

Часть здания Научного центра занимает Генбанк, который административно относится к Аграрному университету Армении. Генбанк создавался при финансовой помощи ICARDA. Образцы хранятся в стандартных условиях при температуре -18°C по 500–1000 г семян каждого. Коллекция уникальна наличием более 1,5 тыс. сортообразцов местной селекции. Сотрудниками

генбанка проводится значительная работа по сохранению и размножению материала *in vitro*. Так сохраняется биоразнообразие стародавних кишмишных сортов винограда (сорта на вегетативное размножение), стевии, бесшипой ежевики, гвоздики, картофеля, зизифуса, лизантуса, мирта и некоторых других культур.

В заключение укажем на то, что маршрут нашей экспедиции в местах произрастания диких пшениц в Армении соответствовал маршруту экспедиции, проведенной Н.И. Вавиловым в 1934 г. Кроме 1934 г. Н.И. Вавилов еще дважды, в 1928 и 1930 гг., участвовал в экспедициях по Армении (Матевосян, 1987). Заметим, что если маршруты большинства зарубежных экспедиций Н.И. Вавилова детально описаны (см., например, обзор Н.П. Гончарова, 2012), то его экспедиции по территории СССР до сих пор – *terra incognita*. Сохранилось очень мало информации о внутрисоюзных довоенных

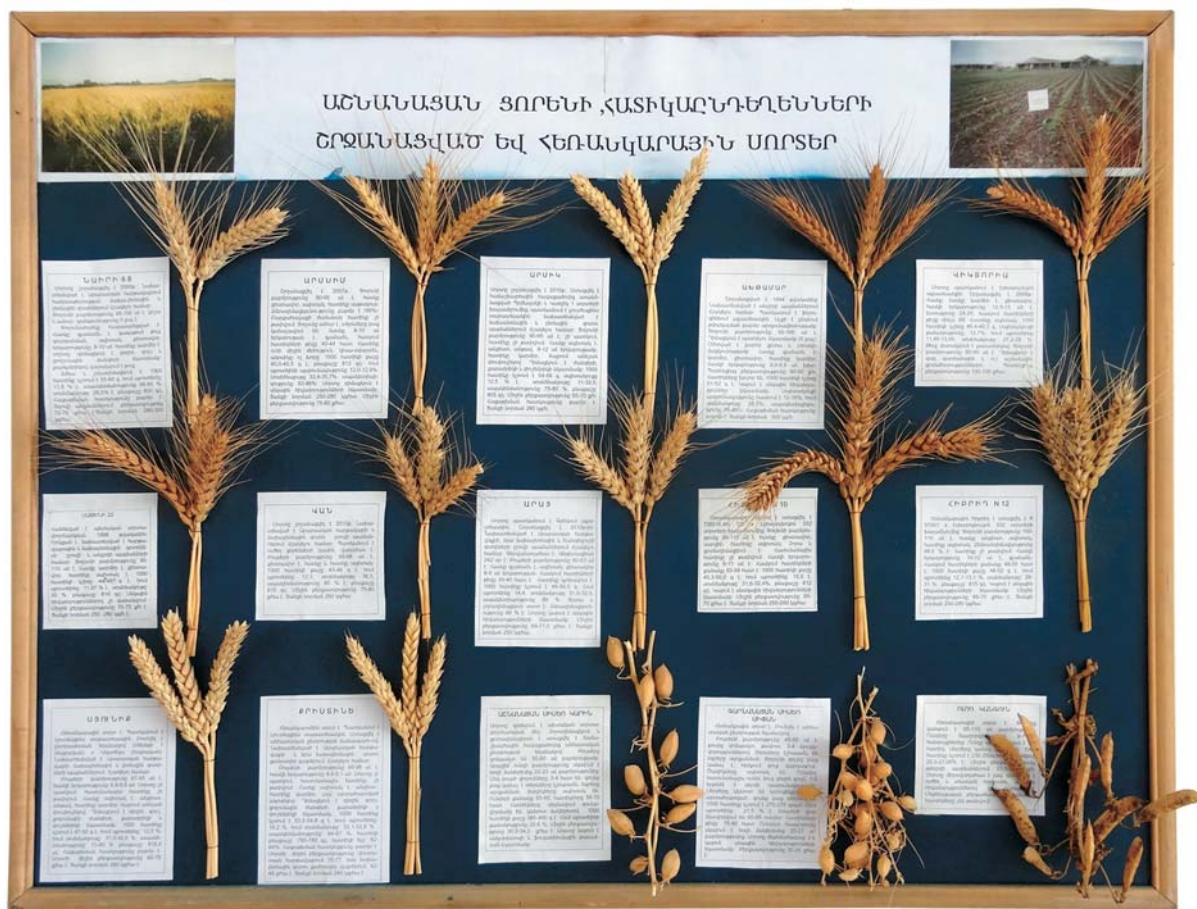


Рис. 10. Новейшие сорта селекции Центра земледелия.

экспедициях ВИР, а не только Н.И. Вавилова. Нам представляется интересным привести ниже русский перевод интервью, данного Николаем Ивановичем корреспонденту ереванской газеты «Хорурдаин Айастан» («Советская Армения»)

и опубликованного в № 120 от 26.07.1934 г. Интервью отсутствует в библиографическом списке работ Н.И. Вавилова (Николай Иванович Вавилов ..., 1987) и, вероятно, не известно исследователям.



Справа налево: М.Г. Туманян, Н.И. Вавилов, неизвестный. Армения, 1934 г.

Архив лаборатории генофонда и селекции растений АрмНАУ (г. Ереван).

АКАДЕМИК ВАВИЛОВ О ДИКИХ ЗЛАКОВЫХ АРМЕНИИ³

24-го июля 1934 г. прибывший в Ереван Президент сельскохозяйственной академии им. Ленина академик Н.И. Вавилов в Доме культуры прочитал лекцию по теме «Мировые центры земледелия и скотоводства». Со стороны собравшихся специалистов-ботаников, историков, агрономов академик Вавилов удостоился теплого приема. За время пребывания в Ереване он ознакомился с работами научно-исследовательских учреждений и кафедры частного земледелия Сельскохозяйственного института.

Академик Н.И. Вавилов дал интервью корреспонденту нашей газеты, в котором он сообщил следующее: *«Основной целью нашей командировки было посещение ряда научных сельскохозяйственных учреждений, а также ознакомление с состоянием культурных растений. Из Ростова мы выехали на автомобиле и уже преодолели 5 000 км, пройдя Военно-Осетинскую дорогу вплоть до Мамисонского перевала. С самого начала путешествия нас сопровождали иностранные ученые – профессор Мёллер⁴, доктора Костов⁵ и Офферман⁶, которые доехали с нами до Баку.*

³ Перевела с армянского языка Лусине Оганесян (лаборатория генофонда и селекции растений АрмНАУ, г. Ереван). Перевод начала интервью ранее был опубликован в работе П.А. Гандиляна, В.А. Авакяна (2001. С. 19–21).

⁴ Мёллер Герман Джозеф (Hermann Joseph Muller, 1890–1967), американский генетик, ученик Т.Х. Моргана, лауреат Нобелевской премии (1946 г.). С ноября 1933 г. по сентябрь 1937 г. работал в Институте генетики АН СССР (г. Москва).

⁵ Костов Дончо (1897–1949), болгарский генетик. Занимался созданием амфиплоидов пшеницы (Костов, 1936) и гибридизацией нескольких видов пшеницы для получения так называемых тройных гибридов, сочетающих ценные качества одновременно нескольких видов. В 1932–1939 гг. – сотрудник Института генетики АН СССР.

⁶ Офферман Карлос, аргентинский генетик, ученик Г. Мёллера и его сотрудник в 1930-х гг. в Институте генетики. Автор

В период путешествия наше внимание больше всего было направлено на Республику Нахичевань, Карабах и южный район Армении (Мегри).

Вместе с профессорами Туманяном⁷, Троицким⁸ и другими научными сотрудниками мы посетили находившееся недалеко от Еревана место, называемое Шорбулахом⁹.

Здесь мы увидели территории, на которых густо произрастали дикие пшеницы и рожь. Абсолютно не будет преувеличением, если скажем, что эта небольшая территория в будущем вызовет всемирный интерес. Здесь можно увидеть и исследовать развитие зерновых (хлебных злаков) и вообще всей растительности мира.

Открытием местообитаний диких пшениц научный мир обязан только усилиям и огромной работе, проделанной проф. М.Г. Туманяном. Я уверен, что когда научный мир узнает об этой территории, то с разных мест мира непрерывно будут организовываться научные экспедиции для изучения такого очень интересного места, как Шорбулах.

Нет никаких сомнений, что по разнообразию видов это самое интересное место во всем мире. Мне приходилось изучать многочисленные страны, которые принято считать древними земледельческими, однако более богатой, более интересной местности, чем Шорбулах, трудно найти.

Специалисты Армении должны быть счастливы, что находятся вблизи такого богатого очага растительности, и не жалеть усилий для продвижения вперед исследовательских работ.

Я предложил бы обязательно выделить тут участок площадью 50–100 га, обеспечить особый уход за ним, чтобы сохранить интересный документ мирового значения¹⁰. Это не столь трудная работа, тем более, если учесть, что эта земля непригодна для возделывания из-за сильной каменистости.

В скором времени на Всемирной конференции по селекции¹¹ я намерен рассказать об этом открытии профессора М.Г. Туманяна и обязательно внесу предложение об организации научной экспедиции в Ереван для посещения этой территории и ознакомления с произрастающими на ней различными видами дикой пшеницы.

Должен выразить огромное удовлетворение достижениями армянских ученых в области сельскохозяйственных научно-исследовательских работ.

Мне посчастливилось вторично посетить вашу республику¹². Трудно узнать Армению, особенно ее столицу – Ереван. Поражаешься, когда видишь такое быстрое преобразование города. Отрадно видеть на примере вашей республики, вашего города, как быстро меняется облик всей нашей социалистической страны.

Вот почему я приветствую от имени Академии наук, Сельскохозяйственной академии и от себя лично всех ученых Армении и желаю им еще больших усилий для дальнейших творческих успехов.

работ по эволюции половых хромосом, а также влиянию физиологических условий на мутационный процесс.

⁷ Туманян М.Г. (1886–1950), доктор сельскохозяйственных наук (1937), заслуженный деятель науки АрмССР (1937), профессор (1939), действительный член АН АрмССР (1943). Исследовал культурную растительность Закавказья, в особенности Армении. Разработал принцип районирования местных стародавних сортов пшеницы, ячменя и ржи, установил ряд закономерностей, связанных с формообразовательными процессами у пшениц. Описал пшеницы Вавилова и Урарту и десятки новых разновидностей.

⁸ Троицкий Н.А. (1887–1957), заведующий кафедрой ботаники Крымского государственного педагогического института (ныне Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского), доктор биологических наук, профессор.

⁹ Село Шорбулах – в настоящее время дачный поселок Вардаблур (от арм. Вард – роза, блур – холм). Селение Вохчаберд возвышается над заповедником (см. рис. 6, г).

¹⁰ Заповедник будет организован в 1981 г. (Гандилян, Авакян, 2001).

¹¹ Вероятно, имелся в виду VII Международный съезд по генетике, намечавшийся к проведению в Москве в 1936 г.

¹² Неточность. До этого Н.И. Вавилов посещал республику дважды в 1928 и 1930 гг.

В Сельскохозяйственном институте под руководством профессора М.Г. Туманяна проводятся чрезвычайно крупные и значительные работы в области частного земледелия. Под руководством профессора Калантаряна¹³ ведутся исследования по агропочвоведению, имеющие важное значение для всей страны. Весьма интересны работы профессора Троицкого по кормопроизводству.

Значительно расширилась, стала крупным предприятием плодовоовощеводческая станция, внесшая существенный вклад в изучение видов, их агротехники и технологии. Мое единственное желание то, чтобы больше внимания уделялось Сельскохозяйственному институту, его оснащенности, строительным работам. Необходимо отметить, что лаборатории института, их оборудование не соответствуют требованиям и запросам преподавательского состава.

В настоящее время во всем Союзе огромное внимание уделяется созданию сильных сельскохозяйственных институтов, которые имели бы свою материально-техническую базу, территории, на которых могли бы проводиться научные опыты и практические работы. Вот почему усиление Армянского сельскохозяйственного института должно стать первоочередным в республике.

Кроме того, следовало бы уделить большое внимание Севанской биологической станции, которая выполняет огромную работу в области изучения различных видов рыб и их ресурсов.

В конце беседы академик Н.И. Вавилов попросил корреспондента газеты «Хорур-дайин Айастан» выразить через нее огромную благодарность правительству Армении, коммунистам и всем ученым за оказанный ему теплый и радушный прием.

¹³ Калантарян (1887–1942). Основоположник агрохимической и микробиологической наук в Армении, профессор.

После посещения Армении в 1934 г. Н.И. Вавилов напишет: «После больших исследований, проведенных в СССР и сопредельных странах, я пришел к выводу об исключительном значении в этом отношении Закавказья. Не менее 42 новых видов различных растений полностью или частично происходят из Закавказья и представлены здесь поразительным разнообразием форм... По разнообразию сортов пшеницы Закавказье, особенно Армения, выделяется на Земном шаре, уступая Абиссинии»¹⁴.

Работа поддержана экспедиционным грантом СО РАН № 5/2013.

ЛИТЕРАТУРА

- Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы. М.; Л.: Сельхозгиз, 1935а. 246 с.
- Гандилян П.А. О дикорастущих видах *Triticum* Армянской СССР // Бот. журнал. 1972а. Т. 57. № 2. С. 173–181.
- Гандилян П.А. Спонтанная гибридизация, мутации и вопросы филогении пшеницы // Генетика. 1972б. Т. 8. № 8. С. 5–19.
- Гандилян П.А. К вопросу о происхождении пшеницы

¹⁴ «Известия» № 298 от 22 декабря 1934 г.

- Вавилова (T. vavilovii Jakubz.) – ванской пшеницы // Пшеница. 1974. Вып. 1. С. 68–74.
- Гандилян П.А. Синтез нового вида пшеницы с геномной формулой A^bA^bAABB // Биол. журнал Армении. 1990. № 2(43). С. 154–155.
- Гандилян П.А., Авакян В.А. Эребунийский заповедник. Ереван, 2001. 47 с.
- Гандилян П.А., Шакарян Ж.О., Петросян Э.А. Синтез новых эммеров (двузернянок) и тетраплоидных спельтоидов и вопросы филогении рода пшеницы // Биол. журнал. Армении. 1986. Т. 39. № 1. С. 5–15.
- Гончаров Н.П. Экспедиции Н.И. Вавилова // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 3. С. 560–578.
- Дорофеев В.Ф., Филатенко А.А., Мигушова Э.Ф., Удачин Р.А., Якубинер М.М. Пшеница. Л.: Колос, 1979. 348 с. (Культурная флора СССР. Т. 1).
- Костов Д. Изучение полиплоидных растений. XI. Амфилоид *T. timopheevii* Zhuk. × *T. monoccum* L. // Докл. АН СССР. 1936. Т. 1(10). № 1. С. 32–36.
- Макушина Е.Н. Новый вид пшеницы *Triticum armeniacum* (Jakubz.) sp. n. // Докл. АН СССР. 1938. Т. 21. № 7. С. 350–353.
- Макушина-Горошенко Е.Н. Новый вид пшеницы *Triticum montanum* Makusch. nom. nov. и его таксономическое положение в роде *Triticum* // Уч. зап. Ленингр. пед. ин-та им. А.И. Герцена. 1948. Т. 66. Бот. 8. С. 107–143.
- Матевосян А.А. М.Г. Туманян и вавиловская школа по изучению генофонда культурных растений Закавказья // Генофонд культурных растений и их диких сородичей

- в Закавказье. Ереван, 1987. С. 5–11.
- Николай Иванович Вавилов. Материалы к биобиблиографии ученых СССР. Изд. 3-е доп. Сер. биол. наук. Генетика. Вып. 4. М.: Наука, 1987. 167 с.
- Пшеницы мира / Ред. Д.Д. Брежнев. Л.: Колос, 1976. 487 с.
- Садоян Р.Р. Гибридная депрессивность пшеницы (история вопроса и каталог сортов по генам гибридной депрессивности различных типов). Ереван: Юнипринт, 2008. 196 с.
- Садоян Р.Р. Эндемичные и селекционные сорта пшениц Армении (Агробиологическая характеристика и гены гибридной депрессивности). Ереван: Ван Арьян, 2013. 128 с.
- Туманян М.Г. Дикie однозернянки и двузернянки в Армении // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1930. Т. 24. № 2. С. 1–14.
- Туманян М.Г. Возникновение в природе полиплоидных мутаций у диких пшениц однозернянок // Докл. АН СССР. 1937а. Т. XXVI. № 6. С. 333–336.
- Туманян М.Г. Новый вид дикой пшеницы (*T. urartu* Thum.) // Тр. Арм. фил. АН СССР. Сер. биол. 1937б. Вып. 2. С. 210–215.
- Туманян М.Г. О происхождении ветвистых мягких пшениц // Туманян М.Г. Избр. труды. Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1957. С. 62–74.
- Якубцинер М.М. О сортовых и видовых названиях твердых пшениц // Селекция и семеноводство. 1947. № 4. С. 40–46.
- Якубцинер М.М. О некоторых новых видах 28-хромосомных пшениц // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1948. Т. 28. Вып. 1. С. 218.
- Bariana H.S., Brown G.N., Ahmed N.U., Khatkar S., Conner R.L., Wellings C.R., Haley S., Sharp P.J., Laroche A. Characterisation of *Triticum vavilovii*-derived stripe rust resistance using genetic, cytogenetic and molecular analyses and its marker-assisted selection // Theor. Appl. Genet. 2002. V. 104. P. 315–320.
- Dorofeev V.F. The variability and breeding value of Armenian wheats // Euphytica. 1968. V. 17. P. 451–461.
- Goncharov N.P. Genetic resources of wheat related species: The *Vrn* genes controlling growth habit (spring vs. winter) // Euphytica. 1998. V. 100. P. 371–376.
- Goncharov N.P. Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future // Plant Syst. Evol. 2011. V. 295. P. 1–11.

THE CAUCASIAN CENTRE OF FORMATION OF WILD DI- AND TETRAPLOID WHEATS: THE ARMENIA 2013 EXPEDITION

N.P. Goncharov¹, A.Sh. Melikyan², M.G. Harutyunyan², M.Ts. Hovhannisyan²,
L.V. Hovhannisyan², R.R. Sadoyan³, O.A. Lyapunova⁴

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: gonch@bionet.nsc.ru;

² Armenian National Agrarian University, Yerevan, Republic of Armenia, e-mail: pgr_lab@mail.ru;

³ Scientific Center of Agriculture, Echmiadzin, Republic of Armenia;

⁴ Vavilov Institute of Plant Industry, St. Petersburg, Russia

Summary

The results of an international expedition to the Republic of Armenia in the summer of 2013 are presented. An important result of field work is the discovery of several habitats of wheats *Triticum araraticum* Jakubz. and *T. boeoticum* Boiss.

Key words: centers of origin, wheat, biodiversity, N.I. Vavilov.

УДК 635.9:631.527

ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ ЯПОНСКИХ ИРИСОВ (*IRIS ENSATA* THUNB.) НА ЮГЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© 2014 г. **З.В. Долганова**

ГНУ научно-исследовательский институт садоводства Сибири
им. М.А. Лисавенко Россельхозакадемии, Барнаул, Россия,
e-mail: niilisavenko@hotmail.ru

Поступила в редакцию 20 сентября 2013 г. Принята к публикации 17 октября 2013 г.

Японские сорта *Iris ensata* на протяжении более 100 лет завозили в Россию разные ученые (Э. Регель, Н.И. Вавилов, В.М. Носилов, В.Т. Пальвельев), а в 1980-е гг. их испытывали в Главном ботаническом саду РАН и в большинстве случаев терпели неудачу (Родионенко, 2002; Миронова, 2008). В НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко (НИИСС) успешная интродукция японских сортов, а потом и селекция состоялись благодаря ретросортам, полученным в 1980 г. Скрещивание географически отдаленных сортов (на первом этапе французских и японских, на последующих этапах – алтайских, дальневосточных, ленинградских и американских) позволило создать 250 адаптированных декоративных генотипов и 15 сортов. В потомстве сортов с простыми цветками выделены генотипы с двойными, полумахровыми и махровыми цветками. Качество пыльцы отборных генотипов *I. ensata* практически не уступало алтайским видам *I. ruthenica* Ker.-Gawl., *I. glaucensens* Bunge ex Ledeb.: фертильность пыльцы была 78 %, жизнеспособность – 53 %. Плодообразование у культиваров с простыми цветками составляло 54 %, с двойными – 9 %, при принудительном скрещивании – 93 и 73 % соответственно. Семян в плоде образуется 5–116 шт., их масса 6–9 г, всхожесть 1–57 %. Выделены доноры высокой продуктивности, новой окраски и формы цветка. В процессе селекции диаметр цветка увеличен с 12 до 20 см, ширина верхних долей околоцветника – с 2 до 8 см, нижних – с 7 до 9 см. Спектр окраски цветка расширен до 11 групп.

Ключевые слова: японские ирисы, индивидуальный отбор, донор, спектр окраски и размеры цветка, генеративная продуктивность.

ВВЕДЕНИЕ

М.А. Лисавенко стал заниматься интродукцией декоративных растений на Алтае с 1933 г. В 1964 г. он пишет: «Нужно всемерно усилить селекционную работу, направленную на увеличение числа пород и сортов декоративных растений, наиболее отвечающих природным условиям Сибири и расширяющих ее озеленительный ассортимент» (Лисавенко, 1964). Его единомышленник З.И. Лучник занялась интродукцией в 1937 г., а в 1960-х годах организовала и селекционную работу с местными и интродуцированными древесными и травянистыми растениями (Лучник, 1974, 1975, 1981).

В настоящее время в НИИСС сохраняется и поддерживается уникальная коллекция из

3456 таксонов декоративных растений. Селекционная работа ведется с сиренью, пионами, примулами, ирисами, лилиями, лилейниками и флоксами. Общий гибридный фонд составляет 11 тыс. сеянцев и 420 отборных форм. Создано 62 сорта, из них больше всего – сортов ириса (15 – *Iris sibirica* L., 15 – *I. ensata* Thunb. и 5 – *I. hybrida* hort.). Особенно интересные результаты получены в селекции японских ирисов, происходящих от *I. ensata*. В 1970-е годы в лесостепной зоне Алтайского края зимовали и обильно цвели более 40 сортов-интродуцентов *I. hybrida* и 3 сорта *I. sibirica*. Японские ирисы были представлены видовыми образцами *I. ensata*, завезенными З.И. Лучник с Дальнего Востока, хотя сорта завозили в разные годы М.А. Лисавенко, З.И. Лучник и И.В. Верещаги-

на (1964). Сорта японского ириса не выживали не только в Сибири, но и в Европейской части России (Родионенко, 2002).

Г.И. Родионенко (2002) пишет: «Сама природа, словно благословляя отечественных цветоводов на доброе дело, подарила самую северную популяцию *I. ensata* – ириса мечевидного. Для нас, северян, этот красивейший вид ириса флоры Приморья – ключ к открытию сокровищницы древней культуры японских ирисов». *Iris ensata* Thunb. (*I. kampfieri* Sieb. ex Lemaire var. *Kaempferi* Maxim.) произрастает в Приморском крае, на Курилах, в Китае и Японии. Согласно системе рода *Iris* Азиатской России (Доронькин, 2006) он относится к подроду *Limniris*, секции *Limniris*, серии *Xyphophyllae* с единственным видом *I. ensata* – ирис мечевидный. В отличие от сортов природный вид успешно интродуцирован в ботанические сады России.

Освоение *I. ensata* началось в Японии в XV–XVI вв. Его сорта относят к садовой группе японские ирисы (сокращенно Ja), которые японцы называют «хана-шобу». Первые сорта с цветками Нагаи-типа собраны крестьянами в природе и сохраняются в парках Японии (Hiroshi Shimizu, 1997). В садоводческих справочниках «Kadan-Kamoku» (1681) и «Kadan-chikin-sho» (1694) формы японских ирисов классифицировались по цвету; описывалось 8 сортов, а в 1799 г. описывалось уже несколько сотен сортов (McEwen, 1990). В настоящее время создано более тысячи сортов японских ирисов, их селекцией занимаются не только в Японии, но и в Америке, Франции, Германии (Родионенко, 2002).

В Россию сорта японских ирисов завозили Э. Регель (1815–1892), Н.И. Вавилов (1920–1930 гг.), позже В.М. Носилов, В.Т. Пальвельев. В 1980-е годы Главный ботанический сад проводил масштабный эксперимент с большим количеством сортов японской селекции, который закончился полной неудачей (Родионенко, 2002). Начало селекции японских ирисов в России, в Санкт-Петербурге, положил Г.И. Родионенко. Он создал первые в мире зимостойкие сорта: Василий Алферов, Алтай, Дерсу Узала, Чайка. Сейчас селекцией *I. ensata* в России, в Приморском крае, занимаются Л.Н. Миронова и В.И. Науменко (Миронова, 2008), в Москве – М.Е. Каулен (селекционер-любитель) и Е.И. Дацюк (МГУ).

В Алтайском крае первыми зимостойкими сортами *I. ensata* оказались ретро-сорта. Первичную интродукцию они прошли в Московской области у В.Т. Пальвельева. Первый председатель общества ирисоводов П.Ф. Гатенбергер выслал их барнаульскому цветоводу В.М. Огороднову. В 1980 г. они попали в НИИСС. Это были сорта разного географического происхождения: французского – Навзикая, и японского – Кино-но-Меджуми и Цамо-но-Мори. Они цвели и образовывали семена. Из семян от свободного опыления этих сортов были получены первые алтайские сорта. Удивительно, но в потомстве сортов с простыми цветками были выделены 10 гибридов с двойными цветками. Среди них отобрали 6 гибридов с широкими долями околоцветника – они стали первыми сибирскими сортами японского ириса. Простые цветки у сортов Памяти Лучник – лиловый и Поклон Еременко – белый с лиловыми прожилками; двойные – Поленица – бело-сиреневый, Призрак Счастья – белый, Добрыня – фиолетовый и Виват Родионенко – светло-фиолетовый с голубыми пятном и прожилками. Они пережили экстремальные условия 1997/98 г.: в период бесснежья в октябре температура опускалась до –10 °С, почва промерзла на 10 см, а в ноябре при 4–11 см снежного покрова – до –23...–47 °С (Долганова, 2002).

У японских ирисов формирование генеративных органов проходит в весенний период, который в Алтайском крае характеризуется резкими колебаниями температуры воздуха и почвы и неустойчивым и неравномерным выпадением осадков. Актуальным для условий Алтайского края было создать и отобрать генотипы, способные не только зимовать, но и образовывать цветоносы в любых погодных условиях весеннего периода. На первом этапе работы для того чтобы начинать направленную гибридизацию, необходимо было провести предселекционное изучение первых спонтанных сортов и гибридов.

Цель исследований – улучшение, расширение ассортимента ириса адаптированными к условиям юга Западной Сибири сортами японских ирисов.

Задачи – определить качество пыльцы и семян, установить уровни плодообразования и семенной продуктивности, выявить доноров

ценных признаков, установить маркерные признаки доноров ценных признаков, создать генотипы с крупными цветками с широкими, упругими и гофрированными долями околоцветника, разнообразной окраски, разных сроков цветения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы – сорта и гибриды японских ирисов (*Iris ensata* Thunb.), которые на зиму не укрываются, но на полях задерживается снег.

Метод – спонтанная и направленная гибридизация географически отдаленных сортов, индивидуальный отбор. Поиск доноров разнообразия декоративных признаков. Изучение роста и развития по «Методике ГСИ» (1968). Жизнеспособность пыльцы определяли по методике И.Н. Голубинского (1974). Статистическая обработка проводилась по методике Г.Н. Зайцева (1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Качество пыльцы и семян. Качество пыльцы культиваров и вида *I. ensata* практически не уступало алтайским видам *I. ruthenica* Ker.-Gawl., *I. glaucensens* Bunge ex Ledeb. Фертильность пыльцы была 77,6 %, жизнеспособность – 53,1 %. (табл. 1). Самая низкая жизнеспособность пыльцы – у культиваров с двойным цветком. Пыльца с фертильностью 70–80 % и выше прорастала на 30–60 % в течение 5 дней, сохраняя активность 17 дней (Полковникова, 2000).

В 1996–1999 гг. при свободном опылении у культиваров с двойным околоцветником обра-

зовывалось 9 % плодов, с простым – 54 %, при принудительном – 73 и 93 % соответственно. В дальнейшем плодообразование существенно изменялось при различных погодных условиях. Например, в 2008 г. – 70,6 % плодов от числа опыленных цветков, в 2009 г. – 37 %, в 2012 г. – 7,4 %. В коробочках первого порядка содержится 68 полноценных семян, второго – 58, третьего порядка – 47 (Полковникова, Долганова, 1998). Уровень семенной продуктивности в лесостепи Алтайского края близок к таковому, полученному в Подмосковье у сортов с простым и двойным цветками (Пальвельев, 1973).

Масса 1000 семян у дикой формы *I. ensata* составляла $7,6 \pm 0,1$ г, у сортов и гибридов – $7,2 \pm 0,2$ г (от 6 г до 9 г). В зависимости от года проведения скрещиваний полевая всхожесть изменялась от 1–17 до 9–57 %. Всходы появляются на 32–57-й день после посева. В 2012 г. плоды и семена образовались только в географически отдаленных скрещиваниях (Сиреневая Дымка × Усть-Катунь и *Jaquetus* × Усть-Катунь), всхожесть семян изменялась от 10 до 30 %.

В 1997–1999 гг. 32 гибрида и 6 сортов скрестили в 250 комбинациях между собой и дальневосточным сортом Амурский залив. Цветение сеянцев начиналось на 3–5-й годы выращивания у 3–80 % растений в семье. В 35 семьях сеянцы не цвели и на 6-й год выращивания. Все нецветущие или периодически цветущие сеянцы и сеянцы с окраской и формой цветка природного вида были отбракованы.

За все годы селекции проведено более 600 комбинаций скрещивания. К настоящему времени в селекционном питомнике изучается 5 тыс. сеянцев, в контрольном питомнике –

Таблица 1

Качество пыльцы рода *Iris*

Вид, сорт, гибрид	Фертильность, %				Жизнеспособность, %			
	1996	1997	1998	X	1996	1997	1998	X
<i>I. ruthenica</i>	98,0	100	100	99,3	–	63,1	54,1	57,6
<i>I. glaucensens</i>	–	96,7	92,9	94,8	–	22,9	36,4	29,6
<i>I. ensata</i>	51,5	90,5	90,9	77,6	41,0	65,2	–	53,1
Средняя для 31 культивара с простым околоцветником								
<i>I. ensata</i>	69,8	67,8	74,8	70,5	51,3	43,4	26,6	40,4
Средняя для 8 культиваров с двойным околоцветником								
<i>I. ensata</i>	67,5	70,5	73,6	70,5	42,7	31,7	23,6	32,7

250 отборных и 6 элитных гибридов. В этих условиях за все годы исследований произошла выбраковка нежизнеспособных генотипов на всех уровнях. Часть всходов к осени погибает в первый год, высаженные сеянцы растут в поле 4–6 лет, за это время происходит естественный отпад растений. Но и не все выжившие сеянцы способны зацвести. Иногда к цветению в семье остается один гибрид из 10–20. Иногда в семьях сохраняется 100–200 гибридов, но все они – с цветками дикого вида. Жизнеспособность сеянцев зависела от родительских пар скрещивания. Примером высокой жизнеспособности сеянцев с разнообразными морфологическими признаками служит алтайский гибрид 9-175-97 (рис. 1). В его потомстве от свободного опыления выжило 220 сеянцев, из них отобрано 50 перспективных гибридов, превосходящих по декоративным качествам материнскую форму. В семье от свободного опыления дальневосточного сорта Сиреневая дымка гибриды погибли полностью, а гибриды в семье от скрещивания с сортом Алтайская Снегурочка выжили и зацвели. Американские сорта *Jarpetus* и *Tender Trap* – источники крупных цветков и широких долей околоцветника, но, к сожалению, и доноры повышенной влаголюбивости, поэтому скрещивать их необходимо с алтайскими продуктивными сортами. Они дают жизнеспособное потомство только в случае использования их в качестве отцовских форм с алтайскими сортами.

Размеры и формы цветка. В наших исследованиях точкой отсчета величины цветков являются три стародавних сорта (табл. 2). В первом поколении выделены сорта с диаметром цветка 13–15 см (больше, чем у ретросортов на 3–5 см): Поленица, Призрак Счастья, Добрыня и др., во втором поколении он существенно не увеличился: у сортов Алтайская Снегурочка и

Павла диаметр цветка – 18 см, у остальных – меньше. Диаметр цветка отборных гибридов F_3 изменялся от 13 до 20 см. Гибрид с самым крупным двойным цветком диаметром 20 см выделен в потомстве гибрида 9-175-97 с простым цветком диаметром 12 см.

Испытание 4 алтайских сортов в условиях Дальнего Востока выявило скрытые возможности сорта Призрак счастья. Диаметр его цветка увеличился с 15 до 20 см (Миронова, 2008).

Наибольшее увеличение ширины долей околоцветника относительно родительских сортов (см. табл. 2) в первом поколении у сорта Добрыня: 8,0 см ширина нижних долей и 5,0 см – верхних. У сорта Виват Родионенко – 7,0 и 5,0 см соответственно. Во втором поколении идет постепенное увеличение ширины долей околоцветника и появляется гофрировка. У сорта Алтайская Снегурочка ширина нижних долей околоцветника 8 см, верхних – 7,0 см, Усть-Катунь – 7,0 и 5,5 см, Верхне-Обский – 7,5 и 5,5 см, Горянинский – 8,0 и 7,0 см; Синильга – 8,5 и 8,0 см. Самые широкие (9 см) нижние доли околоцветника у сорта с простым цветком Павла, а верхние (8 см) – у сорта с двойным цветком Синильга (рис. 2).

Для увеличения гофрированности двойных цветков сорт Усть-Катунь опылили пыльцой гофрированного гибрида 1-55-09 с простым цветком. Получили гибрид с двойным цветком как у материнской формы, но с более широкими и плотными долями околоцветника и со средней гофрировкой (рис. 3).

При скрещивании сортов с двойным цветком в потомстве выделено 76,7 % гибридов с двойными и махровыми цветками. В комбинациях скрещивания, при котором один из родителей с простым цветком, а другой – с двойным выделено 12–13 % (табл. 3).

Таблица 2

Характеристика цветка сортов F_0 *I. ensata*

Сорт	Диаметр цветка, см	Размер лепестков, см			
		нижних		верхних	
		длина	ширина	длина	ширина
Навзикая	10,0	7,7	6,5	4,5	1,7
Цамо-но-Мари	12,0	6,5	4,5	4,5	1,5
Кино-но-Меджуми	12,0	10,0	7,0	8,8	2,0

Таблица 3

Тип цветка *Iris ensata* в связи с типом цветка родительских форм

Тип цветка родителей		Число семей	Тип цветка в потомстве, %		
♀	♂		простой	двойной	махровый
Двойной	Двойной	19	22,9	72,9	4,2
Двойной	Простой	13	86,9	10,3	2,8
Простой	Двойной	15	87,9	10,6	1,5
Простой	Простой	39	98,6	1,4	0

Гибриды с полумахровой формой цветка выделены лишь в потомстве географически отдаленных сортов Добрыня × Амурский Залив. Часто махровость проявляется в результате превращения тычинок и лопастей пестика в доли околоцветника, и цветок часто становится стерильным. По-настоящему махровый фертильный гибрид с 12 долями околоцветника, 3 тычинками и лопастями пестика отобран в 2013 г. в потомстве полумахрового сорта Ойротия (рис. 4).

В спонтанном потомстве гибрида 12-220-97 с двойным цветком выделен гибрид с 9 долями околоцветника (рис. 5).

Окраска цветков. Окраска цветка гибридов F_1 разнообразнее, чем у своих родителей, большая их часть – в антоциановой гамме (фиолетовой, пурпуровой и синей). Среди гибридов F_2 по сравнению с F_1 вдвое увеличилось число гибридов природного вида (44,6 %), появились гибриды с розовой окраской (5 %); увеличилось количество гибридов с пятном, штрихами и мазками на долях околоцветника (6,7–13,7 %). Наибольшее разнообразие окраски цветков в потомстве сортов Добрыня, Поленица, Амурский залив и Памяти Лучник. Гибриды белой окраски выделялись в потомстве почти всех сортов и гибридов (от 4 до 64 %), кроме сортов Амурский Залив, Цамо-но-Мари.

Использование дальневосточных и американских сортов при создании гибридов F_3 расширило разнообразие окраски цветка до 11 групп: белая, бело-лиловая, голубая, синяя, сине-фиолетовая, фиолетовая, лиловая, лилово-фиолетовая, сиреневая, розовая и лавандовая в сочетании с разной окраской лопастей и гребней пестика, пятен и жилок.

Чаще всего гибриды с красивыми цветками можно получить в потомстве красивых роди-

телей. В 2012–2013 гг. отобраны 35 гибридов с красивыми цветками в 14 семьях из 92 семей 2007–2009 гг. скрещивания, а 50 – в одной семье от свободного опыления не самого красивого гибрида 9-175-97. Он отобран в семье гибридов с простыми цветками Пурпуровый × Лиловый. Гибрид 9-175-97 с простым цветком средних размеров, нижние доли околоцветника сиреневые, с белыми полосками, верхние – пурпуровые, лопасти пестика белые, гребни сиреневые. Отобранные 50 гибридов были с разнообразной окраской и формой цветка (рис. 6).

Поэтому гибрид 9-175-97 мы отнесли к донорам разнообразия морфологических признаков потомства. Окраска его цветка – маркерный признак разнообразия окраски и размеров цветка в потомстве. Установлен и другой маркерный признак: по белому фону цветка – сиреневые точки и крапинки или окрашенные в любой цвет лопасти и гребни пестика (Долганова, 2002).

К донорам двух признаков редкой окраски цветка и широких смыкающихся долей околоцветника отнесены комбинации скрещивания: Некрасы × Japetus передают сиреневую, расписную, пурпуровую окраску; Сиреневая Дымка × Алтайская Снегурочка (рис. 7) – нежно-розовую, сиреневую, пестро-розовую; Клавдия Попова × Алтайская Снегурочка – лавандовую (рис. 8).

В остальных комбинациях скрещивания повторялась окраска цветка родительских форм, но выделены гибриды с более широкими гофрированными, кружевными долями околоцветника. Сорт Tender Trap – донор своей синей окраски, двойной формы цветка и широких долей околоцветника.

В самый холодный 2009 г. 26 гибридов зацветали при сумме тепла менее 1000 °С, 9 – при



Рис. 1. Гибрид 9-175-97; сорт Japetus; сорт Tender Trap.



Рис. 2. Сорта Синильга, Горянинский, Павла, Верхне-Обский.



Рис. 3. а – ♀ Усть-Катунь; б – ♂ гибрид 1-55-09; в – гибрид.

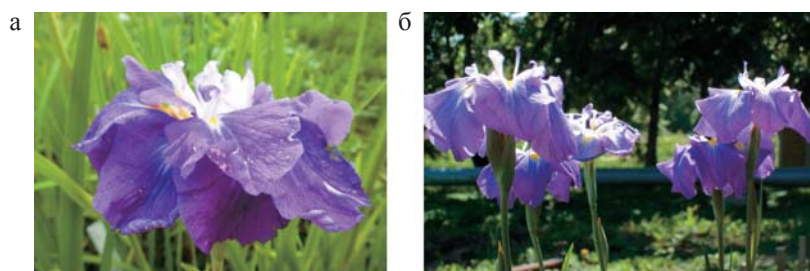


Рис. 4. а – 12-лепестковый гибрид; б – материнский сорт Ойротия.

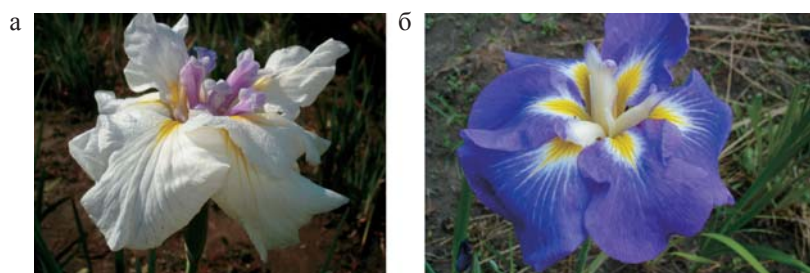


Рис. 5. а – 9-лепестковый гибрид 1-58-09; б – материнский гибрид 12-220-97.

более высокой сумме и 5 не цвели, а в самый жаркий, но засушливый 2012 г. соответственно 5, 36 и 2. Только в 2008 г. все гибриды цвели. Один из них – при сумме тепла менее 1000 °С, остальные – при более высокой сумме температур. Условия теплого и сухого 2008 г. были оптимальными для формирования генеративных побегов у японских ирисов.

Самое раннее зацветание было у дикой формы: 1 июля, через 47 дней после отрастания. Ранние трехлепестные гибриды зацветали 8 июля, на 50–51-й день от фазы отрастания. В группе среднезацветающих (12 июля, через 56 дней от отрастания) – 22 сорта и гибрида. Самый ранний срок зацветания в группе был у сорта Цама-но-мори (9 июля, 52 дня от отрас-



Рис. 6. Гибриды из спонтанного потомства отборного гибрида 9-175-97.



Рис. 7. а – ♀ Сиреневая Дымка; б – ♂ Алтайская Снегурочка; в – гибрид.



Рис. 8. а – ♀ Клавдия Попова; б – ♂ Алтайская Снегурочка; в – гибрид.

тания), поздний – у сортов Навзикая и Добрыня (14 июля, 57 дней от отрастания). К третьей группе отнесены сорт Кино-но-меджуми и шестилепестные гибриды, зацветающие 15, 16 июля через 52, 61 день после отрастания.

У сортов третьего поколения сроки цветения мало отличались от ретросортов и первых алтайских сортов. У большинства сортов третьего поколения японских ирисов начало цветения приходится на первую декаду июля, в жарких и сухих условиях оно отодвигается на третью декаду июня (табл. 4). Самый поздний срок цветения японских ирисов отмечен в 2013 г. (теплый, достаточно увлажненный), самый ранний – в 2012 г. (жаркий, засушливый).

Общий период цветения японских ирисов продолжается месяц и заканчивается 30 июля–5 августа. Продолжительность цветения сортов зависит от многих факторов: погодных условий, числа цветоносов и цветков, плотности лепестков. Американский сорт *Japetus* цветет $11,3 \pm 1,1$ дня, алтайские сорта – от $13,8 \pm 1,3$ дня (сорт Некрасы) до $18,3 \pm 4,4$ дня (сорт Пав-

ла). Для американского сорта *Japetus* условия Алтайского края оказались более благоприятными, чем условия Дальнего Востока, где он стерилен (Миронова, 2008). Иногда можно наблюдать вторичное цветение в третьей декаде августа. В 2013 г. выделен гибрид 1-58-10 (от сорта Ойротия), начавший цветение в третьей декаде августа.

Число цветоносов. У гибридов от близкородственных скрещиваний число цветоносов в 4-летнем кусте в два раза меньше, чем у гибридов от географически отдаленных скрещиваний (табл. 5). Гетерозисный эффект – сочетание красоты цветка с высокой продуктивностью – получен от скрещивания сортов Добрыня и Амурский залив.

Из семьи Добрыня × Амурский Залив вышли наиболее продуктивные алтайские сорта: Усть-Катунь – сиреневый с белыми полосками, Верхне-Обский – фиолетово-сиреневый со светлыми лопастями пестика, Некрасы (белый с синими полосками), Синильга – синий с белыми прожилками, Подарок Пальчиковой –

Таблица 4

Изменчивость сроков зацветания *I. ensata*

№ гибрида	Дата начала зацветания					Средние даты зацветания	Продолжительность цветения, дни
	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2012 г.	2013 г.		
<i>Japetus</i>	–	4,07	12,07	2,07	15,07	7,07	$11,3 \pm 1,1$
Верхне-Обский	5,07	30,06	10,07	2,07	–	4,07	$15,5 \pm 4,6$
Алтайская Снегурочка	3,07	1,07	8,07	25,06	12,07	5,07	$14 \pm 1,4$
Клавдия Попова	6,07	3,07	8,07	2,07	10,07	4,07	$17,5 \pm 2,1$
Горянинский		7,07	10,07	29,06	–	5,07	$16,3 \pm 3,8$
Павла	4,07	30,06	8,07	23,06	12,07	7,07	$18,3 \pm 4,4$
Некрасы	4,07	2,07	8,07	29,06	12,07	3,07	$13,8 \pm 1,3$
Среднее по 37 гибридам	$5,07 \pm 3$	$3,07 \pm 3$	$10,07 \pm 2$	$29,06 \pm 3$	$11,07 \pm 2$		

Таблица 5

Число цветоносов в 4-летних кустах *Iris ensata*

Популяция	Число гибридов	$M \pm m_M$	lim	σ	$v, \%$
Природный вид <i>I. ensata</i>	91	$3,6 \pm 0,3$	1–11	3,0	83,3
$F_1 \times F_1$, и Амурский Залив	456	$2,6 \pm 1,6$	1–15	2,1	61,5
Продуктивность отборных гибридов (средние по клонам)					
$F_1 \times F_1$	61	4,4	1,3–9,2		
$F_1 \times$ Амурский Залив	15	8,8	4,2–15,3		

пурпуровый. Сорта Алтайская Снегурочка, Горянинский (пурпуровый с двойным ореолом), Клавдия Попова (белый) и Павла (синий с белыми полосками) отобраны из разных семей. Алтайские сорта третьего поколения образуют 5–15 цветоносов в 4-летнем кусте и превосходят американские сорта Jaretus и Tender Trap, образующие 4–6 цветоносов.

Алтайские сорта японских ирисов получили высокую оценку у Г.И. Родионенко (2002), Л.Н. Мироновой (2008) и у многих любителей-цветоводов России. Даже в условиях Дальнего Востока они оказались более продуктивными и устойчивыми, чем японские и американские сорта (Миронова, 2008).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За три десятилетия селекционной работы удалось создать адаптированную к условиям лесостепи Алтайского края гибридную популяцию японских ирисов. Культивары зимовали, цвели, образовывали пыльцу и семена достаточного для селекции качества в широком спектре погодных условий лесостепи Западной Сибири. Впервые созданы 15 адаптированных к условиям лесостепи Западной Сибири сортов классов Едо и Хиго с разнообразной окраской цветка, сочетающих красивую форму цветка с высокой генеративной продуктивностью. Сибирские сорта реализуют свои потенциальные декоративные качества при значительной экологической амплитуде (от Москвы до Владивостока). Установлены маркерные признаки доноров разнообразия потомства по окраске цветка; выявлены доноры ценных признаков и созданы источники новых признаков, что позволяет вести более продуктивные скрещивания. Кроме биологических, улучшены и многие морфологические признаки: окраска, размеры цветка и лепестков, плотность и гофрировка долей околоцветника.

Таким образом, проделанная работа свидетельствует о перспективности проведения селекции японских ирисов на юге Западной Сибири. Использование созданных на их основе сибирских сортов позволит расширить сортимент растений, рекомендованных для ландшафтных посадок.

ЛИТЕРАТУРА

- Верещагина И.В. Декоративные многолетники, рекомендуемые для культуры в Алтайском крае, особенности их фенологического развития // *Вопр. декоративного садоводства*. Барнаул: Алтайск. Кн. изд-во, 1964. С. 48–60.
- Голубинский И.Н. Биология прорастания пыльцы. Киев: Наук. думка, 1974. 345 с.
- Долганова З.В. Биология и интродукция цветочно-декоративных корневищных многолетников в Западной Сибири. Барнаул: РАСХН Сиб. отд-ние. НИИСС им. М.А. Лисавенко, 2002. 232 с.
- Доронькин В.М. Система рода *Iris* L. (Iridaceae Juss.) Азиатской России // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира Азиатской России: настоящее и будущее: Сб. статей. Матер. Всерос. конф., посвящ. 60-летию Центрального Сибирского Ботанического сада (Новосибирск, 17–19 июля 2006 г.). Новосибирск: Изд-во «Сибтехнорезерв», 2006. С. 101–103.
- Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1990. 226 с.
- Лисавенко М.А. Работа Алтайской опытной станции садоводства с декоративными растениями // *Вопр. декоративного садоводства*: Сб. статей. Барнаул, 1964. С. 105–108.
- Лучник З.И. Итоги интродукции и селекции деревьев и кустарников на Алтае // Сб. статей: Докл. сов. ученых к XIX Междунар. конгр. по садоводству (Варшава, ПНР). М., 1974. С. 537–39.
- Лучник З.И. Полиморфизм *Picea obovata* Ledeb. на Алтае // Тез. докл., предст. XII Междунар. бот. конгр. (3–10 июля 1975 г.). Л., 1975. С. 191.
- Лучник З.И. Опыт селекции некоторых интродуцентов в Алтайском крае // *Интродукция древесных растений и вопросы семеноводства в лесном хозяйстве*. Новосибирск, 1981. С. 32–36.
- Методика государственного испытания сельскохозяйственных культур. Декоративные культуры. М.: Колос, 1968. Вып. 6. 223 с.
- Миронова Л.Н. Японские ирисы. Владивосток, 2008. 110 с.
- Пальвельев В.Т. Японские ирисы в Подмосковье // *Цветоводство*. 1973. № 9. С. 27.
- Полковникова Л.А. О жизнеспособности и фертильности пыльцы ириса // *Сибирская аграрная наука* III тысячелетия; тез. докл. конф. молодых ученых СО РАСХН (п. Краснообск, 26 апреля 2000 г.). Новосибирск, 2000. С. 74–75.
- Полковникова Л.А., Долганова З.В. Перспективы селекции ириса мечевидного в условиях лесостепи Алтайского края // *Генетико-селекционные проблемы устойчивости плодовых растений к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам*: Сб. докл. и сообщ. XVII Мичуринских чтений (29–30 окт. 1996 г.). Тамбов: Изд-во ТГУ им. Г.Р. Державина, 1998. С. 174–177.
- Родионенко Г.И. Ирисы. СПб.: ООО «Диамант», Агропромиздат, 2002. 192 с.
- Hiroshi Shimizu. Nagai Type of Japanese Iris. 1997, available at http://www.japan-iris.org/English/Nagai_type.html
- McEwen C. The Japanese Iris. Nannober-London: Univ. Press of New Ensland, 1990. 153 p.

JAPANESE IRIS (*IRIS ENSATA* THUNB.) IN SOUTHERN WEST SIBERIA**Z.V. Dolganova**

M.A. Lisavenko Research Institute of Horticulture for Siberia, Russian Agricultural Academy,
Barnaul, Russia, e-mail: niilisavenko@hotmail.ru

Summary

Japanese varieties of *Iris ensata* Thunb. were being imported to Russia for more than 100 years ago by several scientists (E. Regel, N.I. Vavilov, V.M. Nosilov, V.T. Palvelyev), and in 1980s these varieties were tested in the Central Botanical Garden of RAS and in most cases, they failed (Rodionenko, 2002; Mironova, 2008). The first varieties were developed by G.I. Rodionenko. Japanese varieties were successfully introduced under forest-steppe conditions of the Altai Territory at the Lisavenko RI of Horticulture for Siberia (RIHS), and then breeding was conducted with the participation of retro varieties developed in 1980–1982. Crossing of geographically distant varieties, first, French and Japanese, and then, Altai, Far-Eastern, Leningrad and American, brought about 150 adapted ornamental genotypes and 15 of *I. ensata* varieties. In the progeny of varieties with simple flowers, genotypes with double and half-double flowers were selected, and in the progeny of the last ones, fertile genotype with 12 lobes of perianth. Pollen quality of the selected *I. ensata* genotypes was nearly as good as in the Altai species *I. ruthenica* and *I. glaucescens*: pollen fertility was 77,6 %, and viability, 53,1 %. Fruit formation of cultivars with simple flowers was 54 %, with double, 9 %, and with forced crossing 93 and 73 %, respectively. The fruit contained 5–116 seeds; their weight was 6–9 g; and germinative capacity, 1–37 %. Seedlings of 3–20 % plants of a group came to flowering in 3–5 years. Eight donors with high productivity, new colour, and flower shape were selected. During breeding, flower diameter increased from 12 to 20 cm; the width of upper perianth lobes, from 2 to 8 cm; and lower, from 7 to 9 cm. The range of flower colouring extended to 11 groups.

Key words: *Iris ensata* varieties and hybrids, hybridization, individual selection, donor, colour range and flower size, generative productivity.

УДК 631.243.36:635.264

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ СЕМЯН ЛУКА-БАТУНА НА ВСХОЖЕСТЬ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИХ ПРОРОСТКОВ

© 2014 г. И.А. Прокопьев, Г.В. Филиппова, А.А. Шеин

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия,
e-mail: a_prokopiev@mail.ru

Поступила в редакцию 18 февраля 2013 г. Принята к публикации 12 августа 2013 г.

На примере быстростареющих семян *Allium fistulosum* отмечено, что хранение при температурах +4, –6 и –18 °С, вне зависимости от применяемых газовых сред, не вызывает изменений лабораторной всхожести, митотической активности, частоты хромосомных aberrаций и отставаний в росте апикальной меристемы корешков проростков по сравнению с контролем. Показано, что наиболее оптимальными для хранения семян являлись условия: +4 °С (аргон, диоксид углерода), –6 °С (воздух, аргон, азот, диоксид углерода) и –18 °С (воздух), при которых отмечена наименьшая частота встречаемости микроядер в клетках корешков их проростков.

Ключевые слова: семена *Allium fistulosum*, низкотемпературное хранение, жизнеспособность семян, многолетнемерзлые грунты, газовые среды.

Сокращение мировых генетических ресурсов растений создает угрозу продовольственной безопасности планетарного масштаба. Так, по прогнозам Международного союза охраны природы (МСОП) и Международного фонда охраны природы (МФОП), к середине XXI в. 60 тыс. видов высших растений, т. е. 1/4 общего числа видов в мире, могут оказаться под угрозой исчезновения или серьезной генетической эрозии. В этой связи возросла актуальность в обеспечении надежного сохранения генетических ресурсов растений *ex situ*. Относительно безопасным и недорогим вариантом является длительное хранение семян при низких температурах (Филиппенко, 2007), особенно в условиях подземных хранилищ (глубина 8–25 м) в толще многолетнемерзлых пород (Кершенгольц и др., 2008, 2012). Одним из первых в 1920–1930-е годы начал сбор и изучение генетического многообразия культурных растений академик Н.И. Вавилов (1987), усилиями которого была собрана одна из богатейших коллекций генетических ресурсов растений в мире.

Известно, что основными факторами, влияющими на длительность хранения семян растений, являются температура, влажность, парциальное давление кислорода, а также исходная всхожесть семян (Roberts, 1972; Хорошайлов, 1981). Правильное регулирование вышеперечисленных параметров позволяет добиться долгосрочного сохранения жизнеспособности коллекций семян в условиях генных банков (Хорошайлов, 1981).

Цель работы – исследовать влияние различных условий хранения быстро стареющих семян лука-батуна на лабораторную всхожесть и цитогенетические характеристики их проростков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве тест-объекта был выбран лук-батун (*Allium fistulosum* Regel) сорта Ладожский (лабораторная всхожесть – 97 %, сортовая чистота – 99,9 %), семена которого относятся к микробиотикам, т. е. срок их хранения без пресевов составляет не более 3 лет (Ewart, 1908).

Семена репродукции 2009 г. в том же году были заложены на хранение в воздушной среде при комнатной температуре $\approx +20^\circ\text{C}$ и холодильнике при $+4^\circ\text{C}$ в Институте биологических проблем криолитозоны СО РАН (г. Якутск); при -6°C – в Институте мерзлотоведения им. П.И. Мельникова СО РАН (г. Якутск) в условиях толщ многолетнемерзлых грунтов на глубине 12 м и при -18°C – в морозильной камере Института горного дела Севера им. Н.В. Черского СО РАН (г. Якутск). Для исследования влияния различных газовых сред (Ar , N_2 и CO_2) на длительность хранения семян *A. fistulosum* были выбраны температуры $+4^\circ\text{C}$ и -6°C . В течение 3 лет семена хранились в герметично закрытых стеклянных сосудах объемом 100 см^3 . Перед закладкой семян на хранение их влажность не превышала 6 %.

Снятые перед закладкой на хранение исходные показатели репродукции *A. fistulosum* 2009 г. (лабораторная всхожесть семян и цитогенетические характеристики их проростков) были приняты в качестве контроля.

Семена проращивали по ГОСТу 12038-84 в чашках Петри на фильтровальной бумаге в темноте при температуре 20°C по 50 шт. в 4 повторностях. Лабораторная всхожесть определялась на 12-й день наблюдения. Исследование по определению частоты патологических митозов и микроядер проводилось на корешках не менее 10 проростков для каждого образца, которые фиксировали смесью 96 %-го этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1 в течение 12 ч и далее окрашивали ацетоорсеином. Препараты просматривали под световым микроскопом «Axiostar plus» фирмы «Carl Zeiss» (Германия). Частоту встречаемости хромосомных aberrаций (мосты и фрагменты) и нарушений клеточных делений (отставание хромосом) учитывали анателофазным методом. Частоту микроядер (МЯ) определяли как отношение числа клеток с микроядрами к общему числу просмотренных клеток. Для определения активности деления клеток использовали показатель митотического индекса (МИ), который определяли отношением числа клеток, находящихся в митозе, от их общего числа (Паушева, 1974).

Результаты экспериментов представлены в виде средней арифметической величины и

ее стандартной ошибки. Сравнение средних значений выборок проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), значимость отличий от контроля определяли с помощью критерия Даннета для множественных сравнений при уровне $p \leq 0,05$. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно международному стандарту, разработанному FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations) и PGRI (International Plant Genetic Resources Institute), для обеспечения более длительного сохранения коллекции генетических банков растений необходимо поддерживать постоянную температуру около или ниже 0°C и влажностью семян 3–7 % (в зависимости от вида растения), при этом наиболее предпочтительной является температура $-18 \pm 3^\circ\text{C}$ (Genebank Standards, 1994).

В результате проведенного исследования по изучению хранения семян *A. fistulosum* в воздушной среде при различных температурных режимах было показано, что только у семян, хранившихся в течение 3 лет при комнатной температуре ($\approx +20^\circ\text{C}$), наблюдалось значимое снижение, до 64,7 %, лабораторной всхожести по сравнению с контролем (аналогичные значения, полученные перед закладкой семян на хранение – 97,0 %; рис. 1, а).

В работе K. Chauhan и M. Swaminathan (1984) показано, что в процессе хранения семян клетки их проростков могут постепенно терять способность к делению. В связи с этим до закладки и после третьего года хранения семян нами исследована митотическая активность клеток апикальной меристемы корешков их проростков. Установлено, что во всех вариантах опыта данный показатель не отличался от исходного значения митотического индекса (МИ) (рис. 1, а).

Считается, что увеличение частоты образования различных хромосомных aberrаций и отставаний (ХА + отставания), а также формирования МЯ – ацентрических фрагментов, возникших в результате структурных нарушений хромосом, может свидетельствовать о начале процессов старения длительно хранившихся семян растений (Roberts, 1972; Villiers, 1974;

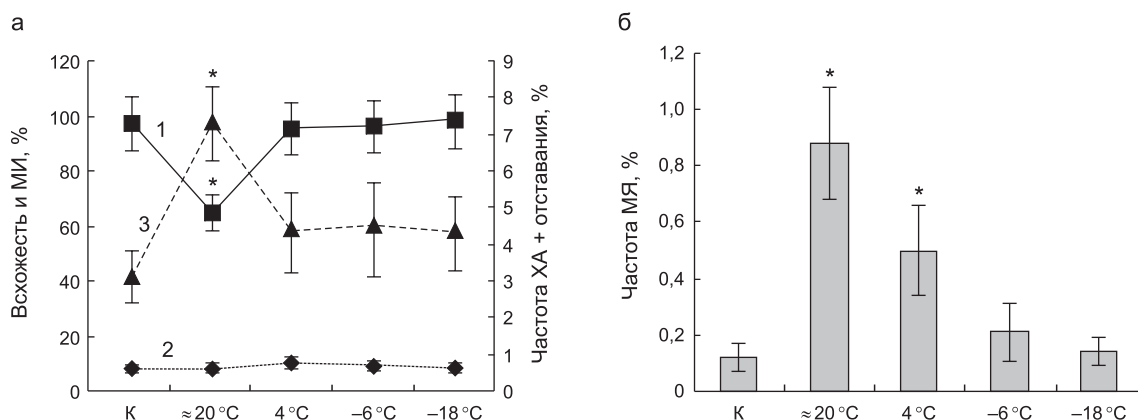


Рис. 1. Лабораторная всхожесть семян, митотический индекс (МИ), частота хромосомных aberrаций (а) и микроядер (б) в апикальной меристеме корешков проростков *Allium fistulosum* после трех лет хранения в воздушной среде.

1 – лабораторная всхожесть; 2 – МИ; 3 – частота ХА + отставания. К (контроль) – начальные физиологические и цитологические характеристики, полученные перед закладкой семян на хранение. * Различия, статистически значимые по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$.

Kumar, Rai, 2006). Так, были обнаружены клетки с патологическими митозами (мосты и фрагменты, отстающие хромосомы) и микроядрами в апикальной меристеме корешков проростков *A. fistulosum* (рис. 2).

Показано, что после трех лет хранения семян частота ХА + отставание была в 2,4 раза выше исходной только при температуре $\approx +20^\circ$. Также выявлено, что при температурах $\approx +20^\circ$ и $+4^\circ$ частота встречаемости МЯ была в 7,3 и 4,2 раза выше контроля соответственно (рис. 1, а, б). Отмечено, что неглубокое замораживание семян *A. fistulosum* в воздушной среде при температурах -6° и -18° не приводит к увеличению частоты встречаемости МЯ в

клетках корешков их проростков в сравнении с исходными показателями.

Таким образом, существенное снижение (в 1,5 раза) лабораторной всхожести семян, хранившихся в воздушной среде при температуре $\approx +20^\circ$ в течение 3 лет, вероятно, связано с возросшей частотой встречаемости ХА + отставание и МЯ в клетках тканей корешков проростков по сравнению с контролем и обусловлено более быстрым старением семян. Необходимо отметить, что при хранении семян в течение 3 лет при температурах -6° и -18° наблюдалась меньшая по сравнению с вариантами $\approx +20^\circ$ и $+4^\circ$ частота образования МЯ в тканях корешков их проростков. Полученные результаты

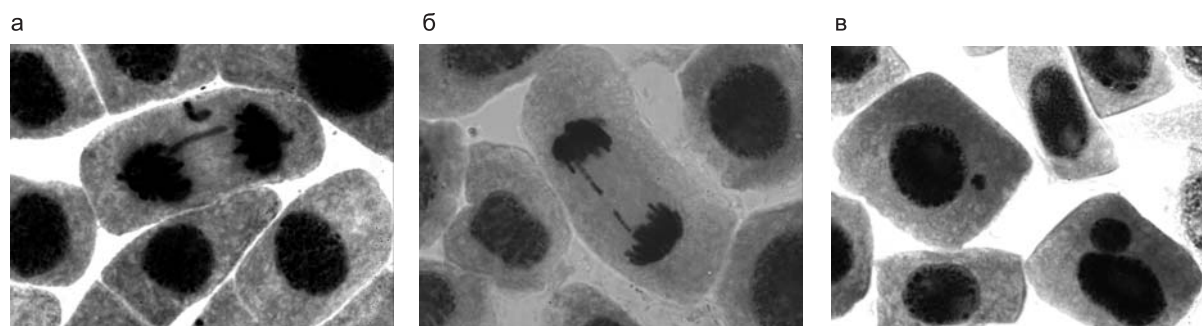


Рис. 2. Хромосомные aberrации, отставания и клетки с микроядрами в апикальной меристеме корешков проростков *A. fistulosum* (Об. 100 $\times$, окуляр 16).

а – мост и хромосома на «экваторе» в телофазе; б – отстающие хромосомы в ранней телофазе; в – клетки с микроядрами.

указывают на то, что температуры -18°C и -6°C при хранении семян *A. fistulosum* в воздушной среде являются наиболее оптимальными для замедления процессов старения семян.

Известно, что при повышении парциального давления кислорода в газовой среде наблюдается снижение жизнеспособности семян, обусловленное процессами свободнорадикального перекисного окисления мембранных липидов, вызванного образованием активных форм кислорода (Roberts, 1972; Wilson, McDonald, 1986; McDonald, 1999). В связи с этим появляется необходимость применения альтернативных анаэробных газовых сред, которые в сочетании с низкотемпературными режимами хранения семян могут продлить период их жизнеспособности (Roberts, 1972).

Для исследования были выбраны газовые среды Ar , N_2 и CO_2 , не поддерживающие процесс дыхания семян, при постоянных околонулевых температурах $+4^{\circ}\text{C}$ и -6°C . Выбор

температур обусловлен тем, что большая часть коллекции семян в подземном хранилище «Кубанского генетического банка» филиала ВНИИР хранится при температуре $+4^{\circ}\text{C}$, а при -6°C осуществляется перспективное длительное хранение семян в толще многолетней мерзлоты (Филипенко, 2007; Кершенгольц и др., 2012).

Установлено, что трехлетнее хранение семян *A. fistulosum* в различных газовых средах при температурах $+4^{\circ}\text{C}$ и -6°C не вызывает изменений лабораторной всхожести, митотической активности и частоты ХА + отставание в апикальной меристеме корешков проростков по сравнению с контролем (рис. 3, а, в). Между тем частота встречаемости микроядер в клетках корешков проростков из семян, хранившихся только в условиях $+4^{\circ}\text{C}$ в среде воздуха и N_2 , увеличивалась в 4,3 и в 4,8 раз по сравнению с контролем соответственно (рис. 3, б, г). При этом механизм «аномального» увеличения час-

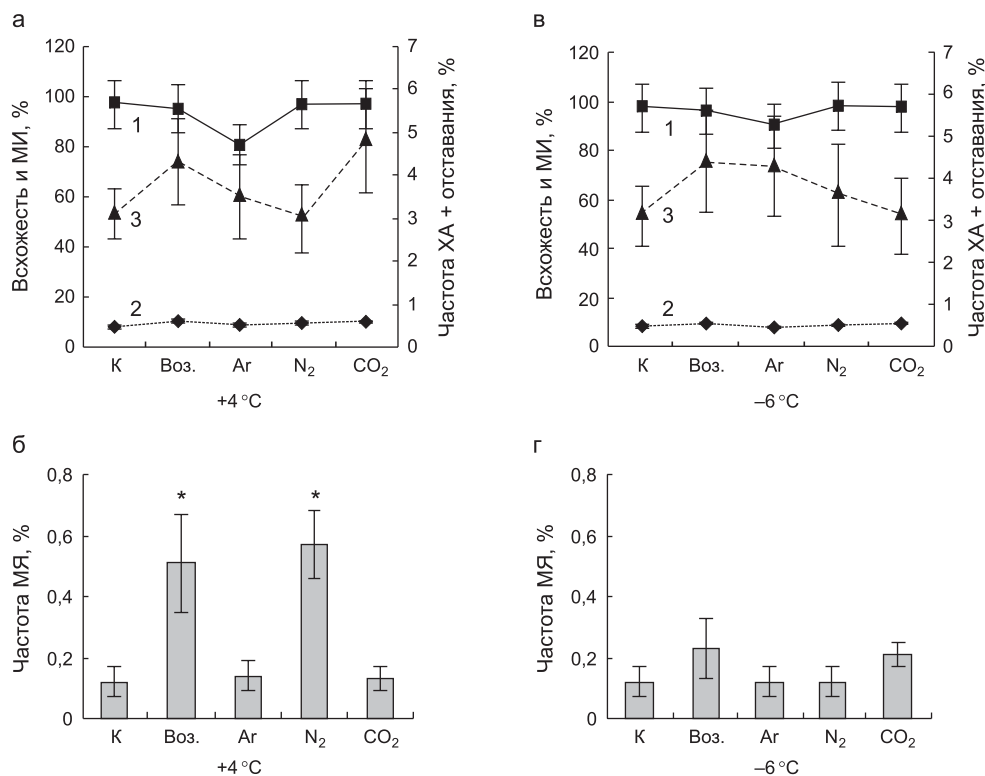


Рис. 3. Лабораторная всхожесть семян, митотический индекс, частота хромосомных aberrаций и отставаний (а, в), а также микроядер (б, г) в апикальной меристеме корешков проростков *Allium fistulosum* после 3 лет хранения при температурах $+4^{\circ}\text{C}$ и -6°C в различных газовых средах.

1 – лабораторная всхожесть; 2 – МИ; 3 – частота ХА + отставания. К (контроль) – начальные физиологические и цитологические характеристики, полученные перед закладкой семян на хранение; Воз. – воздух. * различия, статистически значимые по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$.

тоты МЯ в среде N_2 в литературе не описан и требует дальнейшего изучения.

Таким образом, снижение лабораторной всхожести семян *A. fistulosum* после 3 лет хранения при температуре $\approx +20^\circ C$ в воздушной среде, вероятно, связано с возросшей частотой встречаемости хромосомных aberrаций и отставаний, а также микроядер в клетках апикальной меристемы корешков проростков. Показано, что наиболее оптимальными условиями для хранения семян *A. fistulosum* в воздушной среде являлись температуры -6° и $-18^\circ C$, при которых отмечена наименьшая частота встречаемости микроядер в клетках корешков их проростков по сравнению с температурами $\approx +20^\circ C$ и $+4^\circ C$.

Использование различных газовых сред (Ar , N_2 или CO_2) при температурах $+4^\circ C$ и $-6^\circ C$ не вызывает изменений лабораторной всхожести, митотической активности, частоты хромосомных aberrаций и отставаний в апикальной меристеме корешков их проростков по сравнению с контролем. Между тем при хранении семян в условиях температуры $+4^\circ C$ в средах воздуха и N_2 частота образования микроядер была выше в 4,3 и 4,8 раз по сравнению с контролем соответственно.

В целом на примере быстростареющих семян *A. fistulosum* показано, что из всех исследованных условий хранения наиболее эффективными являлись температуры: $+4^\circ C$ (Ar , CO_2); $-6^\circ C$ (воздух, Ar , N_2 , CO_2) и $-18^\circ C$ (воздух), однако с позиций энергосбережения вне зависимости от внешних источников энергии и надежности хранения (при различного рода природных и техногенных катаклизмах) целесообразнее использовать естественный холод круглогодично стабильных температур ($-6^\circ C$) многолетнемерзлых грунтов Центральной Якутии.

Работа выполнена при поддержке междисциплинарных интеграционных проектов

СО РАН № 122 «Криосфера как среда жизнеобеспечения и сохранения биоразнообразия» на 2009–2011 гг. и № 7 «Разработка научных основ технологии длительного хранения семян сельскохозяйственных, редких, исчезающих, древесных и других хозяйственно ценных и перспективных видов растений в толще многолетнемерзлых пород» на 2012–2014 гг.

ЛИТЕРАТУРА

- Вавилов Н.И. Организация сельскохозяйственной науки в СССР. М.: Агропромиздат, 1987. 383 с.
- Кершенгольц Б.М., Иванов Б.И., Десяткин Р.В. и др. Использование естественного холода многолетнемерзлых пород для длительного хранения генетических ресурсов // Информ. вестн. ВОГиС. 2008. Т. 12. № 4. С. 524–533.
- Кершенгольц Б.М., Жимулев И.Ф., Гончаров Н.П. и др. Сохранение генофонда растений в условиях многолетней мерзлоты: состояние, преимущества, перспективы // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2012. Т. 16. № 3. С. 675–682.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1974. 288 с.
- Филиппенко Г.И. Развитие системы низкотемпературного хранения и криоконсервации генофонда растений в ВИР им. Н.И. Вавилова // Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 2007. Т. 164. С. 263–272.
- Хорошайлов Н.Г. Длительное хранение семян. Л.: ВИР, 1981. 86 с.
- Chauhan K.P.S., Swaminathan M.S. Cytogenetical effects of ageing in seeds // Genetica. 1984. V. 64. P. 69–76.
- Ewart A.J. On the longevity of seeds // Proc. Roy. Soc. Victoria. 1908. V. 21. P. 1–210.
- Kumar G., Rai P.K. Cytogenetical impact of ageing in six inbreds lines of maize (*Zea mays* L.) // The Nucleus. 2006. V. 49. P. 179–183.
- McDonald M.B. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment // Seed Sci. Technol. 1999. V. 27. P. 177–237.
- Pukacka S. Changes in membrane lipid components and antioxidant levels during natural ageing of seeds of *Acer platanoides* // Physiol. Plant. 1991. V. 82. P. 306–310.
- Roberts E.H. Viability of Seeds. L.: Chapman and Hall Ltd, 1972. 448 p.
- Villiers T.A. Seed aging: Chromosome stability and extended viability of seeds stored fully imbibed // Plant Physiol. 1974. V. 53. P. 875–878.
- Wilson D.O., McDonald M.B. The lipid peroxidation model of seed aging // Seed Sci. Tech. 1986. V. 14. P. 269–300.

EFFECT OF DIFFERENT CONDITIONS OF WELSH ONION SEED STORAGE ON GERMINATION AND CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF THEIR SEEDLINGS

I.A. Prokopiev, G.V. Filippova, A.A. Shein

Institute for Biological Problems of the Cryolithozone,
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia,
e-mail: a_prokopiev@mail.ru

Summary

By the example of fast-ageing *Allium fistulosum* seeds, it is shown that the storage temperature of +4, –6 and –18 °C, regardless of the used gas atmosphere does not affect laboratory germination, mitotic activity, or the frequency of chromosome aberrations and lags in the apical meristem of seedling roots in comparison to the control. The conditions best for seed storage are: +4 °C (argon, carbon dioxide), –6 °C (air, argon, nitrogen, carbon dioxide) and –18 °C (air), as proven by the lowest frequency of micronuclei in root cells of seedlings.

Key words: *Allium fistulosum* seeds, low-temperature storage, seed viability, permafrost, gas atmosphere.

УДК 575.581.5

СТРУКТУРА ИЗМЕНЧИВОСТИ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ФЕНОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА РАСТЕНИЙ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ ТАБАКА)

© 2014 г. А.Э. Шпаков^{1,2}, Ю.А. Волчков², В.В. Дробышев³

¹ ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий, Краснодар, Россия, e-mail: dagmara97@mail.ru;

² ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия, e-mail: dagmara97@mail.ru;

³ ООО Агентство правовой информации «Гарант», Краснодар, Россия, e-mail: direct@apigarent.ru

Поступила в редакцию 4 июня 2013 г. Принята к публикации 9 сентября 2013 г.

Целью работы является выявление фенологических признаков, существенных для оценки генетически обусловленных различий табака по фенологическому типу и его генетической детерминации. В результате анализа структуры изменчивости комплекса фенологических признаков в коллекции сортов табака выявлена независимость генетической детерминации вегетативного и генеративного периодов развития табачных растений. В коллекции сортов по фенологическому типу выявлено 6 различных генотипических классов. Характер независимости генетических систем вегетативного и генеративного периодов развития табака исследован с помощью логического анализа соотношения понятий «генотип», «фенологический тип» и «генетическая программа» с использованием элементов теории множеств.

Ключевые слова: табак, структура популяций, генотип, фенологический тип, генетическая программа, факторный анализ, метод главных компонент, теория множеств, доминанта.

ВВЕДЕНИЕ

Фенологический тип растений представляет собой конституциональный признак, т. е. отражает конституцию организма, его целостность, эмерджентные свойства. Понятие «конституциональные признаки» разработано Н.К. Беляевым в серии работ по сопряженной изменчивости вольтинизма (число генераций в год) и комплекса хозяйственно ценных признаков у тутового шелкопряда. В этих работах установлена связь вольтинности с продуктивностью и устойчивостью к болезням и неблагоприятным условиям внешней среды. В результате сложилось представление о породах и сортах как о динамичных целостных системах, быстро реагирующих на отбор согласованным изменением всей системы фенотипа (Бабков, 1985). У табака, помимо фенологического типа, к кон-

ституциональным признакам можно отнести: габитус (морфологический тип), систему морфогенетических корреляций, экологическую пластичность.

Фенологический тип растений – это система фенологических признаков (фенодат и феноинтервалов), динамика которой есть способ ответа организма на изменяющиеся условия внешней среды (Шпаков, Волчков, 1991). На сложность вегетационного периода как генетически детерминированного признака и, следовательно, необходимость разделения его на элементы указывал еще Н.И. Вавилов (1967), отмечая, что при соответствующем подборе родителей можно, например, от скрещивания двух поздних форм получить формы ранние. Выявление элементов фенологического типа и является главной задачей анализа изменчивости этого конституционального признака в исходном ма-

териале. Выявить элементы системы и означает изучить ее структуру.

Фенологический тип агрикультур связан со всеми основными группами их хозяйственно ценных признаков: качества, устойчивости к болезням и вредителям, продуктивности. Связь фенологического типа со всеми категориями характеристик растительного организма означает, что изучение фенологического разнообразия – эффективный путь оценки, использования и сохранения генетического потенциала природных и сортовых растительных популяций.

Целью данной работы является выявление фенологических признаков, существенных для оценки генетически обусловленных различий табака по фенологическому типу и его генетической детерминации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исходная выборка сформирована по принципу возможно полного отражения разнообразия табака, представленного в мировой коллекции. По признаку «число листьев» 4,5 тыс. сортов были разделены на 10 классов. К первому классу отнесены сорта с числом листьев 10–15, к десятому – превышающие 60. Из каждого класса пропорционально частоте встречаемости в коллекции выбрано от одного до шести сортов. «Число листьев» является одним из сортовых признаков табака, составляющих его продуктивность. Из опыта селекционной работы известно, что этот признак менее других компонент продуктивности подвержен влиянию условий возделывания.

В состав выборки включены сорта: 1) Калицина; 2) Енидже 159; 3) Качариновский Старо-Енидже; 4) Енидже 4; 5) Perustitza; 6) Киречилер; 7) Унгушет; 8) Сигарный 89; 9) Манджурка Американская; 10) Многолистный 55; 11) Хаджи Хусейн Дереш; 12) Самсун 155; 13) Американ 8; 14) Американ Киргизский; 15) Американ 23; 16) Американ 146; 17) Burley J. Prayd; 18) Havana Criollo; 19) Sterling; 20) Банат; 21) Прилукский 148; 22) Остролист Октябрьский 6; 23) Дюбек Никитский 580; 24) Дюбек 84; 25) Дюбек Местный; 26) Трапезонд 4–3; 27) Трапезонд 213; 28) Тык-Кулак 210; 29) Тык-Кулак 219.

Фенологический тип табака описан комплексом признаков, отражающих качественные изменения в процессе сезонного развития растений. Список признаков составлен из 6 фенодат (число дней от даты посадки): 1) начало бутонизации;

2) бутонизация; 3) начало цветения; 4) цветение; 5) начало созревания коробочек; 6) полное созревание коробочек. Между фенодатами, в числе дней вычислены 15 феноинтервалов (табл. 1). Таким образом, в каждом сорте описано 24–25 растений по 21 фенологическому признаку.

Кластеризация сортов табака по комплексу фенологических признаков и последующее выявление элементов фенологического типа, определяющих различия между выделенными сортовыми кластерами, проведены с использованием методов главных компонент (МГК) и факторного анализа из категории многомерных (Ольдендерфер, Блешфилд, 1989; Ким, Мьюллер, 1989).

В работе также использованы ряд стандартных биометрических методов и модель двухфакторного иерархического дисперсионного анализа (факторы: кластер, сорт) (Терентьев, Ростова, 1977). С целью логического анализа полученных результатов проведена формализация понятий с использованием элементов теории множеств (Колмогоров, Фомин, 1976).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кластеризация 29 изученных сортов табака проведена на плоскости I и II главных компонент, поскольку эти главные компоненты учли в совокупности 90 % полной дисперсии комплекса признаков. Для оценки межсортовых различий оставалось сравнить сортовые средние значения двух главных компонент в дисперсионном анализе (табл. 2).

В структуре изменчивости значений обеих главных компонент, очевидно, доминирует межсортовая дисперсия: 60,2 и 67,1 % соответственно. Анализ завершен сравнением сортовых средних значений главных компонент с использованием множественного t-критерия.

По значениям I главной компоненты из 29 сортов составлено 5 групп со статистически достоверными различиями. По значениям II главной компоненты выявлено также 5 различных групп. Учет значений обеих главных компонент,

т. е. группировка сортов в их пространстве, привел к выявлению 9 кластеров: 1) Енидже 159; Качариновский Старо-Енидже, Манджурка Американская; 2) Енидже 4, Хаджи Хусейн

Дереш, Американ 8, Американ Киргизский; 3) Американ 23, Дюбек Никитский 580; 4) Тык-Кулак 210, Тык-Кулак 249; 5) Perustiza, Банат; 6) Киречилер, Sterling; 7) Сигарный, Остролист

Таблица 1

Координаты фенологических признаков в пространстве I и II главных компонент и состав корреляционных плеяд

Индекс плеяды	Признак	I	II
А	1. Начало бутонизации	0,30	-0,32
	2. Бутонизация	0,30	-0,32
	3. Начало цветения	0,30	-0,28
	4. Полное цветение	0,31	-0,29
	5. Начало созревания коробочек	0,30	-0,20
В	7. Начало бутонизации – бутонизация	0,01	0,00
	8. Начало бутонизации – начало цветения	0,01	0,03
	9. Начало бутонизации – полное цветение	0,02	0,03
	10. Начало бутонизации – начало созревания коробочек	0,02	0,08
	12. Бутонизация – начало цветения	0,00	0,03
	13. Бутонизация – полное цветение	0,01	0,02
	14. Бутонизация – начало созревания коробочек	0,02	0,11
	16. Начало цветения – полное цветение	0,01	0,00
	17. Начало цветения – начало созревания коробочек	0,02	0,08
С	11. Начало бутонизации – полное созревание коробочек	0,24	0,33
	15. Бутонизация – полное созревание коробочек	0,23	0,36
	18. Начало цветения – полное созревание коробочек	0,24	0,35
	20. Полное цветение – полное созревание коробочек	0,23	0,35
	21. Начало созревания коробочек – полное созревание коробочек	0,22	0,26
–	6. Полное созревание коробочек	0,52	0,62

Таблица 2

Дисперсионный анализ значений главных компонент, объединяющих фенологические признаки сортов табака

Изменчивость	Df	mS	F	Дисперсия	Вклад в общую дисперсию, %
I главная компонента					
Общая	681	–	–	146	100,0
Межсортовая	28	2116	36,5*	88	60,2
Внутрисортовая	653	58	–	58	39,8
II главная компонента					
Общая	681	–	–	73	100,0
Межсортовая	28	1174	48,9*	49	67,1
Внутрисортовая	653	24	–	24	32,9

* Значимость F-критерия (достоверность межсортовых различий по значениям I и II главных компонент).

Октябрьский 6; 8) Многолистный 55, Американ 146, Дюбек 84, Трапезонд 4–3; 9) Унгушет, Дюбек Местный. Пять сортов в состав кластеров не вошли: Калицина, Самсун 155, Burley J. Prayd, Havana Criollo, Прилукский 148.

Таким образом, в результате кластеризации сортов табака по фенологическому типу вместе с единичными сортами выявлено 14 групп. В контексте обсуждения их правомерно рассматривать как группы с генетически детерминированными различиями по фенологическому типу.

Метод главных компонент применен повторно, но уже на средних по кластерам и односортным группам значений того же комплекса признаков. В условиях искусственного «выключения» внутрикластерной и внутрисортной изменчивости характеристики получаемого ортогонального пространства определяются главным образом генетически обусловленными различиями групп, включенных в анализ, что, естественно, открывает возможности оценить относительную информативность признаков в различении этих групп. Вновь достаточными оказались две первые линейные комбинации (главные компоненты), которые учли 98 % полной дисперсии. На плоскости, заданной первыми двумя главными

компонентами, выполнен факторный анализ, т. е. исследована ординация признаков. Поскольку координатами признаков являются их вклады в компоненты (коэффициенты линейных комбинаций), происходит группировка признаков по сходству уровня и направления сопряженной изменчивости, за которыми оправданно видеть общий ее источник. Группы наиболее тесно коррелированных признаков, отделенные от других таких же групп относительно слабыми связями или их отсутствием, принято называть корреляционными (или факторными) плеядами (Терентьев, Ростова, 1977). Выявлены три плеяды признаков, обозначенных А, В и С. Как по модулям, так и по знакам вкладов признаков плеяды столь явственно различны, что предусмотренная факторным анализом процедура вращения (ротации) осей для их выявления не потребовалась (табл. 1, рис.).

Данные табл. 1 указывают на высокую плотность трех выявленных корреляционных плеяд, о чем свидетельствует практически полное совпадение координат признаков в пределах плеяды. В то же время плеяды А, В и С значительно удалены друг от друга. Сопоставление знаков при координатах указывает на распо-

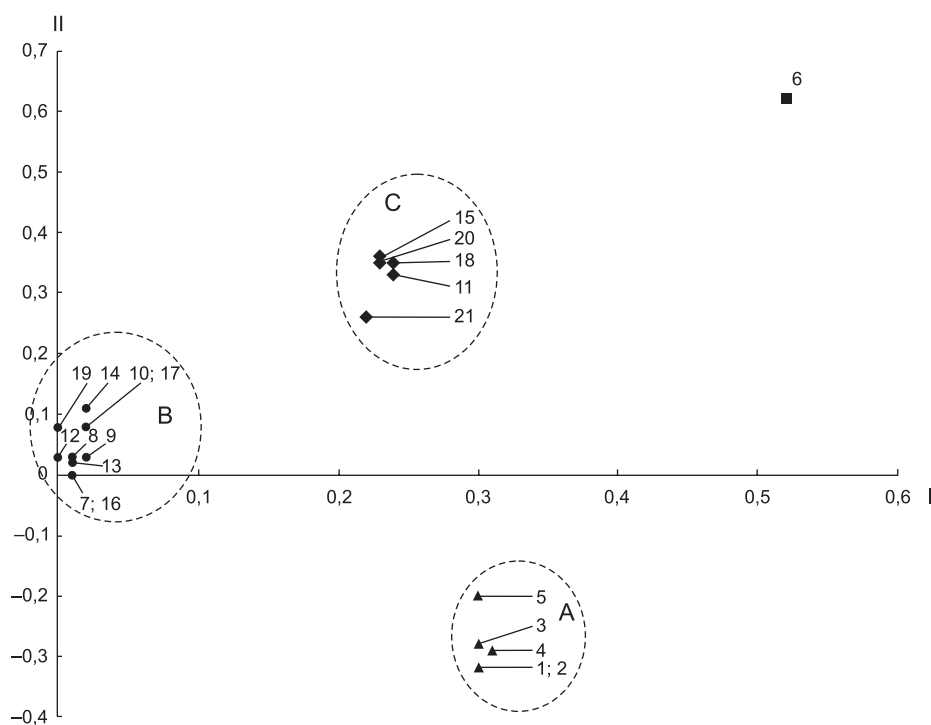


Рис. Ординация фенологических признаков в пространстве I и II главных компонент.

Номера признаков соответствуют списку в табл. 1.

ложение плеяд А и С в различных квадрантах плоскости I и II главных компонент (рис.). Признаки плеяды В группируются в области начала координат. Будучи тесно связанными в своей плеяде, признаки разных плеяд изменяются в пределах коллекции сортов относительно независимо. С генетических позиций полученный результат возможно интерпретировать как указание на различие систем генов, контролирующих разные плеяды признаков. С этих позиций не следует обсуждать только состав плеяды В: расположение ее признаков вблизи начала координат (нулевые нагрузки по обоим главным компонентам) свидетельствует о том, что эти признаки не формируют самостоятельного вектора в дисперсии объектов, т. е. не отражают генетического разнообразия по фенологическому типу.

Состав двух других плеяд биологически ясен. Плеяду С образовали все без исключения феноинтервалы, включающие в качестве конечной фенофазы «полное созревание коробочек». Иными словами, эта плеяда характеризует продолжительность генеративного периода развития растений и темп прохождения отдельных его фенофаз.

Плеяда А, в которую вошли 5 из 6 учтенных фенодат, отражает целостность сезонного развития растений. Состав этой плеяды определен, прежде всего, общностью точки отсчета – датой посадки. Удаленность плеяды А от плеяды С, характеризующей генеративный период развития, позволяет особо акцентировать присутствие в ней признаков № 1 «начало бутонизации» и № 2 «бутонизация», т. е. признаков, характеризующих продолжительность вегетативного периода развития растений. Таким образом, различные генетические системы, выявленные в результате анализа корреляционной структуры фенологических признаков, естественно связать с вегетативным и генеративным периодами развития растений.

В плеядах А и С выделены признаки-индикаторы, учет которых достаточен для описания как вегетативной, так и генеративной фаз развития растений. Использован двухфакторный иерархический дисперсионный анализ каждого из фенологических признаков, составляющих выявленные плеяды. В иерархии в качестве первого фактора установлена принадлежность

к выявленным сортовым кластерам, второго – к сорту. Остаточная дисперсия оценивалась по внутрисортной вариации фенологических признаков. В дисперсионных комплексах такой структуры для признаков-индикаторов следует ожидать установления статистически достоверных различий между кластерами при отсутствии таковых между сортами. Оказалось, что условиям для признаков-индикаторов соответствуют только два признака: № 2 фенодата «бутонизация» и № 15 феноинтервал «бутонизация–полное созревание коробочек». Как и следовало ожидать, это продолжительность вегетативного и генеративного периодов соответственно (табл. 3).

Дисперсионный анализ завершен сравнением средних по кластерам, что позволило разделить сорта из коллекции табака на группы с генетически детерминированными различиями по признакам № 2 и № 15. В обоих случаях выявлены по три группы сортов, не показывающих трансгрессии. Эти группы условно обозначены как «короткий», «средний» и «длинный». Для вегетативного периода этим трем классам соответствует продолжительность в днях: 43–50, 56–58 и 67–71. Для генеративного периода: 45–51, 56–60 и 75 дней (в последнем классе один сорт). По правилам комбинаторики это могло бы дать 9 типов сортов в Мировой коллекции. В изученной нами выборке встречено 6 типов (табл. 4). Отсутствие трех остальных классов, по-видимому, связано с тем, что сорта с этими комбинациями признаков не успевают созреть.

Различие генетических систем, контролирующих вегетативный и генеративный периоды развития, означает возможность их комбинаторики в пределах коллекции сортов. Статистически это должно проявиться в отсутствии корреляции между продолжительностью того и другого периодов с общей продолжительностью вегетации. В соответствии с ожидаемым частные коэффициенты корреляции оказались равными 0,21 и 0,27 ($P > 0,05$). Следует обратить внимание и на то обстоятельство, что фенодата «полное созревание коробочек», характеризующая продолжительность вегетационного периода в целом, не вошла ни в одну из выявленных корреляционных плеяд фенологических признаков (табл. 3).

Таблица 3

Основные результаты иерархического дисперсионного анализа признака «полное созревание коробочек» и фенологических признаков, составляющих выделенные плеяды А, С и «полное созревание коробочек»

Плеяда А			Плеяда С		
Признак	Индекс фактора	Вклад в общую дисперсию, %	Признак	Индекс фактора	Вклад в общую дисперсию, %
1. Начало бутонизации	a b c	53,2 22,3 24,5	11. Начало бутонизации– полное созревание	a b c	36,9 41,1 22,0
2. Бутонизация	a b c	19,6 0,0 80,0	15. Бутонизация– полное созревание	a b c	6,7 0,0 93,3
3. Начало цветения	a b c	33,0 55,0 13,0	18. Начало цветения– полное созревание	a b c	36,4 23,8 39,8
4. Полное цветение	a b c	60,6 18,5 20,9	20. Полное цветение– полное созревание	a b c	0,0 46,7 53,3
5. Начало созревания коробочек	a b c	0,0 95,3 4,7	21. Начало созревания– полное созревание	a b c	6,8 29,9 23,3
6. Полное созревание коробочек (продолжительность вегетационного периода табака) – признак, не вошедший ни в одну из плеяд				a b c	0,0 62,9 37,1

Примечание. а – между кластерами, b – между сортами, c – внутри сортов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Установленный факт независимого генетического контроля вегетативного и генеративного периодов развития табака согласуется с представлениями о дискретности онтогенеза, в ходе которого происходит качественная смена процессов, проявляющихся в изменении характера роста и дифференцировки (Лобашёв, 1967). О том, что собой представляет программа развития организма, известно очень мало. Реализация наследственной информации генотипа представляется в форме последовательного появления в ходе индивидуального развития организма все новых и новых биологически активных молекул, среди которых есть и специфические для тканей и клеток, специализирующихся в разных направлениях. Развитие, однако, не сводится к разворачиванию последовательных цепей молекулярных событий и метаболических циклов. Оно также проявляется в формообразовательных процессах, в станов-

Таблица 4

Типы сортов табака по длине вегетативного и генеративного периодов развития растений табака

Вегетативный период	Генеративный период		
	длинный	средний	короткий
Длинный			10; 16; 17; 24; 26
Средний		8; 20; 21; 22	11; 12; 18
Короткий	7; 25	2; 3; 5; 6; 9; 15; 19; 23; 27	1; 4; 13; 14; 28; 29

Примечание. Приведенные номера сортов соответствуют списку в разделе «Материал и методы».

лении специализированных органов и тканей, которые специфичны для каждого биологического вида. Связь между реализацией наследственной информации на молекулярном уровне, с одной стороны, и процессами морфогенеза, с другой, не имеет хоть сколько-нибудь полного

объяснения, что представляет реальную трудность генетики развития (Корочкин, 1986). В конкретном экспериментальном исследовании, таким образом, особенную актуальность приобретают логический анализ и ясное понимание используемых генетических понятий, содержание которых связано с описываемым уровнем биологических систем (Драгавцев, 1997). Для выявления характера генетической детерминации фенологического типа растений проведен логический анализ полученных результатов, реализованный путем формализации используемых понятий на основе теории множеств (Колмогоров, Фомин, 1976). Содержание логического анализа используемых понятий и полученных результатов представлено отдельно в конце настоящей статьи после раздела «Обсуждение», перед разделом «Выводы».

Выявление независимого генетического контроля вегетативного и генеративного периодов развития табака и логический анализ соотношения понятий «генотип», «фенологический тип» и «генетическая программа» свидетельствуют в пользу того, что интерпретация генетической программы как единого алгоритма регуляции работы генотипа в течение всей жизни растения является недостаточной для решения проблемы реализации наследственной информации в индивидуальном развитии. Правильнее говорить об «онтогенетической программе» в том смысле, что не только генотип определяет в нашем случае фенологический тип, но и динамика развития растения, непосредственно связанная с лимитирующими факторами среды, оказывают влияние на регуляцию генетических процессов (Драгавцев и др., 1984; Драгавцев, 1997).

Изучение сложных биологических процессов неизбежно приводит к попыткам уловить во всем их многообразии какие-либо константы, инварианты, возможные постоянства, позволяющие определить ключевые звенья для дальнейшего описания и прогнозирования поведения биологических систем всех уровней.

Одной из таких констант в современной биологии, несомненно, является ген. Однако со времен зарождения генетики простое соотношение «ген–признак» оказалось весьма условным. Фенотипическое проявление признака, определяемое конкретным геном, не является строго фиксированным. Поэтому в 1909 г. Р. Вольтерек

предложил понятие «норма реакции», характеризующее весь возможный спектр выражения генетически детерминированного признака. К тому же оказалось, что один ген может влиять на развитие ряда признаков или же его действие проявляется по-разному на различных стадиях развития организма. Для множественного действия генов Л. Плате в 1910 г. предложил термин «плейотропия» (Гайсинович, 1988). Помимо этого, было установлено, что действие гена зависит от «генотипической среды» или «генотипической конституции» организма (Бабков, 1985).

В физиологии высшей нервной деятельности константой поначалу считали рефлекторный акт и лежащую в его основе рефлекторную дугу. Казалось, что центральная нервная система представляет собой агрегат громадного количества рефлекторных дуг с надежным постоянством работы каждой из них. Однако достаточно скоро выяснилось, что на одном и том же материальном субстрате при сочетании нескольких независимых переменных можно наблюдать эффекты, закономерно переходящие от возбуждения к торможению. Развитие системного подхода в физиологии высшей нервной деятельности с целью понимания организма как интегрально целой единицы привело А.А. Ухтомского к созданию учения «о доминанте». Доминанта им определена как «орган поведения». Обычно с понятием «орган» наша мысль связывает нечто морфологически «отлитое», характеризующее постоянными статистическими характеристиками. На самом деле, это совершенно не обязательно. Органом является всякое временное сочетание сил, способное осуществить определенное достижение. По словам А.А. Ухтомского: «Когда в текущей динамике вещества определенное сочетание действующих сил всякий раз дает однозначно определенный рабочий результат, мы называем это сочетание действующих сил органом, производящим работу» (Ухтомский, 2002).

Понятие «орган» в контексте учения о доминанте вполне может быть полезным для решения задач в рамках проблематики фенотипической реализации генов и в целом всей генетики индивидуального развития. Геном, хромосомы, отдельные гены как материальные носители информации, несомненно, участвуют в процессах онтогенеза различных уровней и в

сочетании с другими силами организма формируют разнообразные органы, позволяющие достигать цели, определенные строгими, но до сих пор малоизвестными законами индивидуального развития. Эти представления о роли генов в онтогенезе согласуются с такими хорошо известными явлениями, как изменения проявлений гена от «доминантности» к «рецессивности» в зависимости от генотипической среды; фенотипическими изменениями, сходными по проявлению с мутациями и др. Работа органов и в том числе генов как материальных носителей генетической информации, не представляет собой неизменного качества, но является функцией от их состояния.

Характер независимости выявленных генетических систем фенологического типа табака теоретически возможно представить в трех вариантах. Во-первых, вегетативный и генеративный периоды развития растений последовательно контролируют независимые группы генов. Во-вторых, возможен вариант,

противоположный первому, т. е. гены остаются те же самые при последовательной смене типа регуляции их работы. В-третьих, возможен и промежуточный вариант, при котором некоторая часть генов при переходе в генеративный период прекращает свою работу, вместо них активируется некоторое число «новых» генов, а, быть может, большая часть носителей генетической информации продолжает работать в условиях измененного типа регуляции.

Второй и третий варианты независимости генетических систем фенологического типа табака вполне логичны в рамках представлений о «центральных регуляторах онтогенеза», сформированных в работах Н.К. Беляева, В.П. Эфроимсона и Б.Л. Астаурова, посвященных каналам изменчивости и конституционным признакам, на примере вольтинизма (число поколений за кормовой сезон) у тутового шелкопряда (Бабков, 1985). Смена типа регуляции может быть также рассмотрена и в контексте учения А.А. Ухтомского как смена доминанты (Ухтомский, 2002).

ЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИСПОЛЪЗУЕМЫХ ПОНЯТИЙ

Каркас формализованной системы понятий составили определения, аксиомы и теоремы. Формальные конструкции, не требующие доказательства, выступают в качестве «предположений».

Определение 1. Пусть M – произвольное множество, $M \times M$ – совокупность всех упорядоченных пар (a, b) , где $a, b \in M$. В множестве M задано бинарное отношение T , если в $M \times M$ выделено произвольное подмножество $R_T \subset M \times M$. Соотношение $T(a, b)$ между двумя общими элементами множества M будем называть **соотношением порядка** в M , если оно удовлетворяет условиям:

- 1) рефлексивности: если $T(a, a)$, то $a = a$;
- 2) транзитивности: если $T(a, b)$ и $T(b, c)$, то $T(a, c)$;
- 3) антисимметричности: если $T(a, b)$ и $T(b, a)$, то $a = b$.

Соотношение порядка $T(a, b)$ определяет на множестве M структуру упорядоченного множества или структуру порядка. В рамках нашей формализованной системы будем рассматривать следующие соотношения порядка:

1) соотношение $T_v(a, b)$, которое определяется как « a предшествует b », будем называть **слабой структурой порядка**;

2) соотношение $T_w(a, b)$, которое определяется как «если a , то b », будем называть **сильной структурой порядка**.

Предположение 1. Если на множестве M определена сильная структура порядка $T_w(a, b)$, где $a, b \in M$, то на множестве M определена и слабая структура порядка $T_v(a, b)$. Обратное утверждение в общем случае неверно.

Определение 2. Пусть M и N – упорядоченные множества, f – отображение M в N . Будем говорить, что это отображение сохраняет структуру порядка, если из $T(a, b)$, где $a, b \in M$, следует $T(f(a), f(b))$, где $f(a), f(b) \in N$. Отображение f называется **изоморфизмом** или изоморфным отображением упорядоченных множеств M и N , если f – взаимно однозначное отображение, сохраняющее структуру порядка. Множества M и N будем называть при этом изоморфными между собой.

Определение 3. Семейство непустых и попарно непересекающихся множеств $(M_i), i \in I$ (где I – множество индексов) будем называть **покрытием** множества M , если $M = \cup M_i$.

Определение 4. Фенологический тип – множество F -состояний фенологических признаков (фен-состояний), на котором определена слабая структура порядка.

Определение 5. Генетическая система – упорядоченное множество G -состояний генотипа (ген-состояний), на котором определена слабая структура порядка.

Определение 6. Интервал времени, за который происходит изменение фен-состояния, будем называть феноинтервалом.

Определение 7. Интервал времени, за который происходит изменение ген-состояния, будем называть геноинтервалом.

Предположение 2. Произвольная последовательность феноинтервалов индуцирует разбиение множества F на семейство непустых и попарно непересекающихся множеств $(F_i), i \in I$, являющихся покрытием множества F .

Предположение 3. Произвольная последовательность геноинтервалов индуцирует разбиение множества G на семейство непустых и попарно непересекающихся множеств $(G_i), i \in I$, являющихся покрытием множества G .

Аксиома 1. Существует генетическая программа: множество предписаний P такое, что для любого покрытия (G_i) множества G можно указать одно и только одно сильно упорядоченное множество $P_i \subset P$, для которого определен изоморфизм $g: P_i \rightarrow (G_i), i \in I$.

Предположение 4. Изоморфизм $g: P_i \rightarrow (G_i)$, где $i \in I$, определяет на множестве G сильную структуру порядка.

Аксиома 2. Для любого покрытия (F_i) , где $i \in I$, множества F можно указать одно и только одно множество $P_i \subset P$, такое, что существует изоморфизм $f: P_i \rightarrow (F_i), i \in I$.

Предположение 5. Изоморфизм $f: P_i \rightarrow (F_i)$, где $i \in I$, определяет на множестве F сильную структуру порядка.

Замечание. В отношении Аксиом (1) и (2) необходимо сделать уточнения неформального характера. С математической точки зрения, изоморфное отображение **биективно**, т. е. прямой и обратный изоморфизм равноправны, и без дополнительных предположений нельзя выделить одно из них в качестве «первичного». С генетической точки зрения, именно g -изоморфизм можно считать «первичным» в том смысле, что множество P представляет собой «программу» работы именно генетической системы, понимаемой как комплекс структур и механизмов передачи наследственной информации. Обратный g^{-1} -изоморфизм в определенном смысле отражает процесс реализации генетической информации на молекулярном уровне. В то же время на основе Аксиомы (2) мы не можем сделать никаких дополнительных предположений, пока нам не известен характер связи между реализацией генетической информации на молекулярном уровне, с одной стороны, и процессами морфогенеза – с другой. Таким образом, с формальной точки зрения, следует говорить не о детерминации, например, ген–признак, но только о строгом взаимном соответствии генетической программы и фенологического типа.

Определение 8. Элементы покрытия (G_i) множества G будем называть функциональными генетическими элементами, если для каждого G_i существует изоморфизм $g: P_i \rightarrow G_i$.

Определение 9. Пусть $G = G_1 \cup G_2$, $(a_1, b_1) \in G_1$, $(a_2, b_2) \in G_2$. Будем говорить, что множество G – локально упорядоченное множество, если структура порядка на G определяется соотношениями $T(a_1, b_1)$ и $T(a_2, b_2)$. Будем говорить, что множество G – глобально упорядоченное множество, если структура порядка на G определяется соотношениями $T(a_1, a_2)$ и $T(b_1, b_2)$.

Предположение 6. Пусть $G = \cup G_i$ и $F = \cup F_i$. В случае, если для каждого G_i и F_i существует g -изоморфизм $g: P_i \rightarrow (G_i)$ $i \in I$ и f -изоморфизм $f: P_i \rightarrow (F_i)$, $i \in I$, и если хотя бы одно из множеств G , F или P имеет глобальную сильную структуру порядка, то остальные множества также имеют глобальную сильную структуру порядка.

Теорема 1. Если элементы любого покрытия (G_i) множества G являются функциональными генетическими элементами, то множество G также является функциональным генетическим элементом.

Доказательство Теоремы (1) очевидно, поскольку на каждом элементе покрытия (G_i) множества G , в силу Предположения 4, определена сильная структура порядка и $G = \cup G_i$.

Аксиома 3. Существуют функционально независимые генетические системы – множества G_1 и G_2 , являющиеся функциональными генетическими элементами, такими, что если $G = G_1 \cup G_2$, то глобальная структура порядка на G есть слабая структура порядка.

Теорема 2. Если множества G_1 и G_2 – функционально независимые генетические системы, то множество $G = G_1 \cup G_2$ не является функциональным генетическим элементом.

Доказательство Теоремы (2) очевидно, поскольку глобальная структура порядка на множестве $G = G_1 \cup G_2$ есть слабая структура порядка, а следовательно, для $G = G_1 \cup G_2$ не определен изоморфизм $g: P \rightarrow G$.

Теорема 3. Пусть $G = G_1 \cup G_2$, где множества G_1 и G_2 – функционально независимые генетические системы. Для произвольного покрытия (G_i) множества G можно указать одно и только одно множество $P_i \subset P$, глобальная структура порядка которого есть слабая структура порядка, для которого существует изоморфизм $g^{-1}: (G_i) \rightarrow P_i$, $i \in I$.

Доказательство. Поскольку на множествах G_1 и G_2 задана сильная структура порядка в силу существования изоморфизмов $g: P_1 \rightarrow G_1$ и $g: P_2 \rightarrow G_2$, то на основании Предположения 1 она определяет на множестве $G = G_1 \cup G_2$ слабую структуру порядка. В силу биъективности изоморфизма g обратный изоморфизм $g^{-1}: (G_i) \rightarrow P_i$, $i \in I$ также определяет на множестве $P_i \subset P$ слабую структуру порядка.

Теорема 4. Пусть G_1 и G_2 – функционально независимые генетические системы, $G = G_1 \cup G_2$. Композиция изоморфизмов $f^{-1} \circ g$, где $f^{-1}: (F_i) \rightarrow P_i$, $i \in I$ и $g: P_i \rightarrow (G_i)$, $i \in I$ определяет на множестве G глобальную сильную структуру порядка.

Доказательство теоремы (4) становится очевидным, если учесть, что на множестве F в силу Аксиомы (2) определена глобальная сильная структура порядка и справедливо Предположение 6.

На основании теоремы (2) и теоремы (3) можно сделать вывод о том, что сама по себе генетическая программа, рассматриваемая в свете Аксиомы (1), не может обеспечить регуляцию работы генотипа на протяжении всего периода вегетации. В этом смысле единая генетическая программа отсутствует. Формальный ответ на вопрос о принципах регуляции генотипа в целом, в ходе всего процесса онтогенеза растений, дает теорема (4). Утверждение о сохранении на множестве G глобальной сильной структуры порядка, обусловленной наличием взаимно однозначного соответствия множеств G (генетической системы) и F (фенологического типа), позволяет сделать вывод о том, что именно динамика развития растения, формально выраженная в виде системы фенологических состояний, оказывает непосредственное влияние на регуляцию генетической системы,

обеспечивая при этом целостность онтогенеза. Этот вывод имеет вполне определенные биологические основания и вполне согласуется с известными в генетике фактами связи «организм—признак—ген»: 1) зависимость реализации генотипа в фенотип от структуры и метаболизма цитоплазмы; 2) зависимость считывания генетического кода от физиологического состояния клетки и организма; 3) зависимость частоты кроссинговера и различных типов мутационного процесса от возраста организма, пола и физиологического состояния; 4) зависимость редупликации хромосом и митотического цикла клеток от нервно-гуморального влияния организма; 5) зависимость проявления нормы реакции организма от факторов внешней среды. В онтогенезе нельзя изменить какую-либо одну функцию или структуру, не затронув при этом систему в целом, которая складывается во времени из последовательных, строго регламентированных морфофизиологических процессов (Лобашёв, 1967).

ВЫВОДЫ

В результате анализа структуры изменчивости комплекса фенологических признаков в коллекции сортов табака выявлена независимость генетической детерминации вегетативного и генеративного периодов развития табачных растений. Установлено, что учет фенодаты «бутонизация» (вегетативный период) и феноинтервала «бутонизация»—«полное созревание коробочек» (генеративный период) достаточен для вскрытия межсортовой и внутрисортовой изменчивости по фенологическому типу. В коллекции сортов по фенологическому типу выявлено 6 различных генотипических классов.

С целью выявления характера независимости генетических систем, контролирующих вегетативный и генеративный периоды развития табака, с использованием элементов теории множеств проведен логический анализ соотношения понятий «генотип», «фенологический тип» и «генетическая программа». В результате анализа установлено, что интерпретация генетической программы как единого алгоритма регуляции работы генотипа в течение всей жизни растения является недостаточной для решения проблемы реализации наследственной информации в индивидуальном развитии. С формальной точки зрения, целостность онтогенеза обеспечивает динамика развития растения, выраженная в виде системы фенологических состояний.

ЛИТЕРАТУРА

- Бабков В.В. Московская школа эволюционной генетики. М.: Наука, 1985. 216 с.
- Вавилов Н.И. Научные основы селекции пшеницы // Вавилов Н.И. Избранные произведения. М.: Наука, 1967. Т. 2. 480 с.
- Гайсинович А.Е. Зарождение и развитие генетики. М.: Наука, 1988. 424 с.
- Драгавцев В.А., Литун П.П., Шкель И.М., Нечипоренко Н.Н. Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Докл. АН СССР. 1984. Т. 274. № 3. С. 720–723.
- Драгавцев В.А. Эколого-генетический скрининг генофонда и методы конструирования сортов сельскохозяйственных растений по урожайности, устойчивости и качеству. СПб.: ВИР, 1997. 51 с.
- Ким Дж.О., Мьюллер Н.И. Факторный анализ: статистические методы и практические вопросы // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М., 1989. С. 5–78.
- Колмогоров А.Н., Фомин С.В. Элементы теории функций и функционального анализа. М.: Наука, 1976. 542 с.
- Корочкин Л.И. Молекулярно-генетические аспекты онтогенеза // Биология развития и управление наследственностью. М.: Наука, 1986. С. 267–284.
- Лобашев М.Е. Генетика. Л.: ЛГУ, 1967. 751 с.
- Олдендерфер М.С., Блешфилд С.К. Кластерный анализ // Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М., 1989. С. 139–210.
- Терентьев П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. Л.: ЛГУ, 1977. 152 с.
- Ухтомский А.А. Доминанта. СПб.: Питер, 2002. 448 с.
- Шпаков А.Э., Волчков Ю.А. Фенологический тип растений как предмет генетических исследований // Генетика. 1991. № 8. Т. 27. С. 1379–1387.

VARIABILITY STRUCTURE AND GENETIC DETERMINATION OF PLANT PHENOLOGICAL TYPE (ACCORDING TO RESULTS OF TOBACCO RESEARCH)

A.E. Shpakov¹, Yu.A. Volchkov^{1,2}, V.V. Drobyshev³

¹ All-Russia Research Institute of Tobacco, Krasnodar, Russia, e-mail: dagmara97@mail.ru;

² Kuban State University, Krasnodar, Russia, e-mail: dagmara97@mail.ru;

³ Garant Legal Information Agency, Krasnodar, Russia, e-mail: direct@apigarant.ru

Summary

The objectives of the study were the detection of phenological traits essential for the evaluation of genetically determined differences in phenological type in tobacco and investigation of their genetics. Analysis of the variation pattern of the phenological trait complex in a tobacco variety collection showed no difference in the genetic determination between the vegetative and generative periods of tobacco plant development. Six genotype classes were found in the collection with regard to phenological type. The mode of independence between the genetic systems operating at the vegetative and generative stages of tobacco development was considered by logical analysis of relationships among the terms genotype, phenological type, and genetic program with the use of the set theory.

Key words: tobacco, population structure, genotype, phenological type, genetic program, factor analysis, principal component analysis, set theory, dominant.

Федеральное государственное унитарное предприятие «ПОЧТА РОССИИ»

Бланк заказа периодических изданий

Ф. СП-1

АБОНЕМЕНТ

на газету

на журнал

4

2

1

5

3

(индекс издания)

Вавиловский журнал

(наименование издания)

Количество комплектов

генетики и селекции

на 20 год по месяцам

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

Куда

(почтовый индекс)

(адрес)

Кому

(фамилия, инициалы)

Линия отреза

ПВ

Место

Литер

ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА

4

2

1

5

3

(индекс издания)

Газету

На Журнал

Вавиловский журнал генетики и селекции

(наименование издания)

Стоимость

подписки

руб.

Коп-во комп-лектов

переадресовки

руб.

на 20 год по месяцам

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

город

Село

почтовый индекс

область

район

код улицы

улица

дом

корпус

квартира

Фамилия И.О.

Отредактировано и подготовлено к печати
в редакционно-издательском секторе 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 20.06.2014 г.
Формат бумаги 60×84 1/8. Усл.-печ. л. 25,2. Уч.-изд. л. 24,3
Тираж 300. Заказ 171

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН»
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2