

Вавиловское общество генетиков и селекционеров
Научный совет РАН по проблемам генетики и селекции
Южный научный центр РАН
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
Институт аридных зон Южного научного центра РАН
Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ТАКСОНОМИИ И ЭКОЛОГИИ



Вавиловское общество генетиков и селекционеров
Научный совет РАН по проблемам генетики и селекции
Южный научный центр РАН
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
Институт аридных зон Южного научного центра РАН
Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ТАКСОНОМИИ И ЭКОЛОГИИ

Тезисы докладов научной конференции

25–29 марта 2013 г.
Ростов-на-Дону
Россия



Ростов-на-Дону
Издательство ЮНЦ РАН
2013

УДК 574/577
М75

Редколлегия:
чл.-корр. РАН Д.Г. Матишов (отв. ред.)
д.б.н. Д.В. Муха
к.б.н. В.В. Стахеев

Конференция проведена при поддержке Отделения биологических наук РАН

Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии: тезисы докладов научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 25–29 марта 2013 г.) / отв. ред. чл.-корр. РАН Д.Г. Матишов. – Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. – 128 с. – ISBN 978-5-4358-0054-8

В сборнике представлены тезисы докладов научной конференции «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии», проходившей 25–29 марта 2013 г. в г. Ростове-на-Дону.

В книге освещены основные проблемы и перспективы применения молекулярно-генетических подходов в биологии, развития молекулярно-генетических методов в систематике и экологии отдельных таксонов, исследования генофондов и генетического разнообразия природных популяций, культурных растений и домашних животных.

Издание представляет интерес для широкого круга специалистов: генетиков, зоологов, ботаников, микологов, экологов, представителей природоохранных организаций, селекционеров, а также для преподавателей и студентов высшей школы.

УДК 574/577

ISBN 978-5-4358-0054-8

© ИАЗ ЮНЦ РАН, 2013

Vavilov Society of Geneticists and Breeders
Genetics and Breeding Scientific Advisory RAS
Southern Scientific Centre RAS
Vavilov Institute of General Genetics RAS
Institute of Arid Zones RAS
Biological Faculty of Lomonosov Moscow State University

MOLECULAR GENETIC APPROACHES IN TAXONOMY AND ECOLOGY

Abstracts of the Scientific Conference

March 25th-29th 2013
Rostov-on-Don
Russia



Rostov-on-Don
SSC RAS Publishers
2013

Editorial Board:

Corresponding Member of RAS D.G. Matishov (Managing Editor)

Dr (Biology) D.V. Mukha

PhD (Biology) V.V. Stakheev

Conference was supported by the Department of Biological Sciences RAS

Matishov, D.G. (Ed.) (2013) Molecular Genetic Approaches in Taxonomy and Ecology. Abstracts of the Scientific Conference (March 25th-29th 2013, Rostov-on-Don, Russia). Rostov-on-Don. SSC RAS Publishers. 128 p. (In Russian). ISBN 978-5-4358-0054-8

This book contains the abstracts of the conference titled 'Molecular Genetic Approaches in Taxonomy and Ecology' which was held on March 25th-29th 2013 in Rostov-on-Don, Russia.

The abstracts cover fundamental problems and prospects of application of molecular genetic methods to systematics and ecology of taxons, studies of gene pools and genetic diversity of natural populations, cultivated plants and domestic animals.

This edition may be of interest for a wide range of specialists including geneticists, zoologists, botanists, micologists, ecologists, conservationists, breeders and university professors and students.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CANNABACEAE L.

О.С. Александров, О.В. Разумова, Н.А. Яковин, М.Г. Дивашук, Г.И. Карлов

Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева,

Центр молекулярной биотехнологии, Москва

razumova@gmail.com

В последние два десятилетия систематика покрытосеменных активно пересматривается, во многом это связано с появлением современных методов исследований, позволивших значительно расширить объем информации о генетике видов. На основе полученных данных построена новая система покрытосеменных, согласно которой семейство Cannabaceae, ранее включавшее 2 рода (*Humulus* и *Cannabis*), расширено до 10 родов (APG II, 2003). Важной особенностью данного семейства является наличие у большинства видов половых хромосом (Kihara, 1928; Winge, 1929; Hoffmann, 1947). В связи с этим изучение филогенетических отношений внутри Cannabaceae L. на основе молекулярно-цитогенетических методов может внести весомый вклад в понимание механизмов эволюции половых систем у растений.

Широкое применение при изучении особенностей организации половых хромосом получили методы молекулярной цитогенетики, в частности флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH). В нашей работе были проанализированы видоспецифичные субтеломерные повторы у трех видов семейства Cannabaceae – хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* $2n=18+XX$ (♀), $18+XY$ (♂)), хмеля японского (*Humulus japonicus* $2n=14+XX$ (♀), $14+XY1Y2$ (♂)) и конопли посевной (*Cannabis sativa* $2n=18+XX$ (♀), $18+XY$ (♂)). С помощью FISH была показана их локализация на хромосомах каждого из изучаемых видов. Несмотря на близкое родство, субтеломерные повторы являются видоспецифичными, по-разному локализируются на половых хромосомах и могут являться их цитогенетическими маркерами. Так, на коротком плече X-хромосом хмеля обыкновенного сигнал субтеломерного повтора визуализируется в прицентромерной области и в дистальном конце длинного плеча, а на Y-хромосоме только в дистальной части длинного плеча. У мужских растений хмеля японского, имеющих две Y-хромосомы, субтеломерный повтор визуализируется только в дистальных районах обоих плеч одной из них. В то же время X-хромосома несет сигнал повтора только в дистальном районе длинного плеча. У мужских растений конопли посевной субтеломерный повтор локализуется только на одном плече Y-хромосомы, а на X-хромосоме – в дистальных районах обоих плеч.

При построении филогенетического древа на основе клонированных повторов результаты были сопоставимы с классической системой Cannabaceae в части изучения данных видов. Таким образом, клонирование и анализ расположения субтеломерного повтора на хромосомах растений семейства Cannabaceae показали, что локализация данного участка повторяющейся ДНК может служить удобным цитогенетическим маркером при изучении эволюции пола, в том числе у близкородственных видов, а сам повтор – инструментом филогенетики.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, Соглашение № 8588.

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ И ЭПОХА ВЕЛИКИХ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТКРЫТИЙ

В.В. Алёшин, К.В. Михайлов, М.А. Никитин

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, Москва,
Aleshin@genebee.msu.su*

Значение молекулярных подходов в таксономии связано с двумя различными, но действующими в одном направлении комплексами фактов и идей. Один – их применение в филогенетике, которая на наших глазах становится не только по преимуществу, но почти целиком молекулярной. Другой зависит от того тривиального обстоятельства, что развитие передовых технологий приводит к стремительному росту молекулярных данных, объем которых в самое ближайшее время намного превзойдет всю совокупность «немолекулярных» данных в биологии, требуя, естественно, для своего описания язык с более адаптированными мерономией и таксономией. Зачатком новой таксономии выступает филогенетическая (кладиристическая) система, естественным образом включая (молекулярную) филогенетику в качестве инструмента в новую систематику («системную биологию»). Прозрачные процедуры, в отношении которых постепенно достигается всё большая ясность, кажется, позволят в скором времени объективно относить произвольно взятый ранее не исследованный объект к определенной кладе. С расширением списка достоверных голофилетических таксонов, установленных раз и навсегда, филогенетическая система приобретет максимально возможную стабильность – важнейшее для таксономии свойство. Признаки кладиристической системы, сейчас кажущиеся ее непреодолимыми недостатками (проблема с созданием богатых диагнозов, неохватное число рангов, невозможность рациональной системы), нивелируются применением электронных баз данных и средств телекоммуникации. Зачатками новой мерономии являются международные классификации и базы данных консервативных доменов, пространственных структур (фолдов), семейств белков, классов мРНК, интронов группы I и т. п.

Экология не является исключением из биологических наук, и в скорой перспективе молекулярные методы потеснят в ней прочие методы. С удешевлением геномных технологий взгляд на биоразнообразие всё более становится генетическим, а не анатомо-морфологическим. Обнаруживая в составе метагенома те или иные гены, кодирующие ключевые ферменты биохимических путей, можно представить функционирование сообщества, устройство биологических циклов элементов и потоков энергии в нем, а в будущем – их регуляцию, как бы физиологию «вырезанного» участка живого покрова Земли – Геомериды (Старынкевич, 1931). На новом уровне наука вновь приходит к эвристичности такого общего понимания организации жизни на Земле, когда весь живой покров следует рассматривать, в известном смысле, как живой организм с его жидкой соединительной тканью морей и океанов (Беклемишев, 1928) и его «метагеномом».

В настоящее переходное время инструменты, такие как геномные секвенаторы нового поколения, доступные в виде относительно недорогих сервисов в центрах коллективного пользования, позволяют реально участвовать исследовательским группам РФ в производстве нового знания в рамках современной парадигмы. Наиболее дорогостоящим и лимитирующим фактором становится обработка и содержательная интерпретация геномных данных. Секвенировать геном теперь легко, а сравнить его с другими геномами и тем более связать с имеющимся морфолого-биохимическим знанием – сложно и трудоемко. Необходим обмен опытом коллег, работающих в области геномики.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРЫЛА *DROSOPHILA MELANOGASTER* КАК ТЕСТ-СИСТЕМА ПРИ ИЗУЧЕНИИ СТРЕССОВ НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ УРОВНЕ

О.Н. Антосюк, С.В. Шихова, Н.А. Марвин, А.М. Марвин

Уральский федеральный университет им. Первого президента России Б.Н. Ельцина,
Екатеринбург, Antosuk-olga@mail.ru

Установлено, что высокая активность фермента гуанин фосфорибозилтрансфераза (HGPRT) наблюдается в норме у мутантов по гену *vg*, но известны случаи возникновения спонтанной активности данного фермента и у линий дикого типа *Drosophila melanogaster*. В ряде работ описываются линии дикого типа с высокой степенью активности гуанин рибозилтрансферазы, но в пределах нормы реакции. У особей дикого типа активность фермента HGPRT проявляется в виде повреждений типа «вырезка» на крыле. Таким образом, частота встречаемости повреждений на крыле может выступать в качестве показателя активности фермента HGPRT. В соответствии с этими данными представляло интерес проанализировать биохимические различия у особей дикого типа с использованием методов подсчета повреждений на крыльях как результат апоптоза у межлинейных гибридов, полученных скрещиванием линий дикого типа на линию *vg* и морфометрического анализа крыла с последующим дискриминантным.

Материалы и методы. В работе использовались 12 линий *Drosophila melanogaster* дикого типа, отловленные в природе и впоследствии культивируемые в лабораторных условиях: МММ (Екатеринбург, 2009), Арамил (Арамил, 2009), Джованни (Екатеринбург, 2010), Биос-3 (Дзуреченск, 2007), Новый Свет (Крым, 2008), Host (Екатеринбург, 2005), Белгород (Белгород, 2006), Челябинск (Челябинск, 2006), Воронеж (Воронеж, 2009), Дегтярск (Дегтярск, 2011), Биос-4 (Дзуреченск, 2010), Oregon R. Все вышеуказанные линии использовались для реципрокного скрещивания с линией *vg*, а среди межлинейных гибридов фиксировалась частота возникновения повреждений крыла типа «вырезка».

Результаты наших исследований можно свести к следующим пунктам:

1. Использование морфометрического анализа крыла как у линий дикого типа в норме, так и при воздействии ряда цитостатиков позволяет сделать вывод о наличии существенных межлинейных различий.

2. Анализ жизнеспособности по ряду показателей, таких как: средняя индивидуальная плодовитость (СИП), частота встречаемости ранних и поздних эмбриональных леталей (РЭЛ, ПЭЛ) и ПЛ (частота встречаемости постэмбриональных леталей), частота встречаемости повреждений типа «вырезка» на крыле, подтверждает, хотя и косвенно, высказанное предположение о различиях линий дикого типа на уровне репродуктивной системы.

3. Морфометрический анализ межлинейных гибридов с использованием ряда линий дикого типа и мутантной линии *vg* позволяет обнаружить четкую картину влияния мутации *vg* на биохимические процессы, лежащие в основе формирования крыла, что находит свое отражение на уровне жизнеспособности и частоты встречаемости повреждения крыла типа «вырезка».

4. Максимальная частота повреждения крыла в F1 наблюдается у межлинейного гибрида *vg* × Host (13,8 %), а минимальное у *vg* × Биос-3 (3,7 %), что является косвенным показателем активности фермента HGPRT у отдельных линий дикого типа.

5. При дальнейшем отборе у межлинейных гибридов на фоне повышения частоты встречаемости повреждения крыла различия нивелируются как результат генетической ассимиляции.

ПРОБЛЕМА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТАКСОНОВ ВИДОВОГО РАНГА ПРИ ПОМОЩИ ДНК-БАРКОДИНГА; ПРИМЕР ИНДОКИТАЙСКИХ MURIDAE

А.Е. Балакирев

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

alexbalakirev@mail.ru

Проблема разграничения видов является одной из центральных в современной систематике. Хотя традиционные методы выделения таксонов основаны на морфологическом критерии, прогресс молекулярных методов привел к значительному увеличению массива данных и большим успехам ДНК-таксономии. Одним из таких методов явился т.н. ДНК-баркодинг, основанный на гене COI мтДНК. Большие перспективы данного подхода для развития систематики и видовой диагностики были показаны на целом ряде крупных таксономических групп.

В настоящий момент не вызывает сомнений факт, что виды образуют генетические линии, однако на практике все чаще вызывает затруднение проведение видовых границ между выявляемыми кладами. Показательным примером являются многие группы млекопитающих, в частности Muridae Юго-Восточной Азии. В 2007–2013 гг. мы провели ревизию ряда центральных родов, таких как *Niviventer*, *Rattus*, *Leopoldamys* на основе большой выборки из различных районов Вьетнама с привлечением полного комплекса молекулярных данных (материалы Генбанка; проект BOLD/ICMBA и др.). На основании комплексного анализа удалось значительно уточнить систематику группы, количество генотипированных особей на сегодня исчисляется сотнями. Первые исследования показали, что часто морфологически нечетко различимые формы образуют хорошо сегрегированные генетические линии видового уровня. Однако с накоплением массива данных становится очевидным, что фактическое генетическое разнообразие существенно превышает предполагаемое современной систематикой и не всегда с ней согласуется.

Например, в регионе выявляется не менее 8 видовых генетических линий рода *Rattus*, более половины из них морфологически столь изменчивы, что не могут надежно диагностироваться визуально. Для 4 морфологически выделяемых видов *Niviventer* выявляется не менее 9 генетических линий видового ранга, некоторые из которых демонстрируют широкий полиморфизм окраски и морфологического облика. Аналогично, для 4 морфологически различимых видов *Leopoldamys* выявляется не менее 16 генетических линий, 12 из которых соответствуют формальному критерию генетического вида. При этом, морфологический облик не всегда хорошо согласуется с генетической припиской.

С накоплением данных, когда исследуемые выборки начинают исчисляться сотнями особей из десятков локалитетов, во многих случаях мы можем видеть неявность предписываемого генетической теорией вида межвидового генетического разрыва. Вместо этого наблюдается более или менее структурированный спектр генетических линий, количество которых само требуют таксономической систематизации. Становится ясно, что установленный для баркодинга формальный 1 %-ный видовой критерий, а также 5–8 %-ный критерий межвидовой генетической дистанции для гена цитохрома *b* Бейкера и Бредли, работают плохо, а выявляемые генетические линии мтДНК часто с трудом соотносятся с морфологически различимыми формами. Подобная ситуация создает почву для необоснованной таксономической инфляции, особенно когда генетические данные не подкреплены морфологическим анализом, что часто приводит к неправомерным таксономическим выводам.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАРИОЛОГИЧЕСКИ ДИСКРЕТНЫХ КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ И ВНУТРИВИДОВЫХ ФОРМ МЫШОВОК (*RODENTIA*, *DIPRODOIDEA*, *SICISTA*) ФАУНЫ РУССКОЙ РАВНИНЫ И КАВКАЗА

М.И. Баскевич¹, С.Г. Потапов¹, М.А. Опарин¹, А.А. Хляп¹,
В.М. Малыгин², С.Ф. Сапельников³

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,

³Воронежский государственный заповедник, пос. Краснолесный, mbaskevich@mail.ru

В настоящем сообщении обобщены результаты собственных молекулярно-генетических исследований (RAPD PCR-анализ, секвенирование фрагментов генов мт (*cytb*) и ядерной (*LCAT*) ДНК для групп криптических видов *Sicista* фауны Русской равнины (мышовки групп *betulina* и *subtilis*) и Кавказа (представители группы одноцветных мышовок Кавказа)). Для группы одноцветных мышовок Кавказа приведены данные секвенс-анализа фрагмента (1099 bp) гена *cytb* мт ДНК (использованы образцы *S. caucasica* из верховий р. Мзымта, n=1; *S. kluchorica* из ущ. Адыл-Су, n=4; *S. kazbegica* из ущ. Сказдон, n=2, а в качестве внешней группы образцы *S. subtilis*), а также результаты RAPD PCR-анализа (использованы образцы тех же кариологически дискретных видов, но из других пунктов Большого Кавказа). Анализ филогенетических древ, построенных на основе сопоставления значений генетических дистанций между сравниваемыми видами *Sicista* с помощью UPGMA- и NJ-алгоритмов, указывает на значительную дифференциацию между криптическими видами одноцветных мышовок Кавказа и исследованным представителем группы *subtilis*, *S. subtilis*. Следующий уровень кластеризации соответствует подразделенности на виды внутри группы. При этом среди трех сравниваемых видов группы *S. kazbegica* оказалась наиболее обособленной от двух других более близких видов (*S. kluchorica*, *S. caucasica*). В молекулярно-генетических исследованиях мышовок групп *subtilis* и *betulina* использованы результаты секвенирования фрагментов генов мт (*cytb*, 1102 bp) и ядерной (*LCAT*, 488 bp) ДНК в 11 образцах *Sicista*: у 4-х особей *S. betulina* из двух пунктов в Тверской, 1 – из Московской обл.; у 1 экз. *S. strandi* из Курской и 1 – из Правобережья Саратовской обл.; у *S. subtilis* из Заволжья (n=1) и Правобережья (n=1) Саратовской обл.; у *S. severtzovi* с участков ЦЧЗ Баркаловка (n=1) и Букреевы Бармы (n=1), а также у использованной для сравнения особи кавказской мышовки, *S. caucasica* из верховий р. Мзымта в КГЗ. Анализ филогенетических древ, построенных с помощью UPGMA-алгоритма, указывает на значительную дифференциацию между мышовками групп *betulina* и *subtilis*, выявив большую близость *S. caucasica* к представителям группы *betulina*, нежели к изученным образцам мышовок группы *subtilis*. Следующий уровень кластеризации соответствует подразделенности на виды внутри групп *betulina* (*S. betulina* – *S. strandi*) и *subtilis* (*S. subtilis* – *S. severtzovi*). Демовая структура видов мышовок по молекулярно-генетическим маркерам на использованном нами материале пока не выявлена. Полученные молекулярные результаты сравниваются с хромосомными данными.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ НЕКОТОРЫМИ ВИДАМИ УЗКОЛИСТНЫХ ОВСЯНИЦ

И.А. Беднарская¹, В.Н. Попов²

¹Институт экологии Карпат НАН Украины, Львов, *ibednarska@ukr.net*

²Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, Харьков, *vnpop@mail.ru*

Во флоре Украины представлено около 20 видов узколистных овсяниц, которые по основным диагностическим признакам анатомического строения листка можно разделить на четыре больших агрегата: *F. ovina* agg., *F. rubra* agg., *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg. Последние два агрегата являются одними из наиболее сложных в области систематики рода. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение генетических взаимоотношений между видами овсяниц, принадлежащих *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg.

Для исследования было взято 30 популяций различных видов рода *Festuca*, которые принадлежат двум видовым агрегатам: *F. valesiaca* agg. (*F. macutrensis* Zapal., *F. rupicola* Heuff., *F. aritina* Klok., *F. valesiaca* Schleich. ex Gaud.) и *F. glauca* agg. (*F. pallens*, *F. psammophila*). Для изучения молекулярно-генетического полиморфизма видов рода *Festuca* использовали 11 ISSR-праймеров. Число амплифицируемых фрагментов ДНК варьировало от 13 до 30. Размер ДНК фрагментов варьировал в широких пределах: ~ от 240 до 2026 пн. Использование 11 праймеров позволило идентифицировать 196 полиморфных ISSR-фрагментов из 211 проанализированных ампликонов. В среднем уровень полиморфизма ISSR-локусов, выявляемый 11 праймерами, составил 92,9 %. Выявлен видоспецифичный ампликон для *F. valesiaca*, также идентифицирован общий фрагмент для двух близкородственных видов – *F. pallens* и *F. psammophila*. Для построения филогенетического дерева методом присоединения ближайших соседей обрабатывалась матрица генетических дистанций по Nei и Li. На полученной дендрограмме изучаемые образцы узколистных овсяниц объединились в две четко обособленные клады, представляющие виды двух агрегатов – *F. glauca* agg. (клада А) и *F. valesiaca* agg. (клада Б). Группирование популяций *F. pallens* и *F. psammophila* в единый кластер А свидетельствует о том, что эти виды являются генетически близкородственными с вероятным происхождением от одной гибридной комбинации, потомки которых приспособились к разным экологическим условиям произрастания. В пределах клады Б наиболее четко обособленными выявились образцы диплоидной *F. valesiaca*, которые сформировали отдельную группу. Остальные же виды образовали недостаточно дифференцированную гетерогенную группу.

Таким образом, в нашем исследовании использование ISSR-маркеров позволило четко разграничить два агрегата – *F. glauca* agg. и *F. valesiaca* agg. В пределах первого агрегата также выявлена достаточная дифференциация между *F. pallens* и *F. psammophila*. Отсутствие четкой группировки видов по отдельным кластерам среди *F. valesiaca* agg., за исключением образцов самой *F. valesiaca* s. str., свидетельствует о необходимости использования альтернативных методов молекулярно-генетического анализа.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В БИОЛОГИИ ПЕРЕНОСЧИКОВ ТРОПИЧЕСКИХ ЛИХОРАДОК СТРАН СНГ

О.В. Безжонова, И.В. Патраман, Е.В. Таныгина, Л.А. Ганушкина

ИМПитМ им. Е.И. Марциновского Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

ivanpatraman@gmail.com

Систематика переносчиков возбудителей тропических лихорадок является основой для организации истребительских мероприятий и контроля их численности. В рамках программы ВОЗ «Обратим малярию вспять» мы исследовали переносчиков малярии СНГ с 2004 г., которые представляют собой, по современным данным, комплексы видов-двойников: *An. maculipennis*, *An. claviger* и *An. superpictus*. Для их идентификации использовались ядерные и митохондриальные маркеры: второй внутренний транскрибируемый спейсер (ITS2), область генов цитохромоксидазы субъединицы I и субъединицы II (COI-COII).

ITS2 является наиболее изученным у представителей семейства Culicidae. Были открыты новые виды на основании молекулярно-генетических исследований ITS2 и закрыты некоторые описанные виды после более полной ревизии. Этот маркер стал стандартным для изучения близких видов и видов внутри родов. В результате исследований уточнен видовой состав комплекса *An. maculipennis*: на территории России выявлено 4 вида (*An. atroparvus*, *An. beklemishevi*, *An. maculipennis*, *An. messeae*), в Ближнем зарубежье – 7 (*An. atroparvus*, *An. artemievi*, *An. maculipennis*, *An. melanoon*, *An. messeae*, *An. persiensis*, *An. sacharovi*). Впервые обнаружен новый для фауны стран СНГ вид – *An. persiensis*. По первичной структуре только *An. messeae* оказался полиморфным на внутривидовом и внутригеномном уровнях. Доказана неправомерность выделения *An. daciae* в качестве самостоятельного вида. Разработан молекулярно-генетический ключ для идентификации видов комплекса *An. maculipennis*.

В 2001–2007 гг. нами была выявлена впервые, после 50-летнего перерыва, местная размножающаяся популяция комаров *Ae. aegypti* на территории Черноморского побережья Кавказа от Туапсе до Сухуми. В 2011 г. комары *Ae. albopictus* были впервые обнаружены в районе Большого Сочи. Исследованы нуклеотидные последовательности митохондриальных генов, кодирующих 5-ю субединицу НАДН-дегидрогеназы (ND5), цитохромоксидазы I (COI) и ITS2. ITS2 является хорошим диагностическим признаком для видов р. *Aedes* (*Stegomyia*). Размер продукта амплификации *Ae. albopictus* составляет около 510 п.н., тогда как *Ae. aegypti* около 320 п.н. Последовательности, полученные в результате секвенирования продуктов амплификации образцов ДНК, оказались наиболее сходными с последовательностями, размещенными в GenBank *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. При сравнении последовательностей ND5 у *Ae. aegypti* выявлен внутривидовой полиморфизм. На обследованной территории Черноморского побережья Кавказа с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов показано, что комары *Ae. albopictus* встречаются повсеместно от Н. Афона до Джубги на протяжении 250 км побережья, а *Ae. aegypti* от Н. Афона до п. Агой Туапсинского района (215 км). На восточную часть побережья комары *Ae. albopictus* продвинулись на 44 км и высоту 600 м (Красная поляна).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-31619.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ИЗУЧЕНИИ ПОПУЛЯЦИЙ ЧЕРНОГО АИСТА (*CICONIA NIGRA*)

М.М. Белоконь¹, Н.В. Дзюбенко², Ю.С. Белоконь¹, А.А. Бокотей²

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, belokon@vigg.ru

²Государственный природоведческий музей НАН Украины, Львов

Черный аист, *Ciconia nigra*, – редкий мигрирующий вид, гнездящийся в старовозрастных лесах Евразии. Несмотря на обширный ареал – от Западной Европы до Дальнего Востока – черный аист находится под угрозой исчезновения в связи с сокращением лесных площадей и занесен в Красные книги Украины, России, Беларуси. Для разработки программ охраны отдельных популяций необходима информация о генетической структуре вида, которая на сегодняшний день остается не изученной. Цель нашего исследования – заложить основы генетического мониторинга популяционной динамики вида и прогнозирования потенциальной численности популяций на основании соотношения полов. Полевые исследования по учету численности черного аиста проводились в старовозрастных лесах на территории Ровенской и Волинской областей Украины. Материалом для генетического анализа послужили сборы перьев, взятых у птенцов при кольцевании с 2010 по 2012 гг. Всего обследовано 24 гнезда, из них девять в разные годы. Изучено 119 птенцов из 38 выводков. У птенцов определяли пол и индивидуальные генотипы по девяти микросателлитным локусам. Исходя из генотипов птенцов, устанавливали генотипы предполагаемых родителей. Определение пола у черного аиста затруднено отсутствием видимого полового диморфизма, как у птенцов, так и у взрослых птиц. Поэтому актуальным становится молекулярно-генетическое определение пола. Мы использовали полиморфизм длины фрагмента интрона гена хромохеликазы (*CHD*), расположенного у птиц на половых хромосомах (Griffiths et al., 1998). У аистов разница между длинами интрона гена *CHD* на Z- и W-хромосомах незначительна, поэтому полученные в результате ПЦР фрагменты обрабатывали эндонуклеазой *Hae*III, отщепляющей от фрагмента *CHD-Z* фрагмент длиной 65 п.н., тогда как фрагмент *CHD-W* оставался неизменным (Han et al., 2009). После чего фрагменты разделяли электрофоретически в 1,5 %-ном агарозном геле с получением видимой разницы. Суммарное соотношение полов в выводках 2010–2012 гг. составило 50♀ к 53♂, что достоверно не отклоняется от равновесного 1:1. Для микросателлитного анализа был осуществлен подбор праймеров, ранее разработанных для родственных видов – белого аиста, *Ciconia ciconia*, (Shephard et al., 2009) и американского лесного аиста, *Mycteria americana* (Tomasulo-Seccomandi et al., 2003). Локусы *Cc02*, *Cc03*, *Cc04*, *Cc07* у черного аиста оказались высокополиморфными с числом аллелей от трех до семи в каждом. В локусе *Cc01* кроме двух амплифицируемых аллелей был обнаружен нуль-аллель с частотой около 0,450. Локусы *Cc05*, *Cc06*, *WSμ01* и *WSμ03* у данного вида мономорфны. Все птенцы из 26 изученных выводков оказались потомками моногамных пар.

Работа выполнена при поддержке «Программы охраны черного аиста в Украине» Западного отделения Украинского орнитологического общества и подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КЕДРОВОГО СЛАНИКА, *PINUS PUMILA* (PALL.), АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ ПО АЛЛОЗИМНЫМ ЛОКУСАМ

Ю.С. Белоконь, М.М. Белоконь, Д.В. Политов

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Кедровый стланик, *Pinus pumila* (Pallas) Regel, является обычным компонентом подгольцового пояса горных лесных экосистем от восточного побережья оз. Байкал до полуострова Камчатка и Курильских островов. Благодаря высокой экологической пластичности данный вид способен заселять малопригодные для обитания других видов места и выживать в экстремальных климатических условиях. Кедровый стланик обладает одними из самых высоких показателей генетической изменчивости среди хвойных (Крутовский и др., 1990; Гончаренко и др., 1991, 1992; Политов и др., 1992; Goncharenko et al., 1993; Politov, Krutovskii, 1994, 2004; Krutovskii et al., 1994, 1995; Tani et al., 1996; Tani et al., 1998; Гончаренко, Силин, 1997; Малюченко и др., 1998; Малюченко, Алтухов, 2001; Политов, 2007). На севере Амурской области сплошные заросли стланика встречаются в подгольцовом поясе горных хребтов Янкан, Тукурингра, Соктахан и Джагды, образующих единую цепь южнее Станового хребта (Флора и растительность хребта Тукурингра, 1981). Вегетативные почки кедрового стланика были собраны на южном отроге западной части хр. Тукурингра (АМ1, Тындинский р-н), на южном (ЗЕ1, ЗЕ2) и северном (ЗЕ3) склонах восточной части хр. Тукурингра (Зейский заповедник), и в центральной части хр. Джагды (АМ5, Селемджинский р-н). Генетическая структура и дифференциация пяти выборок *P. pumila* изучены с помощью 23 изоферментных локусов (*Adh-1*, *Fdh*, *Fe-2*, *Gdh*, *Got-1*, *Got-2*, *Got-3*, *Idh*, *Lap-3*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Mnr-1*, *Perca*, *6Pgd-2*, *6Pgd-3*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Pgm-1*, *Pgm-2*, *Skdh-1*, *Skdh-2*, *Sod-2* и *Sod-3*). Локусы *Fdh*, *Idh*, *Pgi-1* и *Sod-3* оказались мономорфными во всех выборках, а *Adh-1*, *Got-1* и *Mdh-1* – слабополиморфными, с частотами альтернативных аллелей менее 0,05. В каждой из выборок были выявлены уникальные аллели. В среднем 69,57 % локусов были полиморфными, число аллелей на локус $N_A=2,096$, наблюдаемая гетерозиготность $H_O=0,222$ и ожидаемая гетерозиготность $H_E=0,236$. Значения межпопуляционной дифференциации ($F_{ST}=0,038$) были близки к средним для популяций данного вида из одного региона (Белоконь и др., 2011; Belokon et al., 2011). Значения генетических расстояний Нея (D_N) варьировали от 0,009 (между близко расположенными выборками ЗЕ1 и ЗЕ2) до 0,024 (между АМ1 и ЗЕ2). Выборки из Зейского заповедника группируются вместе, с ними один кластер образует выборка АМ5. Выборка АМ1 обособлена от остальных. Таким образом, кластерный анализ (метод UPGMA) и многомерное шкалирование объединили выборки по их географическому происхождению.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов») и «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы».

РАСШИФРОВКА ПРОИСХОЖДЕНИЯ СОЛОДКИ КОРЖИНСКОГО С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

А.Ю. Беляев, О.С. Дымшакова

*Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН, Екатеринбург,
belyaev@ipae.uran.ru*

Исследование аллозимного полиморфизма и полиморфизма фрагментов хлоропластной ДНК (PCR-RFLP) у представителей рода *Glycyrrhiza* L. – солодки голой (*G. glabra* L.), с. Коржинского (*G. korshinskyi* Grig.) и с. уральской (*G. uralensis* Fisch.) в районах их естественного распространения в Северной Евразии позволило нам приблизиться к расшифровке происхождения солодки Коржинского – заводско-казахстанского (северотуранского) эндемичного вида. Исследование «чистых» образцов с. Коржинского из ряда районов Южного Урала и Зауралья, удаленных от зон контакта с другими видами солодки, показало, что данный вид почти не содержит аллелей аллозимных локусов солодки голой. Но он весьма близок по этим ядерным маркерам к солодке уральской, в особенности к ее западной расе, обитающей в Зауралье.

Изучение изменчивости хлоропластной ДНК (cpDNA) у 150 особей солодки в рассматриваемом комплексе видов показало иные генетические связи. С помощью универсальных праймеров (Taberlet et al., 1991; Dumolin-Lapegue et al., 1997) были амплифицированы два изменчивых фрагмента хлоропластной ДНК. Рестрикция проводилась с помощью рестриктаз *TaqI* и *HinfI*. При последующем электрофорезе в полиакриламидном геле продуктов рестрикции в исследуемом комплексе растений выявлены четыре гаплотипа. У всех образцов солодки голой обнаружен только гаплотип *a*, он же абсолютно преобладает в популяционных выборках растений из Южного Урала и Приуралья, где широко распространена солодка Коржинского, а также встречается солодка голая и западная раса солодки уральской (*G. uralensis* Fisch. по В.П. Гранкиной (2008)). Гаплотип *b* выявлен у всех образцов солодки уральской (*G. uralensis* s. l.) из Казахстана, Алтайского края, юга Красноярского края и Монголии, и он же изредка встречается в выборках солодки из Южного Зауралья. Это свидетельствует о наличии зоны интрогрессивной гибридизации между южноуральскими популяциями, состоящими из с. Коржинского и западной расы с. уральской, и популяциями солодки уральской (*G. uralensis* s. l.) из внутренних степных и пустынных районов Азии, где, по мнению В.П. Гранкиной (2008), распространены другие виды солодки, объединяемые ранее в один вид – солодка уральская (*G. uralensis* s. l.) (Григорьев, Васильченко, 1948).

Абсолютное преобладание гаплотипа *a* у солодки Коржинского, которая очень близка к солодке уральской по комплексу морфологических признаков и генам аллозимных локусов, свидетельствует, тем не менее, о древней генетической связи этого вида с солодкой голой. Это подтверждает гипотезу Ю.С. Григорьева о гибридном происхождении солодки Коржинского. Древний эндемизм солодки Коржинского подтверждается наличием относительно редкого гаплотипа *c* и редкого гаплотипа *d*, обнаруженных нами только в пределах ареала этого вида.

**ТРЕМАТОДЫ СЕМЕЙСТВА HAPLORORIDAE NICOLL, 1914
КЕФАЛЕВЫХ РЫБ ПРИМОРЬЯ: ДАННЫЕ ЧАСТИЧНОГО
СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА 28S рРНК ВИДОВ РОДА
SKRJABINOLECITHUM BELOUS, 1954**

В.В. Беспрозванных, А.В. Ермоленко, Д.М. Атопкин

Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, Владивосток,
pan2006_82@mail.ru

Род *Skrjabinolecithum* (Trematoda: Digenea: Haplororidae) был выделен Е.В. Белоус в 1954 году по описанию червей, собранных из пиленгаса *Liza haematocheila* в реке Раздольная в окрестностях г. Владивостока. Этим трематодам было присвоено видовое название *Skrjabinolecithum spasskii*. Данный вид считается типовым для этого рода. Характерной особенностью этого вида является наличие шнуровидных желточников, что отличает его от представителей других родов семейства Haplororidae. Помимо типового вида род *Skrjabinolecithum* включает виды *S. indicum* (Zhukov, 1972), *S. vitellousum* (Martin, 1973) и *S. lobelecithum* (Martin, 1973), которые паразитируют у морских и эстуарных рыб Восточного Полушария.

Методом автоматического ПЦР-секвенирования получены нуклеотидные последовательности гена 28S рРНК для двух видов трематод рода *Skrjabinolecithum* (*S. spasskii* и *S. flecterotestis*) из кефалевых рыб юга Дальнего Востока России. Также ген 28S рРНК был получен для двух видов, *S. spasskii* и *S. indicum* из кефалевых рыб Вьетнама. По этим данным дана оценка генетической дифференциации этих видов, а также реконструированы их филогенетические связи с другими представителями семейства Haplororidae. Уровень межвидовой генетической дифференциации внутри рода *Skrjabinolecithum* варьировал от 0,8 % (*S. flecterotestis*/*S. spasskii*) до 12,7 % (*S. indicum*/*S. spasskii*). Генетическая дифференциация нового вида *S. sp.* 1 п. составила 0,7 % с *S. spasskii* и 0,1 % с *S. flecterotestis*. Вид *S. indicum* дифференцировался с остальными видами с максимальными значениями, 12,6–12,7 %. Минимальный межвидовой уровень дифференциации, известный для трематод семейства Haplororidae по данным секвенирования 28S рДНК, составляет 0,9 % (Blasco-Costa et al., 2009). Поэтому наши данные подтверждают валидность *S. spasskii*, *S. flecterotestis* и *S. indicum*. Результаты филогенетического анализа с помощью алгоритмов максимального правдоподобия и метода Байеса подтвердили видовую самостоятельность *S. flecterotestis*, *S. spasskii* и *S. indicum*. Для *S. spasskii* из пиленгаса юга Дальнего Востока России была выявлена внутривидовая изменчивость гена 28S рРНК. Было выявлено два варианта последовательностей 28S рДНК, дифференциация между которыми составила 0,4 %. Особи *S. spasskii*, обладающие разными вариантами гена 28S рРНК, разделились на филогенетическом древе на две группы. Основная часть экземпляров *S. spasskii* сформировала первую группу, во вторую вошло 4 особи. Последовательности 28S рДНК этого вида из Вьетнама оказались идентичны последовательностям из второй группы. Однозначно интерпретировать полученный результат на данный момент невозможно, так как не существует единого мнения относительно генетического критерия вида по данным секвенирования гена 28S рРНК. Тем не менее, полученный нами результат может свидетельствовать о наличии миграционных путей окончательных хозяев *S. spasskii* между Дальним Востоком России и Вьетнамом.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ БЕЛКИ ОБЫКНОВЕННОЙ, *SCIURUS VULGARIS* L., НА ЗАПАДЕ УКРАИНЫ

С.Ю. Билоконь¹, М.М. Белоконь², Ю.С. Белоконь², И.В. Дикий¹

¹Львовский национальный университет им. Ивана Франко, Львов,
bilokon1990@gmail.com

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, belokon@vigg.ru

Белка обыкновенная (*Sciurus vulgaris* L.) – широко распространенный вид, встречающийся в лесах от Британских островов на западе до п-ова Камчатка на востоке. На ареале *S. vulgaris* описано более 40 подвидов, отличающихся особенностями окраса шерсти. По литературным данным на территории Украины обитают до четырех подвидов: *S. vulgaris varius*, *S. vulgaris kessleri*, *S. vulgaris carpathicus*, *S. vulgaris fuscoater* (Шнаревич, 1950; Татаринцов, 1956). Целью нашего исследования было изучение генетической изменчивости белок с рыжим окрасом, обитающих в равнинной части Львовской, Волынской и Тернопольской областей. В исследовании нами были использованы образцы белок из Зоологического музея ЛНУ им. И. Франко и Государственного природоведческого музея НАН Украины – всего 29 особей, собранных за период с 1949 по 2012 гг. По морфологическим характеристикам все они предположительно принадлежали к подвиду *Sciurus vulgaris kessleri* Migulin. Для выделения ДНК использовали спиртовые препараты мышечной ткани и фрагменты шкур и тушек (кожа с мехом). Генетический анализ проводили с использованием восьми микросателлитных локусов: *RSu1*, *RSu3*, *RSu4*, *RSu5*, *RSu6*, *Scv12*, *Scv13* и *Scv19*. Все локусы оказались полиморфными (от трех до семи аллелей в каждом). Не было обнаружено существенных различий в частотах аллелей между образцами, собранными за период с 1949 по 1955 гг. (16 экземпляров, попавших в музейные коллекции до запрета охоты на белку в Украине), и образцами 2005–2012 гг. Для рассмотренной выборки белок определили показатели генетической изменчивости. Среднее число аллелей на локус составило 5,13. Показатели средней наблюдаемой (H_o) и средней ожидаемой (H_e) гетерозиготностей составили 0,663 и 0,654 соответственно. Индекс фиксации (F) указывает на отсутствие значительных отклонений частот генотипов от ожидаемых, исходя из равновесия Харди – Вайнберга по семи локусам. По локусу *Scv19* отмечен незначительный дефицит гетерозигот. Сравнив полученные в нашем исследовании показатели генетической изменчивости с данными европейских авторов, полученными с использованием тех же локусов (Todd, 2000; Hale et al., 2001), мы установили, что для рыжей белки, обитающей на территории Прикарпатья и Волыни, характерно более высокое генетическое разнообразие, чем для популяций из Западной Европы.

Работа выполнена при частичной поддержке подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

ПОДБОР ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ISSR-АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ДНК *PINUS SYLVESTRIS* L.

И.В. Бобошина¹, Ю.С. Нечаева¹, А.И. Видякин², С.В. Боронникова¹

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, coccinela@yandex.ru

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, les@aiv.kirov.ru

Для решения современных проблем лесоводства необходима оценка биоразнообразия лесных экосистем, важным элементом которой является изучение генофонда основных лесобразующих пород. Леса с доминированием сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) занимают около 17 % общей лесопокрытой площади России, произрастают почти во всех подзонах страны от крайней северной тайги до Закавказья и от самых западных до восточных границ (Абдуллина, Петрова, 2012). Одним из основных методов изучения динамики состояния генофондов является молекулярно-генетический анализ полиморфизма ДНК (Динамика..., 2004).

Нами был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeat, Zietkiewicz et al., 1994), который в настоящее время широко используется при обнаружении внутривидового полиморфизма растений (Кадырова и др., 2010). Для проведения молекулярно-генетического анализа необходимо подобрать эффективные праймеры, которые выявляют наибольшее число четко воспроизводимых полиморфных фрагментов ДНК.

Цель данной работы – подбор наиболее эффективных праймеров для молекулярно-генетического анализа ДНК *Pinus sylvestris* L. с использованием ISSR-анализа.

Геномную ДНК *P. sylvestris* мы выделяли из свежих почек и хвои модифицированным методом С.О. Роджерса и Э.Дж. Бендича (1985), с использованием в качестве сорбента PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). Каждая навеска составляла 100 мг. Концентрацию и качество ДНК определяли на спектрофотометре SpectrofotometrTM NanoDrop 2000 (Thermo scientific, USA). Тотальная ДНК была разбавлена до концентрации 10 нг/мкл в ТЕ-буфере. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) по типичной для ISSR-метода программе (Молекулярная генетика..., 2007).

Для выявления уровня полиморфизма ДНК *P. sylvestris* нами был проведен подбор ISSR-праймеров. Отбор праймеров осуществлялся по эффективности выявления полиморфизма ДНК, рассчитанной в соответствии со шкалой 1–5: от низкой до высокой (Боронникова, Календарь, 2007). Каждый праймер индивидуально был анализирован в ISSR-ПЦР с геномной ДНК исследуемого вида. Нами было протестировано 23 ISSR-праймера, которые состояли из ди- и тринуклеотидных мотивов микросателлитов.

Один праймер (X1) не выявил ни одного фрагмента, праймеры M2, M9, ISSR-4, ISSR-6, ISSR-7, ISSR-8 и CR-216 выявили только мономорфные фрагменты. При использовании праймеров ISSR-3, ISSR-5, ISSR-9, ISSR-10, CR-217, CR-218, M1, M3, M9, X9 и X11 амплифицировалось от 4 до 8 фрагментов. Самыми информативными праймерами оказались праймеры ISSR-1, CR-212, CR-215, M27 и X10 – они дали наибольшее число четко воспроизводимых и хорошо различимых при повторных ПЦР фрагментов. Эти праймеры отобраны нами для дальнейшего молекулярно-генетического анализа ДНК *P. sylvestris*.

Работа выполнена на оборудовании, закупленном в ходе реализации проекта развития Пермского национального исследовательского университета. Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ (проекты № 09-04-00177-а; № 12-04-00062-а).

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФРАГМЕНТА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНА ПЕРВОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ ЦИТОХРОМОКСИДАЗЫ У ЖЕЛТОГОРЛЫХ МЫШЕЙ *SYLVAEMUS FLAVICOLLIS* В ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА ВИДА

А.С. Богданов¹, В.В. Стахеев², А.Е. Зыков³, Н.М. Окулова⁴, Т.А. Миронова⁴,
Ю.М. Ковальская⁴, Ф.Г. Бидашко⁵

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, bogdalst@yahoo.com,

²Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону,

³Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко, Киев,

⁴Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,

⁵Уральская противочумная станция, Уральск

У желтогорлой мыши *Sylvaemus flavicollis* ранее была выявлена дифференциация последовательностей митохондриального гена цитохрома *b* на несколько слабо разобщенных групп, не показывающих соответствия географическому происхождению животных (Michaux et al., 2005). Однако анализ фрагмента другого митохондриального гена – гена первой субъединицы цитохромоксидазы (*COI*) – у 22 желтогорлых мышей 8 выборок из Восточной Европы позволил предположить строгую дифференциацию вида на северную и южную линии, контактирующие на западе Украины (в Карпатах) с образованием гибридных популяций (Богданов и др., 2012). Для проверки данной гипотезы нами проведено секвенирование этого же участка гена *COI* (654 п.н.) у 47 особей из других 15 пунктов восточной части ареала *S. flavicollis*.

Митотипы распределились на дендрограммах в два отчетливых кластера, и во всех выборках присутствовали варианты *COI* либо одного, либо другого типа; исключение составляет ранее исследованная, предположительно гибридная выборка из окр. пос. Воловец Закарпатской области Украины (Богданов и др., 2012). Таким образом, полученные результаты подтверждают существование северной и южной внутривидовых форм желтогорлой мыши, отчетливо, но слабо разобщенных генетически (величина средней дистанции между ними, рассчитанной по двухпараметрическому алгоритму Кимуры, составила 0,020). Северная форма более полиморфна, чем южная. По-видимому, данные внутривидовые формы *S. flavicollis* характеризуются парапатричным распространением. Северная форма обитает на Северо-Западной Украине, в Центральной Белоруссии, в Калининградской области и на большей части Нечерноземного региона России. Важную роль в распространении северной формы играла Волга: по ее правому берегу северная форма проникла к югу до Саратовской области; возможно, к этой же форме принадлежат также левобережные и приуральские популяции желтогорлой мыши. Южная форма обнаружена на территории Украины (кроме северо-западной ее части), в Центрально-Черноземном регионе России и на юге Нечерноземного региона (к северу проникает до левобережья Оки). Помимо Западной Украины, высоко вероятны контакт и гибридизация форм желтогорлой мыши на территории Северной Украины, Южной Белоруссии, на юге Московской области и на правобережье Волги в Саратовской, Ульяновской, Самарской областях.

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ Cd^{2+} НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ *ARABIDOPSIS THALIANA*

О.С. Бреева, И.И. Панчук

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
irina.panchuk@gmail.com

Антропогенное воздействие на биосферу приводит к росту содержания тяжелых металлов в окружающей среде. Кадмий (Cd) относится к числу тех, которые оказывают сильное токсическое действие на растения. Фитотоксичность кадмия, прежде всего, связана с тем, что при его воздействии в растительной клетке возрастает уровень активных форм кислорода (АФК) и развивается оксидативный стресс (Gill et al., 2010).

Представителем АФК является перекись водорода, которая кроме вредного воздействия может выступать в роли сигнальной молекулы (Gill et al., 2010). В растительной клетке детоксикацию избытка перекиси водорода осуществляют ферменты – каталаза и группа пероксидаз, в частности, гваяколпероксидаза (POD) (Jouili et al., 2011). Целью нашей работы было изучение влияния различных концентраций ионов кадмия на активность POD у растений *Arabidopsis thaliana*.

Для исследований использовали растения *A. thaliana* 5-недельного возраста. Растения выращивали при 20 °C в условиях 16-часового светового дня. Поскольку известно, что корневая система может выполнять барьерную функцию, мы использовали растения с отделенной корневой системой. Для этого в воде острым лезвием отделяли надземную часть от корневой и место среза погружали в 0,5-кратную среду Мурасиге – Скоуга (0,5 × MS), которая содержала различные концентрации хлорида кадмия – 0,1; 0,5 и 5 мМ. Стресс проводили в темноте в течение 2-х и 12-ти часов. Контрольные растения инкубировались в течение указанного времени в среде 0,5 × MS без добавления ионов Cd^{2+} . В качестве дополнительного контроля служили интактные растения, которые замораживали в жидком азоте непосредственно после отделения корневой системы.

Активность POD измеряли спектрофотометрически по известному в литературе методу (Amako et al., 1994).

Измерение активности POD показало, что при воздействии 2-часового стресса, вызванного ионами Cd^{2+} , было выявлено снижение активности POD. При этом максимальное уменьшение активности на 28 % было отмечено в присутствии 5 мМ хлорида кадмия. Действие концентраций 0,1 и 0,5 мМ вызывало снижение активности POD на 20–25 %, по сравнению с контрольными образцами. Возможным объяснением этого может быть оксидативная инактивация POD при воздействии ионов Cd^{2+} .

Продолжение стрессового воздействия до 12 часов вызывало увеличение активности пероксидазы у растений арабидопсиса. Так, при действии 0,1, 0,5 и 5 мМ хлорида кадмия наблюдалось повышение активности POD, соответственно на 57, 48 и 96 %, по сравнению с контролем. Таким образом, при 12-часовой обработке хлоридом кадмия происходит активация фермента POD. Это свидетельствует о том, что пероксидаза играет важную роль в защите растительной клетки при данных стрессовых условиях.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *IRIS PUMILA* L. В УКРАИНЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ISSR-АНАЛИЗА

Е.Н. Бублик, И.О. Андреев, И.Ю. Парникоза, В.А. Кунах

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев,

e-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

Iris pumila L. (Iridaceae) – декоративный и селекционно-ценный вид. Численность вида постепенно сокращается; *I. pumila* охраняется на территории ряда областей Украины. Это обуславливает потребность в оценке угрозы потери генетического разнообразия вида, анализе генетической структуры, изучении генетических процессов в популяциях, а также разработке на основе этих данных научно обоснованных подходов к сохранению и эксплуатации вида. Насколько известно, до сих пор молекулярно-генетических исследований состояния генофонда и уровня полиморфизма *I. pumila* не проводилось.

Исследование выполнено на материале из четырех природных популяций: три из Николаевской и одна из Полтавской области. Исследованы ДНК 40 растений с использованием 7 ISSR-праймеров.

Для *I. pumila* установлен достаточно высокий уровень генетического разнообразия. Значения основных показателей генетического полиморфизма для четырех популяций были близки и в среднем составили: доля полиморфных ампликонов – 53,0 %, индекс Шеннона – 0,212; несмещенное генное разнообразие Нея (ожидаемая гетерозиготность H_e) – 0,139; средние генетические расстояния Жаккарда – 57,6 %. Такой уровень генетической изменчивости соответствует или превышает уровни изменчивости других видов рода, описанные в литературе, и свидетельствует об отсутствии близкой угрозы обеднения генофонда вида.

В одной из популяций Николаевской обл. обнаружен более высокий уровень полиморфизма, что можно связать с большим размером этой популяции – свыше тысячи особей, тогда как у остальных он составляет лишь 40–200 особей. Известно, что уровень генетического полиморфизма положительно коррелирует с размером популяции. Вместе с тем, по нашим результатам, даже небольшие популяции *I. pumila*, вытесненные в ограниченный ареал, сохранили высокий уровень генетического полиморфизма. Популяция из Полтавской обл., расположенная на северной границе ареала вида в Украине, не обнаружила отличий от популяций из его центральной части по уровню генетического полиморфизма.

Популяции из Николаевской обл., находящиеся на расстоянии 1,5 км, обладали более высоким генетическим подобием по сравнению с другими, разделенными сотнями километров, что свидетельствует о свободном обмене генетической информацией между популяциями, расположенными по соседству.

Генетический полиморфизм *I. pumila* по результатам AMOVA сосредоточен преимущественно внутри популяций (79 %), дифференциация между популяциями сравнительно невелика (21 %), что характерно для перекрестноопыляемых видов, к которым относится *I. pumila*.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КАРИОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ В СТРУКТУРЕ НАДВИДОВОГО КОМПЛЕКСА ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК *MICROTUS ARVALIS* S. L. (RODENTIA: CRICETIDAE)

Н.Ш. Булатова¹, Л.А. Лавренченко¹, С.Г. Потапов¹, С.В. Павлова¹,
С.А. Романенко², Н.А. Сердюкова², Ф.Н. Голенищев³, В.М. Малыгин⁴

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

²Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения РАН,
Новосибирск

³Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва; admin@sevin.ru

Криптические, распознаваемые по кариотипу виды образуют компактный по географическому ареалу и видовому содержанию подрод *Microtus* s. str. в составе рода *Microtus* – исключительного по видовому разнообразию среди грызунов, населяющих северную часть Евразии. Согласно последней отечественной сводке (Павлинов, Лисовский, 2012), подрод представлен 5 видами, два из которых (*M. arvalis*, *M. rossiaemeridionalis*) распространены в России. Именно эта пара видов в 1960-х гг. была первым примером обнаружения по кариотипу видов-двойников ($2n=46$ и $2n=54$, соответственно) среди млекопитающих Европы. С первых кариологических исследований в те же годы у *M. arvalis*, кроме того, были открыты две формы 46-хромосомного кариотипа с различиями в морфологии мелких пар аутосом, но до сих пор остался неразрешенным вопрос об их таксономическом статусе. Несмотря на растущее, при применении все новых методов, число дифференцирующих признаков кариотипа и генома между географическими формами, западной и восточной, названных, соответственно, по имени подвидов – номинативного ‘arvalis’ и алтайского ‘obscurus’, и четкую границу стыка двух кариоформ в Восточной Европе, отсутствие репродуктивной изоляции служит препятствием к признанию отечественными зоологами (цит.) видовой самостоятельности двух генетических таксонов. Между тем, такие свойства, как узость естественной гибридной зоны, обнаруживающей биполярную структуру в пределах не более чем 2 км, различия в подразделенности на хромосомные и ДНК-сублинии и неизменность в целом генетических маркеров на обширных ареалах этих двух форм и в зоне контакта между ними, свидетельствуют об их различных эволюционных историях. Придание двум контактирующим и геномно различающимся формам видového статуса *M. arvalis* и *M. obscurus* полностью соответствует концепции полувида (Лавренченко и др., 2009) и признается исследованиями в полном масштабе надвидового ареала от запада Европы до Китая (Tougaard et al., 2013). Новые молекулярно-цитогенетические данные (Павлова и др., 2012, Булатова и др., 2013) свидетельствуют о политипии на уровне маркерных сайтов тДНК и рДНК в крупных, морфологически консервативных парах двух 46-хромосомных вариантов, что может являться дополнительным подтверждением видовой самостоятельности *M. obscurus*.

Поддержка грантами РФФИ и программой Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ НОМОВАСИДИОМΥСΕΤΙDΑΕ В ЮЖНОЙ ТАЙГЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

О.Б. Вайшля, Н.Н. Агафонова, Е.В. Комлева

Томский государственный университет, Томск,
planta@mail.tomsknet.ru

Подзона южной тайги Томской области является интереснейшим регионом с точки зрения открытия новых или редких видов макромицетов, связанных не только с таежными экосистемами, но и видов, проникших сюда из Европы (*Agaricus dulcidus*, *Amanita virosa*, *Coprinopsis extinctorius*, *Limacella ochracelutea*), Дальнего Востока (*Polyporus ulmarius*) и Северной Америки (*Suillus intermedius*, *Russula brevipes*, *Poliota kodiakensis*).

Систематическое изучение микобиоты Томской области не проводилось почти 30 лет, исследования были возобновлены в первом десятилетии XXI века сотрудниками Томского государственного университета Н.Н. Агафоновой и С.И. Гашковым. Количество зарегистрированных видов грибов составляет около 50 % от предполагаемого разнообразия Томской области. Максимальное разнообразие видов обнаружено у базидиальных грибов (подкласс Agaricomycetidae): 1094 вида из 16 порядков, 71 семейства, 272 родов. Впервые в Томской области выявлено 199 вида, новых для области; 41 – для Западной Сибири, 5 – для России; статус редкий вид заявлен для 167 видов.

В целях сохранения и таксономического изучения макромицетов Томской области в научно-инновационном центре «Планта» ТГУ проводится работа по их культивированию *in vitro* и изучению свойств. Для видов, трудных в систематическом определении, используется ДНК-идентификация. Выделение и очистку ДНК из плодовых тел и мицелия проводили с помощью наборов «Quiagen», ПЦР и секвенирование – по Von Clapp. Для амплификации области ITS1-5.8S-ITS2 рибосомальной ДНК использовали общий для грибов праймер ITS1F (5'-CTTGGTCAATTAAGAGGAAGTAA3') и специфичный для базидиомицетов праймер ITS4B (5'-TCCTCCGCTTATGATATGC3'). Полученные последовательности сравнивали с сиквенсами базы данных UNITE в программе BLAST.

Благодаря молекулярно-генетическому методу были определены несколько новых и редких видов базидиальных макромицетов для Томской области, Сибири и России:

Cortinarius claricolor (Fr.) Fr. – Паутинник светло-охристый, образец № CCTR 1371. Для регионов Сибири приводится как редкий вид.

Cortinarius esculentus Lebedeva – Паутинник съедобный, или толстушка, образцы №№ CCTR 98, 220. В Томске впервые найден в 2004 году. В России не обнаружен.

Cortinarius leucophanes P. Karst. – Паутинник бело-блестящий, образец № CCTR 1369. Очень редкий вид, в Томской области найден впервые.

Cortinarius purpurescens Fr. – Паутинник багряный, образец № CCTR 984 Зарегистрирована единичная находка вида в 2006 г.

Suillus intermedius (A.H. Sm. & Thiers) A.H. Sm. & Thiers – Масленок средний, образцы №№ 87, 1276, 2454, 2733. Североамериканский вид, в Томской области найден в 2004 г.

Russula brevipes Peck – Сыроежка коротконогая, образец № 1432. Внешне очень похож на *Russula chloroides* (Krombh.) Bres. Североамериканский вид, первая находка в Томской области.

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ И ЭВОЛЮЦИЯ КЛОНАЛЬНО-БИСЕКСУАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЩИПОВОК (*COBITIS*, *COBITIDAE*, *PISCES*) ПО МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ И КАРИОЛОГИЧЕСКИМ ДАННЫМ

В.П. Васильев¹, Е.Д. Васильева², Е.Б. Лебедева¹

¹Институт проблем экологии эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Зоологический музей, Москва, vas_katerina@mail.ru

Представители р. *Cobitis* – мелкие пресноводные рыбы, часто встречающиеся в водоемах Старого Света. До недавнего времени таксономия видов этого и других близких родов была разработана крайне неудовлетворительно. Так, ранее считалось (Берг, 1949), что ареал обыкновенной щиповки *C. taenia* простирается от Японии до западной Европы, тогда как на самом деле этот вид распространен от Урала до восточной Франции, а в бассейне Дона он отсутствует (Васильев и др., 2007). Филогеографические исследования (цитохром *b*) показали, что экспансия *C. taenia* в Европу осуществлялась от бассейна Каспия в западном и северо-западном направлениях (Culling et al., 2006). Также было показано, что ряд форм, ранее относимых к *C. taenia*, являются самостоятельными, но морфологически слабо различимыми видами: *C. tanaitica*, *C. taurica*, *C. elongatoides*, *C. pontica* и др. Анализ структуры цитохрома *b* и гена RAG-1 позволил показать, что роды *Cobitis* и *Misgurnus* не являются монофилетическими (Anabel et al., 2012). Прогресс в исследовании таксономии и филогении р. *Cobitis* и других близких родов связан, главным образом, с двумя причинами: использование методов сравнительной генетики, включая молекулярно-генетические, и открытие клонально-бисексуальных комплексов в этом роде (Васильев, Васильева, 1982; Vasil'ev et al., 1989). Клональные (однополо-женские) формы имеют гибридное происхождение, поэтому познание таксономии близких бисексуальных видов имеет важное значение для реконструкции филогенезов клональных форм. Согласно нашим и литературным данным, клонально-бисексуальные комплексы щиповок распространены от бассейна Волги до бассейнов Дуная и Рейна. Нами обнаружены комплексы в бассейнах Волги, Дона, Днепра, Днестра, Южного Буга, Дуная и Западной Двины. Показано, что клональная форма из бассейна Дона является тетраплоидной и имеет тригибридное происхождение, клональные формы из других бассейнов являются дигибридными или тригибридными триплоидами. Изучение структуры цитохрома *b* позволило определить видовую принадлежность самок, которые принимали участие в возникновении клональных форм.

Особый интерес представляют полученные нами результаты мультилокусного анализа мини- и микросателлитных ДНК (ДНК-фингерпринтинг) однополых форм, доказавшие, что они действительно являются клональными, и позволившие выявить их клональную структуру. Так, однополые формы из р. Москвы, Оки и Дона являются моноклональными, а однополые формы из верхнего Днепра и Западной Двины представлены 4–5 клонами. Сравнительный анализ распространения однополых моноклональных и бисексуальных форм показывает, что однополые формы более узко адаптированы, чем бисексуальные.

ПРОБЛЕМЫ ТАКСОНОМИИ БЫЧКОВЫХ РЫБ (GOBIIDAE, PISCES) ПОНТО-КАСПИЯ: ДАННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Е.Д. Васильева¹, Д.А. Медведев², В.П. Васильев²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Зоологический музей,
Москва, vas_katerina@mail.ru

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

Семейство рыб Бычковые (Gobiidae) включает около двух тысяч видов, обитающих преимущественно в морских и солоноватых водах тропиков и субтропиков. Большинство бычков – мелкие виды, идентификация которых вызывает большие трудности. Поэтому таксономический статус ряда форм является предметом дискуссий, как и филогенетические отношения многих видов. В бассейне Понто-Каспия обитает около 50 видов бычков. В результате молекулярно-генетических исследований было показано, что род *Proterorhinus*, считавшийся долгое время монотипическим, представлен четырьмя значительно дивергировавшими филетическими линиями. На основе анализа изменчивости мтДНК (фрагмент гена цитохрома b, 408 п.н.) в 15 популяциях бычков-цуциков рода *Proterorhinus* из бассейнов Черного, Азовского и Каспийского морей показано, что в бассейне Черного моря обитают два эвригалинных вида: естественный ареал первого (*P. semilunaris*) охватывает северо-западную часть моря, а второй (*P. marmoratus*) – распространен в северо-восточной части; в Одесском заливе, дельте Днестра и в Тилигульском лимане наблюдается вторичный контакт двух видов, сопровождающийся случаями гибридизации. Филетическая линия бычков, соответствующая виду *P. marmoratus*, включает как чисто морские популяции, обитающие у берегов Крыма, так и бычков, обнаруженных в пресной воде Черной речки у г. Севастополь, ранее описанных как новый вид – *P. tataricus* Freyhof et Naseka, 2007. В бассейне Каспийского моря выявлены две самостоятельные филетические линии, одна из которых включает, помимо каспийских, ряд популяций из бассейна Азовского моря.

Данные по изменчивости митохондриального генома свидетельствуют в пользу таксономической неоднородности бычка ширмана *Ponticola syrman*. В то же время молекулярно-генетические исследования пуголовок из бассейна Азовского моря (низовье р. Дон) и северо-восточной части Черного моря (дельта Дуная), где, по мнению некоторых авторов (Boldyrev, Bogutskaya, 2004, 2007; Kottelat, Freyhof, 2007), помимо *Benthophilus stellatus* обитают еще два вида – *B. durrelli* и *B. nudus*, не выявили различий между изученными формами, что свидетельствует об их конспецифичности.

Наряду с решением таксономических проблем филогенетический анализ позволяет выявить пути расселения и источники случайной интродукции ряда видов бычковых рыб, обнаруженных за последние годы в новых для них пресных водоемах. Так, обнаружение в пресных водах Крыма бычков с гаплотипами, характерными для вида *Proterorhinus semilunaris*, населяющего северо-западную часть Черноморского бассейна, объясняется проникновением по построенным каналам из бассейна Днепра и случайным вселением в результате интродукции экономически ценных видов рыб.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФИЛОГЕНИЙ: ОЦЕНКА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО СИГНАЛА РАЗНЫХ СИСТЕМ ПРИЗНАКОВ МЕТОДАМИ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ

А.Г. Васильев¹, И.А. Васильева¹, А.А. Войта², Ю.Н. Литвинов³

¹Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН, Екатеринбург, vag@ipae.uran.ru

²Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, desmana.zin@gmail.com

³Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН, Новосибирск, litvinov@eco.nsk.ru

Проблема конгруэнтности молекулярной и морфологической филогений и оценки филогенетического сигнала для разных систем признаков становится все более актуальной по мере осознания необходимости верификации филогенетических гипотез, построенных на основе применения различных алгоритмов, а также поиска направлений эволюционно-морфологических преобразований в разных таксономических группах. Для решения этих задач все шире используются технологии морфологического картирования филогенетических деревьев, полученных молекулярно-генетическими методами, а также оценки филогенетического сигнала в разнообразии морфоструктур на основе использования методов геометрической морфометрии – ГМ (Clabaut et al., 2007; Klingenberg, Gidaszewski, 2010). Цель работы заключалась в оценке степени согласованности морфологических и молекулярных филогений для разных систем морфологических признаков (краниометрических, одонтометрических, неметрических) на примере нескольких таксономических групп грызунов сем. Cricetidae и Muridae. Использовали методы ГМ при оценках уровня филогенетического сигнала для традиционно используемых систематиками и палеонтологами щечных зубов m1 и M3, а также для дискретных гомологичных фенотипов неметрических признаков осевого черепа и нижней челюсти (Васильев, Васильева, 2009). Филогенетический сигнал, содержащийся в разных морфоструктурах, оценивали как на основе уже опубликованных молекулярных филогений, так и вновь построенных филогенетических деревьев по нуклеотидным последовательностям митохондриального гена *cyt b* из GenBank. При морфокартировании применяли алгоритм квадратирующей парсимонии (Maddison, 1991), а при тестировании филогенетического сигнала – перестановочный (permutation) тест (Klingenberg, Gidaszewski, 2010), реализованные в программе MorphoJ (Klingenberg, 2011). Морфологическое картирование молекулярной филогении по разным признакам позволило установить, что в разных надвидовых таксонах одни и те же морфоструктуры могут проявлять себя по-разному: у одних таксономических групп их разнообразие дает высокий филогенетический сигнал (значения *CI* – consistency index и *RI* – retention index близки к 1), у других, напротив, имеют низкие значения. Показано, что композиции гомологичных фенотипов неметрических признаков черепа (фенограммы) проявляют высокий и статистически значимый филогенетический сигнал у разных таксономических групп.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-00720 и проекта программы фундаментальных исследований Президиума УрО № 12-С-4-1031.

МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ И ФИНЛЯНДИИ

А.В. Ветчинникова¹, А.Ф. Титов², А.В. Топчиева², И.Е. Малышева²

¹ Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск,
vetchin@krc.karelia.ru

² Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск,
titov@krc.karelia.ru, topchieva67@mail.ru

Карельская береза *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti является уникальным представителем лесов Северной Европы, получившим широкую известность благодаря декоративной узорчатой текстуре древесины. Проводимые исследования показывают, что в последнее столетие наблюдается не только сокращение ее численности, но и снижение жизнеспособности популяций карельской березы в целом, о чем, в частности, свидетельствует отсутствие естественного возобновления на всем протяжении ее ареала. В связи с этим целью нашей работы было изучение генетической структуры наиболее крупных популяций карельской березы, находящихся на территории Карелии и Финляндии.

Микросателлитный анализ проводили по четырем локусам: L2.3, L5.4, L7.3, L7.4 (Kulju et al., 2004). Для амплификации ДНК использовали 4 праймера («Синтол», Россия). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad), используя набор для ПЦР MasterMix (Fermentas). Разделение и определение микросателлитных фрагментов осуществляли на приборе CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter) с помощью набора GenomeLab Fragment Analysis. Для статистической обработки результатов использовали пакеты программ PopGene 1.32, GenStat 7.0, Arlequin 3.01.

Сравнительное изучение пяти наиболее крупных популяций карельской березы, расположенных в северной части ее ареала на территории Карелии и Финляндии, показало, что по уровню генетического разнообразия ($H_e = 0,86$) они соответствуют панмиктическим популяциям. При этом финская популяция характеризовалась более высокими значениями аллельного и генотипического разнообразия по сравнению с карельскими. Дендрограмма генетического сходства, построенная на основе частот микросателлитных локусов, показала генетическую близость карельской популяции из Заонежья и финской популяции. В то же время установлена значительная межпопуляционная дифференциация ($F_{st} = 0,14$), которая, по всей вероятности, обусловлена изолированностью исследованных популяций.

Таким образом, анализ генетической структуры популяций карельской березы, расположенных на территории Карелии и Финляндии, проведенный с помощью микросателлитных маркеров, позволяет заключить, что продолжающееся в настоящее время сокращение ее численности может привести к существенному снижению ее генетического разнообразия и деградации генофонда. Воспрепятствовать этому можно, если будет осуществлена специальная программа, направленная на сохранение и восстановление генофонда этого высокоценного вида древесных растений.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЛИСТОСТЕБЕЛЬНЫХ ПЕЧЕНОЧНИКОВ РОДА *LIOSCHLAENA* NEES

А.А. Вильнет, Н.А. Константинова

Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина
Кольского научного центра РАН, Кировск,
anya_v@list.ru, nadya50@list.ru

Использование молекулярно-генетического подхода при изучении печеночников на уровне родов и видов в настоящее время становится актуальным в связи с достижением надежных результатов в области макрофилогении и систематики отдела и неспособностью классических методов разрешить длительно существующие проблемы разграничения морфологически сходных таксонов, уточнения их статуса, экологии и распространения.

Современными работами опровергнуты представления о близком родстве *Liochlaena* Nees с таксонами *Jungermannia* L. s. l., а сам род включен в олиготипное семейство Delavayellaceae R.M. Schust. (Jungermanniales H. Klinggr.). К *Liochlaena* в настоящее время с уверенностью относят только два морфологически сходных вида – *L. lanceolata* Nees и *L. subulata* (A. Evans) Schljakov, которые иногда рассматривают как подвиды одного вида. Проблема разграничения этих таксонов, встречающихся во флорах отдельных регионов России, побудила нас выявить уровень их молекулярно-генетической дифференциации.

Нами были отобраны 22 образца *L. lanceolata* и 26 образцов *L. subulata*, для которых получены последовательности *trnL*-F и интрона *trnG* хпДНК, а ITS1-2 ядДНК – для 18 образцов каждого вида. Исследованы образцы из различных регионов России, а также Чехии, Южной Кореи и США, использованы данные GenBank (Финляндия, США). Построение дендрограмм осуществлялось по каждому из локусов отдельно, или с объединением двух хлоропластных маркеров, методами максимальной экономии, максимального правдоподобия и методом Байеса. Топологии деревьев различны; количество полученных клад не соответствует двум морфологически выделяемым таксонам. По ITS1-2 получены две клады и одна града, по *trnL*-F – 3 клады, по *trnG* и *trnL*-F+*trnG* – 4 клады. За исключением двух американских все исследованные образцы *L. lanceolata* на всех топологиях локализованы в одной кладе. Образцы *L. subulata* формируют две или три клады. Образцы *L. subulata* из Бурятии, Тувы, Алтая и Хабаровского края образуют кладу во всех вариантах анализа. Града *L. subulata* с образцами с Кавказа, Приморья, Курил и Южной Кореи имеет сестринское родство кладе «южно-сибирской» *L. subulata* по ITS1-2. По данным хпДНК града *L. subulata* распадается на две клады, сестринские *L. lanceolata*, причем образцы с Кавказа, Приморья и Южной Кореи идентичны *L. lanceolata* по *trnL*-F, а образцы с Курильских островов маркируются по каждому из хлоропластных локусов.

Все вовлеченные в анализ образцы *L. subulata* имеют сходные экологические и ценотические предпочтения и характерные морфологические признаки: растения относительно мелкие, не более 2,5 мм шириной, двудомные, с видоизмененными выводковыми побегами. Однако согласно полученным топологиям собственно к *L. subulata* можно отнести только образцы из Бурятии, Тувы, Алтая и Хабаровского края. Растения с морфологией *L. subulata* с Кавказа, Приморья, Курил и Южной Кореи, возможно, имеют довольно древнее гибридное происхождение от *L. subulata* и *L. lanceolata* и, по-видимому, заслуживают таксономического обособления.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (12-04-01476, 12-04-91150).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗОЛЯТОВ Y-ВИРУСА КАРТОФЕЛЯ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В РЯДЕ РЕГИОНОВ РОССИИ

С.Г. Вологин¹, Н.Д. Былинкина²

¹Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Казань,
semen_vologin@mail.ru

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

Y-вирус картофеля (YBK) широко распространен во всем мире. В посадках картофеля YBK распространяется с высокой скоростью и приводит к значительным потерям урожая. Инфекция проявляется в виде мозаичности листовой ткани, а также некротических повреждений листьев, стеблей, ягод и клубней. Различия в морфологических проявлениях YBK обусловлены вариациями вирулентности отдельных штаммов.

Было исследовано 28 изолятов YBK, выделенных в период 2005–2012 гг. на территории Республик Татарстан, Удмуртия, Коми, Чувашия, а также Самарской, Кировской, Свердловской и Челябинской областей. Наблюдение симптомов болезни на растениях картофеля, искусственное заражение (ИЗ) растений табака, а также установление серологических свойств с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) позволило идентифицировать изоляты, сходные с ординарным (YBK^O) и некротическим (YBK^N) штаммами вируса. На поверхности ряда образцов были обнаружены некротические кольца, являющиеся характерными проявлениями кольцевого некроза клубней картофеля (КНКК). Большинство данных образцов показали позитивную реакцию на наличие N-серотипа вируса, а при ИЗ табака индуцировали развитие некротических повреждений, на основании чего сделано заключение об инфицировании штаммом YBK^{NTN}. Ряд образцов с симптомами КНКК были инфицированы O-серотипом вируса, что предполагает поражение штаммом YBK^{N-Wi}. Несколько изолятов YBK^{N-Wi} индуцировали процесс некротизации тканей табака.

В настоящее время происхождение различных штаммов YBK связывают с процессом гомологичной рекомбинации, протекающим между базовыми YBK^O- и YBK^N-генотипами вируса. С помощью мультиплексной ПЦР было осуществлено определение «горячих» точек рекомбинации (ТР). Во всех изолятах, отнесенных к YBK^N- и YBK^{NTN}-штаммам, выявлено наличие двух «горячих» ТР в генах *HC-Pro* и *VPg*. В случае изолятов YBK^O и YBK^{N-Wi} обнаружена одна ТР в гене *HC-Pro*. Анализ изолятов YBK^{N-Wi}, проведенный при секвенировании *P1*-гена, показал, что данная группа дифференцируется на подтип А, не имеющий ТР в этой области, и подтип В, содержащий одну минорную ТР. Из 4 изолятов, отнесенных к подтипу YBK^{N-Wi-B}, в 2 изолятах ТР находилась в области 500 нуклеотида и была ранее описана в литературе. В 2 других изолятах минорные ТР находились в области 560 и 700 нуклеотидов и описаны нами впервые. Таким образом процесс генетической рекомбинации в популяции YBK протекает достаточно часто.

В ходе исследования впервые установлена циркуляция штаммов YBK^{NTN} и YBK^{N-Wi} в различных регионах России. Молекулярный анализ не выявил изолятов, содержащих базовые нерекомбинантные формы. Также не обнаружено существование прямой зависимости между молекулярной структурой генома вируса и проявлениями симптомов инфекции.

СТРУКТУРА 5S рДНК НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ СЕМЕЙСТВА LYCAENIDAE

В.В. Гецеу, Р.А. Волков

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
ra.volkov@gmail.com

Гены, кодирующие рРНК (рДНК), принадлежат к тандемно повторяющимся последовательностям, которые часто используют в качестве филогенетического инструмента. Достаточно распространенным является использование рДНК, в частности 5S рДНК, в качестве молекулярных и цитогенетических маркеров при изучении разных групп растений (Grimm and Denk, 2010) и значительно реже – животных (Gornung et al., 2007). В нашей лаборатории проводятся исследования организации 5S рДНК в различных группах чешуекрылых. В частности, в зависимости от длины и нуклеотидной последовательности была предложена классификация 5S рДНК (Череватов, 2011; Cherevatov and Volkov, 2011). В представляемой работе продолжены исследования организации 5S рДНК в роде *Polyommatus*.

Материалом для исследования были бабочки видов *P. semiargus* и *P. eroides*, выловленные на территории г. Черновцы. Для ПЦР-амплификации повторяющегося участка 5S рДНК использовали разработанные нами ранее праймеры RV0803 и RV0902. Полученные амплификаты клонировали в бактериальный вектор и секвенировали на секвенаторе ABI Prism 310.

Анализ полученных результатов показал, что у исследуемых видов в геноме присутствуют повторы 5S рДНК, относящиеся к структурному подклассу Mb. У секвенированных клонов длина кодирующего участка составляет 120 пн, а межгенного спейсера (МГС) – 70–72 пн. МГС проанализированных повторов 5S рДНК исследованных видов относится к структурному подклассу Mb и существенно отличается от МГС подкласса Ma, который был обнаружен ранее у близкого вида *P. icarus*. В частности, выявленные отличия затрагивают и регуляторные участки МГС, необходимые для инициации транскрипции 5S рРНК. Так, структурный подкласс Ma имеет в составе МГС ТАТА-подобную последовательность ТААТАТ в положении от -27 до -20, тогда как у 5S рДНК подкласса Mb в этой позиции находится другой мотив, TGGTAG, а ТАТА-подобная последовательность отсутствует.

Таким образом, полученные результаты наводят на мысль, что регуляторные сигналы, которые находятся в МГС, могут существенно отличаться у разных видов бабочек.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОНТРОЛЬНОГО УЧАСТКА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕРНОМОРСКОЙ КУМЖИ (*SALMO TRUTTA*) В РЕКАХ АБХАЗИИ

М.А. Гогуга^{1,2}, Н.А. Небесихина³

¹Институт экологии Академии наук Абхазии, Сухум, goguaml@mail.ru

²Абхазский государственный университет, Сухум,

³Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, nebo_N_71@mail.ru

Кумжа (*Salmo trutta*), являясь высоко пластичным видом, способна формировать разные экологические формы на протяженном ареале обитания. Это послужило благодатной почвой для вековой научной дискуссии по определению таксономического статуса отдельных популяций, в том числе и черноморской кумжи. Современные молекулярно-генетические методы, основанные на оценке последовательности митохондриальной ДНК, выявили 5 основных филогенетических групп. Черноморская кумжа (*Salmo trutta labrax*), образующая и пресноводную форму – ручьевую форель (*Salmo trutta morpha fario* L.), отнесена к дунайской филогенетической группе, где представлена четырьмя генотипами (Bernatchez, 2001). Исследования по анализу вариабильности мтДНК кумжи, обитающей в реках Абхазии, представлены фрагментарно (Осинов, 1996).

В связи с этим целью нашей работы явился первичный анализ вариабельности D-loop контрольного участка мтДНК производителей ручьевой форели, выловленных в 2009 г. в бассейне р. Ингур (N=5), и молоди черноморской кумжи, отобранной в 2011 г. на Чернореченском форелевом хозяйстве (N=10). Выделение ДНК проводили солевым методом (Маниатис и др., 1984) из плавников, хранившихся в этаноле. Для амплификации участка митохондриальной ДНК (D-loop) использовали олигонуклеотидные праймеры HN20 и Tpro2 (Brunner et al., 2001).

Для 15 особей кумжи получены последовательности контрольного участка D-loop мтДНК длиной 480 пн, с частотой нуклеотидов: A = 31,09 %, T = 30,46 %, C = 22,69 % и G = 15,76 %. В данной выборке выявлено 3 гаплотипа (Bl1, Bl 2, Bl 3), различающихся по 4 вариабельным сайтам (39, 165, 166, 321 пн). Следует отметить, что в выборке кумжи частота встречаемости гаплотипа Bl1 – 90 %, а гаплотипа Bl 2 – 10 %. Гаплотип Bl 3 отмечен только в выборке ручьевой форели.

Анализ оценки вариабельности контрольного участка D-loop мтДНК продемонстрировал генетическую дифференцировку и структурированность в выборках проходной и пресноводной форм кумжи. Данные исследований следует рассматривать как отправную точку в создании расширенной региональной базы ДНК-данных в целях решения проблем идентификации кумжи в бассейне Черного моря.

ТАКСОНОМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ ПШЕНИЦ

Н.П. Гончаров, Е.Я. Кондратенко, А.Г. Блинов

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск,

gonch@bionet.nsc.ru

Считается, что любой вид имеет свою генетическую конституцию и обладает внутривидовыми различиями, которые проявляются, прежде всего, в существовании репродуктивных барьеров, защищающих генофонд того или иного вида. Однако для пшениц наличие репродуктивных барьеров не является видовой характеристикой, и многие из них с относительной легкостью скрещиваются между собой, давая плодовитое потомство. Правда, происходит это в основном только в условиях эксперимента, т.к. виды пшениц, как правило, имеют неперекрывающиеся ареалы и их не возделывают в смеси. По этой причине они не могут давать гибридное потомство в естественных условиях.

Большинство работ, касающихся таксономии и эволюции пшениц, исторически связаны с изучением хозяйственно-важных, биохимических и морфологических признаков. Накопленные к настоящему времени данные об эволюции различных нуклеотидных последовательностей позволяют не только с большой степенью достоверности установить филогенетические взаимоотношения, но и провести временные оценки дивергенции таксонов рода. Причем во многих случаях молекулярные данные являются более предпочтительными и более объективными.

Род *Triticum* L. включает в себя четыре генома A, B, G и D. Согласно их наличию/отсутствию исследователи делят пшеницы на секции (реже на подроды). К настоящему времени показано дифилитическое происхождение пшениц. Вероятно, донор геномов B и G полиплоидных пшениц, а также их цитоплазмы для всех полиплоидных видов рода в природе не сохранился. Показано, что наибольшее родство с этим древним видом-донором имеет нынешний дикий диплоидный вид *Ae. speltoides* Tausch.

Целью данной работы является установление филогенетических взаимоотношений видов родов *Triticum* и *Aegilops* L., используя ядерные и хлоропластные молекулярно-генетические маркеры и данные сравнительно-генетического анализа. Анализ хлоропластного генома позволил изучать пшеницы и эгилопсы независимо от их уровня пloidности и установить их родство по материнской линии. Выполненные молекулярно-биологические исследования позволили показать, что геном дикого злака *Ae. speltoides* наиболее близок не только к G-, но и к B-геному тетра- и гексаплоидных пшениц. Интересно, что цитоплазма данного вида, вероятно, имеющая две «модификации», значительно отличается от таковой как диплоидных пшениц, так и других видов секции *Sitopsis*. Полученные результаты подтвердили родство между диплоидными пшеницами рода *Triticum*, определив их отличие от диплоидных видов рода *Aegilops*.

Ввиду неполноты археологических данных, возможно, что ряд вопросов происхождения и становления современных видов пшениц будут решены посредством реконструкции эволюционных процессов и филогенетических построений, основанных на молекулярно-генетических методах.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СИМПАТРИЧЕСКИХ ВИДОВ РЕЧНЫХ СИГОВ P. COREGONUS ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ ПО МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Н.Ю. Гордон¹, Н.А. Бочкарев², Д.В. Политов¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, n.yu.gordon@gmail.com

²Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН,
Новосибирск

Сиги рода *Coregonus* (Coregonidae, Salmoniformes, Teleostei) демонстрируют огромное морфо-экологическое разнообразие форм, представленных как «хорошими» видами, так и симпатрическими формами неясного статуса. Симпатрические формы сигов комплекса *C. lavaretus* – *C. pidschian* – *C. clupeaformis* часто встречаются в озерных экосистемах Старого и Нового Света, в то время как в реках они обнаруживаются редко. Крупные речные бассейны Дальнего Востока и Северо-Востока России в этом смысле представляют исключение. Изучена дифференциация митохондриальной ДНК (мтДНК) симпатрических видов речных сигов из берингоморского бассейна – р. Анадырь (сиг-востряк *C. anaulorum* и сиг-горбун *C. pidschian*) и бассейна р. Амур (сиг-хадары *C. chadary* и амурский сиг *C. ussuriensis*). ПЦР-ПДРФ-анализ митохондриального гена субъединицы 1 NADH-комплекса с использованием 18 рестриктирующих эндонуклеаз выявил девять композиционных гаплотипов в паре анадырских сигов востряк – горбун, два из которых оказались общими для этих видов. У обеих форм выявлены гаплотипы двух сильно дивергировавших гаплогрупп, одна из которых представляет собой широко распространенную линию среди сигов европейской и азиатской частей России, другая – уникальную линию. Близкие к этой ветви гаплотипы найдены у востряка из р. Пенжины охотоморского бассейна. У двух видов сигов из бассейна Амура обнаружено 13 композиционных гаплотипов, один из них был общим для сига-хадары и амурского сига. Сиг-хадары также имел один уникальный гаплотип. Уникальные гаплотипы анадырско-пенжинских востряков, вероятно, унаследованы от древней (доплейстоценовой) линии мтДНК. Ее носители, возможно, проникли в пра-Анадырь из Байкальской рифтовой зоны в межледниковое таяние и сохранились у сига-востряка благодаря непромерзающим до дна морским или солоноватоводным рефугиумам. В пользу этой гипотезы происхождения востряка свидетельствует его способность жить в солоноватой воде, где востряк нагуливается до половозрелого возраста. МтДНК анадырского пыжьяна, вероятно, происходит из бассейна Верхней Лены. Наличие общих гаплотипов у анадырских видов сигов свидетельствует, скорее всего, об интрогрессии между этими видами. Гаплотипы сигов бассейна Амура принадлежат к линии мтДНК, которая, по-видимому, также связана с древними сигами байкальской группы. Настоящее исследование подкрепило точку зрения, что Байкальская рифтовая зона является одним из важнейших древних центров видообразования сиговых, в частности, донором мтДНК сигов водоемов охотоморского и берингоморского бассейнов. Однако, исходя из морфологических данных, можно предположить также, что появление сига-хадары связано с дивергентными и сетчатыми механизмами эволюции, и, этот вид, возможно, связан не только с байкальской ветвью, но и с селенгинскими речными сигами.

Работа поддержана проектами программ фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов») и «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы», а также грантом РФФИ 10-04-01757-а.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКИХ ХРОМОСОМНЫХ РАС *SOREX ARANEUS* ПО ДАННЫМ ГЕНА *CYT b*

О.О. Григорьева

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,
grig_forever@mail.ru

Хромосомные расы обыкновенной бурозубки характеризуются различным набором хромосом и не отличаются морфологически. Мы попытались оценить хромосомные и молекулярно-генетические различия рас с помощью анализа гена цитохрома *b*.

В анализ были вовлечены образцы 82 бурозубок хромосомных рас Москва (Mo), Зап. Двина (Wd), Селигер (Sl), С.-Петербург (Sp), Кириллов (Kr), Сок (So) и Нерусса (Ne) Тверской, Новгородской, Псковской, Московской, Ивановской, Саратовской, Вологодской и Ростовской областей. Полученные последовательности ДНК депонированы в Генбанке под номерами JN984059 – JN984061, JN984063 – JN984089, JN984091 – JN984120, KC311228 – KC311250.

Мы наблюдали высокое гаплотипическое разнообразие при относительно низком нуклеотидном, что многократно отмечалась в исследованиях мтДНК *S. araneus*.

Средний показатель генетических дистанций между всеми выборками составил $0,42 \pm 0,06$ %, при этом наибольшие генетические дистанции наблюдались внутри выборок С.-Петербург ($0,43 \pm 0,13$ %), Москва ($0,39 \pm 0,08$ %) и Нерусса ($0,38 \pm 0,12$ %), наименьшие – внутри выборки Кириллов ($0,13 \pm 0,06$ %).

Анализ AMOVA показал, что наибольшая часть генетического разнообразия мтДНК была распределена внутри выборок (75 %).

Тесты на селективную нейтральность и экспансию выявили недавний рост численности популяций Wd, Mo, Sl, Sp, что свидетельствует о молодости популяции Валдайской возвышенности и быстром популяционном росте в последниковый период. В выборках хромосомных рас Kr, So и Ne результаты тестов показывают достоверное отсутствие экспансии и, скорее, указывают на прохождение «бутылочного горлышка». Для всех рас предполагается нейтральная эволюция.

Медианная сеть отражает «звездообразную» филогению. На 5 замен от «центрального» гаплотипа отделены две филогруппы популяций расы Нерусса. Первая представлена особями, отловленными близ пос. Большой Лог. Вторая – особями, отловленными близ пос. Кагальник Ростовской области. Для обеих популяций *r*-дистанция с остальными выборками составляет $0,66 \pm 0,19$ %, в то время как между самими популяциями – $0,69 \pm 0,27$ %, что говорит о значительном уровне их дивергенции. Географическое расстояние между выборками 50 км. Подобные отличия могут быть результатом древней эволюции. Возможно, на этих территориях сохранилась какая-то автохтонная популяция одного из южных рефугиумов расы Нерусса в последнее ледниковье. В северном Приазовье на территории Донецкого края на максимальной стадии последнего ледниковья (24–18 тыс. л. н.) сохранялся рефугиум лесной растительности с участием ели (*Picea*), сосны (*Pinus*), березы (*Betula*), *Salix*, *Abies* (Эволюция экосистем Европы., 2008). В этом рефугиуме могла пережить ледниковье и одна из южных популяций расы Нерусса.

Следует отметить слабое влияние хромосомных различий на генетическую структуру популяций. Видимо, при поддержке отбора фиксация транслокационных соединений хромосом в ледниковых изолятах вполне объяснима. Напротив, без поддержки отбора фиксация молекулярных признаков идет медленнее.

Работа проводилась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ 12-04-32035-мол_а).

КРИПТИЧЕСКИЕ ВИДЫ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ ПЕЧЕНОЧНЫХ СОСАЛЬЩИКОВ РОДА *FASCIOLA* (TREMATODA)

А.С. Гуляев, А.А. Лопаткин, В.А. Васильев, Г.Г. Хрисанфова, С.К. Семенова

Институт биологии гена РАН, Москва,
seraphimas@mail.ru

Цель исследования состояла в изучении филогеографической структуры возбудителей фасциоза животных и человека – двух видов печеночных сосальщиков рода *Fasciola* – *F. hepatica* (*Fh*) и *F. gigantica* (*Fg*). *Fh* распространена преимущественно в Европе и Америке, а на территории Африки и Азии наблюдается перекрывание ареалов *Fh* и *Fg*. Ранее на основании полиморфизма фрагментов двух митохондриальных генов *nad1* (429 п.н.) и *cox1* (316 п.н.) на территории Евразии показано наличие двух симпатрических генеалогических линий *Fh* (Semyenova et al., 2006). Одна из них (I) распространена преимущественно в азиатской части континента, другая (II) характерна для европейской части ареала.

В настоящем исследовании для выделения ДНК и амплификации двух митохондриальных генов *nad1* (1533 п.н.) и *cox1* (903 п.н.) использованы 60 марит *Fh*, собранных из печени крупного рогатого скота на территории России (n=17), Белоруссии (n=4), Болгарии (n=4), Армении (n=24) и Эквадора (n=10). Показана правомочность выделения двух генеалогических линий I и II, внутри каждой из которых обнаружены дополнительные сублинии из Эквадора (Ia) и Армении (IIa).

Кроме того, для оценки геномной дивергенции между видами и линиями впервые анализированы кодирующие последовательности (12 белков, 2 гена рРНК и 22 генов тРНК) митохондриального генома 4 марит *Fh* (по одному представителю от каждой линии и сублинии), а также двух марит вида *Fg* из Дагестана и Узбекистана. Показано, что белок-кодирующие части генома двух видов незначительно отличаются по длине (*Fg* – 10086 п.н., *Fh* – 10065 п.н.). Уровень полиморфизма между последовательностями двух видов достигает 12,5 %, что примерно в десять раз больше уровня внутривидового полиморфизма у *Fh*. Обнаружены межвидовые различия в использовании старт- и стоп-кодонов четырех генов *nad4*, *nad1*, *cox1*, *nad5*, а также различия в последовательностях и вторичных структурах пяти тРНК.

Используя полученные нами и известные ранее (Teofanova et al., 2011; Walker et al., 2011, 2012) последовательности митохондриального генома (*cox3+cytb*), с помощью построения сплит-графов реконструированы филогенетические взаимосвязи между популяциями *Fg* и *Fh* из Танзании и Индии, *F. hepatica* – из Нидерландов, Греции, Болгарии и Польши. Показано, что образцы *Fg* формируют две мощные клады – африканскую и индо-азиатскую. К последней принадлежат образцы *Fg* из Дагестана и Узбекистана. Общая структура сети для образцов *Fh* подтверждает наличие двух линий I и II. Обсуждаются таксономический статус и возможные причины возникновения криптических линий и видов печеночных сосальщиков.

Работа частично поддержана грантами РФФИ (12-04-01153а, 12-04-90034-Bel_a).

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ГИДРОБИОНТОВ К ГРАДИЕНТУ СОЛЕННОСТИ

В.А. Дехта¹, М.А. Махоткин², С.Г. Сергеева¹

¹Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, va.dekhta@gmail.com

²Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону, mmakhotkin@mail.ru

Одной из особенностей солености Азовского моря является ее градуальный характер изменчивости от нулевых значений у устья Дона до 12–14 ‰ в Керченском проливе. Целью работы было определить характер влияния фактора солености на показатели генетического сходства и различия внутривидовых структур гидробионтов. Материалом для исследования служили данные по аллозимному полиморфизму, полученные в разные годы при изучении популяционной генетики мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.), тарани (*Rutilus rutilus heckeli* Nordman) и пиленгаса (*Liza haematocheila* Temminck et Schlegel). В качестве меры генетического расстояния использовали индекс «D» М. Нея (Nei, 1972). Поскольку индекс D является характеристикой пары выборок, то для возможности анализировать его с экологической точки зрения соленость характеризовали как разницу значений между парами локальностей (ΔS), откуда были взяты выборки. Данные по солености основаны на регулярных наблюдениях, проводимых АзНИИРХ.

Мидия. Мидия распространена по всему Азовскому морю, исключая Таганрогский залив. Изучали мидий четырехлетнего возраста по двум полиморфным локусам (лейцинаминопептидазы и эстеразы) из 9 локальностей. Для каждой локальности были вычислены коэффициенты вариации значений солености в придонном горизонте за весь период жизни мидий, а также средние значения солености, соответствующие времени оседания этих моллюсков в изучаемых локальностях. Наибольшие значения D отмечены между выборками мидии из южной и северо-восточной частями моря ($D = 0,0116$). Корреляция индексов D между выборками мидии с разницей значений коэффициента вариации солености между местообитаниями существенна и высокодостоверна ($r = 0,65$; $n = 36$; $p < 0,001$), а ΔS в придонном горизонте между локальностями в период оседания мидий несколько меньше ($r = 0,45$; $p = 0,006$).

Пиленгас. Изучали выборки пиленгаса из оз. Ханское, Азовского моря и Керченского пролива по семи ферментным полиморфным локусам. Наибольшие генетические расстояния отмечены между выборками рыб из оз. Ханское и Керченского пролива ($D = 0,0129$). Здесь же отмечаются и наибольшие различия в солености (ок. 10 ‰). Генетические расстояния с выборками из центральной части моря имеют промежуточные величины (0,0093 и 0,0067). Корреляция значений D и ΔS : $r = 0,997$; $n = 3$, $p = 0,049$.

Тарань. Исследовали выборки тарани по четырем полиморфным локусам (двум эстеразным и локусам, кодирующим трансферрин и лактатдегидрогеназу) из донского (Д), ейского (Е), бейсугского (Б) и ахтарского (А) районов моря. Наибольшее генетическое расстояние отмечено между географически удаленными выборками (Д-А, $D = 0,0215$). Между этими районами отмечена и наибольшая разница в солености (7,5 ‰). Наименьшее генетическое расстояние отмечено между географически самыми близкими выборками тарани (Д-Е, $D = 0,0046$). Корреляция значений D и ΔS : $r = 0,81$; $n = 6$; $p = 0,048$.

При отсутствии географических преград для обмена мигрантами на ареале изучаемых видов наблюдается зависимость от солености клина генетических расстояний. Их значения иногда довольно близки для различий между локальными популяциями, которые, по F. Ayala (1975), для беспозвоночных и рыб определяются величиной генетических расстояний М. Нея 0,016 и 0,020 соответственно.

СОХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА С ПОМОЩЬЮ БИОТЕХНОЛОГИИ

Н.П. Дорошенко

Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия

им. Я.И. Потапенко Россельхозакадемии, Новочеркасск

n.doroschenko2013@yandex.ru

В условиях глобального экологического неблагополучия проблема сохранения генофонда растений приобретает особое значение. Традиционных средств сохранения биологического разнообразия растений уже недостаточно. Методы культивирования *in vitro* позволяют создать биотехнологию поддержания и хранения генофонда при замедленном росте этих объектов. Это актуально и для виноградарства. Насущной необходимостью является обеспечение коллекций материалом, находящимся под угрозой исчезновения.

Для разработки и совершенствования методов культуры изолированных тканей винограда с целью использования их в системе сохранения и воспроизведения растительных ресурсов оптимизированы способ введения в культуру *in vitro* и все последующие этапы клонального микроразмножения.

1. Разработан способ оздоровления от вирусной инфекции при помощи культуры апикальных меристем размером 0,3–0,2 мм (меристема с одной парой листовых зачатков) + хемотерапия с применением салициловой кислоты.

2. Для освобождения от внутренних бактериальных инфекций предложена антибактериальная хемотерапия при помощи антибиотиков гентамицина и цефотаксима.

Технология создания коллекции генофонда винограда *in vitro* основывалась на минимализации роста пробирочных растений при помощи пониженной температуры и освещенности, модификации состава питательной среды, применении повышенных концентраций сахарозы (4–5 %), добавления в питательную среду ростовых и осмотических ингибиторов.

Впервые осуществлено применение природных ингибиторов для депонирования растений винограда. Добавление в питательную среду семян винограда в повышенных концентрациях (1,0 %-ный порошок тонкоразмолотых семян или 20 %-ная вытяжка) создает в ней такой уровень естественных ингибиторов, при котором наблюдается снижение ростовых процессов, и можно в 4–5 раз увеличить промежутки времени между пересадками растений на свежую питательную среду. Предложены новые условия продолжительного хранения генофонда винограда: до 10–12 месяцев и более без пересадок за счет использования питательной среды Мурасиге и Скуга, модифицированной для хранения, температуры 4 °С и освещенности 0,3–0,5 тыс. люкс. Выявлена возможность сохранения растений без пересадки в течение 210–240 дней, используя питательную среду для длительного хранения и понизив освещенность до 400–500 лк, не изменяя при этом параметры температурного режима. Несмотря на некоторое ослабление растений в процессе хранения, пожелтение листьев, увядание установлено, что они сохранили жизнеспособность и обеспечили при рекультивировании хорошую регенерационную способность.

Оздоровлены от вирусной и бактериальной инфекции наиболее ценные аборигенные сорта винограда: *Цимлянский черный* и его клоны, *Красностоп золотовский*, *Сибирьковский*, *Кумшацкий*, *Пухляковский*, осуществлено спасение менее известных сортов, которые находятся на грани исчезновения: *Варюшкин*, *Кабашный*, *Цимлянский белый*, *Цимлодар*, *Сытун черный*, *Крестовский*, *Кукановский*. Создана коллекция этих сортов в условиях *in vitro* и на базисном маточнике.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НЕКОТОРЫХ ЯДЕРНЫХ И ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ МОХООБРАЗНЫХ (на примере растений Антарктики)

В.П. Дуплий, Н.А. Матвеева

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев,
joyna56@gmail.com

ДНК-штрихкодирование является перспективным методом видовой идентификации живых организмов. Исследования в этом направлении были начаты около десяти лет назад в работах П. Хеберта с соавторами. Сейчас большое внимание уделяется выяснению, какой именно участок ДНК может быть использован в качестве ДНК-штрихкода растений. Предлагаются различные участки ДНК, в частности, последовательности *rbcl*, *rpoB*, *rpoC1*, *matK*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* (хлоропластная ДНК), а также ядерный спейсер ITS2. Мы попытались определить, могут ли последовательности *rbcl* и ITS2 быть использованы для видовой идентификации мохообразных.

Материалом служили культивируемые *in vitro* растения *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll. Hal.) Ochyra, *Bryum pseudotriquetrum* (Hedw.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Sanionia georgicouncinata* (Müll. Hal.) Ochyra, *Polytrichum juniperinum* Hedw., которые выращивали на агаризованной среде МС (Murashige & Skoog, 1962) при +24 °C и 16-часовом световом фотопериоде. Нативные образцы этих растений были собраны в 2009–2011 гг. на острове Галиндез. Использовали описанные ранее пары праймеров для *rbcl* (Kress & Erickson, 2007) и ITS2 (Chiou et al., 2007).

Для нашего образца *W. fontinaliopsis* в Генбанке не было найдено достаточно близких сиквенсов изучаемых участков ДНК. Растения этого рода, к сожалению, до сих пор малоизучены. Остальные четыре образца были определены с точностью до рода по спейсеру ITS2. Для образца *B. pseudotriquetrum* было обнаружено 34 совпадающих на изучаемом участке *rbcl* последовательности, принадлежащие различным родам. Две наиболее близкие последовательности ITS2 относятся к *B. pseudotriquetrum*.

Последовательность гена *rbcl* нашего образца *P. nutans* совпала с имеющейся в Генбанке для того же вида, в то время как наиболее близкой к секвенированной нами последовательности ITS2 была идентичная для двух видов *P. nutans* и *P. proligera*.

Сиквенс *rbcl* нашего образца *S. georgicouncinata* отличался от имеющейся в Генбанке последовательности *S. uncinata* по 2 п.н., а наиболее близкая к последовательности ITS2 нашего образца соответствовала трем видам рода *Sanionia* (*S. georgicouncinata*, *S. symmetrica*, *S. orthothecioides*).

Только сравнение последовательностей антарктического образца *P. juniperinum* указывает на его принадлежность к данному виду (по участкам *rbcl* и ITS2) или к близкому ему *P. strictum* (только по *rbcl*).

Таким образом, показано, что ни фрагмент последовательности хлоропластного гена *rbcl*, ни последовательность ядерного спейсера ITS2 не могут служить для точной видовой идентификации мохообразных. Однако такой подход может быть применен для предварительного определения таксона растения или как дополнительный метод идентификации.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КРАСНОЩЕКИХ СУСЛИКОВ ПО МАРКЕРАМ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

О.А. Ермаков¹, В.Л. Сурин², С.В. Титов¹, Н.А. Формозов³

¹Пензенский государственный университет, Пенза, oaermakov@list.ru

²Гематологический научный центр РАМН, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Краснощекий суслик *Spermophilus erythrogenys* s. lato – широко распространенный и полиморфный вид. Для составляющих его форм характерна значительная морфологическая дифференциация. Вопрос о систематических взаимоотношениях и таксономическом статусе этих форм остается не вполне выясненным. Краснощеких сусликов рассматривали в качестве нескольких самостоятельных видов (Огнев, 1947; Бажанов, 1953; Слудский и др., 1969), либо в наиболее обобщенной трактовке считали подвидами единого вида – *S. major* (Кузнецов, 1948), либо включали в состав полиморфного вида *S. erythrogenys* в ранге подвидов (Беляев, 1955; Громов и др., 1965; Васильева, 1968). К настоящему времени на основе секвенирования гена *cyt b* восстановлен видовой статус *S. pallidicauda* и *S. brevicauda* (Herron et al., 2004; Helgen et al., 2009; Цвирка и др., 2010).

В отличие от более ранних молекулярно-генетических исследований, в которых анализировались экземпляры лишь из 2–4 точек обширного ареала вида, в данной работе мы провели оценку уровня дивергенции краснощеких сусликов практически из всех частей ареала, включая территории, расположенные рядом с типовыми местонахождениями. С целью исключения влияния интрогрессии на результаты филогенетического анализа исследовались только те экземпляры, видовая специфичность которых была подтверждена анализом ядерных генов.

На первом этапе в результате изучения частичной последовательности С-региона мтДНК (5'-домен, включая вариабельный фрагмент; 314 пн) у 15 экз. из 15 точек было выявлено, что краснощекие суслики не являются конспецифичными, а распадаются на 6 ветвей, формируя либо отдельные длинные ветви без статистической поддержки, либо статистически подтвержденные филогруппы. На втором этапе были взяты по 1–2 экз. из каждой ветви, для которых секвенировали полные последовательности С-региона (1080 пн) (n=6), гена *cyt b* (1140 пн) (n=6) и частичной – гена *COI* (657 пн) (n=9). Внутригрупповые дистанции для объединенной выборки краснощеких сусликов составили в среднем 4,8 % (1,5–7,5 %) для первого маркера, 3,9 % (0,8–6,7 %) для второго и 1,9 % (0,5–4,5 %) для третьего. Высокий уровень генетической изменчивости и топология филогенетических деревьев подтверждают мнение, что *S. erythrogenys* s. l., по-видимому, является сложным комплексом, включающим не менее 4 форм видового/полувидового ранга: *erythrogenys* (правобережье Иртыша), неописанная форма, обитающая на правобережье Оби (Салаирский кряж), *brevicauda* (= *carruthersi*?) (от восточного берега Балхаша до Зайсанской котловины, включая Джунгарский Алатау), *iliensis* (от западного берега Балхаша до левобережья Или), *intermedius* (Казахский мелкосопочник, к югу до Балхаша).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 11-04-00228, № 12-04-01804).

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ВОЛОСАТИКА *GORDIONUS ALPESTRIS*: НАЧАЛЬНЫЙ ЭТАП

Б.Д. Ефейкин¹, К.В. Михайлов², В.В. Алёшин²,

С.Э. Спиридонов¹, Ю.В. Панчин^{2,3}

¹Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, bocha19@yandex.ru

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, Москва, aleshin@genebee.msu.su

³Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, uranchin@yahoo.com

Волосатики (Nematomorpha) – это отдельный тип беспозвоночных животных. Взрослые волосатики червеобразные, плавают в воде, а личинки являются полостными паразитами различных членистоногих: пресноводные паразитируют в насекомых, морские – в ракообразных. Нет единого мнения о филетических связях волосатиков: их сближают с нематодами, а по другим гипотезам – с приапулидами и киноринхами. Сделана попытка использовать данные секвенирования генома для выявления групп животных, наиболее близких к волосатикам. Волосатики *Gordionus alpestris* собраны В.Ю. Шматко в Адыгее. Геномную ДНК, выделенную из одного экземпляра, исследовали на геномном секвенаторе Illumina HiSeq 2000. Отфильтрованные от адаптеров последовательности собирали в контиги программой Velvet. Используя функции makeblastdb, преобразовывали полученные контиги в базу данных, а затем, используя алгоритм tblastn, отбирали фрагменты генов рибосомных белков по сходству с последовательностями этих белков других организмов. С помощью программы Wise из отобранных контигов удаляли интроны, кодирующие последовательности переводили в аминокислотную форму и выравнивали с помощью программы MUSCLE с набором рибосомных белков животных. При подготовке данных для филогенетического анализа из выравнивания были удалены неоднозначно выровненные позиции, и индивидуальные выравнивания были конкатенированы программой SCAFoS 1.24 в единое выравнивание длиной 10717 позиций. Филограммы получали методом максимального правдоподобия, реализованным в программе RAxML 7.2.6. Для расчета использована модель LG с учетом разности скорости эволюции между сайтами и эмпирическими частотами аминокислот, выбранная программой ModelGenerator 0.85 в качестве наиболее подходящей модели молекулярной эволюции. Расчет поддержки узлов дерева осуществляли программой RAxML на основе 100 реплик бутстрэпа. Полученные первичные филограммы говорят в пользу родства волосатиков с нематодами и не подтверждают существование тесных филетических связей с хоботными червями (приапулидами и киноринхами). Таким образом, первый этап полногеномных исследований показал техническую возможность успешной работы с ограниченным количеством биологического материала и возможность получения значимых результатов в короткие сроки. По сути, за несколько месяцев работы были получены молекулярные данные по волосатикам, в несколько раз превосходящие по объему все депонированные до сих пор в международных базах данных. Однако выявился и ряд технических проблем. Так, неоднократные попытки выделения ДНК из крупных вьетнамских волосатиков рода *Chordodes* (паразиты богомолы) остались безуспешными, несмотря на использование того же фиксатора (70 % этанола), что и для *Gordionus alpestris* из Адыгеи.

OMPHALINA DISCOROSEA: ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ВИДА

Е.А. Звягина¹, А.В. Александрова², Т.М. Бульонкова³

¹Государственный заповедник «Юганский», с. Угут, musena@yandex.ru

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³Институт систем информатики им. А.П. Ершова Сибирского отделения РАН,
Новосибирск

В 2005–2010 гг. на территории Западной Сибири и Монголии авторы неоднократно находили своеобразный агарикоидный гриб с набором очень характерных морфологических признаков. Собранные образцы были определены как *Rhodocybe ulmi* Lj.N. Vassilyeva. При этом была выявлена возможная конспецифичность находок с *Omphalina discorosea* (Pilát) Herink et Kotl (Petrov, 1991), видом, распространенным в лесных и горных районах Восточной Европы, Кавказа, Восточной Сибири и Дальнего Востока.

Изучение литературы показало, что гриб с такими морфологическими признаками был описан несколько раз: *Omphalia discorosea* Pilat, *Rhodocybe xylophila* B.P. Vassilkov, *Omphalina lilaceorosea* M. Svřček et J. Kubička и *Rhodocybe ulmi* Lj.N. Vassiljeva. Возможная синонимичность этих видов отмечалась рядом авторов. Особенности вида позволяют отнести его как к *Rhodocybe*, так и к *Omphalina* s. l., в связи с этим определить родовую принадлежность гриба по морфологическим ключам не представляется возможным.

В последние годы, в связи с проведенными ревизиями, представление об этих родах претерпело значительные изменения, и появилась необходимость уточнения таксономического положения вида.

Были изучены морфологические особенности авторских образцов, хранящихся в Гербарии БИН РАН (LE), и проведено сравнение с материалами, полученными из гербариев (БИН РАН, Биолого-почвенного института ДВО РАН), в том числе с типовыми образцами этих видов.

При изучении морфологии образцов применялись стандартные методы световой и SEM-микроскопии. Сравнение микроморфологии всех образцов, включая типовые, показало высокое сходство строения основных микроструктур.

Для определения таксономического положения был проведен макромолекулярный анализ. ДНК из сухих образцов извлекали с помощью Nucleo Spin Kit. Амплифицировали и секвенировали участки рибосомального гена (ITS и 28SLSU) в границах праймеров ITS1F–ITS4B и LR3R–LR7 по стандартным протоколам. Для построения филогенетических деревьев использовали последовательности омфалиноидных грибов родов *Arrhenia*, *Chrysomphalina*, *Clitocybe*, *Fayodia*, *Lichenomphalia*, *Omphalina*, *Omphalotus*, *Rhodocybe* из генбанка NCBI. Последовательности ITS выравнивали вручную; последовательности LSU – в ПК MEGA4 алгоритмом CLUSTALW. Филогенетический анализ проводили методами максимального правдоподобия и максимальной экономии в ПК RAUP 4.0b10.

Филогенетический анализ LSU и ITS показал, что исследуемый вид попадает в хорошо подерживаемую независимую ветвь в кладе *Arrhenia*. Таким образом, образцы можно отнести к отдельному виду в роде *Arrhenia*.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЯ КРОТОВ РОДА *TALPA*Е.Д. Землемерова¹, А.А. Банникова¹, А.Е. Зыков², В.С. Лебедев³¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва;²Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко, Зоологический музей, Киев³Зоологический музей МГУ, Москва; zemlemerovalena@ya.ru

В настоящее время в роде *Talpa* распознают девять видов: *T. altaica*, *T. levantis*, *T. caucasica*, *T. davidiana*, *T. caeca*, *T. romana*, *T. occidentalis*, *T. stankovici* и *T. europaea*. Внутри почти каждого из них можно выделить глубоко дивергировавшие группировки. Филогеографическая структура видов рода *Talpa* проанализирована нами в экологическом и систематическом аспекте.

Филогенетический анализ проводился по последовательностям митохондриального гена *cyt b* с помощью трех разных алгоритмов (метод максимального правдоподобия – ML, парсимониальный анализ – MP и дистанционный анализ – NJ). В филогеографическом анализе были рассчитаны показатели генетического разнообразия, проведен демографический анализ и построена медианная сеть.

В составе *T. europaea* четко определяются две основные группы гаплотипов *cyt b*: «итальянская» и «центрально-восточно-европейская», которые тоже подразделяются на несколько хорошо поддерживаемых подгрупп. Внутри «итальянской» группы обнаруживается дополнительная четкая географическая структура, соответствующая Северной и Центральной Италии. По результатам теста на нейтральность популяция из Северной Италии стабильна, ее характеризуют высокие значения гаплотипного и нуклеотидного разнообразия, что позволяет предположить, что она сформировалась раньше остальных.

Базальное положение «итальянской» группировки в целом и ее высокая генетическая гетерогенность и структурированность по сравнению с другими географическими выборками, вероятно, связаны с ее рефугиональным происхождением: именно Итальянский регион послужил убежищем европейскому кроту во время оледенения. Но был ли Итальянский регион источником генетического разнообразия европейского крота из других частей его обширного ареала?

По результатам медианной сети гаплотипов из Ц и В Европы можно выделить один центральный гаплотип, а также гаплогруппы из Франции и Украины. Образцы из других локалитетов группируются вокруг центрального, формируя «звезду», отличаясь от него на 1–3 замены. Поскольку центральный гаплотип несут как кроты из Западной, так и из Восточной Европы, можно предположить, что этот гаплотип предковый, быстро распространившийся во время колонизации. Наличие у некоторых центрально-европейских и украинских кротов гаплотипов, найденных также в более северных восточно-европейских популяциях, вероятно, можно рассматривать как постепенную утрату разнообразия в ходе колонизации и/или следы анцестрального полиморфизма.

Из двух видов Кавказа малый крот *T. levantis* наиболее интересен своей внутривидовой дифференциацией. В составе этого вида обнаруживаются пять внутривидовых группировок, значительное генетическое расстояние между которыми можно объяснить разрывом ареала в районе Понтийских гор, или же это указывает на существование нескольких рефугиумов, что, по-видимому, имеет место также в случае с пиренейским кротом.

Проанализирована филогеографическая структура и других видов: *T. romana*, *T. occidentalis*, *T. caeca*, *T. altaica* и *T. caucasica*. Обсуждаются возможные причины и последствия глубокой внутривидовой подразделенности кротов, проводится сопоставление внутривидовых

К ИССЛЕДОВАНИЮ МОЛЕКУЛЯРНОГО РАЗНООБРАЗИЯ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ПРИМЕРЕ ВЕСЛОНОГИХ РАКООБРАЗНЫХ (СОРЕРОДА) – СИМБИОНТОВ РИФООБРАЗУЮЩИХ КОРАЛЛОВ

В.Н. Иваненко

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

ivanenko@mail.bio.msu.ru

В ходе международного проекта по оценке разнообразия обитателей коралловых сообществ получены и проанализированы фрагменты первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром С-оксидазу, 112 экземпляров не менее 60 видов копепод отрядов Siphonostomatoida и Pseudoscorpionida. Большинство экземпляров исследованных копепод – симбионты 23 из 96 колоний склерактиниевых кораллов, собранных на острове Лизард Большого барьерного рифа. Среднее значение внутривидового различия исследованных копепод составило менее 2 %. Кладистический анализ подтвердил монофилию семейств и отрядов исследованных копепод. Анализ распределения копепод по хозяевам показал высокий уровень специфичности к хозяину, а также множественные ассоциации копепод на одном виде коралла. Кумулятивная кривая насыщения показала, что молекулярное разнообразие копепод будет расти по мере увеличения выборки. Дальнейшее исследование предполагает увеличение выборки копепод, сопоставление молекулярных данных с данными по тонкой морфологии копепод, а также расширение таксономического спектра исследуемых хозяев и их симбионтов.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА

С.Г. Инге-Вечтомов

Санкт-Петербургский государственный университет,

Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,

Санкт-Петербург, ingevechtomov@gmail.com

Экологическая генетика служит основой современного эволюционного синтеза и тем самым подчеркивает проблему соотношения процессов микро- и макроэволюции. Предмет экологической генетики можно определить как влияние экологических отношений (отношений организмов с окружающей средой, частью которой являются другие организмы) на генетические процессы (наследственность, изменчивость). Отсюда – новый взгляд на источники изменчивости, значение которой как материала для естественного отбора трудно переоценить.

Методология генетической токсикологии являет редкий пример в биологии – необходимость негативного и позитивного контроля при выявлении генетически активных факторов окружающей среды. Учитываемые эффекты: генные и хромосомные мутации, рекомбинация и др. – подробно описаны в ряде публикаций (см., например, Гераськин, Сарапульцева, ред., 2010; Абилев, Глазер, Асланян, 2012). Становление наследуемых изменений инициируют первичные повреждения генетического материала, которые за редким исключением не учитывают. Фенотипическое проявление первичных повреждений наряду с рядом наследственных изменений учитывает «Альфа-тест» у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, разработанный в нашей лаборатории.

С точки зрения экологической генетики важно исследование биологических факторов изменчивости, в частности, стресса как генетически-активного фактора у мышей, как это делают Е.В. Даев и др. на кафедре генетики СПбГУ.

Генетический контроль самих экологических отношений позволяет изучать «персонализация» метаболических путей в экосистемах: фиксация азота, микориза при взаимодействии растений и почвенных микроорганизмов (Тихонович, Проворов и др.). Элементарная эколого-генетическая модель «Дрожжи-дрозофила» вскрыла значение метаболизма стерина в экосистеме и его нарушений у дрожжей (вида-продуцента) для хромосомного «мутагенеза» и рекомбинации у дрозофилы (вида-потребителя) (Лучникова и др.). Потенциальное практическое значение этой модели для получения сельскохозяйственных растений, устойчивых к насекомым-вредителям, показали Л.А. Лутова и др.

Эти и другие факты, представленные в сообщении, служат аргументами в пользу несводимости макроэволюции к микроэволюции, поскольку микроэволюция построена на внутривидовых – популяционных закономерностях, а эволюционируют экосистемы, т.е. системы взаимодействующих видов.

СТРУКТУРА КАРИОТИПА И ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ *CHIRONOMUS BERNENSIS* KLOTZLI, 1973 (DIPTERA: CHIRONOMIDAE) ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА И ПРЕДКАВКАЗЬЯ

М.Х. Кармоков¹, Н.В. Полуконова², М.Ю. Воронин²

¹Институт экологии горных территорий им. А.К. Темботова Кабардино-Балкарского научного центра РАН, Нальчик

²Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава РФ, Саратов

lacedemon@rambler.ru, polukonovanv@yandex.ru

Chironomus bernensis Klotzli, 1973 относится к цитологическому комплексу *pseudothummi* (AE, CD, BF, G), представители которого широко распространены на всех континентах мира (Keyl, 1962; Wülker, 1980). Кариотип и кариофонд этого вида изучены в Швейцарии, Болгарии, Польше, северной Италии (Michailova, 1989; Michailova et al., 2002; Petrova, Michailova, 2002) и Испании (Real et al., 2000). В России данный вид был ранее известен только из Западной Сибири. Для региона Центрального Кавказа и Предкавказья *Ch. bernensis* описывается впервые. Анализ хромосомного полиморфизма хирономид без рассмотрения популяций такого региона, как Кавказ, не позволяет получить полное представление о кариотипической структуре вида в целом и оценить основные пути его миграции при формировании современного ареала.

Исследован кариофонд популяций *Ch. bernensis* Центрального Кавказа и Предкавказья в пределах терского и кубанского вариантов поясности (типизация по Соколову, Темботову, 1989): Кабардино-Балкарская Республика (КБР) – 6 выборки, Республика Северная Осетия – Алания (РСО – Алания) – 1 выборка, Карачаево-Черкесская Республика (КЧР) – 1 выборка и Ставропольский край – 4 выборки. Репрезентативные выборки были получены только из двух пунктов: КБР, долговременная лужа, 500 м выше с. Верхняя Жемтала (39 экз.) и КЧР, основное русло р. Малый Зеленчук, у п. Адиль-Халк (17 экз.). Обнаружено 10 последовательностей дисков хромосом (обозначение по Истоминой, Кикнадзе (2004)) – по две в плечах A (ber A1, ber A2), C (ber C1, ber C2), E (ber E1, ber E2) и по одной – в B, D, F и G – ber B1, ber D1, ber F1 и ber G1. Девять из них уже были известны, а одна – ber C2, видимо, является эндемичной и описывается для вида впервые.

Характерной особенностью изученных популяций является преобладание в гомозиготном состоянии последовательности ber A2, а также наличие эндемичной последовательности ber C2. Наборы последовательностей хромосом и их частоты встречаемости указывают на промежуточное положение кавказских популяций между европейскими и сибирскими, однако наличие эндемичной последовательности говорит об относительной дивергенции кавказских популяций относительно изученных ранее.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И СИСТЕМАТИКА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОБОЛЯ

**С.Н. Каштанов¹, И.Г. Мещерский², Г.Р. Свищева¹, О.Е. Лазебный³,
С.А. Пищулина², А.В. Симакин⁴, В.В. Рожнов²**

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, snkashtanov@mail.ru

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

³Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

⁴Печоро-Илычский природный биосферный заповедник, Коми, пос. Якша

Генетическое разнообразие природных популяций соболя (*Martes zibellina* L.) – основа систематики вида и дифференциации составляющих его географических типов.

Генетическая структура современных популяций соболя сформировалась в результате целого ряда процессов, происходивших в различные исторические периоды. Интенсивный промысел соболя в течение 300 лет привел к глубокой депрессии популяций. Ареал вида (от Урала до Дальнего Востока) был разбит на множество мелких очагов. Исследование реинтродукционных мероприятий, проводимых по восстановлению ареала соболя (запрет на добычу соболя, создание заповедников, искусственное расселение), позволил выделить популяционно-доноры (восточносибирские популяции) и популяции-реципиенты. В результате искусственного расселения многие популяции являются гибридными по происхождению. В связи с этим значимыми оказались вопросы об уровне влияния интродуцированных особей на генофонд аборигенных популяций и влиянии естественных миграций между современными популяциями соболя.

Были исследованы семь популяций соболя: три выборки из Восточной Сибири и четыре выборки с Восточных Саян, Сихоте-Алиня, полуострова Камчатка и Урала. Была разработана панель микросателлитных локусов; материалом для межпопуляционных сравнений служили частоты аллелей десяти локусов. С помощью программы STRUCTURE проводился анализ микросателлитных генотипов для исследования структуры популяций (определение явных популяций, выявление гибридных зон, идентификация мигрантов и гибридных особей).

По результатам микросателлитного анализа было выявлено высокое сходство соболей трех восточносибирских популяций. Расстояние между точками взятия выборок составляет порядка 1000 км, что позволяет предполагать существование единой популяции соболя на огромных территориях Восточной Сибири. Выявленное более высокое аллельное разнообразие в популяциях-реципиентах объясняется, вероятно, тем, что они сохраняют собственное генетическое разнообразие и одновременно аккумулируют гены соболей из Восточной Сибири за счет миграций. В целом, высокое аллельное разнообразие популяций Амура и Урала можно объяснить как следствие того, что эти популяции входили в состав рефугиумов периода раннего плейстоцена, из которых вид расселился по всей Восточной Сибири и другим регионам после изменения климата. Обратное искусственное расселение, из районов Восточной Сибири, проходившее в середине прошлого века, оказало значительно меньшее влияние на генофонд вида.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ТАКСОНОМИЯ ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ МОЛЕЙ-ЧЕХЛОНОСОК (LEPIDOPTERA, COLEOPHORIDAE) НА ОСНОВЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НУКЛЕОТИДОВ ГЕНА ПЕРВОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ ЦИТОХРОМ С-ОКСИДАЗЫ (COI)

М.В. Кнушевицкая, В.В. Аникин, А.Г. Демин

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов
AnikinVasiliiV@mail.ru

Семейство молей-чехлоносок (Coleophoridae) входит в состав надсемейства Gelechioidea (Lepidoptera). В его составе насчитывается до 1700 видов, из которых в Палеарктике зарегистрировано 1184 вида. Таксономическая принадлежность многих видов молей-чехлоносок остается спорной или неясной, что обусловлено сложностью морфологического анализа и невозможностью применения методов классической цитогенетики. В частности, более половины видов, входящих в состав подсемейства Coleophorinae, принято объединять в род *Coleophora*, по нашим представлениям имеющий полифилетическое происхождение. Применение методов молекулярной филогении с опорой на имеющиеся морфологические данные способствуют разработке естественной таксономии семейства Coleophoridae и актуализации морфологических ключей в определителях.

В ходе проведенной работы нами была проанализирована структура 5'-концевого фрагмента гена первой субъединицы цитохром С-оксидазы (COI) у 170 представителей из 51 рода семейства Coleophoridae. Из них для 108 представителей структура гена была определена нами впервые совместно с Канадским центром ДНК-штрихкодирования (Canadian Center for DNA barcoding). Сиквенсы гена COI 62 представителей семейства были заимствованы из базы данных GenBank. Длина исследуемого участка гена составила 648 пар оснований. Молекулярно-генетическая реконструкция родственных связей гена COI была выполнена с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood), реализованного в программе Mega 5.05, а также метода Bayes в программе BEAST 1.7.1. В качестве внешней к молям-чехлоноскам таксономической группы был выбран эволюционно удаленный *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae), а также представители родственной группы – семейства Batrachedridae (Lepidoptera).

Полученные филогенетические схемы гена COI подтверждают необходимость и обоснованность дробления рода *Coleophora* на ряд более мелких родов, выделенных ранее по морфологическим признаками, но не «признанных» большинством специалистов. Так, на филограммах отдельные монофилетические клады образуют последовательности (гена COI) представителей *Coleophora*, причисляемых рядом авторов к таким родам, как *Casignetella*, *Perigra*, *Ecebalia*, *Carpochena*, *Goniodoma*, *Damophila*, *Suireia* и др. Ряд эволюционных ветвей включает последовательности как представителей самостоятельных родов (*Multicoloria*, *Klimeshija*, *Perigra* и др.), так и еще не переописанные виды *Coleophora*, что ставит вопрос о возможности изменения их таксономического статуса. Кроме того, подтверждается существование и монофилия триб – Casignetellini и Aporipturini, монофилия родов *Ardania*, *Eupista*, *Augasma* и *Haploptilia*. Таким образом, филогения Coleophoridae, основанная на гене COI, согласуется с представленными ранее таксономическими концепциями, что позволяет использовать ее данные в совокупности с морфологическими признаками для детальной ревизии всех таксонов семейства.

ПОПУЛЯЦИОННОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БИОТИПОВ *TRITICUM AESTIVUM* L. ПО СИСТЕМАМ ГЕНОВ *Vrn* и *Ppd*

Т.А. Кокшарова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
ta_koksharova@rambler.ru

Высокую генетическую гетерогенность естественных популяций важно учитывать в селекционной работе с адаптивными признаками, особенно, если выявлена генетическая обусловленность этих признаков. В настоящее время имеется существенный прогресс в понимании генетики озимости-яровости на примере мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.).

Известны гены систем: *Vrn* – ответ на яровизацию (*Vr*–A1, *Vrn*–B1, *Vrn*–D1, *Vrn*–B3, *Vrn*–D4), *Ppd* – ответ на фотопериодизм (*Ppd*–A1, *Ppd*–B1, *Ppd*–D1), *Vrd* – ответ на длительность яровизации и гены раннеспелости *per se* (*Eps*). Значительные успехи достигнуты в изучении серии доминантных аллелей генов *Vrn*. Выявлено три мутантных аллеля доминантного гена *Vrn*–B1 (*Vrn*–B1a, *Vrn*–B1b, *Vrn*–B1c). Изучение распределения доминантных аллелей разных *Vrn* генов обнаружило их различную селекционную ценность для конкретных зон выращивания пшеницы.

Учитывая, что каждая система имеет несколько несцепленных локусов и множественный аллелизм каждого гена, легко представить сложную генетическую основу для важнейшего высоко адаптивного признака – типа развития мягкой пшеницы. Рецессивное состояние по всем генам *Vrn* и *Ppd* (*vrn vrn ppd ppd*) обуславливает потребность в яровизации и в длинном световом дне для перехода к репродуктивному развитию. Такой генотип имеет истинно озимая форма. Наличие хотя бы одного гена каждой из систем в доминантном состоянии (*Vrn*–*Ppd*–) снижает потребность в яровизации и в продолжительности дня. Такое состояние генов развития характерно для яровой формы. В генотипе двуручки система генов *Vrn* находится в состоянии, характерном для яровой формы, а система генов *ppd* – для озимой (*Vrn*–*ppd ppd*). При посеве весной двуручка ведет себя как яровая форма, а при осеннем посеве – как озимая. Помимо указанных генотипов имеется ещё один: (*vrn vrn Ppd*–) – озимая форма, нуждающаяся в яровизации, но нейтральная к длине дня.

Комплексное изучение различных сторон частной генетики систем генов *Vrn* и *Ppd* позволило разработать пути целенаправленного использования данных систем генов для решения задач селекции: создание более скороспелых аналогов существующих сортов, получение линий озимой пшеницы от скрещивания только яровых сортов. Современный уровень знания систем генов, отвечающих за проявление озимости-яровости, позволяет объяснить ранее непонятные «переделки» типов развития у мягкой пшеницы.

Исследования генетического контроля потребности к яровизации и фотопериодизму вскрыли молекулярные механизмы взаимодействия фотопериодического и холодового путей индукции цветения, что является крупнейшим достижением генетиков и физиологов растений. Ключевым геном, контролирующим индуцируемую холодом инициацию цветения, у пшеницы является *vrn2*. После яровизации продукт гена *vrn1* (кодирует MADS-бокс транскрипционный фактор) подавляет ген *vrn2*, кодирующий фактор ZCCT-репрессор цветения. Ген *vrn3* кодирует флориген, существование которого было предсказано М.Х. Чайлахяном еще в 1936 году. Знание генетического контроля озимости-яровости и соответствующих молекулярных механизмов позволяет понять роль комбинативной изменчивости по генам *Vrn* и *Ppd* у *Triticum aestivum* L. – вида, обладающего широким адаптивным полиморфизмом, который возник на базе длительного мутационного процесса и естественного отбора.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕСТОД СЕМЕЙСТВА TAENIIDAE

С.В. Коняев

Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН
Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск
s.konyaev@yahoo.com

Представители семейства Taeniidae Ludwig, 1886 являются паразитами человека и животных. Их бинарные названия являются основой для нозологической номенклатуры в ветеринарии и медицине. Большинство родов в семействе неоднократно синонимизировались с типовым родом *Taenia* Linneus, 1758, и вновь восстанавливались. В его состав были включены *Hydatigera*, *Tetratirotaenia*, *Multiceps* и *Fimbriotaenia*. Анализ последовательностей ДНК поддерживает выделение в отдельный род цестод кошачьих – *Hydatigera taeniaeformis*, *H. krepkogorski*, *H. parva*. Цестоды *T. mustelae*, *T. brachicantha* были выделены в отдельный род *Vesteria*. Валидными родами являются *Tetratirotaenia* и *Fimbriotaenia*. Типовой вид рода *Multiceps* – *T. multiceps* генетически близок с типовым видом *Taenia* – *T. solium*, есть подтверждение их морфологической близости, поэтому *Multiceps* следует рассматривать как синоним *Taenia*. Особый интерес представляет выделение в отдельную кладу *T. hydatigena*, *T. regis*, *T. kotlani*, *T. parenchimatosa* sensu Gubaniy, 1994. Личиночные стадии этих видов построены по типу цистицерка, имеющего отлительно больший размер и располагающегося на серозных покровах. Возможно, их также следует выделить в отдельный, новый род. Разделение на два подсемейства Echinocossinae и Taeniinae по всей видимости не оправдано. Во-первых, представители рода *Vesteria*, виды которого всегда относились к *Taenia* или *Tetratirotaenia* по ряду морфологических признаков, ближе к *Echinococcus* и кластеризуются с ним на дендрограммах, что указывает на полифилию такого подсемейства. Во-вторых, генетическое расстояние между всеми представителями этого семейства не столь значительно. Предварительные генетические данные позволяют предположить, что валидными видами могут являться *T. sibirica*, *T. intermedia*, включенные в состав вида *T. martis*. Заслуживает видовой самостоятельности *T. polyacantha artica* и *T. martis americana*. Кроме того, в составе рода присутствуют криптические виды-двойники *H. taeniaeformis*, *V. mustelae*, *T. pisiformis*, *T. krabbei*, *T. crassiceps*. Состав рода *Echinococcus* был пересмотрен с привлечением методов молекулярной генетики. В настоящее время он включает *E. vogeli*, *E. oligarthrus*, *E. shiquicus*, *E. multilocularis*, *E. granulosus*, *E. equinus*, *E. canadensis*, *E. ortleppi* и *E. felidis*. В составе *E. granulosus* выделяют 3 генотипа – G1 и G2, представляющих две генетически близкие, но географически удаленные популяции, а также G3 штамм от буйволов – вероятно самостоятельный вид. *E. canadensis* включает в себя 4 генотипа – G6, G7, G8, G10, ранее рассматриваемые как подвиды – *E. granulosus intermedius* и *E. granulosus canadensis*. Внутри вида *E. multilocularis* выявлено 4 генотипа – европейский, азиатский, североамериканский, монгольский. Последний был описан как самостоятельный вид *E. russicensis*, но его следует рассматривать в качестве подвида *E. multilocularis*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 11-04-00870-а, 12-04-31203).

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПЕРВОГО ИНБРЕДНОГО ПОКОЛЕНИЯ СОРТА КАРТОФЕЛЯ ЧАРОДЕЙ

Н.И. Королева, М.В. Загоскин, А.А. Соловьев

Российский государственный аграрный университет – МСХА

им. К.А. Тимирязева, Москва

Метод анализа ДНК с использованием микросателлитных SSR-маркеров в настоящее время можно считать одним из наиболее информативных для изучения генетического разнообразия растений на молекулярном уровне, меж- и внутривидовой варибельности, картирования генов и др. Одним из основных направлений использования микросателлитных маркеров является проведение генотипирования образцов различных культур.

Исследования проводили на кафедре генетики и в центре молекулярной биотехнологии РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева в 2004–2005 гг. Состав компонентов и условия для амплификации были взяты согласно М. Ghislain с соавт. (2004).

На основе анализа линий, полученных от однократного самоопыления сорта картофеля Чародей, проведено генотипирование исходного сорта по 9 SSR-маркерам.

Для характеристики полиморфизма по SSR-маркерам в анализируемой популяции для каждого из маркеров был рассчитан индекс полиморфности (PIC). Индекс рассчитывали по формуле: $PIC = 1 - \sum (p_i^2)$, где p_i частота i -го аллеля в анализируемой популяции (Ghislain M., 2004). Данные p_i взяты на основе предполагаемых расщеплений, оцененных по χ^2 .

Распределение маркеров по числу фрагментов у сорта Чародей (генотип по SSR-маркерам):

- 1 фрагмент наблюдается по 2 маркерам – STM1106 и STM0037;
- 2 фрагмента наблюдается по 3 маркерам – STM1104, STM2013 и STPоAc58;
- 3 фрагмента наблюдается по 3 маркерам – STM3012, STM3023 и STM0030;
- 4 фрагмента наблюдается по 1 маркеру – STM0019.

Исходя из генотипа сорта Чародей, можно предположить, что по маркерам STM1106 и STM0037 не должно быть расщеплений, по другим – расщепление должно быть.

Анализ наследования SSR-маркеров показал, что по маркерам **STM1106, STM0037 и STM1104** полиморфизма в потомстве от самоопыления сорта Чародей не наблюдалось, а по маркеру **STPоAc58** в связи с малой выборкой генотип точно определить не удалось.

На основе анализа расщепления можно предположить генотип сорта Чародей по изученным маркерам:

STM1106 – $H_{160}, H_{160}, H_{160}, H_{160}$
 STM0037 – $A_{75}, A_{75}, A_{75}, A_{75}$
 STM1104 – $G_{185}, G_{185}, G_{185}, G_{170}$ или $G_{185}, G_{185}, G_{170}, G_{170}$ или $G_{185}, G_{170}, G_{170}, G_{170}$
 STM2013 – $E_{170}, E_{170}, E_{150}, E_{150}$
 STM3012 – $B_{210}, B_{210}, B_{195}, B_{170}$ или $B_{210}, B_{195}, B_{195}, B_{170}$ или $B_{210}, B_{195}, B_{170}, B_{170}$
 STM3023 – $C_{230}, C_{200}, C_{200}, C_{180}$ или $C_{230}, C_{230}, C_{200}, C_{180}$ или $C_{230}, C_{200}, C_{180}, C_{180}$
 STM0030 – $K_{170}, K_{150}, K_{110}, K_{110}$
 STM0019 – $I_{215}, I_{180}, I_{115}, I_{95}$.

Однозначные генотипы определены для тех маркеров, по которым или не наблюдалось полиморфизма (например, STM0037 и STM1106), или в потомстве от самоопыления были обнаружены представители фенотипических классов, значимых в определении генотипа (например, STM2013 и STM0030).

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЗАРОДЫШЕЙ СЕМЯН И ДЕРЕВЬЕВ В ПОПУЛЯЦИИ *PINUS STANKEWICZII* (SUKACZ.) FOMIN В КРЫМУ

И.И. Коршиков, А.А. Калафат, Я.Г. Мильчевская

Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк

dbsgenetics@gmail.com

С позиций развивающейся природоохранной генетики интересны для исследования небольшие популяции видов с ограниченным ареалом, где наряду с действием неблагоприятных природно-климатических факторов постоянно нарастает негативное опосредованное или прямое антропогенное влияние. К числу таких относится уязвимый эндемик Горного Крыма – сосна Станкевича (*Pinus stankewiczii* (Sukacz.) Fomin), небольшие популяции которой постоянно сокращаются из-за пожаров и избыточной рекреационной нагрузки. Так как эти популяции малочисленны с невысокой плотностью растений, то возможны потери их генетического разнообразия в последующих поколениях из-за избыточного самоопыления. В связи с этим сравнение полиморфизма родительских генотипов и зародышей семян способствует лучшему пониманию специфики поддержания генетической изменчивости популяций *P. stankewiczii*. Такие исследования важны и с практических лесоводческих позиций, так как эти популяции могут быть резерватами генетического разнообразия и репродуктивной приспособленности такого реликтового эндемика как *P. stankewiczii*. Целью работы был сравнительный анализ аллозимной изменчивости растений и зародышей их семян популяции *P. stankewiczii*. В качестве генетических маркеров использовали 16 аллозимных локусов 7 ферментов.

У растений *P. stankewiczii* природной популяции 68,8 % генов полиморфны. Доля таких генов у зародышей семян составляет 75,0 %. В семенном потомстве, как правило, воспроизводится аллельное разнообразие материнских растений, однако уровень наблюдаемой гетерозиготности у зародышей семян ($H_o = 0,133$) был значительно меньшим, чем у растений ($H_o = 0,211$). Ожидаемая гетерозиготность в сравниваемых парах выборок материнских деревьев и зародышей семян мало отличалась. В выборках зародышей в отличие от растений отмечено по всем изученным локусам существенное нарушение фактического распределения генотипов от теоретически ожидаемого согласно закону Харди – Вайнберга. Для выборок зародышей характерен, судя по значениям коэффициента F_{IS} , 29,3 %-ный дефицит гетерозигот. Этого не наблюдается у материнских деревьев. Экссесс гомозигот у зародышей неоднократно отмечался в природных популяциях многих видов хвойных.

Исследования аллозимной изменчивости случайных выборок растений и зародышей их семян *P. stankewiczii* из небольшой популяции показали, что им свойственен определенный эффективный размер для поддержания генетического разнообразия в последующих поколениях. Однако для сохранения эволюционно сложившейся популяционно-генетической структуры этого уязвимого реликта требуется ужесточение мер по его охране. Они будут способствовать стабилизации процессов естественного возобновления, повышению эффективной численности разных локалитетов популяции и предотвращению генетической эрозии.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА К ИЗУЧЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЦЕСТОД ГРЫЗУНОВ

А.В. Кривопалов¹, Н.В. Тикунова², Н.В. Фоменко^{2,3}

¹Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН, Новосибирск, krivopalov@gmail.com

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск

³ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск

В настоящий момент времени определение первичных последовательностей нуклеотидов цестод грызунов, обитающих в Евразии и, в частности, на Азиатской части материка, отсутствует для подавляющего большинства видов. Ряд видов являются криптическими, и их различение только по морфологическим признакам затруднено.

Проанализированы последовательности, полученные иностранными коллегами. Они охватывают наиболее доступные, в плане коллекционных сборов, виды, принадлежащие к пяти семействам – Anoplocephalidae, Catenotaeniidae, Hymenolepididae, Mesocestoididae, Taeniidae. Исследованиям в основном подвергались гены: 18S, ITS2, 5.8S, 28S, CO I, Nad1. На основании представленных в GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) последовательностей выбраны олигонуклеотиды 5'-GTC CGA TAG CGA ACA AGT ACC-3' и 5'-GTA GCT CGT CTA CCA CAG CA-3', ограничивающие варибельный фрагмент последовательности 28S рРНК гена. Генетическая структура этого участка ДНК позволяет провести анализ сходств и различий близких видов, устанавливая систематическое положение, в частности, у циклофилидных цестод грызунов. Высокая копияность рибосомальных генов позволяет с высокой вероятностью получить положительный результат. Образцы до анализа хранились при –70 °С. ДНК выделена с использованием набора «Проба-НК» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Специфичность выбранных олигонуклеотидов подтверждена определением первичной нуклеотидной последовательности фрагмента 28S рРНК гена у ряда представителей рода *Paranoplocephala* (сем. Anoplocephalidae), паразитирующих у мышеобразных грызунов (сем. Cricetidae) на территории Западной и Восточной Сибири.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ В ВЫЯВЛЕНИИ ГИБРИДИЗАЦИИ У МХОВ В ПРИРОДЕ

О.И. Кузнецова¹, В.Э. Федосов²

¹Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, oikuznets@gmail.com

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Молекулярные методы являются одним из основных инструментов для решения проблем видообразования растений, в том числе и в изучении гибридного происхождения видов. Несмотря на то, что явление гибридизации в природе у мхов плохо изучено, за последние несколько лет в нашей лаборатории было найдено несколько интересных форм рода *Philonotis* и *Encalypta*, предположительно имеющих гибридогенное происхождение. Выводы о гибридном происхождении видов строятся на основе сравнения как морфологических признаков, так и последовательностей *nrITS1,2* & *5.8SrRNA* и *trnL-F*.

Один из примеров гибридизации между видами (*Philonotis falcata* × *P. marchica*) представляют два образца из Якутии, по морфологическим признакам отнесенные к *P. falcata*. Их последовательности ITS имеют более высокую вариабельность по сравнению с образцами *P. falcata* из Алтая и Дагестана. Обнаружено 12 нуклеотидных замен в последовательности *nrITS1,2* & *5.8SrRNA* и 4 для *trnL-F*, которые дифференцируют «типичный» *P. falcata* от *P. marchica*. Все якутские образцы *P. falcata* имеют восемь замен в последовательности *nrITS1,2* & *5.8SrRNA*, сходных с *P. falcata*, и четыре общих с *P. marchica*, в то время как в последовательности *trnL-F* они имеют две общих замены с *P. falcata* и две с *P. marchica*. Также выявлены два образца *P. capillaris*, по морфологии почти не отличающиеся от других исследованных образцов этого вида, но по последовательностям ITS имеющие большее сходство с *P. tomentella*, чем с *P. capillaris*, что может свидетельствовать о гибридном их происхождении (Koronen et al., 2012).

На основе изучения последовательностей *trnL-F* у 20 образцов, представляющих 6 таксонов рода *Encalypta* секции *Rhabdotheca*, выдвинуто предположение о гибридогенном происхождении *E. trachymitria*. Как по морфологии, так и по молекулярным данным этот вид занимает промежуточное положение между *E. rhaptocarpa* и *E. vulgaris* и, вероятно, является внутрисекционным гибридом (Федосов, 2012).

Интересен для дальнейшего изучения молекулярными методами *Podperaea baii*, описанный в 2011 г. из Китая. На основании последовательности *nrITS1,2* & *5.8SrRNA* его можно рассматривать как возможный результат гибридизации между представителями отдаленных семейств Amlystegiaceae s. l. и Plagiotheciaceae. У этого вида последовательность ITS1 соответствует представителям рода *Herzogiella*, Plagiotheciaceae, а ITS2 типичен для представителей сем. Amblystegiaceae (Игнатов, Милютин, 2011).

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 12-04-32061, 12-04-31211.

УСПЕХИ В ДИАГНОСТИКЕ НОВЫХ ТАКСОНОВ ЭФИОПСКИХ ГРЫЗУНОВ В СВЕТЕ СРАВНИТЕЛЬНОЙ КАРИОЛОГИИ

А.А. Лавренченко, Р.С. Наджафова, Н.Ш. Булатова

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва
admin@sevin.ru*

Анализ хромосом входит необходимой составной частью в комплексные таксономические исследования мелких млекопитающих, распространенных в Эфиопии. В сообщении рассмотрены материалы, полученные в рамках совместной Российско-Эфиопской Биологической экспедиции (JERBE) за 10 полевых сезонов с 1999 по 2012 гг. для представителей 17 родов фауны эфиопских грызунов из разных природных зон. Нередкие обнаружения новых кариотипов могут сопутствовать открытию новых видов или ранее не известных хромосомных комплексов, внося существенные дополнения в представления о распространении и видовых границах как эндемиков Эфиопии, так и распространенных за пределами страны представителей до сих пор мало изученных полиморфных групп. Новые хромосомные характеристики ($2n$ или NF*), при сравнении с уже известными, использованы или могут указывать на перспективу увеличения числа известных видов по меньшей мере в 7 родах грызунов: *Acomys* ($2n=40, 44, 52$), *Dendromys* ($2n=50$), *Desmomys* ($2n=52$), *Lophuromys* ($2n=70$), *Otomys* ($2n=58, 40$), *Stenocephalemys* ($2n=50$) и *Tachyoryctes* ($2n=48^*, 50^*$).

Исследования частично поддержаны РФФИ.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОВОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ

И.В. Лазебная¹, Е.В. Пацко², Т.Р. Кравцова³, О.А. Кокшарова³

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, lazebnaya@mail.ru

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев, ratsko_lena@ukr.net

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
OA-Koksharova@rambler.ru

Для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений используют композиции, состоящие из симбиотических и несимбиотических азотфиксирующих организмов. Среди диазотрофных микроорганизмов наиболее перспективными представляются цианобактерии (Cyanophyta), поскольку они фиксируют атмосферный молекулярный азот и, в отличие от гетеротрофных азотфиксаторов, не требуют наличия в почве уже готового органического вещества.

Целью являлось молекулярное типирование цианобактериального изолята РТВ, эффективного при проведении альгализации почв живыми культурами фотосинтезирующих и азотфиксирующих микроорганизмов. В составе альго-ризобияльных композиций этот изолят стимулировал энергию прорастания, всхожесть семян, способствовал увеличению длины и количества сформированных проростков люцерны и сои.

Для молекулярного генотипирования изолята РТВ в ходе полимеразной цепной реакции были амплифицированы соответствующие фрагменты хромосомной ДНК, содержащие рибосомальный генный кластер (ген 16S рРНК, внутренний транскрибируемый спейсер 16S-23S рРНК и часть гена 23S рРНК) и часть *nifH* гена, кодирующего редуктазу нитрогеназы, фермента, осуществляющего фиксацию атмосферного азота. Синтезированные 1765 п.н. фрагмент, несущий гены рибосомального кластера, и 343 п.н. фрагмент *nifH* гена были клонированы в бактериальном векторе и подвергнуты секвенированию. Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer>). Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы MEGA 5.1 (<http://www.megasoftware.net/>). Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с общей коллекцией таковых в генных банках (GenBank+EMBL+DDBJ) показало, что изолят РТВ не имеет полного сходства ни с одним из ранее исследованных организмов. Последовательности из базы данных GenBank (NCBI), обладающие 88–99 %-ным сходством с анализируемыми последовательностями (BLAST NCBI), выравнивали в программе MEGA 5.1 (MUSCLE). Для филогенетических построений использовали алгоритм ML (Maximum Likelihood) с бутстреп-поддержкой (1000 итераций). При сравнении нуклеотидных последовательностей 16S РНК гена цианобактерия кластеризуется с высоким уровнем бутстреп-поддержки с *Nostoc* sp. HA4355-MV2. Достаточно близко к этой паре находится *Nostoc muscorum*. При использовании в качестве молекулярного маркера гена *nifH* исследуемая цианобактерия попадает в один кластер с *Nostoc muscorum*. Изучаемый изолят назван нами в память безвременно ушедшей Паршиковой Татьяны Викторовны, инициировавшей эти исследования, как *Nostoc* РТВ.

ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКСОМИЦЕТОВ *TUBIFERA FERRUGINOSA*-КОМПЛЕКСА КАК ОСНОВА ДЛЯ ЕГО ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ РЕВИЗИИ

Д.В. Леонтьев¹, М. Шниттлер²

¹Харьковская государственная зооветеринарная академия, Харьков, protista@mail.ru

²Enst Moritz Arndt University of Greifswald, Germany

Tubifera ferruginosa-комплекс (Мухомycetes: Reticulariaceae) объединяет представителей полиморфного вида *Tubifera ferruginosa* (Batsch) J.F. Gmel., а также фенотипически близкие к нему *T. applanata* Leontyev et Fefelov и *Reticularia dudkae* Leontyev et G. Moreno. Целью настоящей работы было изучение генотипического разнообразия в пределах рассматриваемого комплекса и переоценка таксономического статуса его представителей.

Материалом исследования послужили 102 образца миксомицетов *T. ferruginosa*-комплекса и ряда родственных видов, собранных на территории Украины (53), Германии (13), России (11), Франции (9), США (5), Италии (3), Нидерландов (2), а также Швейцарии, Японии, Сейшел, Коста-Рики, Пуэрто-Рико и Австралии (по 1).

В качестве молекулярного маркера выбрана консервативная последовательность гена 16S-RNA, ограниченная сайтами S1 (AACCTGGTGTGATCCTGCC) и SR4 Bright (TGCTGGCACCAGACTTGT). Эта последовательность у большинства высших эукариотов высококонсервативна и не содержит значимых различий на уровне типа/отдела. Однако у миксомицетов и других Амоеbozoa ее структура видоспецифична.

Полученные данные показали, что два вида, ранее описанные нами (*T. applanata* и *R. dudkae*), представлены единичными, четко очерченными, внутренне гомогенными генотипическими паттернами. При этом филогенетический анализ методами neighbor joining и максимальной парсимонии подтвердил, что *R. dudkae* должна быть перенесена в род *Tubifera*.

Напротив, собственно *Tubifera ferruginosa* представлена по меньшей мере восемью генотипическими паттернами, различия между которыми колеблются в пределах от 10 до 50 % изучаемой нуклеотидной последовательности. Такой уровень различий крайне высок даже для рассматриваемой группы и является достаточным основанием для ее таксономической ревизии.

Три из упомянутых «генотипов» *Tubifera ferruginosa* представлены значимым числом образцов. Среди них выделяются два подвида – «западный» (*T. ferruginosa* ssp. *ferruginosa*) и «восточный» – новый для науки (*T. ferruginosa* ssp. '*orientalis*' ad int.). Первый зарегистрирован нами во Франции, Швейцарии, Германии, а также западной и центральной частях Украины (Карпаты, Полесье, Западная Лесостепь). «Восточный» подвид распространен на востоке Украины (Харьковская Лесостепь), в России (Центральная Сибирь, Алтай) и США. Последний факт указывает на историческую взаимосвязь азиатской и североамериканской флор миксомицетов.

Еще один генотипический паттерн характеризует новый для науки вид *T. 'montana'* ad int., распространенный в Крымских горах, Карпатах, на Алтае и в Аппалачах.

Вышеописанные таксоны будут официально обнародованы в международной научной периодике.

Исследование профинансировано Немецким фондом академического обмена (DAAD).

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДОМОВОЙ МЫШИ *MUS MUSCULUS* РОССИИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ПО ДАННЫМ ПОЛИМОРФИЗМА КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА мтДНК

А.Н. Мальцев, Е.В. Котенкова

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,
aleks.maltcev@gmail.com

На территории России и ближнего зарубежья выделяют несколько морфологически отличающихся подвидов *M. musculus* (*M. m. musculus*, *M. m. wagneri*, *M. m. gansuensis*). Задача исследования: оценка филогенетических взаимоотношений и генетической изменчивости подвидов и форм *M. musculus*. Исследовано 72 особи, отловленные из 9 местообитаний в России, Молдове, Армении и Казахстане.

В 72 последовательностях длиной 978 пн обнаружено 50 полиморфных сайтов и два консервативных участка в позициях 371-679 и 681-732. В 65 образцах обнаружена крупная делеция длиной 88 пн. В 7 образцах из 4 популяций (Цимлянские пески, Московская область, Кишинев, Забайкальский край) идентифицирована вставка длиной 89 пн. Максимальные значения генного и нуклеотидного разнообразия отмечены в популяциях *M. m. musculus* из Цимлянских песков и г. Кишинева. Высокие значения этих характеристик свидетельствуют в пользу того, что в их состав входят особи из нескольких ранее изолированных популяций (Avice, 2000). Ряд фактов указывают на их гибридное происхождение. В выборках домовых мышей *M. m. musculus* (г. Ишим), *M. m. gansuensis* (Ю. Забайкалье) и выборке из естественной зоны гибридизации (Закавказье, Армения) зарегистрировано высокое генное разнообразие (H) и низкая нуклеотидная изменчивость (π). В остальных популяциях *M. m. wagneri* (Астрахань) и *M. m. musculus* (Москва и Московская область) эти показатели характеризовались средними значениями.

Показано существование двух филогенетических групп *M. musculus*. В первую входят домовые мыши из зоны гибридизации Закавказья. Они характеризовались наибольшей генетической дивергенцией от других гаплогрупп по данным р-дистанции, высоким генным разнообразием и относительно большим количеством трансверсий. Гаплотипы домовых мышей из Еревана вместе с одним гаплотипом *M. m. musculus*, включающим большую часть последовательностей из Москвы и Московской области (7 из 9), образовали единую филогруппу, достаточно хорошо отделившуюся от других популяций *M. musculus*. Полученные нами данные подтверждают заселение Закавказья линией *M. musculus* (или предковой формой), родственной домовым мышам Восточной Европы. Во вторую филогенетическую линию вошли домовые мыши, обитающие на юге Западной Сибири (г. Ишим). Они вместе с домовыми мышами из Поволжья и Алтая образовали единую филогруппу, но разделенную на две подгруппы.

Проведенный нами анализ полиморфизма мтДНК не выявил дивергенцию подвидов *M. musculus*. Вероятно, это обусловлено гибридизацией между разными парапатрическими таксонами домовых мышей, как на видовом, так и внутривидовом уровнях, что уже обсуждалось (Спиридонова и др., 2008, 2011).

Работа выполнена при поддержке ПФИ Президиума РАН «Живая природа», подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов», РФФИ грант 12-04-31411_мол_а.

RAPD- И SSR-МАРКЕРЫ ГЕНОМНОЙ ДНК ОДНОЛЕТНИХ ВИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Н.В. Маркин¹, В.А. Гаврилова², А.В. Усатов¹, В.Е. Тихобаева¹

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, nmarkin@mail.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН, Санкт-Петербург

С введением молекулярных маркеров в практику биологических исследований появились новые возможности изучения генетического разнообразия, определения родства на внутривидовом и внутривидовом уровнях. Особый интерес представляют молекулярно-генетические маркеры, информативные для установления спектра генетической изменчивости видов с сетчатым способом видообразования. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование внутривидового и внутривидового полиморфизма генома однолетних дикорастущих видов подсолнечника с помощью RAPD- и SSR-маркеров. Объектами исследования служили образцы однолетних видов подсолнечника *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. petiolaris*, *H. debilis* и *H. praecox* из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова, а также культурная линия 3629 (в качестве контроля) из коллекции НИИ биологии ЮФУ. Все исследованные дикорастущие образцы были классифицированы В.А. Гавриловой с сотр., руководствуясь определителем Ч. Хейзера. Полученные нами результаты RAPD- и SSR-фингерпринтинга позволили рассчитать уровень межвидового полиморфизма, который в среднем составил 43,4 %. UPGMA-дендрограмма выявила генетические взаимоотношения между исследуемыми образцами пяти видов. Все исследованные образцы сгруппировались по трем основным кластерам: первый объединяет образцы вида *H. argophyllus*; второй – *H. annuus*, *H. petiolaris*, *H. debilis* и *H. praecox*; третий представлен культурной формой *H. annuus* (линия 3629). На дендрограмме практически все образцы одного вида группируются с высокой степенью статистической достоверности: *H. argophyllus* – 86–100 %, *H. annuus* – 52–100 %, *H. petiolaris* – 38–100 %, *H. debilis* – 34–100 % и *H. praecox* – 59–100 %. Низкие значения бутстрепа (11–34 %) в узлах кластеров межвидовых связей, а также генетические различия (0,25–0,35) указывают на значительный молекулярно-генетический полиморфизм однолетних видов подсолнечника. Необходимо отметить, что образцы одного вида, интродуцированные в разные годы из географически отдаленных ареалов своего естественного происхождения, характеризуются значительными различиями RAPD- и SSR-спектров. Так, например, полиморфизм RAPD-маркеров некоторых образцов в пределах вида *H. petiolaris* и *H. debilis* составил 29 % и 31 %, а их внутривидовые связи поддержаны низкими значениями бутстрепа – 38 % и 34 %, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют, что исследованные RAPD- и SSR-маркеры наряду с морфологическими признаками могут быть эффективно использованы для идентификации коллекционных форм однолетнего дикорастущего подсолнечника.

Исследование выполнено в рамках темы Министерства образования и науки РФ (№ 4.5642.2011) и при финансовой поддержке ФЦП Министерства образования и науки РФ (госконтракт № 16.740.11.0485).

АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА АЗОВСКОГО МОРЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ БИБЛИОТЕК ГЕНА 16S rРНК

Д.Г. Матишов¹, Е.Е. Андронов², Д.И. Водолажский¹, Г.Ю. Глущенко¹, В.В. Стахеев¹

¹Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону, dmatishov@ssc-ras.ru

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Азовское море – высокопродуктивный водоем. До недавнего времени оно являлось лидером по относительному воспроизводству рыбных ресурсов. Базис функционирования экосистемы Азовского моря составляет бактериальное сообщество. Изучение микроорганизмов рассматриваемого водоема проводят с начала XX века, как с применением традиционных методик (Книпович, 1926; Буткевич, 1938; Исаченко, 1951; Толоконникова, Гапонова, 2000; Студеникина с соавт., 2002 и др.), так и с использованием молекулярно-генетических подходов (Dorogina et al., 2000; Сазыкина и др., 2008; Морозова и др., 2012; Сазыкин, 2012). К настоящему моменту было описано 73 таксона родового и видового ранга. Несомненно, это число не характеризует биологическое разнообразие бактерий этой морской экосистемы.

Для получения общих представлений об уровне биологического разнообразия микроорганизмов Азовского моря, его пространственной и таксономической структуры нами выполнен метагеномный анализ. Материалом для работы послужили 11 проб воды, отобранных с борта НИС «Денеб» 9–10 августа 2012 г. с поверхностного и придонного водных горизонтов из разных районов моря. Анализируемый фрагмент – вариабельный участок V4 гена 16S rРНК. Секвенирование библиотек выполнено на приборе GS Junior (Roche).

В результате были идентифицированы бактерии, относящиеся к доменам Eubacteria и Archaea. Идентифицированные микроорганизмы домена Archaea были отнесены к 1 отделу, эубактерии (домен Eubacteria) – к 12 отделам, 26 классам, 47 порядкам, 78 семействам, 259 родам.

Основу бактериального сообщества Азовского моря в исследуемый период составляли представители классов Gammaproteobacteria (10,69–55,51 % в отдельных пробах), Cyanobacteria (1,62–33,62 %), Flavobacteria (1,57–30,40 %), Actinobacteria (2,33–18,45 %) и Alphaproteobacteria (4,40–16,02 %). В отдельных пунктах значительную долю разнообразия микроорганизмов составляли бактерии классов Bacilli (до 8,18 %) и Sphingobacteria (до 4,15 %).

Интересные данные были получены при анализе пространственной структуры бактериопланктона. Полученная UPGMA-дендрограмма демонстрирует отчетливую дифференциацию бактериобиоты на сообщества поверхностного и придонного водных горизонтов на всей акватории Азовского моря, за исключением поверхностной пробы из Керченского предпроливья, попавшей в кладу с придонными.

При анализе статистически значимых различий в структуре объединенных поверхностных и придонных библиотек выявлены маркерные таксоны: роды *Marinomonas*, *Loktanella*, *Persicivirga*, *Neptunomonas*, *Planomicrobium* характерны для поверхностных сообществ, в то время как *Shewanella* встречается исключительно в придонных сообществах. Важной особенностью, характеризующей поверхностные и придонные сообщества, является также более высокое разнообразие последних как по таксономическому богатству (индекс Chao), так и по индексу разнообразия Шеннона.

Таким образом, с использованием метагеномных данных продемонстрирован реальный уровень биологического разнообразия микроорганизмов Азовского моря. Несмотря на мелководность, бактериопланктон изучаемого водоема дифференцирован на поверхностные и придонные сообщества. Перспективным направлением дальнейших исследований является анализ экологических факторов, ответственных за пространственную дифференциацию микробных сообществ Азовского моря.

НОВОЕ В ПОНИМАНИИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНОМА

Д.Г. Матишов, В.А. Тарасов

*Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону
dmatishov@ssc-ras.ru*

Природа и механизмы, лежащие в основе наследственной изменчивости генома, были и остаются одной из центральных проблем современной биологии. Изменчивость генома является не только одним из факторов эволюционного процесса, но и лежит в основе клеточной дифференцировки в процессах развития многоклеточных организмов. В первом случае речь идет о так называемой мутационной изменчивости, во втором, по крайней мере, в основном, об эпигенетической изменчивости генома. Представления об индуцированной изменчивости генома сложились в 30–40-е годы прошлого века, когда исследователи пытались понять механизм мутагенного действия ионизирующей радиации. Было установлено, что процесс возникновения мутаций имеет стохастический случайный характер. Случайность процесса возникновения мутаций характеризует не только действие радиации, но и химический и спонтанный мутагенез. В противоположность этому, наследуемые изменения генома в процессах онтогенеза возникают не случайно, а по строгой программе. Эти сложившиеся представления стали не столь очевидны в связи с открытием микро-РНК и их роли в регуляции генной активности, в первую очередь, так называемого РНК-направленного транскрипционного замолкания генов. Микро-РНК – это маленькие, размером не более 30 нуклеотидных пар, молекулы, которые ассоциируются с комплексами RISC либо RITS и обеспечивают направленное подавление экспрессии генов либо на посттранскрипционном уровне (RISC), либо на транскрипционном уровне (RITS). В первом случае речь идет о дегградации информационной РНК и/или подавлении трансляции, во втором – о метилировании промоторных и структурных участков генов и модификации гистонов.

Известно, что, наряду с возникновением генных и структурных мутаций, индукция повреждений в ДНК приводит к развитию клеточного ответа, который включает в себя изменение транскрипционной активности многих десятков генов, в том числе и генов-детерминантов микро-РНК и генов, включенных в контроль их биогенеза. В последние годы показано для целого ряда микро-РНК, что при действии ионизирующей радиации и целого ряда химических соединений происходит увеличение или уменьшение экспрессии. С другой стороны, РНК-зависимое транскрипционное замолкание генов существенным образом зависит от концентрации микро-РНК в клетках – оно становится доминирующим по сравнению с посттранскрипционным при высоких концентрациях микро-РНК. Это создает предпосылки для индукции эпигенетических изменений в промоторных участках гена, нуклеотидная последовательность которых имеет гомологию с последовательностью соответствующих микро-РНК. В работе рассматриваются полученные нами результаты по изменению профиля экспрессии микро-РНК при действии гамма-квантов и митомицина С и возможность сохранения этих изменений в ряду клеточных делений.

АНАЛИЗ НОВОЙ ПЛАЗМИДЫ D В РАЗЛИЧНЫХ ШТАММ-ИЗОЛЯТАХ У НИТЧАТОЙ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ *ANABAENA*

А.Е. Михеева¹, Е.А. Карбышева¹, А.В. Марданов², Н.В. Равин²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

²Центр «Биоинженерия РАН», Москва

lidamikhееva@yandex.ru

Наличие плазмид является одним из важных таксономических признаков в систематике прокариот. При пиросеквенировании полных геномов штамма дикого типа и водород-продуцирующих мутантов цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 20413 была выявлена новая кольцевая плазида, которая существенно отличалась от трех ранее обнаруженных у этой цианобактерии плазмид (Copeland et al., 2005. Gene Bank DOE Joint Genome Institute: <http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase/AVA>). Размер новой малокопийной плазмиды, обозначенной как D-плазида, составляет 27051 нуклеотид. Построена физическая карта плазмиды. Среди 18 выявленных генов найдены гены ДНК-метиلاзы типа I, ДНК-праймазы, интегразы, рестриктазы, транскрипционного регулятора Rad R-семейства; 10 предполагаемых генов кодируют белки с неизвестными функциями. Плазида D не имеет существенной гомологии с другими плазмидами *A. variabilis* и бактериальными плазмидами, включенными в известные базы данных. D-плазмидная ДНК была выделена с помощью набора реагентов QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN) и визуализирована на электрофореграмме в виде индивидуальной фракции, соответствующей данной плазмиде по результатам рестрикционного анализа. Для поиска гомологичной плазмиды в геномах других цианобактерий использовали 5 пар различных праймеров для специфичных участков нуклеотидной последовательности D-плазмиды. Аналогичная плазида была выявлена также у ряда других гетероцистных штаммов рода *Anabaena*: *Anabaena* sp.V5 и *Anabaena azollae* (Newton's isolate) – минорных симбионтов папоротника *Azolla*, и эпифитной цианобактерии *Anabaena* sp.182, выделенной из листьев риса во Вьетнаме. Данная плазида не обнаружена в геномах *Anabaena siamensis*, *Nostoc* sp. PCC 7120 и *Nostoc punctiforme* ATCC 29133. Наличие плазмиды D у некоторых природных изолятов *Anabaena* подтвердило высокую степень их генетического родства со штаммом *A. variabilis* ATCC 29413, несмотря на то, что они выделены из различных экосистем в географически отдаленных регионах (США, Вьетнам). Отсутствие D-плазмиды в геноме референтного штамма *A. variabilis* ATCC 29413, использованного для полногеномного секвенирования в 2005 г. в DOE Joint Genome Institute (США), по-видимому, связано с утратой D-плазмиды в условиях, отличающихся от условий культивирования исходного штамма (Wolk et al., 1973), поступившего в коллекцию кафедры генетики Московского университета в 1977 г.

СТРОЕНИЕ МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА ГЕНОВ 5S рРНК *SOLANUM BETACEUM* CAV.

О.А. Молода, Ю.Н. Давидюк

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
davi.djuk@hotmail.com

Работа по систематике рода *Solanum* L. еще далека от завершения, что связано с многочисленностью видов и разнообразием их морфологических признаков. Так, дискуссионным вопросом остается включение видов рода *Cyphomandra* в род *Solanum* как одной из секций подрода *Bassovia*. Для решения спорных вопросов систематики и таксономии рода все шире применяются молекулярно-генетические маркеры, в том числе гены 5S рибосомальной РНК (5S рДНК). Поэтому целью нашей работы было применение сравнительного анализа последовательностей 5S рДНК для проверки обоснованности включения видов *Cyphomandra* в род *Solanum* на примере *Solanum betaceum*.

Суммарную ДНК выделяли из гербарных образцов. ПЦР-амплификацию повтора 5S рДНК проводили с применением праймеров 5S-14a-Not + 5S-15-Not. ПЦР-продукты расщепляли эндонуклеазой *Not* I и лигировали в сайт *Eco*52 I плазмиды рLitmus38. Рекомбинантные плазмиды трансформировали в *E. coli* XL-blue методом электропорации. Скрининг трансформантов проводили методом blue-white colony selection с последующим расщеплением эндонуклеазой *Eco*52 I. Повторы 5S рДНК в отобранных клонах секвенировали на ABI Prism 310. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью пакета компьютерных программ DNASTAR.

В результате анализа установлено, что длина повтора 5S рДНК *S. betaceum* – 326 пн. Как и у других видов *Solanum*, он состоит из консервативной кодирующей части длиной 120 пн, последовательность которой на 96–99 % подобна у всех сравниваемых видов, и межгенового спейсера (МГС), включающего относительно медленно эволюционирующие 3'- и 5'-фланкирующие области (ФО) и значительно быстрее эволюционирующую центральную вариабельную область (ВО). Длина МГС *S. betaceum* – 206 пн, что близко к длине МГС у видов *Solanum* (165–229 пн). Уровень сходства МГС *S. betaceum* с видами *Solanum* по 5'-ФО более 90 %, а по ВО находится в пределах от 60,8 % в случае *S. melongena* до 75,6 % при сравнении с *S. bukasovii*. Различия в МГС связаны с точечными заменами и вставками/делециями последовательностей из 2–10 нуклеотидов. Полученные результаты подтверждают родство *S. betaceum* и сравниваемых видов *Solanum* и служат аргументом в пользу включения видов *Cyphomandra* в род *Solanum*.

ISSR-АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *GENTIANA LUTEA* L. УКРАИНСКИХ КАРПАТ

М.З. Мосула¹, И.И. Конвалюк², В.Н. Мельник², Н.М. Дробык¹, В.А. Кунах²

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка,
Тернополь, maryanamosula@gmail.com

²Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев,
kunakh@imbg.org.ua

Официальный вид *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae), который растет в украинских Карпатах, принадлежит к категории уязвимых и нуждается в сохранении биологического разнообразия.

Целью нашей работы было исследование популяционно-генетического разнообразия *G. lutea* с помощью ISSR-маркеров.

Для анализа использовали 9 ISSR-праймеров и по 15 растений из трех популяций, расположенных на хребте Черногора – полонины Лемская и гор Пожижевская и Шешул. Выделение ДНК и ISSR-ПЦР проводили согласно общепринятым методикам.

Проведенный ISSR-анализ позволил изучить меж- и внутрипопуляционную изменчивость *G. lutea*. Значения основных показателей генетического полиморфизма – доли полиморфных ампликонов, генетического расстояния Жаккарда (D_j), генного разнообразия Нея (H_e), информационного индекса Шеннона (S) – были соизмеримы или выше по сравнению с другими описанными в литературе видами семейства Gentianaceae, что свидетельствует о высоком уровне генетического разнообразия *G. lutea*.

Доля полиморфных ампликонов для отдельной популяции колебалась в пределах 37,3–42,2 %. Средние значения генетических расстояний Жаккарда между растениями в пределах одной популяции для лемской и шешульской составляли 33,3 % и 34 % соответственно, для пожижевской – 31,4 %. Для суммарной выборки растений этот показатель ($D_j = 54,8$ %) превышал известный из литературы уровень изменчивости других видов рода, что свидетельствует о генетической изоляции популяций *G. lutea*.

Генное разнообразие Нея и информационный индекс Шеннона имели наивысшие значения для растений шешульской популяции ($H_e = 0,151$; $S = 0,225$), несколько меньшие – для лемской ($H_e = 0,145$; $S = 0,218$) и наименьшие – для пожижевской ($H_e = 0,116$; $S = 0,178$). Значения основных показателей генетического полиморфизма позитивно коррелируют с численностью популяций.

На основе результатов AMOVA установлено, что показатели генетического полиморфизма между популяциями были выше (59 %) по сравнению с внутрипопуляционной изменчивостью (41 %). Полученные результаты можно объяснить генетической изоляцией популяций *G. lutea*.

Таким образом, с помощью ISSR-анализа исследовано генетическое разнообразие трех популяций *G. lutea*. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии близкой угрозы обеднения генофонда этого вида.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОДВИДОВ СЕРОГО ЖУРАВЛЯ *GRUS GRUS GRUS* (L.) И *G. G. LILFORDI* (SHARPE) ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

Е.А. Мудрик¹, Т.А. Кашенцева², Е.А. Гамбург¹, Д.В. Политов¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, mudrik@vigg.ru

²Питомник редких видов журавлей, Окский государственный заповедник

Серый журавль (*Grus grus* L.) – широкоареальный политипический вид, у которого выделяют четыре подвида. Два недавно описанных горных подвида – закавказский (*G. g. archibaldi* Ilyashenko & Ghasabyan) и тибетский (*G. g. korelovi* Ilyashenko, Belyalov) серые журавли – немногочисленны и изолированы от гнездовой части южной границы ареала вида. Для двух других широко распространенных равнинных подвидов – номинативного западного (*G. g. grus* L.) и восточного (*G. g. lilfordi* Sharpe) серых журавлей – границы ареалов и таксономические признаки остаются недостаточно изученными (Ильяшенко, 2011; Винтер и др., 2011). Считается, что западный подвид крупнее и имеет более темные третестепенные маховые перья, чем восточный, а зона интерградации двух подвидов проходит в Предуралье и междуречье Волги и Урала (Ильяшенко и др., 2008). Вместе с тем, среди западных птиц могут встречаться разные формы окраски маховых перьев, особенно у неполовозрелых птиц, а различия в размерах тела (длина клюва, плюсны, крыла и хвоста) варьируют у самок и самцов в пределах подвида больше, чем средние показатели этих признаков между подвидами (Винтер и др., 2011). Таким образом, уточнение таксономического статуса западного и восточного серого журавлей еще не закончено и нуждается в генетической интерпретации по молекулярным маркерам. В единственной работе по филогении серого журавля показана низкая степень генетической дифференциации между его подвидами по митохондриальной ДНК (Haase, Ilyashenko, 2012).

Целью нашей работы было сравнение уровней генетической изменчивости западного и восточного серого журавлей с помощью ядерных ДНК-маркеров – 10 высокополиморфных микросателлитных локусов (*Gram-22*, *Gram-30* (из Jones et al., 2010), *GjM-15*, *GjM-34* (из Hasegawa et al., 2000), *Gj4066*, *Gj4077*, *Gj2298* (из Zou et al., 2010), *Gpa-12*, *Gpa-38*, *Gpa-39* (из Meares et al., 2008)). Эти локусы были протестированы нами ранее и отобраны как перспективные для изучения серого журавля (Мудрик и др., 2012). Анализ проводился в основном на вольерных птицах, происходящих из природы, и частично на материале, собранном непосредственно на гнездовых участках западного подвида (перья). Так, в западную группу нами были включены 29 журавлей из Эстонии, Украины, Калининградской, Тверской, Московской, Ростовской, Калужской, Рязанской, Ивановской и Пензенской областей. В восточную группу были объединены 14 птиц из природы Свердловской, Тюменской, Новосибирской областей, Красноярского края, Якутии и Казахстана. Перечисленные локусы у серого журавля были высокополиморфными, по ним идентифицировано от 5 до 21 аллеля. Средние показатели генетической изменчивости для обеих групп оказались на одинаковом уровне и составили для западных и восточных птиц, соответственно: число аллелей на локус – 8,0 и 7,2; наблюдаемая гетерозиготность – $0,669 \pm 0,049$ и $0,693 \pm 0,076$; ожидаемая гетерозиготность – $0,726 \pm 0,052$ и $0,702 \pm 0,064$. Генетическая дифференциация между всеми журавлями была незначительной (1,4 %). Вместе с тем, анализ главных компонент по индивидуальным генотипам птиц показал большее генетическое разнообразие западной группы серого журавля по сравнению с восточной. Таким образом, предварительный анализ микросателлитных локусов не выявил принципиальных различий между выборками двух подвидов серого журавля, однако обнаруженная гетерогенность западных и уральских журавлей и слабая представленность восточного подвида говорят о необходимости продолжения анализа на расширенных выборках.

Работа поддержана проектом программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов») и Евразийской региональной ассоциацией зоопарков и аквариумов (ЕАРАЗА) (программа «Сохранение журавлей Евразии»).

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕДКОГО ВИДА *DICTAMNUS GYMNSTYLIS* STEV. В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

А.Н. Мустафина

Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН, Уфа,
alfverta@mail.ru

Ясенец голоistolбиковый (*Dictamnus gymnostylis* Stev.) – редкое эфиромасличное и декоративное растение из семейства рутовых (Rutaceae), находящееся на Южном Урале на северном и восточном пределе распространения и представленное небольшим числом изолированных локалитетов. Вид включен в «Красную книгу Республики Башкортостан» (2011) с категорией II – уязвимый вид, а также в Красные книги таких регионов, как Самарская, Оренбургская области и др. Ранее анализ генетического разнообразия вида как в регионе исследований, так и в других регионах РФ не проводился.

Молекулярно-генетический анализ десяти основных ценопопуляций *D. gymnostylis* из 5 районов Предуралья Республики Башкортостан ISSR-методом выявил 135 амплифицированных фрагментов ДНК, 134 из которых были полиморфны. Доля полиморфных локусов при P_{95} в среднем составила 0,99. Праймер X10 выявил самые низкие значения полиморфизма в популяциях, а праймер M3 – самые высокие. Значение ожидаемой гетерозиготности (H_e) по локусам в общей выборке равно 0,011. Эффективное число аллелей на локус на общую выборку – 1,294. Высчитано число редких аллелей (R) в каждой популяции, максимальное значение этого параметра – в ЦП Никифарово, а его отсутствие – в ЦП Кара-Якупово 1, Талачево, Буриказганово. Оценка внутри- и межпопуляционного разнообразия была проведена также на основе информационного индекса Шеннона (H_0). Средние значения индекса разнообразия Шеннона для популяций выше при амплификации ДНК с праймером M27 ($H_{\text{pop}}=0,263$), а самое низкое значение отмечено – с праймером X10 ($H_{\text{pop}}=0,208$). Среднее значение индекса Шеннона (H_{pop}) – 0,229.

В целом по результатам исследований ISSR-метод показал, что этот вид характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия ($P_{95}=0,990$; $H_e=0,207$; $H_0=0,354$). Все установленные параметры генетического разнообразия выше в ЦП Садовый ($P_{95}=0,970$; $H_e=0,175$; $H_0=0,263$). Все популяции характеризуются ненарушенной генетической структурой ($h=0,208$). Установлено, что изученные ценопопуляции ясенеца голоistolбикового дифференцированы, так как на межпопуляционную компоненту генетического разнообразия *D. gymnostylis* приходится 36,50 % разнообразия, а на внутрипопуляционную – 63,50 %. Наибольшее генетическое расстояние отмечено между ЦП Услы и Миякитамак 1, оно составило 0,1984, а наименьшее – между ЦП Услы и Кара-Якупово 1 (0,0574). Показано, что ISSR-маркеры являются стабильными и четко воспроизводимыми и позволяют выявить высокий уровень полиморфизма, который может служить основой для идентификации генотипов *D. gymnostylis* с декоративными признаками. Молекулярно-генетический анализ ясенеца перспективен для выявления состояния генофонда популяций этого вида и разработки рекомендаций по его охране.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЖУКОВ-ЧЕРНОТЕЛОК РОДА *ODOCNEMIS* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

М.В. Набоженко¹, Б. Кескин², Н.А. Кескин²

¹Азовский филиал Мурманского морского биологического института КНЦ РАН, Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону, nalassus@mail.ru

²Эгейский университет, Измир-Борнова, Турция, bekir.keskin.phd@gmail.com

Odocnemis – один из крупнейших родов жуков-чернотелок (62 вида) подтрибы *Cylindrinotina* трибы *Helopini* подсемейства *Tenebrioninae*, представители которого распространены в Средиземноморье, Закавказье, Иране и Восточной Европе. Род отличается широким полиморфизмом и морфологически делится на несколько групп видов, соответствующих под родам. Нами проведен глубокий морфологический анализ группы, изучены экологические особенности и распространение каждого вида в восточной части ареала, в границах Турции, Ближнего Востока, Закавказья и Ирана. В результате этой работы нами выделены 8 групп видов *Odocnemis*, описаны новые роды *Microdocnemis*, *Idahelops*, *Taurohelops*, ряд таксонов сведен в синонимы, отдельные виды переведены в род *Armenohelops*. После таксономической ревизии были проведены молекулярно-генетические исследования рода *Odocnemis* и близких родов из подтрибы *Cylindrinotina*, обитающих в Турции: *Taurohelops*, *Idahelops*, *Nalassus* с помощью генетических маркеров *cox1* и *Mp20*. Целью этого анализа были проверка монофилии выделенных таксонов и групп видов (*cox1* использован для контроля правильности выделения видовых и подвидовых группировок *Helopini*, а *Mp20* – для надвидовых групп), а также выяснение филогенетических связей. Филогенетический анализ был проведен отдельно для *cox1* и *Mp20* каждого рода. В качестве аутгрупп использовались два рода из подтрибы *Helopina*, *Gunarus* и *Raiboscelis*, а также *Dailognatha* (подсемейство *Pimeliinae*).

При анализе филогении рода *Odocnemis* и близких родов были построены парсимоничные кладограммы для *cox1*, *Mp20*, а также схемы гаплотипов ядерной и митохондриальной ДНК.

Генетические исследования подтвердили монофилетичность двух подтриб трибы *Helopini*: *Helopina* и *Cylindrinotina*. Наиболее парсимоничная кладограмма, построенная для нуклеотидных последовательностей *Mp20*, подтверждает монофилетичность большинства надвидовых групп в подтрибе *Cylindrinotina* (*Idahelops*, *Taurohelops*, *Armenohelops*, *Nalassus*, *Odocnemis* с группами видов). Парсимоничная кладограмма, построенная для *cox1* с помощью PAUP 4.06.10, показала не только полное соответствие с выделенными фенонами и группами, но и с большинством предполагаемых родственных связей между видами и группами видов на основе морфологии. Единственный конфликт с морфологическими данными в обоих случаях состоит в полифилетичности *Odocnemis* при включении в него группы видов *recticollis*, которая имеет родственные связи с родом *Taurohelops*, объединяясь с ним в отдельный кластер.

ОЦЕНКА МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ЧЕРНОМОРСКОЙ КУМЖИ (*SALMO TRUTTA*)

Н.А. Небесихина¹, М.А. Гогуга², Н.Н. Тимошкина^{1,3}

¹Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, Ростов-на-Дону, nebo_N_71@mail.ru

²Абхазский государственный университет, Институт экологии АН Абхазии, Сухум, goguam1@mail.ru

³Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону, n_timoshkina@mail.ru

Черноморская кумжа (*Salmo trutta labrax*) наряду с ее пресноводной формой – ручьевой форелью (*Salmo trutta morpha fario* L.), входит в состав единого черноморского лососево-форелевого стада. По данным анализа митохондриальной ДНК черноморская кумжа отнесена к дунайской филогенетической группе, где представлена четырьмя генотипами (Bernatchez, 2001), более ранние исследования, основанные на анализе аллозимных локусов, выявили только три гаплотида, два из которых отмечены в реках Абхазии (Осинов и др., 1996).

В настоящее время анализ, основанный на микросателлитной изменчивости ДНК, является наиболее объективным методом оценки генетической дивергенции популяций лососевых рыб (Apostolos et al., 2008; Афанасьев и др., 2008; Осинов, 2009).

Генетическая структура популяции кумжи в бассейнах рек северо-восточной части Черного моря до настоящего времени не изучалась.

В связи с этим цель нашей работы заключалась в первичном анализе вариабильности черноморской кумжи, отбор проб осуществлялся в 2009–2011 гг. в р. Кодор и р. Том (приток р. Ингур) на территории Абхазии и реках Аше, Псезуапсе, Шахе, Мзымта и собственно в Черном море в границах территориальных вод РФ. Генетическое разнообразие оценивали с помощью микросателлитного анализа по 6 локусам (Ssa197, Ssa408, Sssp2216, Str85, Str543, Strutta17). При обработке результатов были использованы наши данные по выборке беломорской кумжи (р. Индера), как внешней группы сравнения.

Микросателлитный анализ показал, что большинство исследованных особей гетерозиготны по всем изученным локусам. Полиморфны все 6 исследованных локусов, наименьший уровень полиморфизма выявлен для локуса Str85. Идентифицировано 92 аллеля по всем 6 локусам. В целом аллельное разнообразие было выше в черноморской выборке в сравнении с беломорской. Это наблюдение нельзя полностью объяснить более представительной выборкой кумжи Черного моря, так как набор аллелей был богаче и в абхазской группе.

Уровень гетерозиготности ожидаемо был выше в черноморской выборке. Отметим, что наблюдаемая гетерозиготность продемонстрировала почти во всех случаях значительные отклонения от ожидаемой гетерозиготности. На этом фоне и, учитывая малочисленность абхазской выборки, обращают внимание повышенные значения гетерозиготности в этой группе по локусу Strutta17, что может свидетельствовать об эффекте Валунда, т.е. более сложной популяционно-генетической структуре стада кумжи из рек Абхазии.

Таким образом, микросателлитный анализ продемонстрировал существенную генетическую структурированность и значимые различия между выборками. Исследуемые популяции черноморской кумжи, будучи малочисленными и изолированными, подвержены высокому риску исчезновения. По этой причине настоятельно требуется реализация мероприятий по сохранению популяции с учетом ее генетической дифференциации.

ОРГАНИЗАЦИЯ 5'-ВНЕШНЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА 35S рДНК *SOLANUM VESPERTILIO* AIT.

В.В. Немиш, Р.А. Волков

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
ra.volkov@gmail.com

В последнее время таксономические исследования в роде *Solanum* L. проводятся с применением молекулярно-генетических маркеров, таких как гены 35S рибосомальной РНК (рДНК), которые содержат участки, эволюционирующие с различной скоростью. Так, сравнительный анализ части межгенного спейсера, граничащей с 5'-концом гена 18S рРНК – 5'-внешнего транскрибируемого спейсера (5'BTC) – использовался для определения филогенетических связей в родах *Solanum* и *Nicotiana*. Целью нашей работы было изучение структурной организации 5'BTC у *S. vespertilio* и уточнение таксономического положения этого вида в роде *Solanum*.

Суммарную ДНК выделяли из гербарных образцов. ПЦР-амплификацию 5'BTC 35S рДНК проводили с применением праймеров RV20-Not + 18S-Not. ПЦР-продукты расщепляли эндонуклеазой NotI и лигировали в сайт Eco52 I плазмиды pLitmus38. Рекомбинантные плазмиды трансформировали в *E. coli* XL-blue методом электропорации. Для скрининга трансформантов применяли blue-white colony selection и последующее расщепление эндонуклеазой Eco52 I. Область 5'BTC 35S рДНК в отобранных клонах секвенировали на ABI Prism 310. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью пакета компьютерных программ DNASTAR.

Сравнительный анализ последовательностей позволил установить, что длина 5'BTC *S. vespertilio* составляет 970 пн. Подобно другим видам *Solanum* 5'BTC *S. vespertilio* состоит из граничащей с 5'-концом гена 18S рРНК консервативной области (КО) длиной 550 пн, на 60,7–70,4 % схожей с 5'BTC сравниваемых видов, и вариабельной области (ВО), начинающейся от точки инициации транскрипции, с уровнем похожести 49,0–64,7 %. В ВО *S. vespertilio* найдены характерные для видов *Solanum* консервативный элемент длиной 40 пн и Xba I-сегмент длиной 29 пн, что позволяет отнести 5'BTC к эволюционно древнейшему варианту А – исходному для вариантов В, С, D1, D2, которые возникли позже в процессе эволюции видов секции *Petota*. Особенности организации 5'BTC *S. vespertilio*, вероятно, связаны с его ранней дивергенцией в роде *Solanum* и с последующей изоляцией в качестве эндемичного вида Канарских островов.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДВУХ ВИДОВ РОДА *JUNIPERUS* L.

А.В. Николаева, Л.А. Калафат, И.И. Коршиков

Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк

dbsgenetics@gmail.com

Нерациональная хозяйственная деятельность человека оказывает весьма существенное негативное влияние на лесные экосистемы Крыма, что приводит к сокращению внутривидового, и как следствие, и биотического разнообразия. Изучение генетического разнообразия видов необходимо для формирования стратегии и тактики сохранения их генофонда, для разработки методов селекции и лесоразведения хозяйственно ценных пород на популяционно-генетической основе. Целью нашей работы было изучение генетического разнообразия двух видов рода *Juniperus*: можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* Bieb.) и м. колючего (*J. oxycedrus* L.), подверженных избыточному антропогенному влиянию вследствие рекреации. На основе электрофоретического анализа 16–18 изоферментных локусов, контролирующих 8–9 ферментных систем, исследован уровень генетической изменчивости этих популяций.

У *J. excelsa* в шести популяциях, расположенных от мыса Айя до Карадага, все изученные локусы были полиморфными, а на один локус в среднем приходилось 2,78 аллеля. Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_E) в среднем составил 0,355. Значения наблюдаемой гетерозиготности (H_O) были несколько выше ($H_O = 0,385$), что говорит о небольшом избытке гетерозигот в целом у *J. excelsa*. Однако генотипическая структура большинства популяций близка к равновесной, т.к. по подавляющему большинству локусов фактическое распределение генотипов в популяциях соответствовало теоретически ожидаемому согласно закону Харди – Вайнберга. Высокий уровень изменчивости *J. excelsa* в Крыму подтверждает тот факт, что во многих исследованных хвойных средиземноморья уровень гетерозиготности выше на 45 %, чем у других представителей хвойных. Таким образом, несмотря на краевое положение и длительное изолированное существование небольших популяций *J. excelsa* в Крыму, все они характеризуются высоким уровнем генетической изменчивости.

У *J. oxycedrus* в четырех популяциях на северной границе его распространения полиморфными были 80,0 % локусов, а среднее число аллелей на локус составило 2,45. В исследуемых популяциях фактическое распределение генотипов в подавляющем большинстве случаев заметно не отличалось от теоретически ожидаемого. Генетическая структура популяций характеризуется нехваткой гетерозигот (8,2 %). Популяции *J. oxycedrus* Крыма имеют меньшую (почти вдвое) гетерозиготность, чем популяции *J. excelsa* ($H_O = 0,213$, $H_E = 0,232$).

В результате наших исследований пока можно констатировать, что *J. excelsa* на Южном берегу Крыма имеет более высокий уровень генетической изменчивости, нежели *J. oxycedrus*. Поскольку считается, что современные виды живых организмов достигли в ходе эволюции оптимума адаптации, то генетическая изменчивость, которая проявляется в их популяциях в наше время, является для них наиболее благоприятной.

К ВОПРОСУ О ПОЛИМОРФИЗМЕ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (*PUSA CASPICA*)

Е.П. Олейников, Д.И. Водолажский, А.А. Кондаков

Институт аридных зон ЮНЦ РАН, Ростов-на-Дону

Выявление степени внутривидового разнообразия популяции каспийского тюленя возможно после проведения анализа местообитаний вида, а также после проведения исследований генетического и морфологического полиморфизма. Современные литературные источники констатируют, что каспийский тюлень имеет относительно низкий уровень генетического полиморфизма в пределах традиционных локусов исследования (Palo 2003; Palo, 2006; Fulton, Strobeck, 2010) и внутри вида выделение субпопуляционных структур не предполагается (Огнев, 1935; Гептнер, 1976; Аристов, Барышников, 2001).

На основании прямого секвенирования локуса гена цитохрома *b* (*cyt b*) мтДНК нами было проведено исследование генетического разнообразия *P. caspica* (10 особей). Экстракцию ДНК проводили из образцов покровных тканей павших особей, найденных на побережье северо-западной и западной части Каспия.

Важной особенностью современной экологической ниши каспийского тюленя является почти полное отсутствие прямых конкурентов, кроме возможной конкуренции за пищевые ресурсы с крупными видами рыб-ихтиофагов, но исследуемый вид ластоногих имеет различные взаимодействия с окружающей средой и на него могут оказывать влияние изменения относительно замкнутой («островной») экосистемы Каспийского моря. При рассмотрении пространственной и временной динамики популяции каспийского тюленя возможно выделение ряда особенностей. В литературных источниках для популяции этого вида ластоногих указывается регулярная сезонная миграция по Каспийскому морю: для размножения в северную часть моря, а для нагула – в центральную или южную, обладающих отличающимися климатическими и гидрологическими условиями (Бадамшин, 1966). Северная и центральная части моря находятся в умеренном климатическом поясе, а южная уже относится к субтропическому поясу (Каспийское море., 1992). Но размножение *P. caspica* отмечалось традиционно как на севере Каспийского моря, так и в южной его части (Крылов, 1986).

Анализ полученных нуклеотидных последовательностей локуса *cyt b* показал относительно высокую степень внутривидового полиморфизма *P. caspica*. Полученные данные позволяют предположить, что у каспийских тюленей выражен генетический полиморфизм локуса *cyt b* мтДНК. На основании этих данных возможно выделение внутривидовой структуры.

Проведенные нами краниологические исследования (Олейников, 2011), а также молекулярно-биологические исследования локуса *cyt b* мтДНК (Водолажский и др., 2009) позволяют утверждать, что популяция каспийского тюленя имеет выраженные признаки морфологического и генетического полиморфизма.

АССОРТАТИВНОЕ СКРЕЩИВАНИЕ – ЗАЩИТА ГЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ ФИЛОГРУПП ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ, *SOREX ARANEUS SENSU LATO* (MAMMALIA)

В.Н. Орлов

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва
orlovvic@yandex.ru*

Широкое применение молекулярных методов возродило интерес к концепции генетического вида (ГВ). Согласно определению ГВ контактирующие и репродуктивно не изолированные формы можно рассматривать как самостоятельные виды, если их генные комплексы не разрушаются гибридизацией. Многие филотруппы отвечают этому условию, их общее число у млекопитающих может приближаться к числу известных видов (Baker, Bradley, 2006).

Обычно полагают, что интегрированность генных комплексов защищает накопление генетических различий, однако механизм подобной защиты оставался не изученным.

В прежнем большом политипическом виде обыкновенной бурозубки известно 5 филотрупп, в различной степени репродуктивно изолированных, и более 70 хромосомных рас, в зонах контакта которых обнаруживаются гибриды – простые гетерозиготы или комплексные (КГ) (Орлов, 2010). Именно такой модельный вид наиболее удобен для исследования механизмов защиты генных комплексов филотрупп от разрушающей гибридизации.

Молекулярные исследования с использованием микросателлитных маркёров плеч хромосом показали, что у обыкновенной бурозубки любые Rb-соединения хромосом не влияют на поток генов (Григорьева и др., 2011; Horn et al., 2012).

Некоторые исследованные нами гибридные зоны с гибридами КГ не задерживают гаплотипы мтДНК и микросателлитные аллели, но популяции, разделенные такими зонами, достоверно отличаются по морфометрическим особенностям челюстного аппарата (Орлов и др., 2013а). Показано, что в таких гибридных зонах в 2 раза уменьшается наблюдаемая численность гибридного потомства и, одновременно, увеличивается наблюдаемая численность потомства исходных рас по сравнению с теоретически ожидаемыми значениями, что возможно только при ассортативном скрещивании (Орлов и др., 2012, 2013б).

Очевидно, такое уменьшение доли гибридов создает определенный изолирующий эффект, которым можно объяснить различия контактирующих рас по функционально значимым морфологическим признакам, поддерживаемым отбором. В то же время, такое уменьшение доли гибридов не создает барьера для нейтральных молекулярных признаков.

В некоторых гибридных зонах с гибридами КГ численность гибридов уменьшается в 4 раза по сравнению с теоретически ожидаемой и такие зоны оказываются препятствием для распространения не только морфологических, но и молекулярных признаков.

Сделан вывод, что защищенность генных комплексов контактирующих филотрупп и хромосомных рас возникает в результате ассортативного скрещивания. В свою очередь ассортативное скрещивание формирует в эволюции отбор против гибридов с пониженной приспособленностью, поскольку имеются данные, указывающие на пониженную плодовитость гибридов КГ у обыкновенной бурозубки (Borodin, 2008).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАТТЕРНА 5'-УКОРОЧЕННЫХ КОПИЙ R2 РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ В ГЕНОМЕ РЫЖИХ ТАРАКАНОВ, ОБИТАЮЩИХ В ГЕОГРАФИЧЕСКИ УДАЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Н.Ю. Оюн, А.С. Каграманова, Д.В. Муха

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

nad_oюн@mail.ru

Мобильные элементы (МЭ) обнаружены практически у всех исследованных эукариот, причем на их долю может приходиться до нескольких десятков процентов геномной ДНК. У всех членистоногих, в частности насекомых, кластеры рибосомных генов содержат R1/R2 non-LTR ретротранспозоны. Показано, что в процессе транспозиций этого класса МЭ происходит сайт-специфическое встраивание в геном не только функциональных копий, но и их 5'-укороченных вариантов. Паттерн 5'-укороченных копий R1/R2 non-LTR ретротранспозонов является уникальным молекулярным маркером, позволяющим выявлять индивидуальные различия между особями. В рамках проведенной работы исследован паттерн 5'-укороченных копий R2 non-LTR ретротранспозонов в геноме рыжих тараканов *Blattella germanica*, обитающих в различных популяциях.

Сбор насекомых был проведен в 12 различных свиарниках, расположенных на территории США (штат Северная Каролина). В общей сложности было исследовано 569 особей. 5'-укороченные копии R2 non-LTR ретротранспозонов выявляли методом ПЦР с использованием пары праймеров, один из которых локализован в теле мобильного элемента, а второй – во фланкирующей МЭ области 28S рДНК.

В результате исследования было выделено 11 вариантов 5'-укороченных копий различной протяженности и определен процент встречаемости данных вариантов укороченных копий в каждой из популяций. На основе анализа частот встречаемости среди исследованных вариантов 5'-укороченных копий выявлены уникальные укороченные копии исследованных МЭ, характерные только для определенной популяции, а также варианты 5'-укороченных копий МЭ, встречающиеся во всех популяциях с высокой частотой. На основе оценки частот встречаемости вариантов 5'-укороченных копий определены генетические дистанции между популяциями.

Кроме того, в рамках данной работы впервые показано существование «горячих точек» терминации обратной транскрипции РНК-копий R2 ретротранспозонов рыжего таракана. Обнаружение неслучайного характера терминации обратной транскрипции R2 ретротранспозонов, с нашей точки зрения, открывает возможность изучения структурных особенностей сайтов терминации и приближает к пониманию молекулярного механизма транспозиций этого класса МЭ.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ИССЛЕДОВАНИИ РАЗНООБРАЗИЯ ХРОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ *SOREX ARANEUS* L.

С.В. Павлова

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва,
swpavlova@mail.ru

В настоящее время, по мере развития молекулярных методов анализа при изучении генетического разнообразия популяций, становится возможным как выявлять криптические виды и внутривидовые формы, так и исследовать причины и механизмы внутривидовой подразделенности. Одним из модельных видов для изучения внутривидового разнообразия на хромосомном уровне является мелкое насекомоядное – обыкновенная бурозубка *Sorex araneus* Linnaeus, 1758. Ареал этого вида подразделен на парapatричные хромосомные расы (известно более 70), которые, скрещиваясь, образуют гибриды различной кариотипической сложности. При этом хромосомные расы не смешиваются между собой и остаются парapatричными. Различия между расами возникают за счет транслокационных хромосомных перестроек Робертсоновского типа (центрические слияния), которые затем могут эволюционировать посредством полноплечевых реципрокных транслокаций (whole-arm reciprocal translocation – WART).

Это предположение было доказано методами молекулярной цитогенетики, а именно посредством флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) проб теломерной ДНК на метафазных хромосомах. Впервые локализация активных сигналов теломерных повторов была изучена в кариотипе сибирской расы Новосибирск (Zhdanova et al., 2007), а затем расы Нерусса, распространенной на европейской части России (Pavlova, 2013).

В обоих случаях продемонстрировано, что позитивные FISH-сигналы локализованы стандартно на дистальных (теломерных) концах всех без исключения хромосом, составляющих кариотип *S. araneus*. Помимо этого, были обнаружены позитивные сигналы, соответствующие интерстициальным сайтам (ITSs) в перичентрических районах всех расово-специфических метацентриков (раса Новосибирск *go, hn, jl, ik, mp, qr*; раса Нерусса *go, hi, jl, kr, mn, pq*), тогда как в инвариантных хромосомах *af, bc, tu* и *de* (X-хромосома), общих для всех хромосомных рас *S. araneus*, позитивные сигналы отсутствовали. Однако слабый FISH-сигнал отмечался иногда в перичентрическом *p*-не инвариантного метацентрика *bc* (Zhdanova et al., 2007; Pavlova, 2013). Из этих первых, пока единичных данных можно заключить, что хромосомные перестройки по типу Р6- и WART-слияний не приводят к полной потере теломерных последовательностей при внутривидовом полиморфизме, как можно было ожидать в свете традиционных представлений, основывающихся на дислокационной гипотезе Навашина, по крайней мере, на первых этапах существования нового метацентрика. Однако в ходе дальнейшей эволюции, вероятно, ITSs могут быть потеряны, что, в частности, и подтверждается отсутствием позитивных сигналов в перичентрических районах 'древних' метацентрических хромосом *af, bc, de*, поскольку известно, что фиксация этих Р6-метацентриков происходила на самых ранних этапах эволюции кариотипа в ветви, ведущей к *S. araneus*.

Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-31200-мол_а.

О ЧЕМ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* DESV.?

И.Ю. Парникоза¹, И.О. Андреев¹, И.А. Козерецкая², В.А. Кунах¹

¹Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, kunakh@imbg.org.ua

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев,
iryna.kozeretska@gmail.com

В дискуссии о времени проникновения злака *Deschampsia antarctica* Desv. в Морскую Антарктику (до или после плейстоцена) в качестве аргумента часто привлекают данные молекулярно-генетических исследований, которые, по мнению некоторых авторов, свидетельствуют о сравнительно недавней пост-плейстоценовой колонизации региона. Данное утверждение базируется почти исключительно на установленном факте низкой генетической гетерогенности *D. antarctica*, показанной рядом методик, в частности AFLP. Подобные данные методом RADP получены и нами. Однако остается абсолютно неизвестным, о чем свидетельствует такой уровень гетерогенности, поскольку непонятно, с какой скоростью происходит формирование генетического разнообразия в Антарктике и, соответственно, трудно установить, какому отрезку геохронологической шкалы отвечает наблюдаемый уровень полиморфизма. Прослеживается определенный тренд возрастания генетического разнообразия с юга на север и далее до южной оконечности Южной Америки, что свидетельствует почти исключительно о локализации центра происхождения и/или выживания таксона в зоне контакта Южной Америки и Антарктики, но не о времени разделения популяций. Не проясняют ситуации и существующие данные анализа хлоропластной ДНК из-за возможности наличия еще невыявленных гаплотипов. Изучение последовательности ВТС1-2 35S рДНК обнаружило полиморфизм на уровне замен отдельных нуклеотидов. В целом, такая картина характерна и для типичных реликтовых видов, о которых известно, что они пережили плейстоценовое оледенение в рефугиумах.

Таким образом, существующие данные молекулярно-генетических исследований, проведенных на популяционном уровне для сосудистых растений Антарктики, не позволяют окончательно решить вопрос о времени вселения *D. antarctica*, как в силу недостаточной обоснованности выбора применяемых методик, так и в силу сложности получения достаточного количества материала. Популяционно-генетические исследования аборигенных видов Антарктики находятся на начальном этапе развития, а это значит, что будущее может обогатить нас самыми неожиданными результатами.

ОЦЕНКА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИЗНАКОВ ОДНО-ДУХЛЕТНИХ ПОЛУСИБОВ КЕДРА СИБИРСКОГО

А.М. Пастухова

*Сибирский государственный технологический университет, Красноярск,
past7@rambler.ru*

Для воспроизводства лесов на генетико-селекционной основе требуется изучить особенности наследования количественных и качественных признаков основных лесообразующих пород, полиморфность семенного потомства, выращенного из семян, собранных на ЛСП, географических культурах и других семеноводческих объектах, на которых представлено определенное количество генотипов.

Данные исследования направлены на изучение изменчивости полусибов кедра сибирского на ранних этапах развития, полученных от свободного переопыления различных климатипов.

Объектом исследований являлось одно-двухлетнее семенное потомство кедра сибирского. Семена для посева были собраны в 2009 г. в плантационных культурах, расположенных в зеленой зоне г. Красноярска. Материнские растения отличаются разным географическим происхождением: алтайское (урочище Атушкенъ), бирюсинское (местное), лениногорское, тисульское. Посев семян осуществлялся осенью в год сбора.

У однолетних полусибов кедра сибирского отмечено наличие высокого уровня изменчивости по интенсивности роста. Быстрорастущими являются сеянцы лениногорского и тисульского происхождений. Сравнение роста сеянцев разных вариантов с учетом формы семядолей показало, что максимальная скорость роста наблюдается у сеянцев лениногорского происхождения повислой формы. Их высота на 12,5–15,4 % превышает другие варианты.

В двухлетнем возрасте у изучаемых полусибов сохраняется высокий уровень изменчивости по высоте ($V=20,4\text{--}30,0\%$), средний по диаметру стволика. Высокой интенсивностью роста отличаются семьи тисульского, лениногорского, бирюсинского происхождений. Низкая скорость роста наблюдается у семенного потомства материнских деревьев алтайского (ур. Атушкенъ) климатипа. Средний прирост 2-летних сеянцев составил 2,2–2,6 см в зависимости от опытного варианта. Максимальный средний прирост имеет семенное потомство материнских растений лениногорского происхождения, которое значительно превышает по данному показателю алтайское. Проведенный кластерный анализ показывает, что изучаемые семьи большей частью отличаются средней скоростью роста в высоту и по диаметру. Высокой скоростью роста отличаются семьи, материнские деревья которых имеют исходное лениногорское (4-40, 4-51), ярцевское (6-90) и бирюсинское (8-19) происхождения. Длиннохвойностью в изучаемом возрасте отличаются сеянцы лениногорского и ярцевского происхождений. Превышение по данному показателю над местным вариантом составило 12–16 %.

Таким образом, проведенные исследования показывают наличие высокой изменчивости по скорости роста полусибов кедра сибирского на ранних этапах развития. При этом семьи лениногорского происхождения в двухлетнем возрасте сохраняют свой интенсивный рост.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СЕМИ РУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ПО ПАНЕЛИ АУТОСОМНЫХ STR-МАРКЕРОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ

**В.Ю. Песик^{1,2}, М.И. Чухряева^{1,3}, А.А. Федюнин¹,
В.А. Орехов³, О.П. Балановский^{1,2}**

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва; balanovsky@inbox.ru

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород;

³ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

В мировой науке постоянно ведется поиск наиболее эффективных генетических маркеров для изучения процессов дифференциации популяций. Одним из таких типов маркеров являются быстро мутирующие аутосомные STR-маркеры, позволяющие различить генофонды даже близкородственных популяций. Особое значение аутосомные STR-маркеры имеют в судебно-медицинской экспертизе.

В связи с этим в данной работе по 19 аутосомным локусам впервые было изучено 647 представителей коренного сельского русского населения следующих регионов: Белгородская область (N=94), Воронежская область (N=92), Орловская область (N=92), Курская область (N=93), Рязанская область (N=91), донские казаки Ростовской области (N=96) и Архангельская область (N=89). Анализ проведен с использованием отечественного мультиплексного набора COrDIS-20.

В результате впервые создана база данных по частотам аллелей «криминалистических» локусов в региональных сельских русских популяциях. Все исследованные популяции имеют близкий уровень генетического разнообразия: средняя гетерозиготность варьирует в пределах 0,779–0,798. При этом уровень гетерозиготности имеет тенденцию к снижению в северных русских популяциях по сравнению с южными и центральными популяциями: наименьшим уровнем генетической вариабельности характеризуется популяция русских Архангельской области (что указывает на возможное повышение груза наследственной патологии у данной популяции). Однако сравнение изученных популяций друг с другом по частотам аллелей не выявило достоверных различий в частотах аллелей, хотя на графиках многомерного шкалирования проявляются отличия генофонда северных русских от основной массы русских популяций.

Таким образом, выявленная структура генофондов русских популяций позволяет рекомендовать применение созданной базы данных в качестве референтной при проведении судебно-медицинских экспертиз и ДНК-идентификации русского населения по всей территории России.

Исследование выполнено при поддержке грантов РФФИ 11-04-01867-а, 12-06-12002-офи_м и программ Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», «Живая природа (Динамика генофондов)», «Фундаментальные науки – медицине».

ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ УЗКОЧЕРЕПНОЙ ПОЛЕВКИ (*LASIOPODOMYS (STENOCRANIUS)* *GREGALIS*) ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО И ЯДЕРНЫХ ГЕНОВ

Т.В. Петрова, Н.И. Абрамсон

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург,
p.tashka@inbox.ru

Узкочерепная полевка (*Lasiopodomys gregalis* Pallas, 1779) – широкоареальный вид, распространенный по открытым ландшафтам равнин и гор от тундры до альпийских лугов в нескольких отдельных регионах северо-востока европейской части России, Сибири, Казахстана и Средней Азии. В плейстоцене ареал вида простирался далеко на запад и юг от современных границ, в это время не было его разрыва на северную (тундровую) и южную (степную и горную) части. Морфологическая изменчивость, на основе которой описывались подвиды, может быть частично обусловлена экологической разнородностью популяций. Перед нами стояла задача рассмотреть внутривидовую генетическую изменчивость на сильно фрагментированном ареале узкочерепной полевки.

Из фиксированного спиртом материала ДНК выделялась стандартным солевым методом. Для амплификации последовательностей митохондриального гена *cyt b* использовались праймеры, специфичные для семейства Cricetidae. Был проанализирован 51 экземпляр узкочерепной полевки из 29 выборок с большей части ареала вида (с Южного Урала, из Казахстана, Хакасии, Алтая, Монголии, Тувы, Бурятии, Якутии, Читинской и Амурской областей). Длина анализируемого фрагмента составила 1012 пар оснований, 231 из них оказались изменчивыми. Также нами был проведен анализ небольшого количества образцов по ядерным генам (*p53*, *LCAT*, *BRCA* и *GHR*). Топология дерева, построенного на основе конкатенированной последовательности ядерных генов, совпадает с полученной по *cyt b*. Филогенетический анализ последовательностей *cyt b* с высокими поддержками показал наличие четырех гаплогрупп. Базальную кладу на дереве, построенном по методу Байеса, образует группа полевок с юго-востока Читинской области. Также на дереве четко выделяется гаплогруппа, распространенная в Читинской и Амурской областях, Бурятии и Монголии, отдельный кластер образует гаплогруппа из Тувы. Шире всего распространены гаплотипы четвертой группы – от Урала до северной и центральной Якутии, Казахстана и Монголии, внутри нее обособляются группы с Ямала и из Якутии. Анализ медианной сети гаплотипов показал отсутствие явных признаков резких колебаний численности популяций. Максимальным генетическим разнообразием обладают полевки, населяющие территорию от Тувы и Бурятии до Юго-Востока Читинской области. Данный факт дает основание предполагать наличие здесь ледникового рефугиума.

TANTULOCARIDA И THECOSTRACA: ВНУТРИ ИЛИ СНАРУЖИ? ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛОЖЕНИЯ РАКООБРАЗНЫХ КЛАССА TANTULOCARIDA

А.С. Петрунина¹, Т.В. Неретина², Н.С. Мюге³, Г.А. Колбасов²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

²Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

³Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва

Тантулокариды – микроскопические эктопаразитические ракообразные – были выделены в отдельный класс только в 1983 году (Boxshall, Lincoln, 1983). С тех пор это самый последний из описанных и при этом самый малоизученный класс среди всех ракообразных. Их сложный жизненный цикл, включающий партеногенетическую и половую фазы, до конца не описан, анатомическое строение почти не изучено, а филогенетическое положение на дереве Crustacea не определено. Миниатюрные размеры и паразитический образ жизни, а также предпочтение глубоководных местообитаний затрудняют получение материала, пригодного для трансмиссионной электронной микроскопии и молекулярно-генетического анализа. Поэтому Tantulocarida остаются последним классом ракообразных, чьи сиквенсы отсутствуют в генетическом банке. Тем не менее, сравнительно-морфологический анализ филогенетических связей тантулокарид с другими ракообразными тоже затруднен. Дело в том, что на всех стадиях жизненного цикла у тантулокарид практически полностью отсутствуют головные конечности, таким образом, количество признаков, по которым можно провести сравнение, сильно ограничено. Основная гипотеза предполагает, что сестринским таксоном является группа Thecostraca – таксон, включающий Ascothoracida, Facetotecta и Cirripedia. Однако в качестве доказательства этой версии выступают фактически только два признака: положение гонопоров самца и самки: на седьмом сегменте тела и на первом грудном сегменте соответственно.

Благодаря доступности живого материала Tantulocarida в окрестностях Беломорской биостанции МГУ, на базе молекулярной лаборатории ББС была впервые выделена ДНК двух видов *Arcticotantulus pertzovi* и *Microdajus tchesunovi*. Полученные впервые сиквенсы 18S рибосомальной ДНК позволили провести первичный молекулярно-генетический анализ родственных взаимоотношений Tantulocarida с другими Crustacea. Построенное методом постериорной вероятности (Bayesian estimation of posterior probability) дерево, реконструирующее филогению Arthropoda и впервые включающее последовательности двух видов тантулокарид, подтвердило гипотезу о близком родстве Tantulocarida и Thecostraca. Однако по нашим результатам тантулокариды оказываются не снаружи текострак, а внутри, в качестве сестринского таксона усоногим ракообразным Cirripedia. Достоверность этой гипотезы может подтвердить только дополнительный молекулярный анализ по большему числу генетических маркеров, который будет проведен в ближайшее время. Однако уже сейчас в пользу близкородственных взаимоотношений тантулокарид и усоногих свидетельствует наличие у них уникального общего морфофункционального признака: способности личинки к фиксации на субстрате при помощи клейкого вещества – цемента.

ИНТЕГРАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ВИДОВЫХ ГЕНОФОНДОВ В АДАПТАЦИИ И ЭВОЛЮЦИИ

Д.В. Политов

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, dmitri.p17@gmail.com

Представления о подразделенности видовых генофондов, иерархической организации популяционных систем и о происходящих них процессах стали уже классическими благодаря теоретическим разработкам (Алтухов, 2003), результатам математического моделирования и эмпирическим данным, полученным главным образом с помощью молекулярных методов. В популяционной генетике количественными характеристиками подразделенности являются статистики F_{ST} , G_{ST} , R_{ST} и им подобные, общий смысл которых – доля межпопуляционной компоненты в общей изменчивости вида. Популяционная структура вида формируется в результате баланса факторов, одна группа которых способствуют интеграции генофонда, вторая – той или иной степени его пространственно-временной дифференциации. К факторам первой группы относятся миграция и балансирующий (в более общем смысле – стабилизирующий) отбор (Алтухов, 2003). Ко второй группе – мутационный процесс, дрейф генов при первичном расселении («эффект основателя») или при резком падении численности популяции («бутылочное горлышко»), дизруптивный (в более общем смысле – разнообразящий) отбор. Внешними факторами, способствующими дифференциации, являются физические, фенологические, этологические и др. механизмы изоляции, наличие градиентов средовых параметров, мозаичность условий, гибридизация с другими видами на краях ареала. Интеграционные процессы преобладают в «ядре» генофонда – его центральной части с непрерывным распространением, высокой плотностью популяций, что, с одной стороны, облегчает перемешивание генетического материала потоками генов через активную или пассивную миграцию, а с другой – именно одинаковые параметры условий среды ведут к преобладанию стабилизирующих форм отбора над разнообразящими. Межлокусные различия в значениях F_{ST}/G_{ST} , а также нарастание среднепопуляционной гетерозиготности на поздних стадиях развития позволяют судить о протекании селективных процессов, вычленив из преобладающей массы нейтральных маркеров те, которые или сами вовлечены в процессы адаптации, или сцеплены с адаптивно важными генами. Типологические воззрения морфологов на константность биологических видов традиционно преувеличивали пропасть между кажущейся гомогенностью особей конспецифичных популяций и «четкими» межвидовыми различиями. Помимо теоретической спорности подобных взглядов и наличия опровергающих их эмпирических данных очевидна и негативная роль подобных воззрений при организации природоохранных мероприятий, поскольку популяции и особи вида выглядят при этом операционально «взаимозаменяемыми». Популяционная генетика/геномика, изучая нативную популяционную структуру видов и ее динамику, позволяет получить данные для разработки научно обоснованных мер охраны генофондов. Это относится и к ген-консервации *in situ* (выделение ООПТ, генетических резерватов и т.д.), и к мерам *ex situ* (например, отбор популяций для закладки биоматериала в генетические банки и коллекции). В то же время трудно согласиться с доктриной, что только официально признанные таксоны заслуживают присвоения высокого охранного статуса. Этим охотно прикрываются систематики-дробители, чья деятельность приводит к необоснованному выделению десятков и сотен «видов» внутри группировок, традиционно считавшихся видами. Ярким примером такого «паратаксономического» подхода является дробление сигов р. *Coregonus* L. Так, европейскими систематиками (Kottelat, Freyhof, 2008) выделено 58 видов европейского сига (ранее *C. lavaretus sensu lato*) только в Европе. Единицей охраны генофондов могут и должны служить локальные популяции, а также в целом эволюционно сложившийся уровень генетической дифференциации вида – адаптивный компромисс между интеграцией и дифференциацией.

Работа поддержана проектами программ фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов») и «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы», а также грантом РФФИ 10-04-01757-а.

ДИАПАЗОН ИЗМЕНЧИВОСТИ ШТРИХКОДОВОГО ГЕНА COI КАК ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ РОДА, ТРИБЫ И ПОДСЕМЕЙСТВА У КОМАРОВ-ЗВОНЦОВ CHIRONOMINAE И ORTHOCLADIINAE (CHIRONOMIDAE, DIPTERA)

Н.В. Полуконова¹, А.Г. Демин¹, Н.С. Мюге²

¹Саратовский государственный медицинский университет, Саратов,
polukonovanv@yandex.ru, verg44@mail.ru,

²Институт биологии развития им. Н.И. Кольцова РАН, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва,
migue@mail.ru

Молекулярные признаки, выявляемые с использованием маркерных генов, таких как ген цитохром С-оксидазы I (COI), в отличие от морфологических менее вариабельны и более унифицированы, что позволяет использовать их в качестве критерия рода, трибы, подсемейства для широкого круга организмов. Применение молекулярных критериев особенно актуально для построения системы в группах организмов с высоким морфологическим и видовым разнообразием, таких как комары-звонцы (Chironomidae, Diptera). ДНК-последовательность гена COI в последние годы нашла широкое применение в качестве штрихкодовой для идентификации видов. Использование гена COI как критерия таксонов надвидового уровня затруднено в связи с его высокой нуклеотидной изменчивостью.

Нами установлены границы нуклеотидной и аминокислотной дивергенции COI между видами комаров-звонцов подсемейства Chironominae одного рода, одной трибы, разных триб, а также между видами подсемейств Chironominae и Orthoclaadiinae.

Показано, что уровень аминокислотной дивергенции лучше нуклеотидной отражает молекулярные границы рода и трибы.

Если уровень аминокислотной дивергенции лежит в пределах от 0 до 1,7 %, то пара сравниваемых видов принадлежит одному роду; если – в пределах от 1,7 до 4,0 %, то одной трибе; если – в пределах от 4,6 до 6,3 %, то разным трибам; если – более 7,9 %, то разным подсемействам.

Достоверность определения с использованием выявленных диапазонов составляет не менее 75 %, в связи с чем границы дивергенции по аминокислотной последовательности COI между видами комаров-звонцов можно использовать как таксономические критерии рода, трибы и подсемейства.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЕДРОВОГО СЛАНИКА, *PINUS PUMILA* (PALL.) REGEL, В АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

Т.А. Полякова¹, М.М. Белоконь¹, Ю.С. Белоконь¹, Е.В. Игнатенко²,
С.Ю. Игнатенко², Д.В. Политов¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, tat-polyakova@yandex.ru

²Зейский государственный природный заповедник, г. Зeya, Амурская область

Кедровый стланник, *Pinus pumila* (Pallas) Regel – гипарктомонтанный вид (Старченко, 2008), приуроченный к различным поясам гор и произрастающий преимущественно в олиготрофных сообществах, в том числе в пределах Амурской области. С помощью изоферментных маркеров показано, что *P. pumila* обладает наиболее высокими показателями генетической изменчивости среди хвойных (Крутовский и др., 1990; Гончаренко и др., 1991, 1992; Политов и др., 1992, 2006; Goncharenko et al., 1993; Politov, Krutovskii, 1994, 2004; Krutovskii et al., 1994, 1995; Tani et al., 1996, 1998; Гончаренко, Силян, 1997; Малюченко и др., 1998; Политов, 2007). ДНК-анализ высокополиморфных участков генома, к которым относятся микросателлитные локусы, расширяет возможности популяционных исследований (Oliveira et al., 2006; Мудрик и др., 2012), позволяет идентифицировать выборки по специфическим аллелям и выявлять генетическую дифференциацию на популяционном и индивидуальном уровне. Вегетативные ткани кедрового стланника были собраны на южном (ЗЕ1, ЗЕ2) и северном (ЗЕ3) склонах восточной части хр. Тукурингра в пределах территории Зейского государственного природного заповедника. Генетическая изменчивость *P. pumila* из трех выборок изучена с помощью 5 ядерных микросателлитных локусов (*RPS90*, *Pico1*, *Pico3*, *Pico17*, *Pico18*), разработанных для сосны веймутовой *P. strobus* (Echt et al., 1996; Rajora et al., 2000; Cloutier et al., 2003) и сосны скрученной широкохвойной *P. contorta* (Lesser et al., 2012). Локус *Pico3* оказался мономорфным во всех выборках, в локусах *Pico1*, *Pico17*, *Pico18* выявлено по три аллеля. В локусе *RPS90* обнаружено 14 аллельных вариантов. Уникальные аллели обнаружены в каждой из выборок, но их доля заметно выше в выборке ЗЕ3. Доля полиморфных локусов в среднем составила 73,33 %, среднее число аллелей на локус $N_A=3,4$, наблюдаемая гетерозиготность $H_O=0,120$, ожидаемая гетерозиготность $H_E=0,219$. Во всех исследуемых локусах наблюдается дефицит гетерозигот, наиболее заметный в выборках ЗЕ1 и ЗЕ2 по локусам *Pico17* и *RPS90* ($F_{IS}>0,5$). Это свидетельствует о высокой частоте нуль-аллелей в этих локусах. Значения межпопуляционной дифференциации ($F_{ST}=0,01$) оказались ниже средних значений, полученных для популяций данного вида из одного региона по изоферментным маркерам (Малюченко и др., 1998; Белоконь и др., 2011; Belokon et al., 2011). Значения генетических расстояний Нея (D_N) варьируют в пределах от 0,004 (между выборками ЗЕ1 и ЗЕ3) до 0,01 (между ЗЕ2 и ЗЕ3).

Работа выполнена при финансовой поддержке программ фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития», подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов», и «Проблемы происхождения жизни и становления биосферы».

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИЖНЕВОЛЖСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ СТЕПНОЙ ГАДЮКИ – *VIPERA RENARDI* (REPTILIA: VIPERIDAE)

О.А. Помазенко¹, В.Г. Табачишин²

¹Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов
pomazenko-olesya@mail.ru

²Саратовский филиал Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Саратов, tabachishinvg@sevin.ru

Одним из видов гадюк, для которых вопросы внутривидовой систематики остаются актуальными и в настоящее время, является степная гадюка *Vipera renardi* (Christoph, 1861). Заселяя обширные территории от западной Европы до Китая, вид характеризуется значительной изменчивостью и образует множество изолированных популяций (Кукушкин, 2009). Высокое многообразие форм требует установления филогенетических связей между ними, что в конечном итоге позволяет определить динамику расселения вида в прошлом и основные адаптационные направления современной микроэволюции.

Обширные современные морфологические исследования показали, что географические популяции *V. renardi* с севера ее распространения в Поволжье высоко специфичны. Однако на основании только морфо-экологических и кариологических данных обоснованные выводы о таксономическом статусе данных поселений сделать затруднительно (Табачишина и др., 2002; Завьялов и др., 2006; Помазенко и др., 2009). В связи с этим на современном этапе большое значение приобретают эколого-таксономические приемы и подходы, основанные на методах молекулярной генетики, в частности анализе молекул ДНК (Ефимов, 2007).

Материалом для настоящего исследования послужили образцы печени и крови *V. renardi*, собранных на территории Саратовской, Пензенской, Волгоградской, Астраханской областей, Республики Калмыкия, Краснодарского края, АР Крыма (Украина). В результате исследования у 9 экземпляров *V. renardi* определена первичная структура митохондриального гена CO III размером 572 п.н. На основе полученных результатов построено «филогенетическое дерево». Одна из ветвей полученного дерева была представлена экземпляром с севера саратовского Правобережья. Вторая ветвь была представлена экземпляром из Горного Крыма. Все остальные исследуемые экземпляры были объединены в третью кладу.

При анализе митохондриального гена 12S рРНК выборка была расширена до 14 образцов. На основе филогенетического анализа последовательностей фрагмента гена 12S рибосомальной РНК также были получены «филогенетические деревья». Одна из ветвей полученного дерева представлена экземпляром степной гадюки с территории Предкавказья. Вторая ветвь полученного дерева представлена экземпляром из Горного Крыма. Третья клада объединила образцы с севера саратовского Правобережья. Четвертая клада объединили все остальные исследуемые экземпляры.

Таким образом, проведенные исследования показали некоторую генетическую специфичность географических популяций *V. renardi* с севера их распространения в Поволжье. В ходе дальнейших исследований целесообразно использовать более вариабельные маркеры, а также расширить выборку исследуемых образцов.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ ДНК У РЫЖИХ ПОЛЕВОК (*CLETHRIONOMYS GLAREOLUS*) ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ СРЕДЫ ВЫБРОСАМИ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА

С.Б. Ракитин, С.В. Мухачева, Ю.А. Давыдова, Г.В. Оленев

Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН, Екатеринбург,
rakitin@ipae.uran.ru

Высокополиморфные локусы микросателлитной ДНК являются эффективными маркерами для изучения генетических и демографических процессов в популяциях млекопитающих, однако их изменчивость под влиянием техногенного загрязнения среды изучена слабо (Gileva et al., 2008). Нами исследована изменчивость микросателлитной ДНК у рыжей полевки из 5 локалитетов Среднего Урала, 4 из которых в разной степени подвергаются влиянию выбросов медеплавильного производства (МП). Отлов животных проводили в 2007 г. в окр. Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ, 56°50' с.ш., 59°51' в.д.) в импактной (1–6 км от СУМЗа) и периферийной (20–30 км от СУМЗа) зонах, а также в Висимском (ВГЗ, 57°22' с.ш., 59°46' в.д., 10–12 км от Кировградского медеплавильного комбината) и Ильменском (ИГЗ, 55°0,92' с.ш., 60°9,54' в.д., 18 км от Карабашского медеплавильного комбината) государственных заповедниках. Референтной группой послужили полевки из окр. с. Шигаево (90 км от промышленных предприятий, 57°15' с.ш., 58°44' в.д.). В печени животных из районов влияния МП, особенно с импактных участков, содержание элементов (As, Cd, Pb, Cr, Ni), большинство из которых генотоксичны, существенно повышено по сравнению со значениями, близкими к глобальным уровням, наблюдаемыми у полевок из Шигаево (Полявина, 2005; Безель и др., 2007; Мухачева и др., 2010). У 134 зверьков была проанализирована изменчивость 5 микросателлитных локусов: MSCg4, MSCg9, MSCg15, MSCg20 и LIST-3-003 (Gockel, 1997; Barker, 2005). В популяциях грызунов, подверженных влиянию МП, была обнаружена наиболее высокая средняя ожидаемая гетерозиготность (0,818–0,852) и наибольшее среднее число аллелей на локус (10–12), по сравнению с референтной группой (8,6 и 0,799, соответственно). Показатель аллельного разнообразия варьировал от 7,9 до 10,2 и был повышен у полевок из периферийной зоны СУМЗа (10,1) и ИГЗ (10,2). Индекс Гарза – Вильямсона (отношение числа аллелей к диапазону их размеров) был примерно сходным во всех выборках (0,44–0,47), что свидетельствует о сохранении разнообразия в изученных популяциях, несмотря на возможный эффект «бутылочного горлышка» (Garza, Williamson, 2001), ожидаемый после депрессии численности в 2005 г. Оценка межпопуляционной генетической дифференциации, проведенная без учета размеров аллелей (*Fst*), показала значимые различия генетической структуры практически во всех вариантах сравнений, за исключением выборки из импактной зоны, не отличавшейся значимо от выборки из периферийной зоны СУМЗа ($P=0,66$) и ВГЗ ($P=0,39$). При учете размеров аллелей (*Rst*) наиболее значимая дифференциация регистрируется при сравнении выборки из Шигаево со всеми остальными ($P=0,002–0,023$). Таким образом, наиболее существенные различия по показателям генетического разнообразия обнаружены между животными из референтной выборки (с. Шигаево) и полемками из зон влияния МП, в организмах которых обнаружены высокие концентрации мутагенных поллютантов, способных повысить уровень внутрипопуляционного генетического разнообразия.

Работа поддержана РФФИ (грант № 12-05-00811) и программой Президиума РАН (12-П-4-1071).

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О РАЗНООБРАЗИИ РОДА *VASCCELLUM* В ЕВРАЗИИ И СЕВЕРНОЙ АМЕРИКЕ

Ю.А. Ребриев, К.В. Двадненко

Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону
rebriev@yandex.ru

С началом широкого использования молекулярно-генетических методов в систематике грибов (Hibbett et al., 1997, Moncalvo et al., 2002) система базидиомицетов претерпела существенную перестройку. Одной из наиболее «пострадавших» при этом групп явились гастеромицеты, ранее рассматривавшиеся как единый таксон рангом класса или группы порядков. В современных системах эта группа практически полностью «растворилась» в других макротаксонах. Под сомнение поставлена и состоятельность многих родов гастеромицетов. В частности, род *Vascellum*, выделенный в 1958 г., наряду с *Morganella*, *Handkea*, предложено вновь включить в укрупненный род *Lycoperdon* (Larsson & Jeppson, 2008). При этом очень проблематичным становится поиск морфологических критериев родов.

Vascellum – космополитный род гастероидных базидиомицетов. Для Евразии и Северной Америки приводится 7 видов. При изучении более 170 образцов личной коллекции и микологического гербария БИН РАН (LE) отмечено морфологическое разнообразие материала. Скудность морфологических макро- и микропризнаков обуславливает сложность видовой идентификации. Предварительно выделено 4 морфотипа, при этом не все идентифицированы до вида. Проведена попытка изучения родовой структуры с применением молекулярных методов (анализ последовательностей участка ITS1-5.8S-ITS2 рДНК).

Всего в анализ включено 30 образцов (11 взято из ресурса GenBank). Полученные с применением методов ML, MP и MB кладограммы идентичны. Полученное дерево содержит 2 четко различающиеся клады, которые на первый взгляд практически не коррелируют с морфологическими признаками, но отражают географическое происхождение образцов. Одна клада полностью состоит из последовательностей, взятых в GenBank, и относится к двум видам (*Vascellum pratense* и *V. curtisii* (= *V. wrightii*)), при этом ваучерные образцы происходят из Северной Америки и Дальневосточного региона Азии (Япония, Китай). При анализе публикаций, в которых цитированы азиатские сиквенсы, отмечено, что работы проведены не специалистами-гастеромицетологами и ваучерными образцами служили незрелые плодовые тела либо мицелиальные тяжи. Это предполагает высокую вероятность неверного определения.

Вторая клада с подкладой состоит из сиквенсов, географически происходящих преимущественно из Европы и отчасти Азии (Монголия, Алтай, Красноярский край). Разделение на подклады не коррелирует с географическим распределением и морфологическими признаками, используемыми в таксономии *Lycoperdaceae*. Можно предположить, что здесь мы имеем дело с криптическим достаточно полиморфным видом. Второй возможный вариант – исследованный локус ДНК у данной группы не имеет таксономической значимости.

Отметим, что коллегами (М. Gube, не опубликовано) получены сходные данные об отсутствии корреляции между молекулярными и морфологическими признаками, однако нет корреляции и с географическим распространением.

Необходимы дальнейшие исследования с привлечением образцов из других регионов и изучением типового материала.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ СЕРОГО ЖУРАВЛЯ В УКРАИНЕ

П.С. Редчук¹, Е.А. Мудрик², Д.В. Политов²

¹Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев, adeliaea@gmail.com

Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины, Киев,

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, mudrik@vigg.ru

На территории Украины серый журавль *Grus grus* L. – обычный пролетный и редкий гнездящийся вид, занесенный в Красную Книгу Украины и находящийся под защитой Бернской, Боннской конвенций, охраняемый конвенцией CITES. В Украине проходит южная граница гнездового ареала, которая простирается с запада на восток, занимая всю северную часть страны (Полесье), а на Левобережной Украине включает долины крупных рек в лесостепной зоне. Во время миграций через территорию Украины пролетают птицы, в основном принадлежащие к европейско-русской популяции, на места зимовок в Турцию, Израиль, Иорданию, Саудовскую Аравию, Судан и Эфиопию. Не исключено, что данная популяция птиц дифференцирована и является совокупностью обособленных субпопуляций. Тем не менее, этот вопрос до сих пор остается малоизучен.

Несмотря на тенденцию к увеличению мировой численности серого журавля, его сохранение в Украине является актуальной задачей. В связи с особенностями биологии журавли чувствительны к антропогенному влиянию и особенно уязвимы в местах гнездования, поэтому его сохранение во многом зависит от эффективности мониторинга состояния популяции, включая генетическое разнообразие и дифференциацию субпопуляций. И хотя серый журавль является одним из широко распространенных и наиболее многочисленных видов журавлей, его популяционно-генетическая изменчивость не изучена ни в одной из частей ареала. В этой связи нами было проведено тестирование микросателлитных локусов на птицах из зоопарков Украины для анализа генетической изменчивости серого журавля в украинской части ареала. В работе были использованы образцы от девяти журавлей: две птицы из природы Винницкой области (Николаевский зоопарк), две птицы из природы Черниговской области (Одесский зоопарк), пять птиц, возможно, родственных, происходят от производителей с неустановленным происхождением (Киевский зоопарк). Анализ микросателлитной изменчивости этих птиц проводили по 10 полиморфным локусам, изолированным из геномов американского журавля – *Gram-22*, *Gram-30* (Jones et al., 2010), японского журавля – *GjM-15*, *GjM-34* (Hasegawa et al., 2000), *Gj4066*, *Gj4077*, *Gj2298* (Zou et al., 2010) и райской красавки – *Gra-12*, *Gra-38*, *Gra-39* (Meares et al., 2008). Эти локусы были отобраны нами ранее как перспективные для изучения серого журавля и стерха (Мудрик и др., 2011; 2012). По всем локусам серые журавли из Украины были полиморфны. Так, по локусу *Gram-22* нами было идентифицировано три аллеля, по локусам *Gram-30*, *Gra-38*, *Gj4066* и *Gj4077* – по четыре аллеля, по локусам *Gra-39* и *GjM-15* – по пять аллелей, по локусу *Gra-12* – шесть аллелей, по локусу *Gj2298* – семь аллелей и по локусу *GjM-34* – восемь аллелей. В среднем данная группа журавлей характеризовалась пятью аллелями на локус и высоким уровнем ожидаемой (0,680) и наблюдаемой (0,636) гетерозиготности, а также небольшим недостатком гетерозигот (6,6 %). В целом использованные микросателлитные локусы являются эффективными маркерами для изучения популяционно-генетической изменчивости серого журавля в Украине, а также для разработки программ сохранения генофонда этого вида путем создания стабильно размножающихся и генетически полноценных вольерных популяций для восстановления угасающих природных популяций серого журавля в украинской части ареала.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА ГЕНА 18S рРНК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ НИТЧАТЫХ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В УЧАСТКЕ ЛОКАЛЬНОГО АНТРОПОГЕННОГО ЭВТРОФИРОВАНИЯ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Е.В. Романова, Л.С. Кравцова, Л.А. Ижболдина, И.В. Ханаев, Д.Ю. Щербаков

Лимнологический институт Сибирского отделения РАН, Иркутск, info@lin.irk.ru

Локальное антропогенное эвтрофирование впервые наблюдается в оз. Байкал в заливе Лиственничный. Обилие соединений фосфора и азота, поступающих в акваторию залива из неочищенных бытовых стоков, привело к бурному росту зеленых нитчатых водорослей. Заращение дна зафиксировано на глубинах от 0 до 10 м на протяжении 4 км вдоль береговой линии напротив поселка Листвянка. В нескольких участках обильного зарастания были взяты пробы водорослей для идентификации их видов путем анализа морфологических признаков и нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК.

Исследование морфологических признаков образцов нитчатых водорослей с использованием светового и конфокального микроскопов показало их принадлежность как минимум к двум родам: *Spirogyra* и *Ulothrix*. Найдено три вида рода *Ulothrix*, из которых по биомассе доминировал *U. zonata*. В то же время в пробах присутствовали нити, которые мы идентифицировали по признакам, различимым в световом микроскопе, как род *Mougeotia*, а в конфокальном микроскопе четко просматривался спирально закрученный хлоропласт, характерный для водорослей рода *Spirogyra*.

Для уточнения таксономического статуса нитчатых водорослей в исследуемом участке залива мы расшифровали последовательности гена 18S рРНК 19 образцов и сравнили их с последовательностями из базы данных GenBank. Семь из полученных последовательностей показали наибольшее сходство последовательностями вида *U. zonata*, а остальные двенадцать – рода *Spirogyra*, вид которых, тем не менее, однозначно определить нельзя. На филогенетическом древе, построенном методом Байеса, последовательности от образцов с четко различимым спиральным и плотно упакованным хлоропластом образовали отдельные клады. Величины генетической дистанции внутри и между этими кладами позволяют сказать, что расшифрованные последовательности принадлежат, по крайней мере, к двум видам рода *Spirogyra*, которые отличаются формой хлоропласта.

Анализ сетчатого древа, построенного на основе байкальских последовательностей рода *Spirogyra* и последовательностей известных видов этого рода из базы данных, показал сходство байкальских образцов нитей со спиральным хлоропластом с видом *S. maxima*, а нитей с плотно упакованным хлоропластом – с видами *S. crassispina* и *S. occidentalis*.

В результате проведенного исследования было показано распространение доминирующего в фитомассе вида *U. zonata*, на нетипично большой глубине до 10 м, в то время как в остальной части озера, не подверженной антропогенному загрязнению, он произрастает на глубине до 1,5 м. Также в заливе Лиственничный найдены водоросли рода *Spirogyra*, которые не являются типичными обитателями этой части озера. В Байкале они встречаются лишь в акватории некоторых хорошо прогреваемых бухт. Полученный результат говорит о значительном изменении альгофлоры исследованного участка озера, под воздействием биогенного загрязнения, по сравнению с состоянием, описанным в экологически благополучный период середины 1980-х гг.

АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ У КО-САТ3-НОКАУТНЫХ МУТАНТОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА

Т.А. Руснак, И.И. Панчук

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
tanja.rusnak@gmail.com

Температура является важным фактором окружающей среды, влияющим на рост, развитие и размножение растений (Fedoroff, 2006). Известно, что под воздействием теплового стресса увеличивается продукция активных форм кислорода (АФК) в клетке, в частности, возрастает уровень перекиси водорода (H_2O_2) (Rizhsky et al., 2002). Молекула H_2O_2 наиболее стабильная среди всех АФК, она может легко проникать сквозь мембраны и повреждать биомолекулы на значительном расстоянии от места своего возникновения (Mittler et al., 2004). Также было доказано, что у *Arabidopsis thaliana* L. в условиях умеренного теплового стресса H_2O_2 выполняет роль мессенджера (Panchuk et al., 2006). Для поддержания стабильного уровня H_2O_2 в растительной клетке функционируют антиоксидантные ферменты – каталаза (САТ) и пероксидаза (РОД) (Scandalios, 2000). Несмотря на большое количество данных, роль отдельных генов каталазы и пероксидаз в защите растительных организмов от воздействия теплового стресса все еще остается выясненной не полностью. Поэтому целью нашей работы было исследовать влияние теплового стресса на активность РОД у растений *A. thaliana* дикого типа (ДТ) и САТ3-нокаутных мутантов с отсутствующей экспрессией одной из изоформ каталазы САТ3.

Для исследований использовали растения 6–7-недельного возраста (фаза 10–12 листьев). Листья средней части розетки отделяли от растения и погружали в колбы, содержащие 1 мМ К-фосфатный буфер (рН 6,0). Тепловую обработку осуществляли в темноте в течение 1, 2 и 4 часов на термостатированной водяной бане при 20, 37 и 44 °С. Активность РОД определяли на спектрофотометре по изменению оптической плотности пробы при 470 нм.

Наши данные показали, что под воздействием умеренного (37 °С) теплового стресса в листьях КО-САТ3 активность РОД была ниже во всех вариантах опыта по сравнению с растениями ДТ. Активность РОД существенно не менялась во всех исследуемых вариантах, хотя и наблюдалась определенная тенденция к снижению при 1- и 2-часовой обработке на 16–17 % по сравнению с контрольными растениями. При жесткой тепловой обработке (44 °С) активность фермента заметно снижалась во всех исследованных точках. При 1-, 2- и 4-часовой жесткой обработке наблюдалось снижение активности РОД на 13, 26 и 51 %, соответственно по сравнению с контрольными образцами. Полученные результаты показывают, что при жестком тепловом стрессе РОД является термолабильным ферментом и не принимает участия в компенсации отсутствующей изоформы САТ3 у нокаутных мутантов.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ВОЛЖСКИХ ОСЕТРОВЫХ (НА ПРИМЕРЕ АЛЛОЗИМОВ)

Г.Д. Рябова

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

gd-ryabova@yandex.ru

Катастрофическое уменьшение численности волжских осетровых диктует необходимость сохранения генофонда с помощью восстановления естественного нереста, создания коллекционных стад и воспроизводства популяций, лишившихся нерестилищ и находящихся в депрессивном состоянии. Во всех этих случаях необходима верификация генетической изменчивости. Для подобного анализа в настоящее время применяются молекулярно-генетические маркеры ДНК, себестоимость анализа которых высока, а селективное значение по большей части неизвестно. Исследования аллозимов осетровых проводились в основном в период упадка рыбоводной и научной деятельности. В то же время полученные материалы представляют интерес, предлагая возвращение к этой тематике хотя бы для того, чтобы использовать их для паспортизации производителей в ремонтно-маточных стадах.

Был исследован генетический полиморфизм волжских осетровых, севрюги, белуги и других видов волжских осетровых, как молоди, так и производителей.

Обнаружена связь между генотипом по некоторым аллозимам севрюги и выживаемостью и скоростью роста молоди в рыбоводных условиях. Найдено также, что с генотипическими характеристиками у самцов коррелирует длина тела, а у самок плодовитость и продолжительность жизни. Падение численности в стаде волжской севрюги сопровождалось изменением генотипического состава, что можно связать как с промыслом и браконьерством, так и с недостаточным учетом физиологии и экологии севрюги при содержании молоди в прудах. Это было подтверждено при выращивании молоди от одних и тех же производителей в условиях разной плотности зарыбления. Аналогичные данные получены при выращивании белуги. Высокий уровень полиморфизма и сложность электрофоретических картин некоторых аллозимов, в частности, лактатдегидрогеназы, наблюдаемые у севрюги, белуги и русского осетра, можно считать характерным признаком видов осетровых – проходных рыб, совершающих длительные миграции, с высокой степенью освоения таких водоемов, как Волга и Каспий. Особенности тетраплоидного генома этих видов послужили, вероятно, достаточной базой для их успешной адаптации.

Из-за антропогенного давления промысла и браконьерства и недостаточного учета экологии и генетики воспроизводимых видов произошло снижение частоты встречаемости наиболее элитных генотипов и увеличение быстро растущих в прудах, отличающихся меньшими размерами и плодовитостью особей севрюги и, вероятно, белуги. К этому могло привести также использование производителей, размножающихся в связи с зарегулированием реки, в нижней части эстуария.

У сибирского осетра Конаковского стада найдены аллозимные локусы, выявляемые в крови, пригодные для прижизненной оценки генетического разнообразия. Проведение подобных работ на волжских осетровых могло бы дать полезную информацию при паспортизации производителей.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОПРОСА ТАКСОНОМИЧЕСКОГО СТАТУСА ГОЛЬЦОВ РОДА *SALVELINUS*

Е.А. Салменкова

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

salm@vigg.ru

Гольцы рода *Salvelinus* (сем. Salmonidae) обладают большим фенотипическим и экологическим разнообразием в пределах одного водоема, что создает значительные трудности при определении таксономического (видового) статуса их форм и популяций. Осложняет ситуацию и отсутствие общепринятой концепции вида. Если опираться на доминирующую биологическую концепцию вида, то выявление репродуктивной изоляции таких форм или популяций в условиях симпатрии дает хорошую основу для установления видового статуса. Использование молекулярно-генетических маркеров – важнейший подход к определению репродуктивной изоляции и степени генетической дивергенции популяций. Проведено сопоставление и обобщение собственных и литературных данных о результатах генетических исследований нескольких видов гольцов Дальнего Востока и Северо-Востока России в связи с дискутируемыми вопросами их видового статуса. С применением различных молекулярно-генетических маркеров осуществлен анализ валидности видового статуса белого гольца *S. albus* (описанного в некоторых водоемах Камчатки) по отношению к симпатрично обитающей с ним северной мальме *S. malma malma*. Обнаружена крайне малая генетическая дивергенция и отсутствие полной репродуктивной изоляции между этими гольцами, что позволяет рассматривать *S. albus* как экотип или форму мальмы, а не самостоятельный вид. В парах симпатричных *S. m. malma* – *S. taranetzi* и *S. m. malma* – *S. levanidovi* обнаружена хорошо выраженная по различным генетическим маркерам репродуктивная изоляция, что подтверждает их предполагавшийся статус самостоятельных видов. Характер генетических различий по аллозимным маркерам в аллопатричных азиатских популяциях мальмы *S. m. malma* и арктического гольца *S. alpinus* и свидетельства репродуктивной изоляции по микросателлитным локусам в симпатричных аляскинских популяциях этих гольцов соответствуют их статусу самостоятельных видов. Результаты анализа их митохондриальных геномов указывают на относительно недавнюю дивергенцию и возможную гибридизацию между этими видами в эволюционном прошлом. Значительные генетические различия, в т.ч. кариологические, между аллопатричными северной и южной формами мальмы – *S. m. malma* и *S. m. krascheninnikovi*, соответствуют уровню видовых различий, но вопрос их репродуктивной изоляции в условиях возможной симпатрии не исследован. Данные по мтДНК позволяют предполагать гибридизацию между этими формами мальмы в ходе их эволюционной истории. Обсуждаются возможности различных молекулярно-генетических маркеров для выявления современной и исторической репродуктивной изоляции. Объективные трудности определения таксономического статуса гольцов связаны с относительно молодым возрастом современных видов и форм этой группы, с особенностями эволюционной истории их популяций в условиях плейстоценовых оледенений, изменений климата и географии ареалов, а также с обитанием, как правило, в условиях нестабильной и обедненной ресурсами среды.

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МЕТАПОПУЛЯЦИЙ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОГО ЛАНДШАФТА

Э.А. Снегин

Белгородский национальный исследовательский университет, Белгород, snegin@bsu.edu.ru

В течение последних десяти лет на юге лесостепи Среднерусской возвышенности изучалась метапопуляционная структура индикаторных видов наземных моллюсков *Bradybaena fruticum* Müll. и *Chondrula tridens* Müll., а также уязвимых видов, занесенных в региональную Красную книгу – *Helicopsis striata* Müll. и *Cerpaea vindobonensis* Fer. В качестве генетических маркеров были использованы полиморфные локусы изоферментов, а также ДНК-локусы (RAPD, ISSR) (Снегин 2010, 2011, 2012). Степень дифференциации оценивали с помощью статистики С. Райта (индекс F_{st}), статистики Нея (индекс G_{st}), а также с помощью вычисления молекулярной дисперсии (AMOVA, индекс Φ_{st}). Кроме того рассчитывался средний поток особей между популяциями за поколение (N_m).

Результаты кластерного анализа матрицы генетических расстояний (Nei, 1972) показали сильную дивергенцию изучаемых популяций, как по ДНК-локусам, так и по локусам изоферментов. Такая оригинальность связана с нарушением естественно сложившихся каналов миграции генов между популяциями улиток в урбанизированном ландшафте. Этот вывод подтверждается малыми значениями коэффициента корреляции (R_{dis}) между географическими дистанциями между популяциями и попарными оценками подразделенности. Так, у *Br. fruticum* – $R_{dis}=0,032$, $F_{st}=0,228$, $G_{st}=0,254$, $\Phi_{st}=0,300$, $N_m=0,913$; у *Ch. tridens* – $R_{dis}=0,052$, $F_{st}=0,174$, $G_{st}=0,177$, $\Phi_{st}=0,238$, $N_m=1,27$; у *C. vindobonensis* – $R_{dis}=-0,056$, $F_{st}=0,198$, $G_{st}=0,226$, $\Phi_{st}=0,228$, $N_m=1,05$. Стоит отметить также, что популяции улиток, обитающие в условиях нарушенной среды, обусловленной влиянием горно-обогатительных комбинатов, в силу сходных здесь векторов естественного отбора и дрейфа генов, вошли в один кластер, и по степени приближения к нему можно судить о сходных генетических процессах, происходящих в других группах.

Наблюдаемое увеличение разобщенности групп проходит на фоне повышения степени гомозиготности в большинстве «антропогенных» популяций улиток изучаемого региона. Причиной этого полагаем, помимо антропогенной инсуляризации, является «принцип основателя» и, как следствие, «генетическая революция» (по Э. Майру, 1968) из-за постоянного возникновения в промышленных районах новых колоний на месте погибших групп. Источниками мигрантов являются крупные малоизмененные популяции с высоким уровнем разнообразия, которые служат резервными генбанками для окрестных локалитетов. При этом основным фактором переноса улиток является человек через сенозаготовку и транспортировку сельхозпродукции. Естественное расселение улитки в условиях лесостепи может происходить только по поймам рек. Исходя из такого сценария, распределение популяций улиток на изучаемой территории соответствует метапопуляционной модели.

Исключение составил лишь *H. striata*, у которого географическое положение популяций, в отличие от других видов, оказало определенное влияние на их схожесть в соотношении частот аллелей и их комбинаций ($F_{st}=0,356$, $G_{st}=0,358$, $\Phi_{st}=0,450$, $N_m=0,50$, $R_{dis}=0,514$). Это, вероятно, вызвано тем, что популяционная структура *H. striata* в условиях юга Среднерусской возвышенности носит более упорядоченный характер и больше соответствует модели «изоляции расстоянием». Особенности биологии вида, в частности приуроченность его к реликтовым степным сообществам вкупе с ограниченными возможностями расселения, не позволяли ему подойти к формированию метапопуляционной структуры. В этой связи можно ожидать, что генетические перестройки в популяциях данного вида, в силу его стенопотности, будут лучшими показателями сукцессионных изменений, происходящих в биотопах под действием всевозможных факторов, включая антропогенные.

ОБСТОЯТЕЛЬСТВА И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ТАКСОНОМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СИСТЕМАТИКЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД

С.Э. Спиридонов

Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Москва, s_e_spiridonov@rambler.ru

Энтомопатогенные нематоды (ЭПН) – представители двух семейств отряда Rhabditida (Steinernematidae и Heterorhabditidae) со сходным жизненным циклом. У этих нематод в почве обитают инвазионные личинки, переносящие в кишечнике специфичных симбиотических бактерий (родов *Xenorhabdus* и *Photorhabdus*, соответственно). Личинка активно внедряется в тело почвенных насекомых, которые гибнут от быстрого размножения симбиотических бактерий. Нематоды питаются содержимым труп хозяина и, образовав от одного до трех поколений, порождают инвазионных личинок, выходящих в почву. Такой жизненный цикл ЭПН стал предпосылкой к развитию на их основе биологического метода борьбы с насекомыми-вредителями, что, в свою очередь, сделало актуальной (и хорошо поддерживаемой финансово) разработку методов видового определения этих нематод. Такие исследования проводятся во многих странах мира, и результатом их стало описание в последние годы нескольких десятков новых видов ЭПН. Общее число видов в рода *Steinernema* уже более шестидесяти, число описанных видов *Heterorhabditis* значительно меньше – около десяти. При этом нуклеотидная изменчивость в пределах видов рода *Heterorhabditis* оказывается довольно незначительной, и анализ, например, нуклеотидной последовательности рибосомальных спейсеров (ITS rDNA) позволяет с уверенностью определить вид. Существенную проблему представляет видовое определение *Steinernema*. По морфологическим признакам эти нематоды могут быть подразделены на несколько групп видов (эволюционных линий), но определение до вида в пределах этих групп затрудняется некоторой монотонностью морфологии штейнернем и, при этом, существенной изменчивостью их морфометрии при различных условиях развития в хозяине. Для штейнернем в Генбанке NCBI имеется немало нуклеотидных последовательностей, относящихся (в порядке убывания их числа) к ITS rDNA, LSU rDNA и *CoxI* mtDNA. В последнее время большинство описаний новых видов сопровождаются данными по ITS rDNA и LSU rDNA, но нередко филограммы, построенные по этим двум фрагментам рибосомальной ДНК, существенно отличаются. Данные по *CoxI* mtDNA пока не играют существенной роли в молекулярной систематике штейнернем. Участок рибосомальных спейсеров (ITS rDNA) показывает значительную изменчивость в пределах рода *Steinernema* (у далеких видов различается более 60 % нуклеотидов). Нуклеотидные различия до 2,5 % по ITS rDNA отмечены между отдельными популяциями (изолятами) в пределах вида *Steinernema feltiae* (группа «*feltiae-kraussei-oregonense*»). Конспецифичность популяций подтверждается успешным скрещиванием. Однако в пределах других групп видов (например, «*affine-intermedium*») различия между морфологически четко различающимися и географически удаленными видами составляют не более 2,5–3 %. Налицо различная степень нуклеотидной дивергенции по ITS rDNA между различными группами видов (эволюционными линиями рода *Steinernema*). Противоречивыми остаются и представления о том, какая из групп видов является базальной в эволюции рода *Steinernema*.

Поддержка РФФИ 11-04-00590а.

СТРУКТУРНЫЕ ВАРИАНТЫ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ 5S рДНК В ГЕНОМАХ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ (LEPIDOPTERA)

А.П. Статная, О.В. Череватов

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
Cherevatv-alex@rambler.ru

Исследования, которые проводятся в разных лабораториях мира и касаются молекулярной таксономии насекомых, в основном затрагивают лишь жесткокрылых (Coleoptera) и перепончатокрылых (Hymenoptera). В то же время молекулярные исследования чешуекрылых только развиваются (Kandul et al., 2004; Silva-Brandão et al., 2008) и нуждаются в использовании новых молекулярно-генетических маркеров.

Ранее на основе анализа нуклеотидных последовательностей 5S рДНК у некоторых видов бабочек нами была предложена классификация упомянутых генов в зависимости от длины и нуклеотидной последовательности. В экспериментах по клонированию для нескольких видов в пределах одного генома были найдены повторы 5S рДНК, относящиеся к двум структурным подклассам Ma и Mb (Череватов, 2011).

Материалом для исследования были бабочки видов *Leptidea sinapis* (L.), *Lycaena dispar* (Haw.), *Lycaena tityrus* (Pod.), *Zygaena filipendulae* (L.), *Polyommatus icarus* (Rott.).

Для амплификации 5S рДНК и межгенного спейсера методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали 2 пары праймеров RV1008-0804 и RV1009-0804. Праймер RV0804, являющийся комплементарным к кодирующему участку 5S рДНК, был смоделирован с помощью программы Primer Design по данным Genbank.

Для того чтобы подтвердить или опровергнуть присутствие в геномах исследуемых нами видов нескольких структурных подклассов 5S рДНК класса М, на основе результатов секвенирования были созданы подклассоспецифичные праймеры RV1008 и RV1009, которые в паре с универсальным праймером RV0804 должны избирательно амплифицировать повторы 5S рДНК разных подклассов.

Использование указанных праймеров для ПЦР подтвердило присутствие в геномах некоторых исследуемых видов бабочек как минимум двух вариантов 5S рДНК, например у *Z. filipendulae* и *P. icarus*. В то же время в геномах *L. tityrus*, *L. dispar* и *L. sinapis* достоверно обнаружены только повторы 5S рДНК, принадлежащие к структурному подклассу Mb.

ВИДОВОЙ СОСТАВ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЗЕЛЕННЫХ ЛЯГУШЕК (*PELOPHYLAX*) ШАЦКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО ПРИРОДНОГО ПАРКА И ВОДОЕМОВ ЛЬВОВЩИНЫ

В.О. Стах¹, М.М. Белоконов², И.С. Хамар¹, Ю.С. Белоконов²

¹Львовский национальный университет им. Ивана Франко, Львов,

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва,

vstax_77@mail.ru

Зеленые лягушки представлены тремя видами: съедобной (*Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758)), прудовой (*Pelophylax lessonae* (Camerano, 1882 «1881»)) и озерной (*Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771)). Две последние являются отдельными видами, а съедобная – жизнеспособный гибрид озерной и прудовой, для размножения которого необходим один из родительских видов. Для комплекса зеленых лягушек характерен уникальный тип наследования – полуклональный, при котором в гаметах, производимых гибридами, присутствует набор хромосом только от одного из родительских видов.

Целью нашей работы является изучение морфологических и генетических особенностей зеленых лягушек, обитающих в Шацком национальном природном парке (оз. Песочное, Волинская обл.) и Львовской области (водоем пгт. Нижанковичи и водоемы заказника «Чолгинский»). В задачи исследования входило определение видового состава зеленых лягушек в исследуемых водоемах на основании морфологических признаков и генетических маркеров (микросателлитов).

В начале исследований был проведен анализ с привлечением 24 морфометрических признаков половозрелых особей зеленых лягушек. При описании фенотипов лягушек использовали девять признаков, учитывая их различные состояния (Терентьев, 1950; Пащенко, 1955; Тарашук, 1959; Банников и др., 1977; Ищенко, 1978; Тарашук, 1989; Некрасова, 2002; Balletto, 1986). Для генетического анализа на основании литературных данных нами были отобраны десять микросателлитных локусов, большинство из которых являются диагностическими в определении вида, – *Rrid059*, *Rrid082*, *Rrid171* (Hotz et al., 2001); *Res5*, *Res14*, *Res16*, *Res22* (Zeisset et al., 2000); *RIcA1b5*, *RIcA18*, *RIcA19* (Garner et al., 2000).

На исследуемых участках было собрано 58 особей трех видов зеленых лягушек, а именно озерной – 41, прудовой – 11 и съедобной – 6. Львовская область характеризуется преобладанием озерной лягушки, а Волинская – съедобной. Видовой состав водоема пгт. Нижанковичи формирует один вид – лягушка озерная (31 особь) водоемы заказника «Чолгинский» два вида – лягушка озерная (5), прудовая (10); оз. Песочное три вида – лягушка озерная (5), прудовая (1) и съедобная (6).

О видовой принадлежности нельзя говорить, учитывая только морфологические показатели. Так, четыре особи, определенные морфологически как *P. lessonae*, по результатам микросателлитного анализа были отнесены к *P. esculentus*. Одна особь, определенная ранее по морфологии как *P. esculentus*, попала в группу *P. lessonae*. А четыре образца *P. lessonae* были переопределены в группу *P. ridibundus*.

Итак, в полевых условиях определение вида с помощью морфометрии и характера стыка берцовых сочленений, обычно является оптимальным, однако не всегда правильным. Для полноты картины необходимо проведение генетического анализа. Комплексное использование морфологических показателей с генетическими данными позволяет точно определить видовую принадлежность определенной особи зеленых лягушек.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА РОДА *SYLVAEMUS* ПО ДАННЫМ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА мт-ДНК

В.В. Стахеев¹, А.С. Богданов², Д.И. Водолажский¹

¹Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону, stvaleriy@yandex.ru

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

К настоящему моменту филогения и филогеография рода *Sylvaemus* и отдельных входящих в него видов довольно хорошо охарактеризована. Однако остаются невыясненными взаимоотношения между восточно-европейской и южно-европейской хромосомными формами европейской расы малой лесной мыши, характер внутривидовой дифференциации желтогорлой мыши и некоторые другие вопросы. Для их уточнения нами изучена изменчивость контрольного участка мт-ДНК малых лесных мышей *S. uralensis*, желтогорлых мышей *S. flavicollis* и прочих видов *Sylvaemus* из европейской части России, с Кавказа и сопредельных территорий.

Топология полученной МЕ-дендрограммы в общих чертах соответствует построениям с использованием других локусов, в частности генов цитохрома *b* (*cyt b*) и цитохромоксидазы (*COI*) (Michaux et al., 2003; Челомина и др., 2007; Стахеев и др., 2011; Богданов и др., 2012 и нек. др.). Однако базальное положение на дендрограмме по результатам анализа D-петли занимает обыкновенная лесная мышь *S. sylvaticus*. Желтобрюхая мышь *S. fulvipectus*, располагающаяся при анализе других митохондриальных локусов также в основании дендрограммы, в данном случае занимает ее среднюю часть, демонстрируя наибольшую близость к малой лесной мыши.

Показанная нами ранее по последовательностям фрагмента гена *COI* дифференциация желтогорлой мыши на две филетические линии (северную и южную) (Богданов и др., 2012) пока подтверждается и при анализе изменчивости D-петли. Генетические дистанции между желтогорлыми мышами северной и южной линий находятся в пределах 0,0109–0,0134, что в полтора-два раза ниже различий по гену *COI*.

Картина дифференциации малой лесной мыши по D-петле во многом аналогична полученной при анализе других митохондриальных локусов. Отчетливо обособляются на полученном МЕ-древе европейская и азиатская расы ($D=0,0345-0,0409$). Южно-европейская и восточно-европейская хромосомные формы составляют отдельные клады, которые, однако, слабо разобщены и не имеют значимых бутстреп-поддержек. Экземпляры из окрестностей г. Сальска, имеющие промежуточные хромосомные признаки в сравнении с восточно-европейской и южно-европейской хромосомными формами и, по всей видимости, являющиеся гибридами, попали и в кладу, объединяющую малых лесных мышей с Кавказа, и в кладу, представленную особями восточно-европейской хромосомной формы.

ЗНАЧИМОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ФИЛОГЕНИИ СИСТЕМАТИКИ ГОЛУБЯНОК (LYCAENIDAE: LEPIDOPTERA)

Б.В. Страдомский, Д.И. Водолажский

Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону

bvstr@yandex.ru

Значимость молекулярно-генетических методов в реконструкции филогенетических взаимоотношений, а также в систематических построениях, в последнее время неуклонно возрастает. В то же время необходимо признать, что именно в зоологии беспозвоночных наблюдается явное отставание применения этих методов. До сих пор в основе построения систематики чешуекрылых лежат преимущественно морфологические исследования, среди которых наиболее значимым и адекватным необходимо признать изучение генитальных структур. Существует у энтомологов следующая дискуссионная тема: применимы ли молекулярно-генетические подходы к оценке различных по иерархии таксонов. Многие энтомологи считают, что в значительной мере оправданы эти методы на видовом и родовом уровне, и то с большими оговорками. По отношению к уровню семейств, отрядов такие исследования встречают значительное сопротивление многих исследователей, остановившихся только на морфологическом подходе.

Поэтому необходимо рассмотреть перспективу использования молекулярно-генетических методов и на уровне вида, и на уровне семейства. В качестве модели нами были использованы представители семейства голубянок, систематика которых является максимально спорной и никак не может устояться. Исследованию подвергались 43 таксона, обитающих на Юге европейской части России.

Исследовали следующие генетические маркеры: митохондриальный ген COI и ядерную нуклеотидную последовательность ITS2. Комплексный анализ полученных последовательностей осуществляли с использованием параметрической модели Kimura-2 и графически представляли в виде ME-кладограммы.

Параллельно были исследованы генитальные структуры этих же экземпляров голубянок. Было выделено 28 значимых признаков, характеризующих генитальные структуры. С помощью программы «Кластерный анализ», версия 5.0.1 с применением коэффициента Жаккара была получена кладограмма, характеризующая филогенетические и систематические взаимоотношения изученных таксонов на основе морфологии их генитальных структур.

Сравнение кладограмм, полученных двумя принципиально разными способами, показало их очень высокое сходство. Как с помощью морфологического генитального, так и молекулярно-генетического подхода выделяются макрорветви, соответствующие подсемействам *Lycaeninae*, *Theclinae* и *Polyommatae*.

Также вычлениаются одинаковые ветви более низкого уровня, соответствующие трибам и родам голубянок. В принципе, кладограммы оказались в значительной степени симметричными с небольшими индивидуальными вариациями.

При этом необходимо отметить, что уже на видовом уровне молекулярно-генетический метод обладает более высокой способностью разрешения, чем генитально-морфологический, например, в родах *Satyrrium*, *Cupido*, *Polyommatus* и ряде других.

Таким образом, необходимо сделать следующее обобщение: использование молекулярно-генетических подходов при построении иерархических и филогенетических взаимоотношений в зоологии чешуекрылых является не только желательным, но и первоочередным обязательным принципом.

ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ДНК-МАРКЕРОВ (ISSR-МАРКЕРОВ) В СИСТЕМАТИКЕ И ОЦЕНКЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ДОМЕСТИЦИРОВАННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Г.Е. Сулимова, Ю.А. Столповский, К.Ю. Столповский, М.Н. Рузина,
Н.В. Кол, В.Н. Воронкова, А. Евсюков

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, galina_sulimova@mail.ru

Молекулярно-генетические маркеры (ДНК-маркеры) в настоящее время находят применение в самых разных направлениях науки и практики. Используемые ДНК-маркеры можно разделить на три группы: микросателлитные маркеры, маркеры, полученные на основе анализа однонуклеотидного полиморфизма (SNP-анализ), мультилокусные ДНК-маркеры. Каждая из этих групп маркеров имеет свои достоинства и недостатки. Для проведения масштабных исследований генофондов наиболее перспективны, на наш взгляд, мультилокусные ДНК-маркеры, такие как AFLP, IRAP, ISSR, что обусловлено относительной простотой и быстротой анализа, низкой себестоимостью, возможностью исследования малоизученных видов. При этом они не уступают в разрешающей способности и воспроизводимости микросателлитным маркерам.

В данной работе для оценки генофондов и генетического разнообразия domesticiрованных видов животных был использован модифицированный нами метод анализа межмикросателлитного полиморфизма (Inter-simple-sequence-repeats, ISSR) с праймерами (AG)₉C и (GA)₉C. Была разработана универсальная шкала размерности получаемых продуктов амплификации (всего 38 локусов), что позволило стандартизировать результаты и проводить сравнительный анализ генетического разнообразия и филогенетических отношений разных видов domesticiрованных животных на основе полиморфизма одних и тех же локусов. Проведена оценка разрешающей способности и воспроизводимости метода ISSR-анализа. Показано, что ISSR-маркеры позволяют дифференцировать популяции, принадлежащие к разным видам, в том числе и близкородственным, например, *Bos taurus*, *Bos indicus*, *Bos grunniens*. Разработана система генетической паспортизации хозяйственно ценных видов животных на основе анализа 88 генофондных хозяйств России по 6 видам животных (более 4500 особей). Выявлены видоспецифические паттерны ISSR-PCR-продуктов (на основе фрагментов с частотой встречаемости >0,4) и описаны межвидовые различия в их спектрах (фрагменты с частотой встречаемости 1,000). Метод ISSR-анализа позволяет проводить филогенетические исследования с помощью различных статистических подходов. Например, реконструкция генофонда прапопуляции (протогенофонда) на основе анализа данных по 19 породам крупного рогатого скота (КРС) позволила выявить наиболее древние породы (фризская и Монгольская Хогорого). С помощью сравнительного анализа генофондов яка, КРС и их гибридов (хайнаков) показано, что генетически хайнаки более приближены к отцовской форме, а именно якам.

Таким образом, ISSR-анализ может рассматриваться как один из наиболее простых и эффективных молекулярно-генетических методов, который находит применение:

- в селекционной практике (для оценки консолидированности и чистоты пород и линий; для оценки чистопородности племенных животных, при регистрации новых пород и породных типов и др.);
- при восстановлении исчезающих пород и видов и сохранении их генетического разнообразия;
- в судебной экспертизе;
- в исследованиях по систематике и происхождению популяций, пород, видов.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В СИСТЕМАТИКЕ *HELICOPSIS* spp. (GASTROPODA; PULMONATA; HYGROMIIDAE)

А.А. Сычев, Э.А. Снегин

Белгородский государственный университет, Белгород

syvuch20@yandex.ru

Ксерофильные моллюски рода *Helicopsis* степных регионов Украины, в особенности Крыма и Донецкой области, характеризуются высокой внутривидовой изменчивостью конхиологических и анатомических признаков (Гураль-Сверлова, 2006). Однако, несмотря на отсутствие комплексных данных по биологии, экологии, степени межпопуляционной изменчивости фенотипических и генетических признаков у *Helicopsis* sp., происходит описание новых оригинальных форм со статусом подвидов и даже видов, причем иногда на основании ограниченного материала. В связи с возникшей ситуацией становится необходимой таксономическая ревизия рода. Причем использование молекулярно-генетических маркеров является необходимым звеном в построении объективной системы *Helicopsis* sp.

В выборках моллюсков из популяций *Helicopsis striata* «Губкин», «Дивногорье» и «Петропавловка А» (Снегин, 2011), популяции типового местонахождения *Helicopsis luganica* (Гураль-Сверлова, 2010) и популяции *Helicella candicans* (Киев, правый берег Днепра) проводился анализ изменчивости локусов неспецифических эстераз (EST), супероксиддисмутазы (SOD), малатдегидрогеназы (MDG), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G-6-PDG) и изоцитратдегидрогеназы (IDG), полученных методом электрофореза в ПААГ, а также ISSR-фингерпринтов по праймерам UBS 811, UBS 827, IT2, SAS1 и SAS3 (ПЦР, BioRad).

Выявленные локусы изоферментов можно разделить на три группы: 1) мономорфные, общие для трех видов (SOD1, EST1); 2) общие только для *H. striata* и *H. luganica* (SOD4, EST8) или встречающиеся только у *H. candicans* (SOD7, MDG1); 3) полиморфные локусы, представленные разными аллельными вариантами одного изофермента во всех исследованных популяциях моллюсков (SOD3, G-6-PDG3, IDG1). По большинству ферментных систем *H. candicans* хорошо расходится с *Helicopsis* sp. Изменчивость популяции *H. luganica* находится в пределах межпопуляционной изменчивости *H. striata*: по EST и SOD стоит ближе к группе «Беленихино», по G-6-PDG и IDG к группе «Дивногорье», по MDG3 – оригинальна.

По частотам фингерпринтов ISSR-праймеров *Helicopsis* sp. и *H. candicans* расходятся плохо в связи со значительной межпопуляционной изменчивостью *H. striata* (за исключением амплификонов по праймеру SAS3). Так, генетические дистанции между популяциями *H. striata* в некоторых случаях могут быть выше, чем межвидовые дистанции с *H. candicans*. В связи с этим, полагаем, что необходима проверка таксономического единства *H. striata* на территории Среднерусской возвышенности. При этом *H. luganica* по ДНК-маркерам хорошо отличается от *H. candicans* и ближе всего стоит к популяции *H. striata* «Дивногорье». Дальнейшая работа в данном направлении будет проводиться с учетом изменчивости митохондриальных генов COI и 16S рДНК (Steinke, 2004).

Выражаем благодарность к.б.н. И.А. Балашеву за предоставленный материал.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КРИТИЧЕСКИХ В СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ОТНОШЕНИИ И РАРИТЕТНЫХ ТАКСОНОВ ФЛОРЫ И МИКОБИОТЫ УКРАИНЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

**А.С. Тареев, С.В. Скребовская, В.А. Мартынюк, А.М. Макитренко,
А.А. Тохтамыш, А.А. Лях, В.Н. Карбовская, В.И. Диденко,
М.А. Березовская, О.В. Тыщенко, Н.И. Карпенко, И.Ю. Костиков**

Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального университета
им. Тараса Шевченко, Киев
5635688@rambler.ru

На кафедре ботаники КНУ имени Тараса Шевченко для раритетных видов и критических таксонов флоры и микобиоты Украины были впервые секвенированы стандартные маркерные последовательности, наиболее часто используемые для разделения таксонов на видовом и родовом уровнях. Применение таких подходов в ряде случаев позволяет более точно определять ранг спорных таксонов.

В ходе данного исследования нами были получены последовательности трех наиболее распространенных маркеров: 18S, ITS1-ITS2 и *rbcL*.

Последовательности ITS1-ITS2 были получены для покрытосеменных – *Astragalus* L. (14 видов (в.)), *Betula* L. (5 в.), *Centaurea* L. (3 в.), *Goniolimon* Boiss. (2 в.), *Gymnospermium odessanum* (DC.) Takht., *Limonium tomentellum* ssp. *alutaceum*, *Medicago* L. (2 в.), *Phyteuma wagnerii* Ker., *Silene* L. (3 в.), *Swertia alpestris* Baumg; грибов-макромицетов – *Sparassis* Fr. (2 штамма 2 в.), *Leucoagaricus leucothites* (Vittad.) Wasser (1 штамм); водорослей – *Scenedesmus* Meyen (9 штаммов 5 в.), *Coelastrum* Nägeli (1 штамм), *Scotiellopsis rubescens* Vinatzer (1 штамм), *Chlorella fusca* Shihira & Krauss (2 штамма) *Stichococcus* (22 штамма 3 в.) и *Diplosphaera* (3 штамма 2 в.).

Последовательность 18S рДНК была получена для *Scotiellopsis levicostata* Gollerbach Punccharova & Kalina.

Последовательности *rbcL* были получены для покрытосеменных – *Astragalus* (2 в.), *Betula borysthena* Klokov, *Crataegus* L. (4 в.), водорослей – *Scenedesmus* Meyen (10 в.), *Coelastrum* Nägeli (2 в.), *Scotiellopsis* Vinatzer (2 в.), *Chlorella fusca* Shihira & R.W. Krauss (2 штамма).

Также впервые в Украине была проведена реконструкция вторичной структуры внутреннего спейсера ITS2 для разграничения таксонов видового уровня внутри родов *Stichococcus*, *Silene*, *Phyteuma*, *Swertia* L.

В результате проведенной работы был подтвержден видовой статус для *Astragalus borysthensis* Klokov, не подтвержден для всех исследуемых видов рода *Betula* вследствие того, что данные маркерные последовательности не были достаточно вариабельными для достоверного разграничения таксонов. Проверка аутентичного штамма *Chlorella sphaerica* Tschermak-Woess показала его принадлежность к роду *Diplosphaera* и неправомерность его отнесения к роду *Chlorella*, в результате чего была создана новая номенклатурная комбинация *Diplosphaera sphaerica* (Tschermak-Woess) Karbovska et Kostikov, comb. nova.

Работа по верификации и тестированию видовой обособленности критических в систематическом отношении и раритетных таксонов флоры и микобиоты Украины с помощью молекулярно-генетических методов продолжается.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У ТРЕСКИ *GADUS MORHUA KILDENENSIS* РЕЛИКТОВОГО ОЗЕРА МОГИЛЬНОЕ

А.А. Тетерина¹, А.А. Животовский¹, А.Н. Строганов²

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва,

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва,
teterina.anastasia@gmail.com

Кильдинская треска – подвид атлантической трески, эндемик Мурманской области, занесенная в Красную книгу России и Мурманской области. Обитает на острове Кильдин, Баренцево море, в небольшом реликтовом озере Могильное (площадь 9 га, максимальная глубина 16,3 м), уникальность данного водоема заключается в наличии нескольких слоев разной степени солености: от практически пресного на поверхности (2–3 ‰), до соленого (33 ‰) на дне. В нижнем слое происходит накопление сероводорода.

Цель работы – изучить популяционную структуру и оценить степень генетической дифференциации озерного подвида трески от морской популяции.

Материалом для данного исследования послужили образцы тканей рыб, собранные в разные годы на озере Могильное, в Баренцевом море (Кильдинская салма и за пределами территориального моря) и в Белом море (Великая салма). Для молекулярно-генетического анализа было использовано 8 микросателлитных маркеров. На основании данных о полиморфизме микросателлитных локусов выявлены значительная генетическая дифференциация кильдинской трески от морской и некоторые особенности популяционной структуры трески данной части ареала. В настоящее время полученные результаты обрабатываются.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ КРАПЧАТОГО СУСЛИКА В ВОСТОЧНОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА: ИСТОРИЯ ИСЧЕЗНОВЕНИЯ И ВТОРИЧНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ

С.В. Титов¹, С.С. Бакаева¹, А.А. Кузьмин², А.А. Шмыров³

¹Пензенский государственный университет, Пенза, svtitov@yandex.ru

²Пензенская государственная технологическая академия, Пенза

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

С 80-х годов XX века в восточной части ареала отмечается устойчивое падение численности и уменьшение числа поселений крапчатого суслика. По результатам исследований (2008–2009 гг.), было обнаружено 28 поселений, по сравнению с 105 в 1990-е годы. При этом плотность поселений не превышала 5 ос./га, а в Татарстане, Пензенской и Тамбовской обл. *S. suslicus* не был обнаружен совсем.

Материалом для работы послужили полевые сборы 2006–2010 гг. (Ульяновская, Саратовская обл., Республики Мордовия и Чувашия). Была исследована генетическая структура 8 популяций *S. suslicus* (n=141) и использованы 4 молекулярно-генетических маркера: контрольный регион мтДНК (С-регион), интрон 6 протоонкогена p53 (ядДНК), а также 2 фрагмента микросателлитной ДНК.

Анализ митохондриальной ДНК у особей из 8 проанализированных популяций свидетельствует об их мономорфности по этому маркеру. Был выявлен митотип D1, характерный для крапчатых сусликов в Поволжье.

При анализе 6 интрона гена p53 было обнаружено 2 различные по массе аллели этого гена – s1 и s2. Анализ частот генотипов показал, что в 6 из 8 популяций отсутствуют гомозиготы по аллели s2. При сравнении популяций достоверные различия были выявлены почти по всем парам сравнения. При сравнении наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов p53 достоверных различий не выявлено. Это указывает на прохождение в этих популяциях автономных генетических процессов. Есть и негативные факты, указывающие на нестабильность и дефектность генетической структуры популяций. Сильная генетическая однородность населения и достоверно значимые различия географических популяций свидетельствуют о сильной их изоляции.

Анализ структуры популяций по микросателлитным маркерам показал, что только в северных популяциях генетические процессы идут в соответствии с теоретически ожидаемыми.

Генетические исследования популяций *S. suslicus* указывают на депрессивное состояние популяций крапчатого суслика в восточной части ареала. Однако центральные популяции характеризуются более высоким генетическим разнообразием, а сама область их местоположения может быть признана центром генетического разнообразия этого вида. Такая зона (Ульяновской обл.) повышенной генетической гетерогенности популяций является областью переживания видом неблагоприятных условий. Об этом свидетельствуют данные (2010–2012 гг.), указывающие на постепенное повышение численности сусликов в этих популяциях и возникновение новых.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 11-04-00228, № 12-04-97063) и в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (№ 14.B37.21.0189).

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МГС 5S рДНК В КАЧЕСТВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА ДЛЯ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ СЕМЕЙСТВА ROSACEAE

Ю.О. Тынкевич, М.М. Вивчарык

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
yurijtynkevich@gmail.com

Классификация розовых является предметом постоянных дискуссий. Систематическое положение многих групп неоднократно пересматривалось. Трудности применения традиционных морфо-анатомических методов связаны с распространением в семействе гибридизации и полиплоидии. Значительный прогресс в построении филогенетической системы Rosaceae был достигнут в последнее время с использованием молекулярных маркеров различной природы. Однако еще недостаточно использован потенциал маркеров на основе последовательности ядерных генов, обладающих рядом неоспоримых преимуществ, среди которых высокая консервативность, а также наследование по обеим родительским формам. Поэтому в качестве молекулярного маркера была выбрана нуклеотидная последовательность 5S рибосомной ДНК, ранее успешно применявшаяся для многих других групп высших растений (Volkov et al., 2001).

Для выделения ДНК использовали гербаризированные образцы представителей родов *Rosa*, *Rubus*, *Prunus*, *Cydonia*. ДНК экстрагировали цетавлоновым методом. 5S рДНК амплифицировали с помощью ПЦР с праймерами, комплементарными к кодирующим участкам. ПЦР-продукт клонировали в плазмидный вектор, после чего секвенировали. Последовательности 5S рДНК представителей родов *Sanquisorba*, *Acaena*, *Cliffortia*, *Leucosidea* были получены из базы данных Genbank.

Анализ полученных нуклеотидных последовательностей показал высокий уровень гомологии кодирующих участков 5SpДНК у представителей семейства Rosaceae с наличием отдельных точечных нуклеотидных замен. В то же время межгенный спейсер (МГС) выглядит гораздо более полиморфно. Следует отметить существенные различия в длине МГС, которая находится в диапазоне от 293 нп у *A. latebrosa* до 563 нп у *P. domestica*. Значительный полиморфизм обнаруживается также в нуклеотидной последовательности МГС. Вместе с точечными заменами для МГС представителей различных родов характерно наличие как одно-, так и мнугонуклеотидных инсерций/делеций.

Уровень гомологии МГС варьирует от 96,7 % между *P. spinosa* и *P. domestica* до 24,3 % между представителями родов *Prunus* и *Leucosidea*. Тем не менее, в спейсере 5S рДНК всех проанализированных видов присутствуют высокогомологические участки внешних элементов промотора полимеразы III.

Таким образом, высокая схожесть последовательности МГС в границах родов семейства Rosaceae подтверждает перспективность его применения в качестве молекулярного маркера в таксономических исследованиях данной группы на уровне таксонов низкого ранга.

СОДЕРЖАНИЕ КАРБОНИЛЬНЫХ ГРУПП У *ARABIDOPSIS THALIANA* В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ Cd^{2+}

О.Г. Фыдорюк, И.Н. Долиба

Черновицкий национальный университет им. Юрия Федьковича, Черновцы,
inna.doliba@gmail.com

Основная часть высших растений повреждается избыточным содержанием тяжелых металлов (ТМ). Большинство ТМ проявляют высокую биологическую активность, однако некоторые из них вызывают токсическое воздействие даже при незначительном содержании в организме. К таким металлам относится кадмий, который способен катализировать образование активных форм кислорода (АФК). Последние в свою очередь воздействуют на белки, вызывая их окислительные модификации (Benavides et al., 2005).

Одним из методов оценки степени окислительной модификации белков является исследование количества карбонильных групп (КГ), входящих в их состав (Lushchak et al., 2011, Martins et al., 2011). Целью нашей работы было исследование содержания КГ белков у растений *Arabidopsis thaliana* при воздействии стресса, вызванного различными концентрациями ионов кадмия.

Растения *A. thaliana* выращивали в грунте в климатической камере при постоянной температуре 20 °С. Стрессовую обработку проводили на растениях с отделенной корневой системой. Для этого растениям 5-недельного возраста в воде острым лезвием отделяли надземную часть от корневой и место среза погружали в 0,5-кратную среду Мурасиге – Скуга (0,5 × MS), которая содержала различные концентрации хлорида кадмия – 0,1; 0,5 и 5 мМ. Стресс проводили в темноте в течение 2-х и 12-ти часов. Контролем служили растения, которые инкубировались в течение указанного времени в 0,5 × MS без добавления ионов Cd^{2+} . Определение содержания КГ белков проводили по методике, описанной в литературе (Lushchak et al., 2011).

В результате проведенных исследований было выявлено, что 2-часовая обработка ионами кадмия в концентрациях 0,1 и 0,5 мМ не вызывала изменений содержания КГ, по сравнению с контрольными растениями. Применение высокой концентрации хлорида кадмия – 5 мМ – приводило к возрастанию содержания КГ белков на 11 %. Однако 2-часовое инкубирование контрольной группы растений на 0,5 × MS не вызывало достоверных изменений содержания КГ, по сравнению с интактными растениями.

Более длительная обработка (12 часов) ионами кадмия вызывала уменьшение концентрации КГ на 10–20 %, по сравнению с контролем при всех исследуемых концентрациях. Эти данные свидетельствуют, что при таких условиях происходит адаптация растительной клетки к воздействию стрессового фактора и активация защитных репаративных механизмов.

ВЕРИФИКАЦИЯ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ОБРАЗЦОВ ТЕТРАПЛОИДНОЙ ПШЕНИЦЫ С ПОМОЩЬЮ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ

Е.К. Хлесткина¹, М.С. Родер², Г. Грауструббер³, А. Борнер²

¹Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск,
khlest@bionet.nsc.ru

²Институт генетики растений и исследования культурных растений им. Лейбница,
Гатерслебен

³Университет природных ресурсов, Вена

Тетраплоидные пшеницы ($2n=4x=28$) входят в состав рода *Triticum* в составе двух секций: *Timopheevii* (2–3* вида с общей формулой генома GGAA) и *Dicoccoides* (10–11** видов с общей формулой генома BBAA). Для уточнения таксономической принадлежности некоторых образцов тетраплоидной пшеницы проведен микросателлитный анализ 99 образцов 12 видов тетраплоидной пшеницы. Для анализа выбраны 28 маркеров пшеницы – по 1 на каждое плечо хромосом генома А и В. Общее число аллелей, выявленное у исследуемых образцов в данных 28 локусах, составило 453 (в среднем 16 на 1 локус). Полученные данные были обработаны с помощью кластерного анализа. Секции *Dicoccoides* и *Timopheevii* сформировали 2 отдельных кластера. Внутри кластера *Dicoccoides* выделялись 8 кластеров: кластер, включивший виды *T. dicoccum*, *T. dicoccoides* и *T. ispahanicum*; кластер *T. karamyshevii*; кластер *T. carthlycum*; кластер *T. jakubzineri*; кластер, включающий *T. turgidum* и *T. polonicum*; кластер *T. durum*; кластер *T. turanicum* и кластер, включающий некоторые образцы *T. durum* и *T. polonicum*, имеющие общее географическое происхождение (район так называемой Дуги плодородия на Ближнем Востоке – Fertile Crescent), и образцы тетраплоидной пшеницы спорной классификации, имеющие название ‘Kamut’. Выдвинуто предположение о том, что образцы ‘Kamut’ произошли в результате межвидовой гибридизации *T. durum* × *T. polonicum*. Кроме того, на основании результатов кластерного анализа инициирована повторная классификация ряда образцов и установлено, что таксономическая принадлежность 12 из 99 образцов ранее была определена неверно. Таким образом, микросателлитные маркеры являются эффективным инструментом для верификации и уточнения классификации образцов тетраплоидной пшеницы.

* В зависимости от классификации *T. militinae* описывают как отдельный вид или как подвид вида *T. timopheevii*.

** В зависимости от классификации *T. jakubzineri* описывают как отдельный вид или включают в *T. turgidum*.

ВНУТРИГЕНОМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ 18S рДНК У ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ ВИДОВ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Г.Н. Челомина^{1,2}, К.В. Рожкован¹, Н.М. Кафу²

¹Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, Владивосток
chelomina@ibss.dvo.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Модель согласованной эволюции, предложенная для мультигенных последовательностей рибосомального кластера около 40 лет назад, описывается сегодня как способность всех единиц рДНК изменять свои последовательности высокоорганизованным способом. В отличие от классической, при согласованной эволюции большинство мутаций быстро фиксируются внутри популяции или вида в процессе дифференциации, в результате чего различия между последовательностями внутри вида остаются минимальными, а между видами – аккумулируются. С накоплением литературных данных стало ясным, что хотя большинство генов рРНК, действительно, подвержены согласованной эволюции, из этого правила существуют исключения. Очевидно, что понимание механизмов эволюции генов рРНК невозможно без широких знаний о нуклеотидной последовательности регионов рДНК. В последние годы опубликованы геномные последовательности многих видов, но, к сожалению, области рДНК из них обычно исключались из-за трудностей секвенирования большого числа сходных копий.

Ранее, по данным частичного секвенирования гена 18S рРНК, мы показали, что геномы осетровых рыб российского ДВ характеризуются разнообразием копий 18S рДНК, которое существенно возрастает при межвидовой гибридизации. Анализ изменчивости клонированных полноразмерных последовательностей 18S рДНК амурского осетра *Acipenser schrenckii*, калуги *Huso dauricus* и их гибрида *A. schrenckii* × *H. dauricus* дал новую информацию о молекулярной организации, эволюции и внутривидовой изменчивости осетровых рыб. Полученные данные позволяют полагать, что прямой и балансирующий отбор может быть ответственным за специфическое распределение нуклеотидного разнообразия в первичных и вторичных структурах 18S рРНК. Присутствие одного главного аллеля для гена 18S рРНК у каждого вида и гибрида может быть показателем генной конверсии между различными аллельными вариантами, направленной на обеспечение однообразия в последовательностях рДНК. Появление новых мутаций/риботипов у F1 гибридов предполагает вовлеченность мейотической рекомбинации в генерацию аллельного разнообразия генов 18S рРНК. Повышенное содержание GC оснований у предполагаемых псевдогенов может быть отражением эволюционного процесса, ассоциированного с дальнейшей функциональной дивергенцией последовательностей рДНК.

Работа выполнена при поддержке гранта ДВО РАН № 12-I-06-022.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КИТАЙСКОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ТРЕМАТОДЫ *CLONORCHIS SINENSIS* COBBOLD, 1875 ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Г.Н. Челомина, Ю.В. Татонина, В.В. Беспрозванных

Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, Владивосток
chelomina@ibss.dvo.ru

Китайская печеночная трематода *Clonorchis sinensis* Cobbold, 1875 является причиной клонорхоза, эндемичного заболевания во многих странах Юго-Восточной Азии, в том числе на юге российского Дальнего Востока. По эпидемиологическим данным влияние клонорхоза на здоровье человека возрастает, а в некоторых случаях это заболевание может трансформироваться в холангиокарциному. Нами впервые проведены молекулярно-генетические исследования географических популяций *C. sinensis* на территории российской части видового ареала с использованием полноразмерного гена цитохромоксидазы 1 (*cox1*) мтДНК и участка геномной рДНК, включающей полные последовательности двух внутренних транскрибируемых спейсеров, ITS1 и ITS2, и гена 5.8S рРНК. Полученные и имеющиеся в генном банке данные по *C. sinensis* были объединены и совместно проанализированы.

Наши исследования подтвердили отсутствие внутривидовой изменчивости участков ITS2 и 5.8S рДНК, описанное ранее, и дали новую информацию о характере изменчивости ITS1, позволившую связать особенности молекулярной организации последовательностей ДНК с инфицирующими способностями паразита и его эколого-географической адаптацией. Впервые для вида обнаружена внутригеномная изменчивость ITS1 участков и наличие в них регуляторных мотивов, а также генерированы вторичные структуры транскриптов ITS1 и ITS2. Анализ изменчивости последовательности гена *cox1* мтДНК обнаружил снижение генетического разнообразия в направлении с юга на север, сопровождаемое выраженной сменой гаплотипических частот. Филогеографический анализ по обобщенным для вида данным предполагает популяционную панмиксию и сравнительно недавнюю популяционную экспансию китайской печеночной трематоды, хотя и с отклонением от строгой теоретической модели. Согласно молекулярным часам для шистосом (Trematoda) наибольший демографический рост популяций *C. sinensis* мог произойти примерно 110 000 лет назад, что соответствует Казанцевскому межледниковью в Сибири и климатическому оптимуму на российском Дальнем Востоке.

ПРОБИОТИКИ КАК АНТИДОТЫ ЭНДОГЕННЫХ ГЕНОТОКСИНОВ

**В.А. Чистяков^{1,2}, Е.В. Празднова¹, Т.С. Колмакова², Э.В. Дудникова²,
А.В. Шестопалов², Е.В. Моргуль², О.С. Оксенюк², Н.Н. Кобзева²,
Е.С. Приходская²**

¹Научно-исследовательский институт биологии Южного федерального университета,
Ростов-на-Дону, vladimirchi@sfedu.ru

²Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

С середины XX века главным источником генетического груза считали мутагены окружающей среды, накапливающиеся в экосистемах в результате промышленной и сельскохозяйственной деятельности. За прошедшие годы в развитых странах была создана достаточно эффективная система контроля генетической активности факторов внешней среды, основная цель которой снижение уровня загрязнения природных сред мутагенами, особенно обладающими канцерогенным эффектом.

В конце XX века было показано, что даже при нормальном метаболизме в клетке генерируются активные формы кислорода (АФК), в том числе и способные повреждать ДНК. Генерация АФК значительно усиливается в условиях патологии, при развитии стрессорных реакций и воспалительных процессов. На основании этого один из создателей современной методологии контроля генетической активности среды Б. Эймс признал что «внутренние» генотоксины могут быть значительно опаснее «внешних». Магистральным путем решения задачи компенсации действия эндогенных генотоксинов он считает использование микронутриентов, компенсирующих дефицит природных коферментов и обладающих антиоксидантной активностью.

Вещества, выделяемые пробиотическими микроорганизмами, способны как удалять активные формы кислорода, так и активировать процессы репарации ДНК. Целью наших экспериментов была оценка способности доступных для клинического применения пробиотических и пребиотических препаратов супрессировать генотоксичность генераторов АФК.

Были изучены пробиотические препараты различной природы: Хилак форте (Ratiopharm), нормазе (Molteni), Споробактерин (Бакорен), Линекс (Lek), Бифиформ (Ferrosan) и японский синбиотический продукт Натто (Yuzo Takahashi Laboratory). В качестве внутриклеточного индуктора АФК использовали лекарственный препарат диоксидин («Биосинтез», Россия). Для детекции генотоксичности и, соответственно, протекторного эффекта, использовали люминесцентные биосенсоры *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pColD-lux), реагирующие на повреждение ДНК усилением свечения. Протекторную активность рассчитывали как процент подавления генотоксического эффекта.

Эксперименты показали, что все исследованные препараты обладают антигенотоксическим эффектом, величина которого возрастает в ряду Хилак форте, Нормазе, Споробактерин, Бифиформ, Натто, Линекс. В целом более выраженным эффектом обладают более многокомпонентные препараты. Верификация полученных данных на клетках крови человека, а также исследования *in vivo* будут проведены на следующих этапах исследования.

КОПЕЕЧНИКИ (*HEDYSARUM* L.) ЮГА ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ: СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ

И.А. Шанцер¹, Н.А. Супрун²

¹Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, ischanzer@mail.ru

²Волгоградский государственный социально-педагогический университет, Волгоград, n.suprun@mail.ru

С использованием ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) маркеров изучена популяционно-генетическая структура копеечников из родства *Hedysarum grandiflorum* на территории юга и юго-востока Восточной Европы. Пространственная изоляция популяций *H. grandiflorum*, связанных с местообитаниями на выходах мела и известняка, ведет к ограничению потока генов между ними и локальной дифференциации. Наиболее изолирована по данным фрагментного анализа северокавказская популяция, описанная как самостоятельный вид *H. biebersteinii*. Молекулярно-генетические данные не подтверждают произрастания этого вида в области Среднего Дона, но неоднозначны в отношении гибридизации между ним и среднедонскими популяциями *H. grandiflorum*, на которые неоднократно указывалось в литературе. Вместе с тем, популяции южноуральского *H. argyrophyllum*, по нашим данным, связаны с *H. grandiflorum* потоком генов, сравнимым с таковым между популяциями этого вида. Сеть гаплотипов, построенная по данным изменчивости спейсера *rpl32-trnL* хп ДНК, позволила провести филогеографический анализ, результаты которого оказались не вполне конгруэнтными с результатами анализа ISSR-данных. В целом, по хлоропластным данным установлено, что современное разнообразие копеечников этой группы связано, вероятно, с расселением из трех ледниковых рефугиумов – южноуральского, северокавказского и крымского. Возраст и связи этих трех рефугиумов и равнинной территории между ними могут быть интерпретированы по-разному, в зависимости от способов укоренения сети.

МЕТАГЕНОМИКА МОРСКИХ ЭКОСИСТЕМ

С.В. Шестаков

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

shestakovgen@mail.ru

Метагеномика является одним из эффективных молекулярно-генетических подходов в системной биологии. Изучение структуры и функций экосистем путем секвенирования геномов **всех** микробов, содержащихся в пробах, взятых непосредственно из природной среды, открыло новую эру в микробиологии, экологии, филогеномике. Методы метагеномики позволяют: (1) определять таксономический и генный состав сообщества (включая некультивируемые виды); (2) выявлять ранее неизвестные виды и реконструировать их геномы; (3) осуществлять мониторинг состояния экосистем в зависимости от локальных географических, климатических, геохимических и др. условий; (4) расшифровывать генно-метаболические сети, определяющие взаимодействие членов сообщества и микроэволюционные процессы.

Большой прогресс достигнут в метагеномном анализе биоразнообразия и организации морских экосистем. Открыты сотни новых видов и тысячи новых генов, ранее неизвестные метаболические системы, получены сведения о вертикальном и региональном распределении бактериопланктона. Концептуально пересмотрены представления о природе процессов, определяющих энергетику и азотный «бюджет» морских экосистем: (1) открыто участие протеородопсина гетеротрофных бактерий и архей в биотрансформации энергии света (независимо от фотосинтеза, осуществляемого цианобактериями и микроводорослями); (2) установлена ключевая роль в круговороте азота азотфиксирующей пикоцианобактерии UCYN и некоторых архей в процессах нитрификации. Обнаружены тысячи вариантов вирусов, которые контролируют численность биоты и поддерживают генофонд сообщества, обеспечивая генетические обмены путем горизонтальных переносов. Раскрыт механизм участия протеобактерий в симбиозе с морской олигохетой, идентифицированы микробы-симбионты губок и кораллов. Методы метатранскриптомики позволяют судить по экспрессии генов об их востребованности в конкретных условиях функционирования сообщества. Метагеномные исследования не только вносят вклад в развитие экологии, но и создают основу для решения прикладных задач по освоению морских биоресурсов.

При поддержке программы Президиума РАН «Происхождение жизни и становление биосферы» и гранта «Ведущие научные школы».

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЧУКОТСКОГО ЭКОРЕГИОНА (на примере лососевых видов рыб и моржей)

М.В. Шитова¹, Ю.Н. Хохлов², А.А. Кочнев², Г.А. Рубцова¹, К.И. Афанасьев¹,
А.И. Никифоров³, В.Д. Прохоровская¹, Т.А. Ракицкая¹, Т.В. Малинина¹,
А.А. Животовский¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, shitova-m@rambler.ru,

²ЧукотГИНРО, Анадырь,

³Московский государственный институт международных отношений МИД РФ, Москва

I. «Генетическое разнообразие кеты рек Чукотки»

В работе было проанализировано 12 выборок (576 образцов) кеты по 10 микросателлитным локусам из шести локальностей (р. Анадырь, р. Белая, р. Великая, р. Канчалан, р. Туманская, р. Хатырка). Результаты анализа показали, что кета рек Чукотки имеет слабую генетическую подразделенность, но комплекс Чукотских стад достоверно отличается от комплекса Магаданских и Камчатских стад, что дает основу для индивидуальной идентификации особей кеты рек Чукотки и возможность отличать ее от кеты других регионов. Генетическое разнообразие чукотской кеты сравнимо с разнообразием других популяций северной части ареала, что говорит о стабильности генетических характеристик кеты этого региона.

II. «Генетическое разнообразие нерки рек Чукотки»

В данной части исследования было изучено две выборки нерки (100 образцов) из рек Чукотки (р. Хатырка и оз. Майниц) по 22 микросателлитным локусам. Нерка реки Хатырка и оз. Майниц имеет сильно выраженную дифференциацию ($\theta_r=9-10\%$), также нерка рек Чукотки генетически обособлена от нерки Камчатских стад и от нерки о. Итуруп. Степень данных различий позволяет почти со 95–100 %-ной вероятностью отличать Чукотскую нерку от нерки других стад, по единичному экземпляру. Впервые нами было показано, что нерка р.Хатырка имеет как минимум три генетически изолированных стада, причем генетические различия между этими стадами, очень сильно выражены (в среднем $\theta_r=9,5\%$). По-видимому, разные стада нерки этой реки приурочены к разным нерестилищам, расположенным в бассейне данной реки. Генетическое разнообразие нерки оз. Майниц (расположено более севернее, чем р. Хатырка) оказалось пониженным по сравнению с разнообразием нерки в центре ареала и в р. Хатырка. Уровень генетического разнообразия нерка этого озера оказался более сходным с разнообразием нерки о. Итуруп и является характерным для популяций обитающих на краях ареала.

III. «Генетическое разнообразие тихоокеанского моржа трех арктических лежбищ»

Были исследованы четыре выборки моржа (всего 69 экземпляра) из трех точек ледовитоморского побережья Чукотки: м. Ванкарем 2007 и 2010 года, о. Колючин 2010 года и м. Сердце-Камень 2010 года по 20 микросателлитным локусам. Нами показана генетической неоднородности исследованных выборок и возможной генетической обособленности и относительной репродуктивной изоляции выборки с м. Сердце-Камень от других. В виду небольших величин генетической дифференциации вида, необходимо расширить исследование путем увеличения количества исследованных особей (хотя бы до 50–70 шт. в каждой выборке) и ареала исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ №16.120.11.5285-МК и частично при поддержке программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России» и программы Президиума РАН «Живая природа: Динамика генофондов».

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТАКСОНОМИИ ВОЛОСАТИКОВ (NEMATOMORPHA)

В.Ю. Шматко¹, С.Э. Спиридонов²

¹Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, antijus@gmail.com

²Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, s_e_spiridonov@rambler.ru

Волосатики (Nematomorpha) – облигатные паразиты членистоногих. Фауна этих червей довольно богата: в поясе умеренного климата Евразии обитает около десятка родов. Фауна волосатиков России изучена слабо, хотя в некоторых российских музеях хранятся значительные коллекции этих немателминтов (от нескольких сотен до более тысячи образцов). Одной из основных проблем при работе с волосатиками является значительная внутривидовая изменчивость по тем признакам, что традиционно использовались для их определения. Так, А. Шмидт-Реза предположил, что на территории Европы обитает лишь несколько, но весьма полиморфных видов волосатиков рода *Gordionus* (Schmidt-Rhaesa, 2002). Именно представители этого рода были собраны нами в окрестностях базы практики ЮФУ «Белая речка» в Республике Адыгея. Были отмечены случаи выхода волосатиков из хозяев-диплопод *Pachyiulus krivolutskyi* Golovatch, 1977. Для изучения строения поверхности изготавливали глицериновые препараты лоскута кутикулы волосатика. Для этого с небольшого фрагмента тела (длиной 1–1,5 мм) снимали наружный слой кутикулы, который с помощью игл расправляли на предметном стекле в капле глицерина и придавливали покровным стеклом. Также изготавливали препараты заднего раздвоенного конца самцов, просветляя их в смеси глицерина и молочной кислоты. Небольшие фрагменты тела волосатиков исследовали в сканирующем электронном микроскопе. Изучение поверхности волосатика показало, что у форм, собранных в окрестностях базы практики ЮФУ, имеется один тип ареол – гексагональные, реже пентагональные участки кутикулы, отделенные бороздками. На хвостовом конце самцов волосатиков перед клоакой имеется два сублатеральных поля кутикулярных выступов. Характер ареол на кутикуле позволил определить этих волосатиков как представителей рода, по своей морфологии эти волосатики соответствуют диагнозу рода *Gordionus*. В пределах рода обнаруженные волосатики сходны с видом *Gordionus alpestris* по общему облику кутикулы, строению хвостовой вилки и присутствию особых кутикулярных выступов (adhesive warts – Schmidt-Rhaesa, 1997) в преклоакальной области самца. Точная идентификация волосатиков на основе молекулярно-таксономических данных все еще невозможна, поскольку в ГенБанке NCBI для них имеется лишь тринадцать последовательностей 18S рДНК и три – 28S рДНК. Полученная нами 18S-последовательность *Gordionus alpestris* довольно существенно (3,7 %) отличалась от единственной известной последовательности того же рода (18S-последовательность для *G. wolterstorffii*). При этом от представителей родов *Chordodes*, *Euchordodes*, *Spinichordodes* и *Neochordodes* был отмечен такой же уровень отличий. Отмечено противоречие между филограммами, построенными по нуклеотидным различиям (18S рДНК), и традиционной классификацией волосатиков, основанной на морфологических признаках. Так, на филограммах, построенных по 18S рДНК, представители рода *Paragordionus* оказываются довольно близкими к роду *Chordodes*, но не показывают явной близости с *Gordionus*, с которыми их обычно сближали.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА САХАЛИНСКОГО ТАЙМЕНЯ *PARAHUSIO PERRYI* BREVOORT, 1856 ПО 19 МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ ДНК И ВЫВОДЫ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ГЕНОФОНДОВ ВИДА

А.А. Юрченко¹, М.В. Шитова¹, А.Ю. Семенченко², С.Ф. Золотухин³,

С.Н. Сафронов⁴, А.А. Животовский¹

¹Институт общей генетики им. Вавилова РАН, Москва,
andreyurch@gmail.com, shitova-m@rambler.ru, levazh@gmail.com

²Научно-образовательный комплекс «Приморский океанариум» ДВО РАН,
Владивосток, ansem2847@mail.ru

³Хабаровский филиал ФГУП ТИНРО-Центр, Хабаровск, sergchum2009@yandex.ru

⁴Сахалинский государственный университет, Южно-Сахалинск

Сахалинский таймень – уникальный эндемичный узкоареальный вид семейства лососевых. Исторический ареал включает в себя реки острова Сахалин, материкового побережья Японского моря, а также водотоки островов Кунашир, Итуруп, Хоккайдо и севера Хонсю. Вид характеризуется сложной жизненной стратегией: зимовка и нерест в реках, летний нагул в морском прибрежье и эстуариях. Достигает возраста более 25 лет при длине до 1,5 м. С середины 20 века таймень подвержен сильному антропогенному воздействию на большей части ареала и недавно занесен в Красную Книгу России и красный лист Международного Союза Охраны Природы. Целью данной работы является описание современной популяционно-генетической организации вида для ее будущего мониторинга и выработка рекомендаций по сохранению его популяционных генофондов. Всего проанализировано 508 генетических образцов сахалинского тайменя из 29 водоемов, с использованием 19 микросателлитных локусов ДНК. Серьезных отличий по показателю ожидаемой гетерозиготности на ареале не выявлено, хотя периферийные популяции Итурупа показывают сниженный уровень генетического разнообразия ($0,308 \pm 0,056$; $0,371 \pm 0,067$), а популяции крупных рек юга Хабаровского края напротив имеют повышенные значения ожидаемой гетерозиготности ($0,620 \pm 0,059$; $0,627 \pm 0,057$; $0,606 \pm 0,059$), что может говорить как о высокой численности, так и более стабильной последниковой истории этих популяций. Для характеристики уровня популяционно-генетической дифференциации использовалась мера θ , среднее значение между выборками $\theta = 12,4 \%$, что является достаточно высоким уровнем для полупроходных рыб и может говорить об очень ограниченном потоке генов между популяциями. Несмотря на это, анализ в пространстве главных компонент уверенно выделяет популяционные группировки в пределах крупных географических экорегионов (Северо-Восточный Сахалин, сахалинское и материковое побережье Татарского пролива, Южный Сахалин), и бассейна реки Поронай. Тест Мэнтелля на изоляцию расстоянием показывает положительную и статистически значимую корреляцию ($R^2 = 20-45$, $p < 0,05$) между попарными географическими и генетическими расстояниями в районах Северо-Востока Сахалина и по побережью Татарского пролива, подтверждая наличие миграций. Таким образом, популяционно-генетическая структура *P. perryi* характеризуется высоким уровнем генетической дифференциации между популяциями соседних водоемов при одновременном наличии уровня более высокой иерархии, по-видимому, в связи с практически полной изоляцией между отдаленными водоемами. С этой точки зрения можно рекомендовать двухуровневое выделение единиц сохранения *P. perryi*: в пределах отдельных водоемов и в пределах географических экорегионов на основе 1–2 базовых водоемов.

Работа отчасти финансировалась грантами программ Президиума РАН «Живая природа: Динамика генофондов» и «Молекулярная и клеточная биология».

СОДЕРЖАНИЕ

Александров О.С., Разумова О.В., Яковин Н.А., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Сравнительная молекулярно-цитогенетическая характеристика растений семейства Cannabaceae L.	5
Алёшин В.В., Михайлов К.В., Никитин М.А. Развитие методов и эпоха великих филогенетических открытий	6
Антосюк О.Н., Шихова С.В., Марвин Н.А., Марвин А.М. Морфометрический анализ крыла <i>Drosophila melanogaster</i> как тест-система при изучении стрессов на молекулярно-генетическом уровне	7
Балакирев А.Е. Проблема генетического полиморфизма для идентификации таксонов видового ранга при помощи ДНК-баркодинга; пример индокитайских Muridae	8
Баскевич М.И., Потапов С.Г., Опарин М.А., Хляп Л.А., Малыгин В.М., Сапельников С.Ф. Молекулярно-генетические исследования кариологически дискретных криптических видов и внутривидовых форм мышевок (Rodentia, Dipodoidea, Sicista) фауны Русской равнины и Кавказа	9
Беднарская И.А., Попов В.Н. Молекулярно-генетические взаимоотношения между некоторыми видами узколистных овсяниц	10
Безжонова О.В., Патраман И.В., Таныгина Е.В., Ганушкина Л.А. Молекулярно-генетические подходы в биологии переносчиков тропических лихорадок стран СНГ	11
Белоконь М.М., Дзюбенко Н.В., Белоконь Ю.С., Бокотей А.А. Молекулярно-генетические методы в изучении популяций черного аиста (<i>Ciconia nigra</i>)	12
Белоконь Ю.С., Белоконь М.М., Политов Д.В. Генетическое разнообразие кедрового стланика, <i>Pinus pumila</i> (Pall.), Амурской области по аллозимным локусам	13
Беляев А.Ю., Дымишакова О.С. Расшифровка происхождения солодки Коржинского с помощью молекулярно-генетических маркеров	14
Беспрозванных В.В., Ермоленко А.В., Атопкин Д.М. Трематоды семейства Harporidae Nicoll, 1914 кефалевых рыб Приморья: данные частичного секвенирования гена 28S рРНК видов рода <i>Skrjabinolecithum</i> Belous, 1954	15
Билоконь С.Ю., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С., Дикий И.В. Генетическая изменчивость белки обыкновенной, <i>Sciurus vulgaris</i> L., на западе Украины	16
Бобошина И.В., Нечаева Ю.С., Видякин А.И., Боронникова С.В. Подбор праймеров для проведения ISSR-анализа полиморфизма ДНК <i>Pinus sylvestris</i> L.	17
Богданов А.С., Стахеев В.В., Зыков А.Е., Окулова Н.М., Миронова Т.А., Ковальская Ю.М., Бидашко Ф.Г. Изменчивость фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы у желтогорлых мышей <i>Sylviaetus flavicollis</i> в восточной части ареала вида	18
Бреева О.С., Панчук И.И. Влияние разных концентраций ионов Cd ²⁺ на активность пероксидазы <i>Arabidopsis thaliana</i>	19
Бублик Е.Н., Андреев И.О., Парникова И.Ю., Кунах В.А. Генетическое разнообразие <i>Iris pumila</i> L. в Украине по результатам ISSR-анализа	20
Булатова Н.Ш., Лавренченко Л.А., Потапов С.Г., Павлова С.В., Романенко С.А., Сердюкова Н.А., Голенищев Ф.Н., Малыгин В.М. Молекулярные и кариотаксономические параллели в структуре надвидового комплекса обыкновенных полевок <i>Microtus arvalis</i> s. l. (Rodentia: Cricetidae)	21
Вайшля О.Б., Агафонова Н.Н., Комлева Е.В. Исследование разнообразия <i>Homobasidiomycetidae</i> в южной тайге Западной Сибири с помощью молекулярно-генетических методов	22

Васильев В.П., Васильева Е.Д., Лебедева Е.Б. Криптические виды и эволюция клонально-бисексуальных комплексов щиповок (<i>Cobitis</i> , Cobitidae, Pisces) по молекулярно-генетическим и кариологическим данным	23
Васильева Е.Д., Медведев Д.А., Васильев В.П. Проблемы таксономии бычковых рыб (Gobiidae, Pisces) Понто-Каспия: данные молекулярно-генетических исследований	24
Васильев А.Г., Васильева И.А., Войта Л.Л., Литвинов Ю.Н. Морфологическое картирование молекулярных филогений: оценка филогенетического сигнала разных систем признаков методами геометрической морфометрии	25
Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Малышева И.Е. Микросателлитный анализ популяций карельской березы, находящихся на территории Республики Карелия и Финляндии	26
Вильнет А.А., Константинова Н.А. Молекулярно-генетический полиморфизм листостебельных печеночников рода <i>Liochlaena</i> Nees	27
Вологин С.Г., Былинкина Н.Д. Идентификация и молекулярно-генетический анализ изолятов Y-вируса картофеля, циркулирующих в ряде регионов России	28
Гецеу В.В., Волков Р.А. Структура SS рДНК некоторых видов чешуекрылых семейства Lycaenidae	29
Гогуа М.Л., небесихина Н.А. Результаты изменчивости контрольного участка митохондриальной ДНК черноморской кумжи (<i>Salmo trutta</i>) в реках Абхазии	30
Гончаров Н.П., Кондратенко Е.Я., Блинов А.Г. Таксономия и молекулярная филогения пшениц	31
Гордон Н.Ю., Бочкарев Н.А., Политов Д.В. Дифференциация симпатрических видов речных сегов <i>P. coregonus</i> Дальнего Востока России по митохондриальной ДНК	32
Григорьева О.О. Молекулярно-генетические особенности восточно-европейских хромосомных рас <i>Sorex araneus</i> по данным гена <i>cyt b</i>	33
Гуляев А.С., Лопаткин А.А., Васильев В.А., Хрисанфова Г.Г., Семенова С.К. Криптические виды и филогеография печеночных сосальщиков рода <i>Fasciola</i> (Trematoda)	34
Дехта В.А., Махоткин М.А., Сергеева С.Г. Генетическая адаптация популяций гидробионтов к градиенту солености	35
Дорошенко Н.П. Сохранение генофонда винограда с помощью биотехнологии	36
Дуплий В.П., Матвеева Н.А. Возможность использования последовательностей некоторых ядерных и хлоропластных генов для видовой идентификации мохообразных (на примере растений Антарктики)	37
Ермаков О.А., Сурин В.Л., Титов С.В., Формозов Н.А. Дифференциация краснощеких сусликов по маркерам митохондриальной ДНК	38
Ефейкин Б.Д., Михайлов К.В., Алёшин В.В., Спиридонов С.Э., Панчин Ю.В. Полногеномное секвенирование волосатика <i>Gordionus alpestris</i> : начальный этап	39
Звягина Е.А., Александрова А.В., Бульонкова Т.М. <i>Omphalina discorosea</i> : таксономическое положение вида	40
Землемерова Е.Д., Банникова А.А., Зыков А.Е., Лебедев В.С. Сравнительная филогеография кротов рода <i>Talpa</i>	41
Иваненко В.Н. К исследованию молекулярного разнообразия морских беспозвоночных на примере веслоногих ракообразных (Copepoda) – симбионтов рифообразующих кораллов	42
Инге-Вечтомов С.Г. Генетическая токсикология и экологическая генетика	43
Кармоков М.Х., Полуконова Н.В., Воронин М.Ю. Структура кариотипа и инверсионный полиморфизм <i>Chironomus bernensis</i> Klotzli, 1973 (Diptera: Chironomidae) Центрального Кавказа и Предкавказья	44
Каиштанов С.Н., Мещерский И.Г., Свищева Г.Р., Лазебный О.Е., Пищулина С.А., Симакин Л.В., Рожнов В.В. Генетическое разнообразие и систематика природных популяций соболя	45

Кнушевицкая М.В., Аникин В.В., Демин А.Г. Молекулярная таксономия палеарктических молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) на основе последовательности нуклеотидов гена первой субъединицы цитохром С-оксидазы (COI)	46
Кокишарова Т.А. Популяционное разнообразие биотипов <i>Triticum aestivum</i> L. по системам генов <i>Vrn</i> и <i>Ppd</i>	47
Коняев С.В. Молекулярно-генетические исследования цестод семейства Taeniidae	48
Королева Н.И., Загоскин М.В., Соловьев А.А. Генетическая оценка первого инбредного поколения сорта картофеля Чародей	49
Коришиков И.И., Калафат Л.А., Мильчевская Я.Г. Генетическая изменчивость зародышей семян и деревьев в популяции <i>Pinus stankewiczii</i> (Sukacz.) Fomin в Крыму	50
Кривопалов А.В., Тикунова Н.В., Фоменко Н.В. Разработка подхода к изучению генетических особенностей цестод грызунов	51
Кузнецова О.И., Федосов В.Э. Молекулярные методы в выявлении гибридизации у мхов в природе	52
Лавренченко Л.А., Наджафова Р.С., Булатова Н.Ш. Успехи в диагностике новых таксонов эфиопских грызунов в свете сравнительной кариологии	53
Лазебная И.В., Пацко Е.В., Кравцова Т.Р., Кокишарова О.А. Филогенетический анализ новой симбиотической цианобактерии	54
Леонтьев Д.В., Шниттлер М. Генотипическое разнообразие миксомицетов <i>Tubifera ferruginosa</i> -комплекса как основа для его таксономической ревизии	55
Мальцев А.Н., Котенкова Е.В. Филогенетический анализ домового мыши <i>Mus musculus</i> России и сопредельных территорий по данным полиморфизма контрольного региона мтДНК	56
Маркин Н.В., Гаврилова В.А., Усатов А.В., Тихобаева В.Е. RAPD- и SSR-маркеры геномной ДНК однолетних видов подсолнечника	57
Матишов Д.Г., Андронов Е.Е., Водолажский Д.И., Глуценко Г.Ю., Стахеев В.В. Анализ таксономической и пространственной структуры микробиома Азовского моря с использованием высокопроизводительного секвенирования библиотек гена 16S рРНК	58
Матишов Д.Г., Тарасов В.А. Новое в понимании индуцированной изменчивости генома ...	59
Михеева Л.Е., Карбышева Е.А., Марданов А.В., Равин Н.В. Анализ новой плазмиды D в различных штамм-изоляциях у нитчатой азотфиксирующей цианобактерии <i>Anabaena</i>	60
Молода О.А., Давидюк Ю.Н. Строение межгенного спейсера генов 5S рРНК <i>Solanum betaceum</i> Cav.	61
Мосула М.З., Конвалюк И.И., Мельник В.Н., Дробык Н.М., Кунах В.А. ISSR-анализ некоторых популяций <i>Gentiana lutea</i> L. украинских Карпат	62
Мудрик Е.А., Кашенцева Т.А., Гамбург Е.А., Политов Д.В. Генетическая изменчивость подвидов серого журавля <i>Grus grus grus</i> (L.) и <i>G. g. lilfordi</i> (Sharpe) по микросателлитным локусам	63
Мустафина А.Н. Анализ генетического разнообразия редкого вида <i>Dictamnus gytnostylis</i> Stev. в Республике Башкортостан	64
Набоженко М.В., Кескин Б., Кескин Н.А. Молекулярно-генетические исследования жуков-чернотелок рода <i>Odocoetis</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	65
Небесихина Н.А., Гозуа М.Л., Тимошкина Н.Н. Оценка микросателлитной изменчивости черноморской кумжи (<i>Salmo trutta</i>)	66
Немиш В.В., Волков Р.А. Организация 5'-внешнего транскрибируемого спейсера 35S рДНК <i>Solanum vespertilio</i> Ait.	67
Николаева А.В., Калафат Л.А., Коришиков И.И. Популяционно-генетическое разнообразие двух видов рода <i>Juniperus</i> L.	68
Олейников Е.П., Водолажский Д.И., Кондаков А.А. К вопросу о полиморфизме каспийского тюленя (<i>Pusa caspica</i>)	69

Орлов В.Н. Ассортативное скрещивание – защита генных комплексов филогрупп обыкновенной бурозубки, <i>Sorex araneus sensu lato</i> (Mammalia)	70
Оюн Н.Ю., Каграманова А.С., Муха Д.В. Исследование паттерна 5'-укороченных копий R2 ретротранспозонов в геноме рыжих тараканов, обитающих в географически удаленных популяциях	71
Павлова С.В. Молекулярно-цитогенетический подход в исследовании разнообразия хромосомных рас обыкновенной бурозубки <i>Sorex araneus</i> L.	72
Парникоза И.Ю., Андреев И.О., Козерецкая И.А., Кунах В.А. О чем свидетельствует генетическая гетерогенность <i>Deschampsia antarctica</i> Desv.?	73
Пастухова А.М. Оценка варибельности показателей признаков одно-двулетних полусибов кедра сибирского	74
Песик В.Ю., Чухряева М.И., Федюнин А.А., Орехов В.А., Балановский О.П. Генетическое разнообразие семи русских популяций по панели аутосомных STR-маркеров, используемых при ДНК-идентификации.....	75
Петрова Т.В., Абрамсон Н.И. Внутривидовая генетическая изменчивость узкочерепной полевки (<i>Lasiopodomys (Stenocranius) gregalis</i>) по данным анализа митохондриального и ядерных генов	76
Петрунина А.С., Неретина Т.В., Мюге Н.С., Колбасов Г.А. Tantulocarida и Thecostraca: внутри или снаружи? Первые результаты молекулярного анализа филогенетического положения ракообразных класса Tantulocarida.....	77
Политов Д.В. Интеграция и дифференциация видовых генофондов в адаптации и эволюции....	78
Полуконова Н.В., Демин А.Г., Мюге Н.С. Диапазон изменчивости штрихкодowego гена COI как таксономический критерий рода, трибы и подсемейства у комаров-звонцов Chironominae и Orthocladiinae (Chironomidae, Diptera)	79
Полякова Т.А., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С., Игнатенко Е.В., Игнатенко С.Ю., Политов Д.В. Генетическая изменчивость кедрового стланика, <i>Pinus pumila</i> (Pall.) Regel, в Амурской области по микросателлитным локусам	80
Помазенко О.А., Табачишин В.Г. Генетическая характеристика нижеволжских популяций степной гадюки – <i>Vipera renardi</i> (Reptilia: Viperidae).....	81
Ракитин С.Б., Мухачева С.В., Давыдова Ю.А., Оленев Г.В. Изменчивость микросателлитной ДНК у рыжих полевок (<i>Clethrionomys glareolus</i>) при загрязнении среды выбросами медеплавильного производства.....	82
Ребриев Ю.А., Двадненко К.В. Предварительные данные о разнообразии рода <i>Vascellum</i> в Евразии и Северной Америке.....	83
Редчук П.С., Мудрик Е.А., Политов Д.В. Изменчивость микросателлитных локусов серого журавля в Украине.....	84
Романова Е.В., Кравцова Л.С., Ижболдина Л.А., Ханаев И.В., Щербаков Д.Ю. Использование молекулярного маркера гена 18S рРНК для идентификации нитчатых зеленых водорослей в участке локального антропогенного эвтрофирования озера Байкал	85
Руснак Т.А., Панчук И.И. Активность пероксидазы у КО-САТ3-нокаутных мутантов <i>Arabidopsis thaliana</i> L. в условиях теплового стресса.....	86
Рябова Г.Д. Генетическая изменчивость в природных популяциях волжских осетровых (на примере аллозимов)	87
Салменкова Е.А. Молекулярно-генетические исследования вопроса таксономического статуса гольцов рода <i>Salvelinus</i>	88
Снегин Э.А. Особенности генетической дифференциации метапопуляций наземных моллюсков в условиях лесостепного ландшафта.....	89
Спиридонов С.Э. Обстоятельства и перспективы применения молекулярно-таксономических методов в систематике энтомопатогенных нематод.....	90

Статная А.П., Череватов О.В. Структурные варианты последовательностей 5S рДНК в геномах некоторых видов чешуекрылых (<i>Lepidoptera</i>)	91
Стах В.О., Белоконь М.М., Хамар И.С., Белоконь Ю.С. Видовой состав и генетический полиморфизм зеленых лягушек (<i>Pelophylax</i>) Шацкого национального природного парка и водоемов Львовщины	92
Стахеев В.В., Богданов А.С., Водолажский Д.И. Филогенетическая структура рода <i>Sylvaetius</i> по данным изменчивости контрольного региона мт-ДНК.....	93
Страдомский Б.В., Водолажский Д.И. Значимость молекулярно-генетических исследований при изучении филогении систематики голубянок (<i>Lycaenidae: Lepidoptera</i>)	94
Сулимова Г.Е., Столповский Ю.А., Столповский К.Ю., Рузина М.Н., Кол Н.В., Воронкова В.Н., Евсюков А. Перспективы и проблемы использования межмикросателлитных ДНК-маркеров (ISSR-маркеров) в систематике и оценке генетического разнообразия доместицированных видов животных.....	95
Сычев А.А., Снегин Э.А. Применение молекулярно-генетических маркеров в систематике <i>Helicopsis</i> spp. (<i>Gastropoda; Pulmonata; Hygromiidae</i>)	96
Тареев А.С., Скребовская С.В., Мартынюк В.А., Макитренко А.М., Тохтамыш А.А., Лях А.А., Карбовская В.Н., Диденко В.И., Березовская М.А., Тыщенко О.В., Карпенко Н.И., Костиков И.Ю. Идентификация критических в систематическом отношении и раритетных таксонов флоры и микобиоты Украины молекулярно-генетическими методами.....	97
Тетерина А.А., Животовский Л.А., Строганов А.Н. Популяционно-генетические процессы у трески <i>Gadus morhua kildenensis</i> реликтового озера Могильное	98
Титов С.В., Бакаева С.С., Кузьмин А.А., Шмыров А.А. Современное состояние и генетический полиморфизм популяций крапчатого суслика в восточной части ареала: история исчезновения и вторичной колонизации.....	99
Тынкевич Ю.О., Вивчарык М.М. Перспективы использования МГС 5S рДНК в качестве молекулярного маркера для таксономических исследований семейства <i>Rosaceae</i>	100
Фыдорюк О.Г., Долиба И.Н. Содержание карбонильных групп у <i>Arabidopsis thaliana</i> в условиях воздействия ионов Cd^{2+}	101
Хлесткина Е.К., Родер М.С., Граусгрубер Г., Борнер А. Верификация видовой принадлежности образцов тетраплоидной пшеницы с помощью микросателлитных маркеров.....	102
Челомина Г.Н., Рожкован К.В., Кафу Н.М. Внутригеномная изменчивость последовательностей 18S рДНК у дальневосточных видов осетровых рыб.....	103
Челомина Г.Н., Татонова Ю.В., Беспрозванных В.В. Генетическое разнообразие китайской печеночной трематоды <i>Clonorchis sinensis</i> Cobbold, 1875 по данным молекулярных маркеров ядерной и митохондриальной ДНК	104
Чистяков В.А., Празднова Е.В., Колмакова Т.С., Дудникова Э.В., Шестопалов А.В., Моргуль Е.В., Оксенюк О.С., Кобзева Н.Н., Приходская Е.С. Пробиотики как антидоты эндогенных генотоксинам.....	105
Шанцер И.А., Супрун Н.А. Копеечники (<i>Hedysarum</i> L.) юга Восточной Европы: структура популяций и филогеография	106
Шестаков С.В. Метагеномика морских экосистем	107
Шитова М.В., Хохлов Ю.Н., Кочнев А.А., Рубцова Г.А., Афанасьев К.И., Никифоров А.И., Прохоровская В.Д., Ракицкая Т.А., Малинина Т.В., Животовский Л.А. Генетическое разнообразие Чукотского экорегиона (на примере лососевых видов рыб и моржей)	108
Шматко В.Ю., Спиридонов С.Э. Анализ нуклеотидных последовательностей в таксономии волосатиков (<i>Nematomorpha</i>)	109
Юрченко А.А., Шитова М.В., Семенченко А.Ю., Золотухин С.Ф., [Сафронов С.Н.] Животовский Л.А. Популяционно-генетическая структура сахалинского тайменя <i>Parahucho perryi</i> Brevoort, 1856 по 19 микросателлитным локусам ДНК и выводы для сохранения популяционных генофондов вида	110

CONTENTS

<i>Aleksandrov O.S., Razumova O.V., Yakovin N.A., Divashuk M.G., Karlov G.I.</i> Comparative molecular cytogenetic characteristic of plants of Cannabaceae L. family	5
<i>Alyoshin V.V., Mikhailov K.V., Nikitin M.A.</i> A development of method and age of discovery in phylogenetics.....	6
<i>Antosiuk O.N., Shikhova S.V., Marvin N.A., Marvin A.M.</i> Morphometric analysis of <i>Drosophila melanogaster</i> wing as a testing system for studying stress at molecular genetic level	7
<i>Balakirev A.E.</i> A problem of genetic polymorphism for identifying high level taxons using DNA barcoding; an example of Indochinese Muridae	8
<i>Baskevich M.I., Potapov S.G., Oparin M.L., Khliap L.A., Malygin V.M., Sapelnikov S.F.</i> Molecular genetic studies of karyologically distinct cryptic species and intraspecific forms of birch mice (Rodentia, Dipodoidea, <i>Sicista</i>) of the Russian Plain and Caucasus.....	9
<i>Bednarskaya I.A., Popov V.N.</i> Molecular genetic relations of some species of fine-leaved fescues	10
<i>Bezzhonova O.V., Patraman I.V., Tanygina E.V., Ganushkina L.A.</i> Molecular genetic approaches in biology of jungle fever carriers of CIS nations	11
<i>Belokon M.M., Dzyubenko N.V., Belokon Yu.S., Bokotey A.A.</i> Molecular genetic methods in studying populations of the black stork (<i>Ciconia nigra</i>)	12
<i>Belokon Yu.S., Belokon M.M., Politov D.V.</i> Genetic diversity of <i>Pinus pumila</i> (Pall.) of Amur region in allozyme loci	13
<i>Belyayev A.Yu., Dymshakova O.S.</i> Deciphering the origin of <i>Glycyrrhiza korshinskyi</i> using molecular genetic markers	14
<i>Besprozvannykh V.V., Ermolenko A.V., Atopkin D.M.</i> Trematoda of Haploridae family in mullets of Primorye: results of partial sequencing of 28S rRNA of species from <i>Skrjabinoecithum</i> Belous, 1954 genus	15
<i>Bilokon S.Yu., Belokon M.M., Belokon Yu.S., Dikiy I.V.</i> Genetic variability of common squirrel, <i>Sciurus vulgaris</i> L., in Western Ukraine	16
<i>Boboshina I.V., Nechayeva Yu.S., Vidiakin A.I., Boronnikova S.V.</i> Selecting primers for ISSR analysis of DNA polymorphism in <i>Pinus sylvestris</i> L.	17
<i>Bogdanov A.S., Stakheev V.V., Zykov A.E., Okulova N.M., Mironova T.A., Kovalskaya Yu.M., Bidashko F.G.</i> Variability of cytochrome oxidase first subunit mitochondrial gene fragment in yellow-throated mice <i>Sylvaenus flavicollis</i> in the east of their habitat.....	18
<i>Breeva O.S., Panchuk I.I.</i> Influence of Cd ²⁺ ions concentration on peroxidase activity in <i>Arabidopsis thaliana</i>	19
<i>Bublik E.N., Andreev I.O., Parnikoza I.Yu., Kunakh V.A.</i> Genetic diversity of <i>Iris pumila</i> L. in Ukraine based on ISSR analysis	20
<i>Bulatova N.Sh., Lavrenchenko L.A., Potapov S.G., Pavlova S.V., Romanenko S.A., Serdiukova N.A., Golenishchev F.N., Malygin V.M.</i> Molecular and karyotaxonomic parallels in structure of superspecific complex of <i>Microtus arvalis</i> s. l. (Rodentia: Cricetidae)	21
<i>Vaishlia O.B., Agafonova N.N., Komleva E.V.</i> A study of Homobasidiomycetidae diversity in south taiga of Western Siberia using molecular genetic techniques	22
<i>Vasiliev V.P., Vasilieva E.D., Lebedeva E.B.</i> Cryptic species and evolution of clonal bisexual systems of spined loach (<i>Cobitis</i> , Cobitidae, Pisces) according to molecular genetic and karyological data	23
<i>Vasilieva E.D., Medvedev D.A., Vasiliev V.P.</i> Problems of taxonomy of gobies (Gobiidae, Pisces) of the Black and Caspian Seas: results of molecular genetic studies.....	24

Vasiliev A.G., Vasilieva I.A., Voyta L.L., Litvinov Yu.N. Morphological mapping of molecular phylogenies: an estimation of phylogenetic signal of feature systems by methods of geometrical morphometrics	25
Vetchinnikova L.V., Titov A.F., Topchieva L.V., Malysheva I.E. Microsatellite analysis of Karelian birch populations in the territory of the Republic of Karelia and Finland	26
Vilnet A.A., Konstantinova N.A. Molecular genetic polymorphism in cormophyte hepatics of <i>Liochlaena</i> Nees genus.....	27
Vologin S.G., Bylinkina N.D. Identification and molecular genetic analysis of potato Y-virus isolates circulating in some parts of Russia	28
Getseu V.V., Volkov R.A. Structure of 5S rDNA in some species of Lepidopterae of Lycaenidae family	29
Gogua M.L., Nebesikhina N.A. Results of variability in mitochondrial DNA control area of <i>Salmo trutta</i> in rivers of Abkhazia	30
Goncharov N.P., Kondratenko E.Ya., Blinov A.G. Taxonomy and molecular phylogeny of wheat.....	31
Gordon N.Yu., Bochkarev N.A., Polotov D.V. Differentiation of sympatric species of <i>P. coregonus</i> in the Far East of Russia using mitochondrial DNA	32
Grigorieva O.O. Molecular genetic characteristics of East European 'chromosomal races' of <i>Sorex araneus</i> according to <i>cyt b</i> gene	33
Guliaev A.S., Lopatkin A.A., Vasiliev V.A., Khrisanfova G.G., Semenova S.K. Cryptic species and phylogeography of liver flukes of <i>Fasciola</i> genus (Trematoda)	34
Dekhta V.A., Makhotkin M.A., Sergeeva S.G. Genetic adaptation of hydrobiont populations to salinity gradient	35
Doroshenko N.P. Conservation of grapes gene pool using biotechnology.....	36
Dupliy V.P., Matveeva N.A. A possibility of using sequences of some nuclear and chloroplast genes to identify species of bryophytes (an example of Antarctic plants)	37
Ermakov O.A., Surin V.L., Titov S.V., Formozov N.A. Differentiation of red-cheeked ground squirrels using mitochondrial DNA markers	38
Efeikin B.D., Mikhailov K.V., Alyoshin V.V., Spiridonov S.E., Panchin Yu.V. Full-genome sequencing of the horsehair worm <i>Gordionus alpestris</i> : initial stage	39
Zviagina E.A., Aleksandrova A.V., Bulionkova T.M. <i>Omphalina discorosea</i> : taxonomic position of the species	40
Zemlemerova E.D., Bannikova A.A., Zykov A.E., Lebedev V.S. Comparative phylogeography of moles of <i>Talpa</i> genus	41
Ivanenko V.N. On studies of molecular diversity of marine invertebrates by the example of reef forming corals' symbionts Copepoda	42
Inge-Vechtomov S.G. Genetic toxicology and ecological genetics	43
Karmakov M.Kh., Polukonova N.V., Voronin M.Yu. Karyotype structure and inversion polymorphism in <i>Chironomus bernensis</i> Klotzli, 1973 (Diptera: Chironomidae) of Central Caucasus and Ciscaucasia	44
Kashtanov S.N., Meshcherskiy I.G., Svishcheva G.R., Lazebny O.E., Pishchulina S.L., Simakin L.V., Rozhnov V.V. Genetic diversity and systematics of sable natural populations	45
Knushevitskaya M.V., Anikin V.V., Demin A.G. Molecular taxonomy of Palearctic case-bearer moth (Lepidoptera, Coleophoridae) based on nucleotide sequence of cytochrome c-oxidase subunit 1 (COI) gene.....	46
Koksharova T.A. Population diversity of <i>Triticum aestivum</i> L. biotype in <i>Vrn</i> and <i>Ppd</i> gene systems.....	47
Koniaev S.V. Molecular genetic studies of cestodes of Taenidae family	48
Koroleva N.I., Zagoskin M.V., Soloviev A.A. Genetic characteristics of the the first in-bred generation of 'Charodey' ('Wizard') potato cultivar	49

Korshikov I.I., Kalafat L.A., Milchevskaya Ya.G. Genetic variability of seed and tree embryos in population of <i>Pinus stankewiczii</i> (Sukacz.) Fomin in Crimea	50
Krivopalov A.V., Tikunova N.V., Fomenko N.V. Developing approach to studying genetic characteristics of cestodes in rodents.....	51
Kuznetsova O.I., Fedosov V.E. Molecular methods in determining hybridization of mosses in nature...	52
Lavrenchenko L.A., Nadzhafova R.S., Bulatova N.Sh. Successes in diagnostics of Ethiopian rodent taxons from comparative karyology perspective.....	53
Lazebnaya I.V., Patsko E.V., Kravtsova T.R., Koksharova O.A. Phylogenetic analysis of new symbiotic cyanobacteria.....	54
Leontiev D.V., Shnittler M. Genotypical diversity of slime mold <i>Tubifera ferruginosa</i> complex as a basis for its taxonomical reconsideration	55
Maltsev A.N., Kotenkova E.V. Phylogenetic analysis the house mouse <i>Mus musculus</i> in Russia and neighboring territories based on data on polymorphism in mtDNA control region.....	56
Markin N.V., Gavrilova V.A., Usatov A.V., Tikhobaeva V.E. RAPD and SSR markers of genomic DNA in annual sunflowers	57
Matishov D.G., Andronov E.E., Vodolazhskiy D.I., Glushchenko G.Yu., Stakheev V.V. Taxonomic analysis and spatial structure of the Azov Sea microbiome using high-sequencing 16s rRNA gene libraries.....	58
Matishov D.G., Tarasov V.A. Novelties in understanding induced genome variability	59
Mikheeva L.E., Karbysheva E.A., Mardanov A.V., Ravin N.V. Analysis of a new D plasmid in different isolate strains of filamentous nitrogen-fixing bacteria <i>Anabaena</i>	60
Moloda O.A., Davidyuk Yu.N. Structure of SS rRNA <i>Solanum betaceum</i> Cav. intergenetic gene spacer	61
Mosula M.Z., Konvalyuk I.I., Melnik V.N., Drobyk N.M., Kunakh V.A. ISSR analysis of some populations of <i>Gentiana lutea</i> L. in Ukrainian Carpathians.....	62
Mudrik E.A., Kashentseva T.A., Gamburg E.A., Politov D.V. Genetic variability of common crane <i>Grus grus grus</i> (L.) and <i>G. g. lilfordi</i> (Sharpe) according to microsatellite loci	63
Mustafina A.N. Analysis of genetic diversity of endangered species <i>Dictamnus gymnostylis</i> Stev. in the republic of Bashkortostan	64
Nabozhenko M.V., Keskin B., Keskin N.A. Molecular genetic studies of darkling beetles of <i>Odocnemis</i> genus (Coleoptera: Tenebrionidae).....	65
Nebesikhina N.A., Gogua M.L., Timoshkina N.N. Estimation of microsatellite variability of <i>Salmo trutta</i>	66
Nemish V.V., Volkov R.A. Organization of 5' external transcribed spacer of rDNA <i>Solanum vespertilio</i> Ait.	67
Nikolaeva A.V., Kalafat L.A., Korshikov I.I. Population and genetical diversity of two species of <i>Juniperus</i> L. species.....	68
Oleynikov E.P., Vodolazhskiy D.I., Kondakov A.A. On polymorphism of the caspian seal (<i>Pusa caspica</i>).....	69
Orlov V.N. Assortative mating as defence of genetic complexes of phylogroups in common shrews, <i>Sorex araneus sensu lato</i> (Mammalia)	70
Oyun N.Yu., Kagramanova A.S., Mukha D.V. A study of patterns in 5' shortened copies of R2 retrotransposons in German cockroaches living in remote populations.....	71
Pavlova S.V. Molecular cytogenetic approach to studying the diversity of chromosome races of the common shrew <i>Sorex araneus</i> L.	72
Parnikoza I.Yu., Andreev I.O., Kozeretskaya I.A., Kunakh V.A. What genetic heterogeneity of <i>Deschampsia antarctica</i> Desv. means.....	73
Pastukhova A.M. Estimating variability of characteristics of (bi-)annual half-sibs of the Siberian pine	74

Pesik V.Yu., Chukhriaeva M.I., Fediunin A.A., Orekhov V.A., Balanovskiy O.P. Genetic diversity of seven Russian populations using a panel of autosomal STR-markers for DNA identification	75
Petrova T.V., Abramson N.I. Intraspecific genetic variability of the narrow-headed vole (<i>Lasiopodomys (Stenocranius) gregalis</i>) according to mitochondrial and nuclear genes analysis	76
Petrutina A.S., Neretina T.V., Myuge N.S., Kolbasov G.A. Tantulocarida and Thecostraca: inside or outside? First results of molecular analysis of phylogenetic position of crustacean Tantulocarida class.....	77
Politov D.V. Integration and differentiation of species' gene pools in adaptation and evolution.....	78
Polukonova N.V., Demin A.G., Myuge N.S. Variability range of COI barcode gene as a taxonomic criterion of genus, tribe and subfamily in Chironominae and Orthocladiinae (Chironomidae, Diptera).....	79
Polyakova T.A., Belokon M.M., Belokon Yu.S., Ignatenko E.V., Ignatenko S.Yu., Politov D.V. Genetic variability of mountain pines, <i>Rinus pumila</i> (Rall.) Regel, in the Amur region on the microsatellite loci.....	80
Pomazenko O.A., Tabachishin V.G. Genetic characteristic of of lower Volga populations of <i>Vipera renardi</i> (Reptilia: Viperidae)	81
Rakitin S.B., Mukhacheva S.V., Davydova Yu.A., Olenov G.V. Variability of microsatellite DNA in bank voles (<i>Clethrionomys glareolus</i>) in an environment polluted by copper industry.....	82
Rebriev Yu.A., Dvadenko K.V. Preliminary data on the diversity of <i>Vascellum</i> genus in Eurasia and North America.....	83
Redchuk P.S., Mudrik E.A., Politov D.V. Variability of microsatellite loci in common crane in Ukraine.....	84
Romanova E.V., Kravtsova L.S., Izhboldina L.A., Khanaev IV., Shcherbakov D.Yu. Using microsatellite marker of 18S rRNA gene for identification of filamentous green algae in an area of local anthropogenic eutrophication in the Baikal lake	85
Rusnak T.A., Panchuk I.I. Peroxidase activity in KO-CAT3 mutants among <i>Arabidopsis thaliana</i> L. under heat stress.....	86
Riabova G.D. Genetic variability in natural populations of Volga sturgeons by the example of allozymes	87
Salmenkova E.A. Molecular genetic studies of taxonomic status of <i>Salvelinus</i>	88
Snegin E.A. Genetic differentiation of metapopulations of land molluscs in forest steppe habitat.....	89
Spiridonov S.E. Circumstances and prospects of using molecular taxonomic methods in systematics of entomopathogenic nematodes.....	90
Statnaya A.P., Cherevatov O.V. Structural variants of 5S rDNA sequences in genomes of some Lepidopterae	91
Stakh V.O., Belokon M.M., Khamar I.S., Belokon Yu.S. Species and genetic polymorphism of green frogs (<i>Pelophylax</i>) of Shatsky National Natural Park and water bodies of Lviv regions	92
Stakheev V.V., Bogdanov A.S., Vodolazhskiy D.I. Phylogenetic structure of the genus <i>Sylvaemus</i> according variability of the control region mtDNA.....	93
Stradomskiy B.V., Vodolazhskiy D.I. Significance of molecular genetic studies for phylogeny of Lycaenidae: Lepidopterae	94
Sulimova G.E., Stolpovskiy Yu.A., Stolpovskiy K.Yu., Ruzina M.N., Kol N.V., Voronkova V.N., Evsiukov A. Prospects and problems of using intermicrosatellite DNA markers (ISSR markers) in systematics and genetic diversity estimation of domesticated animals	95
Sychev A.A., Snegin E.A. Applicationj of molecular genetic markers in systematics of <i>Helicopsis</i> spp. (Gastropoda; Pulmonata; Hygromiidae).....	96

Tareev A.S., Skrebovskaya S.V., Martyniuk V.A., Makitrenko A.M., Tokhtamysh A.A., Liakh A.A., Karbovskaya V.N., Didenko V.I., Berezovskaya M.A., Tyshchenko O.V., Karpenko N.I., Kostikov I.Yu. Identification of critical for systematics and rare taxons of Ukrainian plants and fungi using molecular genetic methods.....	97
Teterina A.A., Zhivotovskiy L.A., Stroganov A.N. Populational and genetic processes in cods <i>Gadus morhua kildenensis</i> of Mogilnoye relict lake.....	98
Titov S.V., Bakaeva S.S., Kuzmin A.A., Shmyrov A.A. Current state and genetic polymorphism of the speckled ground squirrel populations in the eastern part of the area: the history of extinction and colonization secondary.....	99
Tynkevich Yu.O., Vivcharyk M.M. Prospects of using MGS 5S rDNA as a molecular marker for taxonomic studies of Rosaceae family	100
Fyldoriuk O.G., Doliba I.N. Presence of carbonile groups in <i>Arabidopsis thaliana</i> affected by Cd ²⁺ ions	101
Khlestkina E.K., Roder M.S., Grausgruber G., Borner A. Verification of species for tetraploid wheat using microsatellite markers.....	102
Chelomina G.N., Rozhkovan K.V., Cafu N.M. Intragenomic variability of 18S rDNA sequences of the Far Eastern species of sturgeon.....	103
Chelomina G.N., Tatonova Yu.V., Besprozvannykh V.V. Genetic diversity of chinese liver flukes <i>Clonorchis sinensis</i> Cobbold, 1875 using molecular markers of nuclear and mitochondrial DNA	104
Chistyakov V.A., Prazdnova E.V., Kolmakova T.S., Dudnikova E.V., Shestopalov A.V., Morgul E.V., Okseniuk O.S., Kobzeva N.N., Prikhodskaya E.S. Probiotics as antidotes of endogenous genotoxins.....	105
Shantser I.A., Suprun N.A. Sweetvetch (<i>Hedysarum</i> L.) of the South of Eastern Europe: population structure and phylogeography.....	106
Shestakov S.V. Metagenomics of marine ecosystems.....	107
Shitova M.V., Khokhlov Yu.N., Kochnev A.A., Rubtsova G.A., Afanasiev K.I., Nikiforov A.I., Prokhorovskaya V.D., Rakitskaya T.A., Malinina T.V., Zhivotovskiy L.A. Genetic diversity of Chukotka ecoregion (by the example of salmon and walruses).....	108
Shmatko V.Yu., Spiridonov S.E. Analysis of nucleotide sequences in horsehair worms (Nematomorpha)	109
Yurchenko A.A., Shitova M.V., Semenchenko A.Yu., Zolotukhin S.F., <u>Safronov S.N.</u> , Zhivotovskiy L.A. Populational genetic structure of Sakhalin taimen <i>Parahucho perryi</i> Brevoort, 1856 according to 19 microsatellite DNA loci and conclusions for conservation of population gene pools of the species	110

Научное издание

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ТАКСОНОМИИ И ЭКОЛОГИИ

Тезисы докладов научной конференции

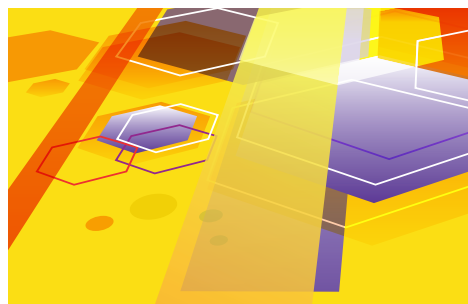
25–29 марта 2013 г.
Ростов-на-Дону
Россия

Оригинал-макет *А.В. Стахеева*
Дизайн обложки *Я.Ю. Яковлева*

Издательство Южного научного центра РАН
344006, Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41
Тел. (863) 250-98-21
www.ssc-ras.ru
ssc-ras@ssc-ras.ru

Сдано в набор 25.02.13. Подписано в печать 18.03.13
Формат 70×100 1/16. Бумага офсетная. Гарнитура Arno Pro
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,24. Тираж 200 экз.

Отпечатано в типографии ЮФУ
344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1. Тел. (863) 247-80-51



Ассортимент продукции ДИАЭМ – самый широкий на российском рынке – более 100 000 наименований:

Общелабораторное оборудование: центрифуги, морозильники, холодильники, термостаты, гомогенизаторы, мешалки, весы, дозаторы, вытяжные, ламинарные шкафы, микроскопы, системы очистки воды, насосы и пр.

Аналитическое оборудование: спектрофотометры, анализаторы влажности, рефрактометры, плотномеры, автоматические титраторы, хроматографы, кондуктометры, pH-метры и пр.

Биотехнологическое оборудование: биореакторы, шейкеры-инкубаторы, термостаты и пр.

Оборудование для работы с ДНК, РНК: ДНК-амплификаторы, секвенаторы, электрофорез, электропораторы, генные пушки, станции дозирования и выделения ДНК и пр.

Клеточная инженерия: микроманипуляторы, микродиссекторы, микроинъекторы и пр.

Оборудование для ИФА: анализаторы, промыватели, шейкеры для планшет

Криозамораживание: криозамораживатели программируемые, криохранилища, сосуды Дюара и пр.

Органический синтез: роторные испарители, реакторы химические и пр.

Испытательное оборудование: печи, климатические, испытательные камеры и пр.

Пластик: пробирки, контейнеры, пипетки, планшеты, чашки Петри, наконечники для пипеток, штативы, пластик для ИФА, ПЦР и пр.

Стекло: пробирки, колбы, пипетки и пр.

Принадлежности: для микроскопии, микробиологии, инструменты из нержавеющей стали, промывалки, штативы, термосумки и пр.

Реактивы: красители, индикаторы, стандарт-титры, среды, соли, ферменты и пр.

Компания **Диаэм** с 1988 года поставляет оборудование, расходные материалы и реактивы российских и зарубежных производителей для нужд химических, биологических, медицинских, пищевых лабораторий, фармацевтических и биотехнологических предприятий.



Компания **Диаэм** – дилер ведущих мировых производителей лабораторной продукции: Eppendorf, Sanyo (Panasonic), Thermo, IKA, Infors, Biospringer, Binder, Bio-Rad, Applera, Milele, Sigma-Aldrich-Fluka, Corning, Heidolph, Mettler Toledo, Olympus, Nikon и др.



Диаэм Москва: 127299, Москва, ул. Космонавта Волкова, д. 10, стр. 1
Почтовый адрес: 127299, Москва, а/я 100
тел./факс: (495)745-05-08
e-mail: info@dia-m.ru

Диаэм Новосибирск: Академгородок, пр. Ак. Лаврентьева, д. 6/1,
тел./факс: (383)328-00-48
e-mail: nsk@dia-m.ru

Диаэм Казань: Оренбургский тракт, д. 20, оф. 217
тел./факс: (843)277-60-40 e-mail: kazan@dia-m.ru

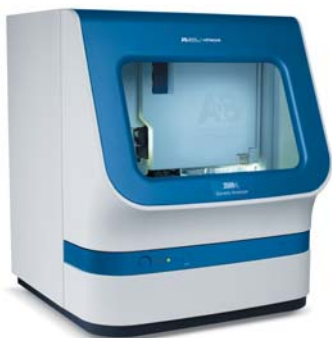


Х И М Э К С П Е Р Т

Компания «Агентство Химэксперт» – официальный дилер Life Technologies и AB Sciex на территории России, основной поставщик реактивов и расходных материалов производства Applied Biosystems®, Invitrogen™, Ion Torrent™, Ambion®, Gibco®, Molecular Probes®.

Мы предлагаем:

- оборудование и реагенты для секвенирования ДНК;
- оборудование и реагенты для ПЦР в реальном времени;
- системы секвенирования нового поколения;
- tandemные масс-спектрометрические системы.



Данное оборудование используют для анализа ДНК и РНК, фундаментальных протеомных исследований, в онкологии, фармацевтике и биотехнологии, прикладном тестировании, включая идентификацию личности и установление родства в криминалистике и судебно-медицинской экспертизе, тестирование пищевых продуктов и другое.

ООО «Агентство Химэксперт»

www.khimexpert.ru, info@khimexpert.ru

Биологический отдел: 125009, г. Москва, ул. Страстной бульвар, д. 4, стр. 1,
+7(495) 629-28-69, 650-36-66

Масс-спектрометрия: 127006, г. Москва, ул. Краснопролетарская, д. 7,
+7(499) 973-92-80, 972-11-23, 972-06-90

illumina®

Системы полногеномного анализа

MiSeq

Персональный
настольный
полногеномный
секвенатор



Эталон точности
и производитель-
ности

Сиквенс
в 1 касание



HiSeq 2000 / 2500

Самая высоко-
производительная
NGS-платформа
в мире

Лидер цитируемости
в NGS

Геном человека
за 1 день

iScan

Сканер для анализа
биочипов
высокой плотности



Анализ
до 5 000 000 SNP
за один запуск



Биочип HumanCytoSNP-12

300 000 мутаций

12 пациентов
одновременно

Скрининг
на все известные
наследственные
цитогенетические
заболевания

Компания «РУСБИОЛИНК» предлагает свои услуги научно-исследовательским лабораториям, специализирующимся в области биохимии, молекулярной и клеточной биологии и научно-производственным биотехнологическим фирмам



МЫ ПРЕДЛАГАЕМ:

Реагенты для общелабораторного использования:

- Под заказ – продукция по каталогам Applichem, Santa Cruz и других фирм.
- Постоянно расширяющийся ассортимент качественных реагентов, доступных со склада в России.

Реагенты для молекулярной биологии:

- Под заказ – продукция Zymo Research, Takara/Clontech, Lucigen, Roche, New England Biolabs и др.
- Со склада – реагенты производства Медиген (ферменты, маркеры молекулярного веса, dNTP, протеиназа K), TRI-реагент (MRC), наборы для выделения ДНК и РНК (Zymo Research), никелевая агароза (Biontex).

Антитела и реагенты для иммунологии:

- Под заказ – продукция Santa Cruz Biotechnology, LSBio (LifeSpan), BioLegend, R&D Systems, Biovendor, Vector Labs, Jackson Immunoresearch, Novus Biological и многих других производителей.
- На складе в Москве – конъюгаты вторичных антител, среды для ИГХ и другие полезные реагенты.

Реагенты и пластик для клеточной биологии:

- Наиболее популярные среды, сыворотки и реагенты (HyClone и др.), реагенты для трансфекции (Biontex, Mirus Bio) со склада.
- Культуральный пластик от Corning Costar, Nest Biotechnology.

Цитокины от Peprotech, R&D Systems.

Ферменты от Biozyme, Worthington, Calzyme и др.

Субстраты и ингибиторы от Merck (Calbiochem), Tocris, Enzo Life Sciences (Biomol) и др.

Липиды от Avanti Polar Lipids.

Для исследований signal transduction – продукция компаний Cell Signalling и др.

Реагенты и расходные материалы для электронной микроскопии от Electron Microscopy Sciences.

Реактивы для пептидного синтеза от Iris Biotech, Merck и Bachem.

Синтетические пептиды от Anaspec и Merck

Расходные материалы и лабораторное оборудование:

- Недорогое, современное и качественное оборудование из КНР: амплификаторы ДНК, оборудование для фореаза, термостаты, мешалки, pH-метры, микроскопы и фотокамеры для них, общелабораторное оборудование.
- Расходные материалы для фильтрации и диализа.

Русбиолинк

115201, г. Москва, Каширское ш., д. 22,
корп. 3 стр. 2,
тел. (499) 502-04-70, факс (495) 727-44-35
mail@rusbiolink.com
www.rusbiolink.com

Настольная микрочиповая система
Affymetrix GeneAtlas для анализа
экспрессии генов и микроРНК



Готовые и пользовательские чипы для человека, животных,
растений и любых других организмов



Официальный поставщик в России **ООО «Компания Хеликон»**



119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40
МГУ им. М.В. Ломоносова
Телефон: +7 (495) 777-111-4, 933-27-36, факс: +7 (495) 930-00-84
mail@helicon.ru, www.helicon.ru

Представительство в Южном регионе: г. Ростов-на-Дону, +7 (863) 294-87-66, rostov@helicon.ru

Представительство в Сибирском регионе: г. Новосибирск, ул. Демакова, д. 23, оф. 201,
+7 (383) 214-71-82, 214-60-82, novosibirsk@helicon.ru

Представительство в Северо-Западном регионе: г. Санкт-Петербург, ул. Гжатская, д. 27А,
оф. 245, +7 (812) 248-91-30, +7 (921) 962-14-76, spb@helicon.ru

Представительство в Приволжском регионе: г. Казань, ул. Петербургская, д. 50, кор. 4,
оф. 17, +7 (843) 239-04-95, volga@helicon.ru

ДЛЯ ЗАМЕТОК