

СОДЕРЖАНИЕ

Том 58, номер 6, 2022

Обзорные и теоретические статьи

Естественная и экспериментальная инверсия пола у птиц и других групп позвоночных животных, кроме млекопитающих

А. Ф. Смирнов, Д. Ю. Леоке, А. В. Трухина 613

Прионы как неканонические наследственные факторы

О. Н. Тиходеев 628

Фитопатогены и молекулярная мимикрия

И. Е. Додуева, М. А. Лебедева, Л. А. Лутова 642

Генетика растений

Первые данные о генетической структуре видов рода *Alyssum* L. секции *Odontarrhena* на Урале, способных к накоплению никеля

Д. Р. Юнусова, А. Ю. Тетина, В. Л. Семерилов, М. А. Полежаева 661

Генетико-биохимические исследования и морфобиологическая оценка редиса (*Raphanus sativus* L.) в условиях интенсивной светокультуры

Н. Г. Синявина, А. А. Кочетов, К. В. Егорова, Н. В. Кочерина, Ю. В. Чесноков 668

Генетика животных

Географическая изменчивость инверсионного полиморфизма малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae) в Томской области

*А. К. Сибатаев, И. Э. Вассерлауф, К. Е. Усов,
С. С. Алексеева, Г. М. Абылкасымова, В. Н. Стегний* 678

Генетическая идентификация и анализ родственных отношений содержащихся в неволе соколов

*М. М. Белоконь, Ю. С. Белоконь, А. В. Нечаева,
Н. А. Сильвестров, Е. И. Сарычев, И. Р. Бёме* 685

Молекулярное датирование филогении осетровых (Acipenseridae) на основе анализа совокупных данных

С. В. Шедько 700

Математические модели и методы

Описание дивергенции субпопуляций в иерархической системе при анализе изонимии. I. Дисперсия как показатель дивергенции

В. П. Пасеков 713

Краткие сообщения

Гены *SEP* картофеля: идентификация и анализ экспрессии

Е. А. Рутковская, М. С. Ганчева, М. А. Лебедева, Л. А. Лутова 728

Contents

Vol. 58, No. 6, 2022

Reviews and Theoretical Articles

Natural and Experimental Sex Reversal in Birds and Other Groups of Vertebrates, Except Mammals

A. F. Smirnov, D. Yu. Leoke, and A. V. Trukhina 613

Prions as Non-Canonical Hereditary Factors

O. N. Tikhodeyev 628

Phytopathogens and Molecular Mimicry

I. E. Dodueva, M. A. Lebedeva, and L. A. Lutova 642

Plant Genetics

Genetic Structure of the Ni-Accumulating *Alyssum* L. Species (Odontarrhena) in the Urals

D. R. Iunusova, A. Yu. Teptina, V. L. Semerikov, and M. A. Polezhaeva 661

Genetic-Biochemical Studies and Morphobiological Assessment of Redish (*Raphanus sativus* L.) under Artificial Light Culture Condition

*N. G. Sinyavina, A. A. Kochetov, K. V. Egorova,
N. V. Kocherina, and Yu. V. Chesnokov* 668

Animal Genetics

Geographic Variability of Inversion Polymorphism of the Malaria Mosquito *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae) in the Tomsk Region

*A. K. Sibataev, I. E. Wasserlauf, K. E. Usov, S. S. Alekseeva,
G. M. Abylkassymova, and V. N. Stegny* 678

Genetic Identification and Relationship Analysis of Captive Breeding Falcons

*M. M. Belokon, Yu. S. Belokon, A. V. Nechaeva,
N. A. Sylvestrov, E. I. Sarychev, and I. R. Beme* 685

Molecular Dating of Sturgeons (Acipenseridae) Phylogeny Based on Total Evidence Analysis

S. V. Shedko 700

Mathematical Models and Methods

Description of Divergence of Subpopulations in the Hierarchical System under the Analysis of Isonymy. I. Variance as an Indicator of Divergence

V. P. Passekov 713

Short Communications

Identification and Expression Analysis of *CEP* Genes in Potato

E. A. Rutkovskaya, M. S. Gancheva, M. A. Lebedeva, and L. A. Lutova 728

ЕСТЕСТВЕННАЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИНВЕРСИЯ ПОЛА У ПТИЦ И ДРУГИХ ГРУПП ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ, КРОМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2022 г. А. Ф. Смирнов¹, Д. Ю. Леоке², А. В. Трухина¹, *

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

²Биологическая станция “Рыбачий” Зоологического института Российской академии наук,
Калининградская область, пос. Рыбачий, 238535 Россия

*e-mail: trukhina_ant@mail.ru

Поступила в редакцию 17.08.2021 г.

После доработки 26.12.2021 г.

Принята к публикации 12.01.2022 г.

Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме – детерминации пола. По этой проблеме опубликовано множество научных статей, но до сих пор не раскрыты все подробности его механизмов, поскольку они очень разнообразны. В статье обобщен новый материал, полученный при изучении случаев естественной и экспериментальной инверсии пола у позвоночных животных. Рассмотрены представители холоднокровных позвоночных (рыбы, амфибии, рептилии) и теплокровных (птицы). Инверсия пола, которая встречается как в естественных (природных) условиях, так и в условиях эксперимента, может быть следствием генетических нарушений, которые проявляются на ранних стадиях развития эмбриона, и нормальных изменений, происходящих у половозрелых животных под контролем нейроэндокринной системы организма. Предполагается, что инверсия пола и детерминация пола могут быть взаимосвязанными явлениями. Особое внимание в статье уделено инверсии и детерминации пола у птиц, подробно рассмотрены работы по экспериментальной инверсии пола у этих животных. Для этого обобщены данные научных работ о связи между фенотипическим проявлением пола на клеточном, тканевом и органном уровнях, его хромосомным и гормональным определением, а также генетическим и эпигенетическим контролем. В конце статьи предложены перспективные направления в изучении естественной и экспериментальной инверсии пола у позвоночных.

Ключевые слова: детерминация пола, инверсия пола, генетический контроль, эпигенетический контроль, гормональное определение пола, позвоночные.

DOI: 10.31857/S001667582206011X

Пол – это совокупность морфологических, физиологических и нейроэндокринных особенностей организма, обеспечивающих половое размножение, сущность которого сводится к образованию половых клеток (*гамет*), их слиянию при оплодотворении, образованию зиготы и формированию новой особи. С половым размножением связано множество нерешенных проблем. До сих пор обсуждаются его преимущества и недостатки по сравнению с бесполом вариантом размножения, а также их эволюционная связь. Огромное разнообразие вариантов полового размножения и соответствующих им версий определения пола привлекает особое внимание [1].

Различают два типа полового размножения: *облигатный* (у большинства растений и животных) и *факультативный* (у грибов). Говорят о *соматическом поле*, когда речь идет о совокупности клеток многоклеточного организма, исключая

половые клетки, и *гаметном поле*, подразумевая превращение недифференцированных первичных половых клеток (ППК) в зрелые сперматозоиды и яйцеклетки. Развитие характерных особенностей пола в онтогенезе включает два последовательных этапа: *первичное определение пола* и дальнейшее появление и *развитие вторичных половых признаков*. Первичное определение пола начинается с момента его детерминации и заканчивается формированием яичников у самок и семенников у самцов – репродуктивных органов соматической природы. Считают, что принципиальная схема этого процесса консервативна [2, 3]. Следует отметить, что на этапе первичного определения пола при определенных нарушениях развития может произойти инверсия пола. При этом возникает несоответствие между генетическим и фенотипическим полом. Другой тип инверсии пола может происходить у половозрелой особи

при определенных условиях. И в первом и во втором случаях речь идет о смене пола на противоположный.

Выделяют два основных механизма детерминации пола: *генетический*, который определяется посредством полоопределяющих мастер-генов, и *экологический* (или *средовой*), который зависит от условий окружающей среды (температура, pH, социальные особенности популяции и др.). Млекопитающие и птицы обладают исключительно генетическим механизмом детерминации пола (GSD), у рептилий наряду с GSD существует *средовой* механизм детерминации пола (ESD). Для амфибий характерна GSD-система с несформированными половыми хромосомами. Рыбы обладают разнообразными механизмами определения пола, включая ESD и GSD [1, 4, 5]. Генетическое определение пола может происходить до зачатия (при мейозе у организмов с женской гетерогаметностью) или в момент слияния половых клеток, а экологическое определение пола зависит от условий окружающей среды [4–8]. Определение пола под влиянием факторов внешней среды (ESD) в основном известно у рептилий, изопод, нематод и эхиурид (морских многощетинковых червей). При этом *средовая* детерминанта в определении пола у этих групп животных различна: у рептилий пол определяется температурой, у нематод – размером хозяина, у других животных – внутривидовыми взаимодействиями. Существуют две точки зрения относительно происхождения ESD. Согласно первой точке зрения ESD является примитивной, и поэтому может рассматриваться как первый механизм определения пола, позже замещенный на генетический механизм. Согласно второй точке зрения ESD возникла как адаптация к условиям окружающей среды [9]. Филогенетические исследования показали частые эволюционные переходы между генетической и температурно-зависимой детерминациями пола у животных, чувствительных к условиям окружающей среды. Эти переходы включают генетические системы, чувствительные к температуре, которые участвуют в детерминации пола посредством взаимодействия генов и условий окружающей среды [10]. У чешуйчатых (ящерицы и змеи) и у рыб переходы от экологической детерминации пола к генетической происходят чаще, чем наоборот. Это позволяет предположить, что генетическое определение пола более стабильно [11]. В разных условиях окружающей среды оказывается предпочтительной либо ESD, либо GSD. В сильно варьирующих условиях окружающей среды предпочтительнее ESD, в непредсказуемых условиях или в условиях с низкой вариабельностью – GSD. Однолокусная GSD является более стабильной, чем ESD. В течение всего периода нестабильности условий окружающей среды она приводит к сильному смещению в соотношении полов, в то

время как ESD сдвигает это соотношение ненаправленного [12].

Выделяют две основные системы *хромосомного определения пола*: с мужской (XX/XY) или с женской (ZZ/ZW) гетерогаметностью, а также их многочисленные варианты [4]. У амфибий обнаружены обе системы хромосомного определения пола [13–16], при этом у разных видов половые хромосомы обладают разной степенью гомоморфности и гетероморфности. Они могут быть гомоморфными у обоих полов и иметь незначительные изменения, а могут быть гетероморфными и иметь значительные различия у представителей разных популяций одного вида [17]. Гетероморфные или гомоморфные половые хромосомы имеют тесную корреляцию с консерватизмом полоопределяющих генов. Если хромосомы гетероморфные у одного из полов, полоопределяющие гены эволюционно консервативны. Если половые хромосомы гомоморфные у обоих полов, как у 96% видов амфибий, полоопределяющие гены в половых хромосомах легко и быстро замещаются на другие гены в других хромосомах. Это явление называют “замещением полоопределяющих генов и половых хромосом” (“turnover of sex-determining genes and sex chromosomes”) и наблюдается у большинства пойкилотермных позвоночных [15, 18]. Как у рыб, так и у земноводных обнаружено, что переходы от гомоморфных половых хромосом к гетероморфным происходили чаще, чем наоборот. Кроме того, обнаружено, что переходы от мужской гетерогаметности к женской происходили с одинаковой скоростью у земноводных и чешуйчатых, тогда как переход от женской гетерогаметности к мужской у рыб происходил с большей скоростью [11].

В настоящее время существуют две точки зрения относительно эволюции систем генетического определения пола. Считают, что предковой формой генетического определения пола является система, основанная на мужской гетерогаметности, из которой впоследствии сформировалась система с женской гетерогаметностью. Однако эта гипотеза противоречит эволюционной теории гетерогаметной детерминации пола у амфибий, в соответствии с которой первичной является женская гетерогаметность [13–15]. Также есть предположение, что обе системы существовали одновременно и были равнозначными и взаимозаменяемыми. Так, например, у японской лягушки *Rana rugosa* встречаются обе системы хромосомного определения пола (XX/XY и ZZ/ZW) в пределах одного вида, но в определенных локальных популяциях [13].

Формирование гонад (*гонадогенез*) и их функционирование зависят от половых гормонов (эстрогенов и андрогенов). Особенно это характерно для холоднокровных позвоночных животных. У

рыб, некоторых амфибий и рептилий известны случаи естественной смены пола (*инверсии пола*) в онтогенезе одной и той же особи, при сохранении набора половых хромосом и без нарушений функции гонад. Эти эффекты в основном опосредованы эстрогенами, андрогенами и соответствующими им ядерными рецепторами (ESR и AR). У теплокровных позвоночных (птиц и млекопитающих) естественная инверсия пола в норме не встречается, все ее проявления являются патологией и элиминируются естественным отбором. Экспериментальным путем удалось получить инверсию пола у домашней курицы. Инверсию пола можно наблюдать у человека при нарушениях полового развития, которые представляют собой многообразную группу нарушений, возникающих на разных этапах дифференцировки пола и формирования половых органов. Выделяют центральные и периферические нарушения, первые из которых связаны с повреждением мозговых структур (гипоталамо-гипофизарной системы), а вторые — с патологиями половых органов. Отдельно выделяют группу патологий с нарушением половой дифференцировки, когда закладка пола нарушается внутриутробно. Нарушения формирования пола (НФП) у человека — это врожденная патология развития, при которой наблюдается несоответствие генетического, гонадного, фенотипического и психологического пола. Значительная часть нарушений формирования пола и полового развития обусловлены именно генетическими факторами [19].

Известно, что молекулы половых гормонов через соответствующие рецепторы запускают экспрессию многих генов. Ключевые полоопределяющие гены, каскады взаимодействий их продуктов с другими генами или их производными, найдены и изучаются у многих модельных объектов, но результаты этих исследований противоречивы. Стероидные гормоны могут регулировать до 1000 генетических детерминант пола, характер их взаимодействия остается неясным [20].

В нашей статье, рассматривая описанные в научной литературе случаи естественной инверсии пола у рыб, амфибий и рептилий, а также экспериментальной инверсии пола у птиц, мы пытаемся обобщить данные о факторах, которые могут влиять на детерминацию и дифференцировку пола.

ИНВЕРСИЯ И ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА У РЫБ, АМФИБИЙ И РЕПТИЛИЙ

Естественная инверсия пола характерна для небольшого количества видов холоднокровных позвоночных. Возможно, это связано с недостаточной изученностью данных групп и в дальнейшем это явление будет обнаружено у большего количества видов. Наиболее часто естественная инверсия пола встречается у рыб [21], но даже для

этой группы процент обнаруженных видов с этим явлением очень мал. Значительно реже инверсия пола в природе встречается у амфибий [15, 16], а у рептилий известен только один вид с этим явлением [10].

В путях детерминации пола у позвоночных наблюдается эволюционный консерватизм, так как у всех выявлен ряд семейств генов, вовлеченных в этот процесс, что, видимо, ограничивает частоту встреч естественной инверсии пола. Экспрессия генов находится под контролем стероидных гормонов и влиянием условий окружающей среды. У рыб и амфибий дифференциация гонад чувствительна к воздействию эстрогенов и андрогенов, у рептилий — только к влиянию эстрогенов [8, 20]. У них даже однократная инъекция эстрогенов или ингибиторов ароматазы (блокируют синтез эстрогенов из андрогенов) может привести к инверсии пола. Следует также отметить, что характер воздействия экзогенных половых гормонов на пол зависит от стадии онтогенеза особи и от частоты гормонального воздействия [8].

Подробнее остановимся отдельно на каждой группе холоднокровных животных.

Рыбы

Рыбы представляют собой уникальную модель для изучения гермафродитизма у позвоночных животных [21–26]. Рыбы обладают самыми разнообразными типами репродуктивных систем (от гермафродитизма до гонохоризма) и стратегиями размножения среди позвоночных животных, а также пластичностью изменения пола во взрослом состоянии [21]. Для рыб характерна пластичность половых и соматических клеток, поддерживаемая на протяжении всего жизненного цикла и находящаяся под влиянием факторов внешней среды. У рыб температурное определение пола распространено менее, чем думали ранее, из-за большей редкости унисексуальных популяций даже в экстремальных условиях. Эффект эстрогенов, действующих через соответствующие рецепторы, заметен сильнее. Показано, что 2% костистых рыб, принадлежащих к 20-ти различным семействам, способны менять пол. Изменения гонад соответствуют изменениям концентрации стероидов в плазме. При этом стероиды, контролирующие дифференциацию гонад, — 17- β -эстрадиол (E2) и 11-кетотестостерон (11-КТ) — являются главными половыми стероидными гормонами. Например, у черного окуня соотношение полов регулируется динамически: один пол увеличивается в количестве, а количество другого остается постоянным [21, 22]. Судьба первоначальной гонады определяется и поддерживается через передачу сигналов от гипоталамо-гипофизарной системы к полоопределяющему гену. В целом экспрессия генов *dmrt1* (*doublesex* и *mab-3*-связанного фактора транскрип-

ции 1) в семеннике и *sup19a1a* в яичнике имеет решающее значение для развития самцов и самок соответственно [21, 22].

При изучении механизмов регуляции соотношения полов у костистых рыб было описано большое разнообразие механизмов детерминации пола. Это разнообразие связано как с генетическими факторами, так и с условиями окружающей среды, такими как температура, pH, и даже с социальными факторами, которые могут влиять на соотношение полов. Иногда условия окружающей среды влияют на детерминацию пола быстрее, чем генетическая система [21, 23, 27].

Фенотипический пол у рыб можно изменить под действием экзогенных гормонов, если их использовать до половой дифференциации [21, 28, 29]. Молодые рыбы чувствительны к физическим и химическим факторам окружающей среды, которые влияют на их гипоталамо-гипофизарную систему [21]. У одних видов дифференциация пола находится под строгим генетическим контролем и не требует производства половых стероидных гормонов. У других видов для дифференциации гонад необходимы половые гормоны и этот феномен ассоциирован с зависимостью дифференциации пола от условий окружающей среды (главным образом от температуры). Характер гонадной половой дифференциации может быть разнообразным: виды могут быть гермафродитными или гонохористичными, некоторые из которых проявляют ювенильный гермафродитизм [20, 21, 30, 31].

Генетическая детерминация пола у рыб может включать как моногенные, так и полигенные системы, а ключевые полоопределяющие гены могут располагаться в аутозомах и/или в половых хромосомах. Некоторые семейства генов, которые вовлечены в детерминацию пола у других позвоночных, недавно были найдены и у рыб, что предполагает наличие эволюционного консерватизма в путях детерминации пола. У рыб описаны как мужская (XY), так и женская (ZW) гетерогаметные системы, а также многие другие их вариации. Половые хромосомы обнаружены приблизительно у 10% изученных видов рыб. Некоторые виды рыб размножаются гиногенетически, т.е. имеют популяцию только из особей женского пола [32].

В отношении механизмов детерминации пола рыбы принадлежат к наиболее сложной группе позвоночных животных [21]. Согласно известным механизмам детерминации пола рыб разделяют на три группы:

- *гонохористические*: пол определяется генетически и фиксирован на протяжении всей жизни особи;
- *последовательные гермафродиты (протоандрические виды)* — пол меняется в направлении са-

мец → самка, и *протогенитические виды* — пол меняется в направлении самка → самец, а также в обоих направлениях в течение всей жизни);

- *унисексуальные*, представленные только одним полом, что характерно для вида *Poecilia formosa*.

Характер дифференциации пола у костистых рыб также дивергентен и изменчив. У различных гонохористических видов, таких как лобан или черная кефаль, канальный сомик, обыкновенный судак и медака, недифференцированные гонады развиваются в яичники у генетических самок раньше, чем в семенники у генетических самцов. Однако у недифференцированных гонохористических видов, таких как обыкновенный угорь, сима, суматранский барбус и данио-рерио, недифференцированные гонады вначале развиваются в яичнико-подобные гонады. У одной половины этих рыб яичнико-подобные гонады позже становятся яичниками и производят ооциты. У другой половины этих рыб они развиваются в семенники и рыбы становятся самцами [33].

Амфибии

Пол большинства амфибий генетически детерминирован, хотя в последнее время появились сообщения о существовании негенетической детерминации пола у этой группы позвоночных животных [13]. На половых хромосомах различных видов лягушек картированы многие гены, ассоциированные с дифференциацией гонад, и выявлены гены с эффектами феминизации и маскулинизации. По-прежнему мало известно о молекулярных механизмах, лежащих в основе детерминации пола у лягушек [12, 13].

В случае бугорчатой лягушки перестройки, возникающие в половых хромосомах, могут стать причиной изменения механизма гонадной дифференцировки: от чувствительной до устойчивой инверсии пола, включающей связь между изменениями в половых хромосомах и контролем за соотношением полов [14]. Необычная система детерминации пола описана у японской рисовой лягушки *Fejervarya kawamurai*. Получаемое в потомстве соотношение полов у этой лягушки трудно объяснить только механизмом детерминации пола, основанным на генетической и средовой системах. Оно зависит от того, какие особи вступили в скрещивание. В случае близкородственного и обратного скрещиваний, а также диплоидного гиногенеза соотношение полов сдвигается в сторону большего количества самцов, но при этом повышена смертность среди потомства. При скрещивании аутбредных самок с самцами из географически изолированных популяций соотношение полов становится нормальным (1 : 1) и смертность снижается [14].

Процессы детерминации и дифференциации пола хорошо изучены у многих бесхвостых амфибий [34], и только несколько видов хвостатых амфибий изучены в этом плане: иглистый и магрибский тритоны (*Pleurodeles waltl* и *P. poireti*), гребенчатый тритон *Triturus cristatus*, огненнобрюхий тритон *Synops pyrrohogaster*, огненная саламандра *Salamandra salamandra*, тигровая и мексиканская амбистомы (*Ambystoma tigrinum* и *A. mexicanum*). На этих видах были исследованы: влияние половых гормонов на дифференциацию по полу, температурно-зависимая инверсия пола, эффект андрогенов и P450-ароматазы на дифференциацию пола, экспрессия генов, регулирующих этот процесс. В целом и хвостатые и бесхвостые амфибии имеют сходный механизм дифференциации гонад по полу. Обе группы являются гонохорическими. Особый интерес вызывает развитие гонад у мексиканской амбистомы, для которой характерно явление неотении [35]. Кроме того, у амфибий найдены интересные случаи естественной инверсии пола: с изменением состава половых хромосом в кариотипе, под влиянием температурных и других условий развития молодых амфибий [15, 16]. Например, инверсия пола распространена в популяциях крикливой лягушки *Lithobates clamitans* [36].

Модели дифференциации пола у земноводных можно разделить на три типа [12]:

- прямое развитие недифференцированных половых желез в семенники или яичники;
- развитие недифференцированной гонады в яичник и последующее развитие семенника из яичника;
- развитие семенника через межсексуальную фазу.

Доминирующая гипотеза определения пола для земноводных предлагается в отношении японской морщинистой лягушки *Rana rugosa*. У нее описаны четыре популяции, в одной из которых (северная популяция) самки гетерогаметны. Предполагается, что в данном случае нет необходимости в полоопределяющих генах в связи с наличием транскрипционных факторов, локализованных в X- или W-хромосомах. У самцов механизм определения пола поддерживает регуляцию секреции стероидных гормонов в недифференцированных гонадах путем ингибирования транскрипции гена *sup19*, существенного для образования яичников [12]. Согласно экспериментальным данным, полная инверсия пола наблюдается у AR—T-трансгенной самки лягушки (ZW) при низкой дозе тестостерона в воде во время выращивания головастика. В инвертированных по полу семенниках экспрессия генов *dmrt1*, *ar* и *sup17*, необходимых для маскулинизации, была значительно повышена. В том же эксперименте никакой инверсии пола не наблюдалось у экспериментальных самок при исполь-

зовании доз тестостерона достаточных, чтобы вызвать полную инверсию пола у дикого типа лягушек. В половых железах таких самок экспрессия генов, необходимых для маскулинизации, не была достаточно отрегулирована. Эти результаты демонстрируют, что андрогеновый рецептор (AR) вместе с андрогенами может быть детерминатором пола у самцов амфибий [37, 38].

У амфибий обнаружены многие полоопределяющие гены (*Sf1*, *WT1*, *Sox9*, *Amh*, *Dmrt1*, *Dax1*, *Sox3*, *Sox18*, *Sox12* и др.) и изучена их экспрессия в гонадах самцов и самок. Их наличие в геноме амфибий и характер их экспрессии указывает на консерватизм системы детерминации и дифференциации пола у позвоночных [16, 39]. На основе анализа генов, сцепленных с полом, и данных о кариотипах у лягушек было обнаружено восемь генов в шести различных хромосомах, которые могут быть кандидатами в качестве полоопределяющих генов. Два случая замещения по типу “turnover of sex-determining genes and sex chromosomes” были изучены у прудовой лягушки Дарумы *Pelophylax porosa brevipoda* и у бурой лягушки *Rana japonica* из Японии. Интересные случаи описаны у травяной лягушки *R. temporaria*, лягушки Наппарагава *Rana sakuraii*, бугорчатой лягушки *Glandirana rugosa*, поющей бюргерии *Buergeria buergeri*, когтистой и кенийской шпорцевых лягушек (*Xenopus tropicalis* и *X. borealis*), съедобной лягушки *Pelophylax esculentus*, леопардовой лягушки *Lithobates pipiens*, лягушки-быка *L. catesbeianus* и крикливой лягушки *L. clamitans* [14].

Рептилии

Определение пола под воздействием температуры (TSD) известно и изучено у черепахах, крокодилов и ряда видов ящериц, но не найдено у змей. Предполагают, что такой механизм определения пола имеет адаптивное значение.

В период раннего развития гонады ее эпителиальные клетки разделены и объединяются в эпидермальную полосу мезенхимы мезонефроса. Далее в течение так называемого “температурно-зависимого периода” такая полоска образует семенные каналы с эпителием, клетками Сертоли или пробелами с плоскоклеточным эпителием. Механизм определения пола по этому типу не ясен. Очевидно, он обнаруживается у видов с недифференцированными половыми хромосомами. Переход от температуры, при которой формируются самки (FPT), к температуре, при которой формируются самцы (MPT), осуществляется через температурно-чувствительный период (TSP), через так называемое “окно возможностей” [40–42]. В этот период гонада остается бипотенциальной, но вне этого периода гонада начинает развиваться в определенном направлении и изменить пол уже нельзя. У некоторых видов рептилий пол не является

фиксированным на всю жизнь, и первоначальный пол может измениться [42].

У рептилий существует “открытая” программа определения пола. Считается, что в этом случае пол зависит от соотношения эстрогенов и андрогенов в период дифференциации гонад. Температура инкубации может изменить активность генов, кодирующих ароматазу, рецептор эстрогена и редуктазу. Разные таксономические группы рептилий имеют разные механизмы регулирования пола. К температуре инкубации может быть чувствительной экспрессия генов *sox9* и *dax1* (пресноводные черепахи – Emydidae) и генов *sox9*, *sf1* и *wl1* (сухопутные черепахи – Testudinidae). Для миссисипского аллигатора *Alligator mississippiensis*, красноухой черепахи *Trachemys scripta* и оливковой ридлеи *Lepidochelys olivacea* уровень экспрессии гена *dmrt1* выше во время инкубации эмбрионов при температуре, которая способствует появлению самцов. У красноухой черепахи большое количество продукта хроматин-модифицирующего гена *kdm6b* (lysine-specific demethylase 6B), которое наблюдается при температуре, благоприятной для появления самцов, активирует экспрессию *dmrt1*, а снижение его экспрессии благоприятствует появлению самок. Этот феномен связан с триметилированием лизина 27 в гистоне 3 (H3K27). Эта модификация репрессирует промоторную активность гена *dmrt1*. Ген *kdm6b* является членом семейства генов Jumonji, которые у рептилий вовлечены в детерминацию пола. Один такой ген *cirbp* (индуцируемый холодом РНК-связывающий белок), кодирующий температурно-индуцируемый РНК-связывающий белок с функцией стабилизации мРНК и регуляции транскрипции, описан у каймановой черепахи *Chelydra serpentina*. Его экспрессия влияет на детерминацию пола у эмбрионов, развивающихся в соответствующем температурном режиме [43].

У 34 видов рептилий с температурным и генетическим механизмами определения пола удалось обнаружить различия в структуре гена *dmrt1*. Изменения обнаружены в последовательности экзона 2, вблизи DM-связывающего домена. У видов с температурным определением пола в положении 54 аминокислотной последовательности DMRT1 встречается треонин (T54), а серин – в положении 57 (S57). В то же время у видов с генетическим механизмом определения пола серин наблюдается не только в положении 57, но и в 54 (S54–S57). Это первое описание молекулярных различий в конкретном гене с изменением механизма определения пола [43].

Есть только одно сообщение об инверсии пола у рептилий в дикой природе (австралийская бородатая агама *Pogona vitticeps*) и использовании животных с инвертированным полом, чтобы экспериментально вызывать быстрый переход от

GSD к ESD [10]. В этом случае контролируемое спаривание нормальных самцов с самками с переменным полом дает жизнеспособное и плодовитое потомство, фенотипический пол которого определяется исключительно с помощью механизма TSD. При этом половая хромосома W исключена уже в первом поколении. Одновременное появление потомства с чувствительностью к температуре и набором половых хромосом ZZ показывает новую климат-индуцированную детерминацию пола для быстрого перехода между генетической и температурно-зависимой детерминацией пола и помогает адаптироваться к условиям быстро меняющегося климата [10].

ИНВЕРСИЯ ПОЛА У ПТИЦ

У птиц, и прежде всего у курицы, описаны многочисленные примеры экспериментальной инверсии пола с помощью инъекций эстрогена, ингибиторов его метаболизма, удаления гонад. Результаты трудно интерпретировать в терминах закономерностей детерминации пола. В большинстве случаев эффект временный. У самок с инверсией пола маскулинизирован только правый яичник, а сперматозоиды, несущие W-хромосому, не формируются [44]. Особого внимания заслуживают результаты экспериментов, в которых использовалась микроинъекция ингибитора ароматазы в оплодотворенное яйцо на 4–5-е сутки инкубации. В этих случаях сообщается об инверсии пола с превращением самок в фенотипических самцов с правым овотестисом и низкой фертильностью [45–47]. В серии статей китайских исследователей описаны изменения активности главных генов детерминации пола у опытных животных и их особый гормональный и эпигенетический статус [48, 49]. Другая группа ученых получила результат, свидетельствующий о том, что аномальное развитие семенников у инвертированных по полу самок курицы регулируется генами, связанными с полом, и длинной некодирующей РНК (lncRNA), а Wnt- и TGFβ/BMP-сигнальные пути играют важную роль в дифференцировке гонад и поддержании их функции у курицы [50, 51]. Показано, что одновременная обработка ингибитором ароматазы и инсулиновым фактором роста 1 оплодотворенных яиц даже на 5-е сутки инкубации способна повлиять на процесс инверсии пола [52]. Удалось продемонстрировать инверсию пола у самок в самцов после инъекции ингибитора ароматазы в первый день инкубации, гистологически сопровождаемый более полным превращением яичника в семенник [53].

Стероидогенные факторы также влияют на развитие гонад у птиц. Сравнительный анализ показал, что у курицы важную роль в генерации поддерживающих клеток играют клетки нефрогенной мезенхимы (рис. 1, [53]). Удалось косвенно

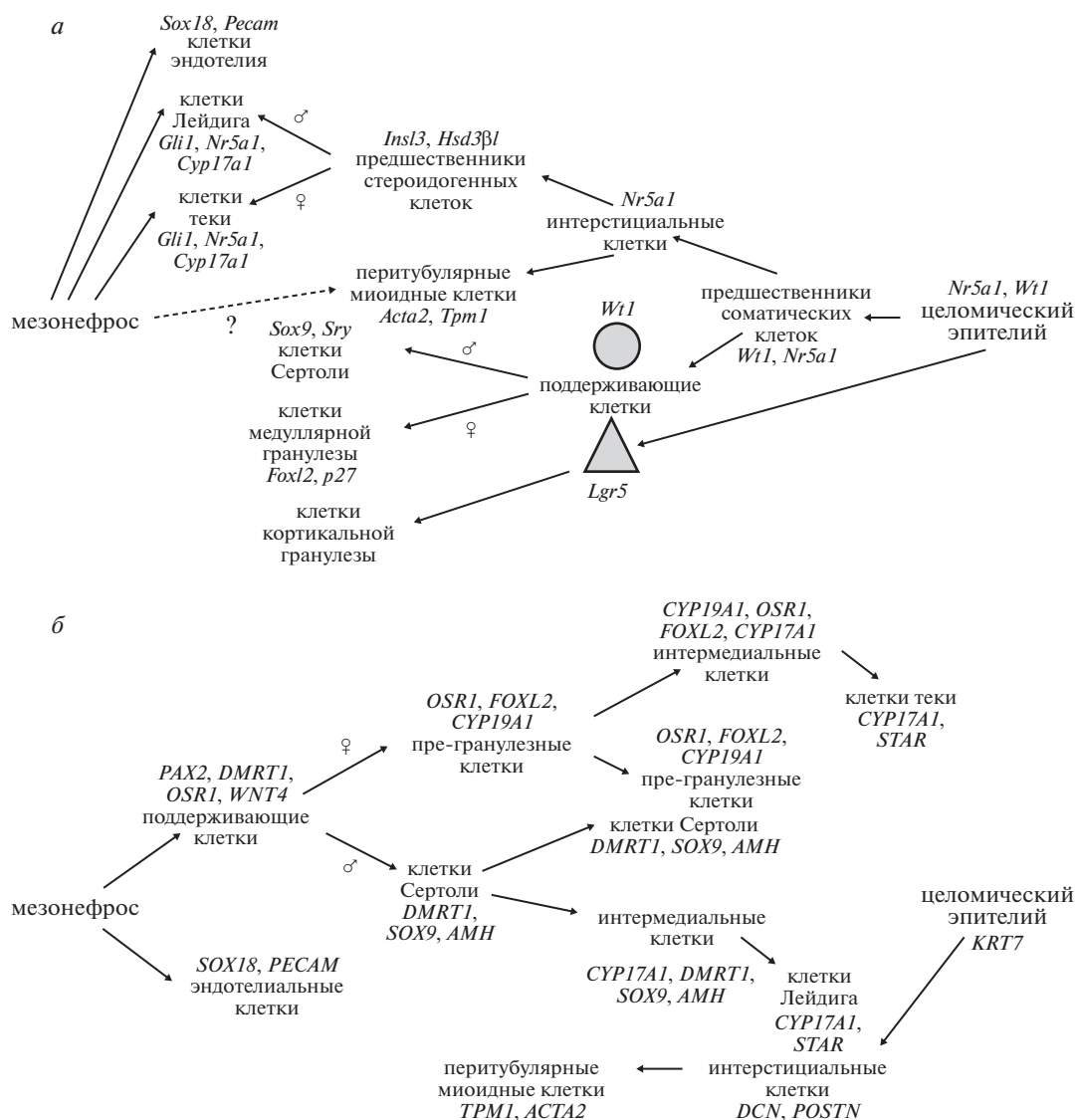


Рис. 1. Дифференциация соматических клеток гонад у эмбрионов мыши и курицы с указанием главных экспрессирующихся генов. Клетки происходят либо от целомического эпителия, либо от мезонефроса, с различным распределением, зависящим от вида. *а* — линия клеток, полученная от мыши (*Mus musculus*). Клетки, происходящие от целомического эпителия, дают линию поддерживающих клеток и линию стероидогенных и нестероидогенных интерстициальных клеток. Мезенхима мезонефроса также дает стероидогенную линию клеток (клетки Лейдига у самцов, клетки теки у самок). У самок две волны предковых поддерживающих клеток происходят из целомического эпителия, генерируя медулярные и кортикальные гранулезные клетки; *б* — линия клеток, полученная от курицы (*Gallus gallus*), в которой поддерживающие и стероидогенные клеточные линии происходят из мезенхимы мезонефроса. Стероидогенная клеточная линия получена через стадию поддерживающих клеток. Этот процесс вовлекает последовательную сверхрегуляцию стероидогенных генов в части поддерживающих клеток. Целомический эпителий у курицы дает начало нестероидогенным интерстициальным клеткам (адаптировано по [55]). Курсивным латинским шрифтом дана аббревиатура генов, которые экспрессируются в данных линиях клеток.

но продемонстрировать оплодотворяющую способность сперматозоидов, несущих W-хромосому, у инвертированных по полу самок курицы [54–56]. К сожалению, до сих пор не изучены зависимость полноты инверсии пола от времени инъекции ингибитора ароматазы и закономерности формирования семенника вместо овотестиса в правой гонаде. Практически не изучены инвертиро-

ванные по полу особи относительно их половых характеристик и фертильности, не исследована стабильность переопределения пола [56–59].

В недавнем исследовании Моррис и др. [60] описали морфологию и гистологию гонад, а также эндокринный профиль гинандроморфной курицы. На правой стороне были клетки самца, а на левой — самки. Почти все клетки (96%) на правой

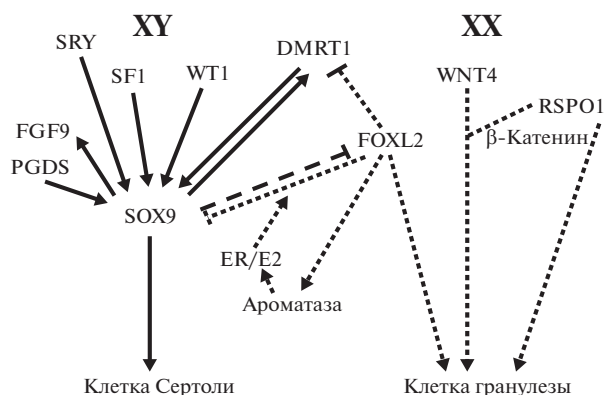


Рис. 2. Молекулярные механизмы детерминации пола у млекопитающих, ведущие к формированию поддерживающих клеток самцов или самок (адаптировано по [63]).

стороне имели кариотип ZZ, а на левой стороне имелась смесь клеток с кариотипами ZZ и ZW. Более того, число клеток с ZW-кариотипом было намного меньше, чем с ZZ-кариотипом. Уменьшенный процент клеток с кариотипом ZW (23%) не влиял на проявление черт самки. Основываясь на этих наблюдениях, было предположено, что даже небольшого процента клеток ZW достаточно для поддержания дифференциации пола в направлении самок. Однако этих клеток недостаточно для инверсии пола, и различные диморфные особенности у половозрелой особи могут возникать из-за различий в дозе генов, расположенных в Z хромосоме [61].

У позвоночных животных бипотенциальная гонада способна к развитию семенника или яичника посредством ряда регуляторных преобразований (рис. 1, [53]). У курицы развитие гонад происходит на третьи сутки эмбрионального развития и характеризуется утолщением целомического эпителия, вентрального к мезонефросу. Гистологическая дифференциация гонад у курицы происходит на 6–6.5-й день. У самок внешний кортикальный слой в левой гонаде утолщается и аккумулирует половые клетки, а внутренняя медулла образует лакуны, заполненные жидкостью. Позднее в эмбриогенезе (15.5-й день) инициируется мейоз. Основой поддерживающей клеточной линии в семенниках являются клетки Сертоли и Лейдига, а в яичниках – клетки гранулезы и теки (рис. 2). Эти клетки дифференцируются из клеток мезенхимы. У самцов гонада возникает из медуллы, образуя семявыносящий корд, окружающие его пре-Сертоли клетки и появляющиеся в гонадах первичные половые клетки. Клетки пре-Сертоли синтезируют антимюллеровский гормон (АМГ), вызывающий регрессию Мюллерова протока. Клетки Лейдига располагаются в мезенхиме, вне семявыносящего корда. Белок DMRT1 синтези-

руется в пре-Сертоли и Сертоли-клетках медуллы гонад, а также половых клетках самцов и самок. У самок он позднее исчезает. Предполагают, что он участвует в дифференциации первичных половых клеток самцов в сперматогонии. Участие гена *dmrt1* в дифференцировке ППК подтверждено и у других видов птиц: у зебровой амадины *Taeniopygia guttata* и эму *Dromaius novaehollandiae*. Таким образом, *dmrt1* рассматривается как главный полоопределяющий ген, который необходим для развития Мюллерова протока. Цепочка генов, важных для становления самцов у птиц, содержит помимо *dmrt1* также гены *HEMGN* и *sox9*, активирующиеся позднее (соответственно на 4.5-, 5.5- и 6-й дни инкубации) и приводящие к формированию признаков самца [60–62].

У птиц эстроген является главным регулятором развития яичников. Эстроген может временно феминизировать развитие гонад у самцов. Антиэстроген (например, тамоксифен) нарушает развитие гонад самок. Инъекция ингибиторов ароматазы приводит к частичной инверсии пола, и самка становится “самцом”. Ген ароматазы (*cyp19a1*) активизируется на 6.5-й день эмбрионального развития в гонадах самок, но не самцов. Нарушение экспрессии ключевых генов самцов (*dmrt1* и *sox9*) сопровождается повышенной активностью генов самок (*foxl2* и *rspo1*). Как и у других позвоночных, *foxl2* специфичен для яичников и срабатывает на 5-й день эмбрионального развития, перед началом развития яичников. Более того, продукты генов *foxl2* и *cyp19a1* совместно локализируются в медулярном корде. Предполагается наличие антагонизма между генами *foxl2* и *sox9* [60].

Ген *dmrt1* рассматривают как главный полоопределяющий ген у птиц. Основным аргументом в пользу этой точки зрения считается инверсия пола у самцов после его “выключения” с использованием РНК-интерференции в первый день инкубации [63]. Однако противоречивыми оказались результаты экспериментов с трансгенезом [60, 64]. Также существует возможность инверсии пола самки на пол самца при введении ингибитора ароматазы [45–48, 65, 66]. Стоит упомянуть нестабильное превращение самцов в самок после инъекции эстрогенов [8, 57]. Можно предположить, что у птиц по аналогии с другими позвоночными первичное определение пола (появление той или иной гонады) зависит от содержания эстрогенов в яйце в начале эмбриогенеза. Присутствие W-хромосомы у самок предполагает, что синтез эстрогенов индуцируется генами, расположенными в этой хромосоме. Этот процесс может быть связан с рядом факторов, включая длинные некодирующие РНК [67, 68]. Следует отметить, что lncРНК-транскрипты не кодируют белки и имеют длину более чем 200 нуклеотидов. Предполагают, что развитие семенников у самцов курицы совместно регулируется половыми гормо-

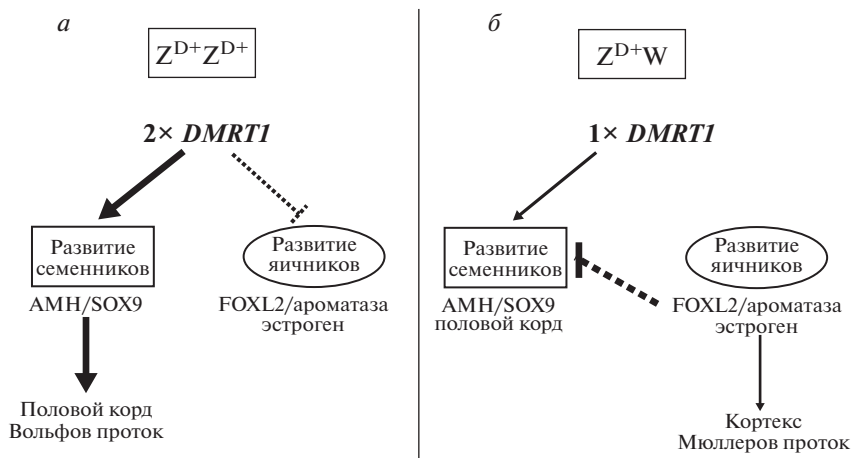


Рис. 3. Схема генетической детерминации пола у курицы (а и б). Генная сеть, регулирующая развитие гонад самцов и самок. Z, W – половые хромосомы, Z^{D+} – присутствие гена *DMRT1* в хромосоме Z, $2 \times DMRT1/1 \times DMRT1$ – две/одна копии гена *DMRT1* (адаптировано по [71]).

нами (прежде всего эстрогенами), связанными с полом генами, длинными некодирующими РНК и сигнальными путями Wnt и TGFβ/BMP. Желательно обратить внимание на некодирующие РНК, их связь с W-хромосомой и их роль в определении пола птицы. Схема первичного определения пола представлена в [3].

Ген *dmrt1* необычен тем, что он экспрессируется как в клетках Сертоли, так и в половых клетках. У птиц функция DMRT1 заключается не в определении первичного пола, а в сохранении уже сформированного семенника [69].

Остановимся на недавно опубликованных результатах, полученных с использованием редактирования генома курицы с целью изучения первичной детерминации пола у этого объекта (рис. 3). С помощью CRISPR/CAS9-метода были получены ППК с поврежденным нефункциональным геном *dmrt1* и с четырьмя классами хромосомных генотипов в соотношении 1 : 1 : 1 : 1. Это были особи $Z^{D+}Z^{D+}$, $Z^{D+}W$, $Z^{D+}Z^{D-}$ и $Z^{D-}W$ (аббревиатура Z^{D+} и Z^{D-} означает носительство нормально и выключенного гена). Эмбрионы $Z^{D+}Z^{D-}$ обладали гонадами самок с E5.5 по E17.5 дни развития, что демонстрирует важность потери копии гена *dmrt1* у самцов. Такое развитие этих эмбрионов сохраняется и в возрасте пяти недель. Их гонады обладали только маленькими и средними фолликулами и не созрели под действием гормонов гипоталамуса, гипофиза или гранулезы, как у нормальных самок. Неожиданно у этих особей были обнаружены левый и правый яичники. Правый укороченный, как и соответствующий Мюллеров проток [70].

Потеря функционально активного гена *dmrt1* у $Z^{D-}W$ -самок не сильно отражается на оогенезе эмбрионов. У них развивается левый яичник с

утолщенным кортексом, содержащим половые клетки. Однако уже у пятидневных особей невозможно обнаружить фолликулы с ооцитами. Предполагают, что повреждение гена *dmrt1* приводит к потере половых клеток после проклевывания, а сам ген участвует в поддержании мейоза. Вероятно экспрессия двух копий этого гена у нормальных самцов прямо или косвенно супрессируется активностью FOXL2. Было продемонстрировано, что у $Z^{D+}Z^{D-}$ -эмбрионов левая гонада развивается в яичник, а при недостатке эстрогенов обе гонады развиваются в семенники. Блокирование эстрогенов у $Z^{D+}W$ и $Z^{D+}Z^{D-}$ -эмбрионов приводит к образованию семенников. Это показывает, что DMRT1 необходим для формирования семенников и выживания ППК, но не требуется для появления яичников. Различия между самцами и самками у птиц являются результатом комбинации хромосомной конституции и гонадных гормонов. Предполагают наличие у птиц основополагающей роли автономной половой идентичности клеток – CASI (Cell Autonomous Sex Identity) в установлении сексуального фенотипа и малое влияние гормонов на половые характеристики [71–75].

Поскольку у птиц самки являются гетерогаметными, пол будущего поколения определяется еще на стадии первого деления мейоза. Есть предположение, что самки птиц способны физиологически контролировать соотношение полов у будущего потомства, на уровне мейотического драйва [74, 75]. В этом процессе определенную роль могут играть промежуточные продукты биосинтеза стероидов, в том числе прогестерон [76–80].

Последнее время конкурировали две гипотезы об определении пола у птиц. Одна из этих гипотез рассматривала число Z-хромосом как ключевой

фактор определения пола. Другая гипотеза предполагала наличие в W-хромосоме ключевого гена, контролирующего развитие яичников или подавляющего появление семенников. В настоящее время подробно изучен механизм инактивации генов на конце длинного плеча хромосомы Z у курицы с помощью РНК-интерференции, который запускается присутствием в кариотипе хромосомы W [81]. Снижение экспрессии гена *dmrt1 in ovo* в результате РНК-интерференции приводит к феминизации эмбриональных половых желез у генетических самцов (ZZ). В феминизированной левой гонаде наблюдается снижение экспрессии гена *sox9* и увеличение экспрессии гена *cyp19a1* (ген ароматазы). Это наблюдение подтверждает гипотезу о наличии дозовой компенсации с участием гена *dmrt1*. В феминизированной правой гонаде экспрессия соответствующих генов другая. Это указывает на дифференциальную чувствительность к воздействию белка DMRT1 в левой и правой гонадах. Половые клетки в феминизированных гонадах распределяются как в яичниках. Результаты этого эксперимента указывают на особую роль гена *dmrt1* в развитии семенников, но при этом отсутствуют четкие доказательства того, что этот ген контролирует первичную детерминацию пола [77]. В некоторые схемы генетического контроля определения пола у птиц добавлены эпигенетические механизмы [63, 82–84].

W-хромосома курицы имеет длину около 7.08 Мб и содержит всего 28 генов. Эволюционно эта хромосома претерпела обширную деграцию и накопление повторяющихся нуклеотидных блоков ДНК. Было показано, что исчезновение генов, специфичных для W-хромосомы, не является случайным, и высказано предположение, что сохранение некоторых генов связано с тем, что W-хромосома находится под высоким эволюционным давлением из-за отсутствия рекомбинации. Все гены, которые сохранены в W-хромосоме, имеют гомологов в Z-хромосоме и относятся к категории дозозависимых генов, чувствительных к снижению дозы. Ни один из этих генов не имеет значения для дифференцировки и детерминации пола [84–87]. Примечательно, что самые распространенные и специфичные для нее повторы *XhoI*, *EcoRI*, *SspI* и недавно описанные $(GGAAA)_n$ -последовательности плотно упакованы в хромеры и не транскрибируются на стадии ламповых щеток. Было показано, что *XhoI*, *EcoRI* и *SspI* не имеют каких-либо значительных различий у представителей отрядов Курообразных, Аистообразных и Воробьинообразных. Поиск особой роли W-хромосомных генов в детерминации семенников и яичников продолжается [86]. В недавно опубликованной работе китайские исследователи сравнивали W-хромосомы 27 видов птиц, среди которых были представители Воробьинообразных, Курообразных и группы Древнеобитавших.

Ими был обнаружен значительный консерватизм данной хромосомы, несмотря на генетическую отдаленность исследованных видов, и отсутствие генов, специфичных для самок [88]. Также ими была исследована изменчивость блоков ДНК из амплификона гена *hintW* хромосомы W у утки и курицы. У утки был обнаружен консерватизм количества копий этих амплифицированных генов, а для курицы — описана межпородная изменчивость. Авторы предполагают наличие особой роли амплификации *hintW* у курицы (в отличие от уток) в репродукции самок и оогенезе [89]. W-хромосомный ген *hintW* (также называемый *Asw* и *Wpkcl*) стали рассматривать в качестве важнейшего регулятора детерминации пола у птиц, усиливающего активность генов *foxl2* и *cyp19a1* у самок и ингибирующего экспрессию генов *sox9* и *dmrt1* у самцов. Он контролирует образование гонадного кортекса — основы для появления семенников. HINTW не только контролирует развитие гонад, но и отвечает за асимметрию яичников — дегенерацию правой гонады. Этот ген имеет Z-хромосомный гомолог *hintZ* и в отличие от последнего не обладает гистидиновой триадой и способностью связывать аденозинмонофосфат (АМФ) с лизином [90, 91]. Необходимо сопоставление участия в процессе детерминации пола и других полоопределяющих генов, таких как *JUN*, *smad2*, *UBE2I* [92]. Привлекает внимание и феномен полоограниченных хромосом у певчих птиц [92]. Рассматривается возможность влияния специфических генов этой хромосомы на ее конденсацию по аналогии с *Vkm*-повторами некоторых змей [44, 93].

Рассмотренные данные послужат для интеграции схем детерминации пола у птиц и адаптации наиболее приемлемой гипотезы инверсии пола у курицы к практическому использованию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Естественная инверсия пола у позвоночных животных — довольно редкое явление. Чаще всего она встречается у рыб (всего 2% из всех изученных видов) [22], реже — у амфибий и рептилий и не наблюдается в норме у птиц и млекопитающих. Разные случаи инверсии пола были описаны и изучены у человека [20], все они являются патологией развития. Редкие случаи подобной инверсии пола выявляются в природе у птиц и млекопитающих, но такие особи, как правило, не оставляют потомства. Возможно, эволюционный консерватизм ряда полоопределяющих генов у позвоночных животных не поддерживает развитие естественной инверсии пола и этот процесс не получил преимущества в эволюции. Изучение естественной инверсии пола далеко от завершения. Процент изученных видов в этом аспекте низок [93–95].

Исследования в лабораторных условиях показали, что можно вызвать искусственную инверсию пола у птиц, например у домашней курицы. Полученные результаты в таких исследованиях, безусловно, внесли существенный вклад в понимание проблемы первичной детерминации пола у птиц, особенно относительно разноплановой роли DMRT1. Аспекты, связанные с взаимодействием полоопределяющих генов и стероидов, только затронуты. Необходимы дальнейшие исследования и создание всеобъемлющей схемы взаимодействий каскада полоопределяющих генов, половых гормонов и других участников детерминации и дифференцировки пола. Изучение механизмов детерминации и случаев инверсии пола у позвоночных нельзя рассматривать как завершенное, требуются уточнение и накопление более определенных результатов [71–75].

Возможность инвертирования пола у курицы может помочь решить экономическую проблему. Необходимо проводить исследования по инвертированию пола и в деле спасения видов, находящихся на грани исчезновения, когда счет оставшихся особей измеряется единицами, а также продолжать исследования естественной инверсии пола у других видов, для которых может быть характерным это явление. Было бы интересно проверить наличие/отсутствие инвертирования пола у видов, обитающих в экстремальных условиях (горы, пустыни), видов, имеющих узкий ареал и низкую численность. Хотелось бы понять эволюционное значение инверсии пола для позвоночных, почему это явление не получило эволюционного преимущества и почему у одних видов это нормальное явление, а у других — только патология. В этой связи нужно дальше проводить изучение молекулярных механизмов инверсии пола, ее связь с детерминацией. Инверсия пола — интересное явление в мире позвоночных животных и ее изучение может привести к новым открытиям.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-14-50268, “Экспансия” (The reported study was funded by RFBR, project number 20-14-50268).

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Smirnov A.F., Trukhina A.V.* Specific features of sex determination in birds on the example of *Gallus gallus domesticus* // Gene Expression and Phenotypic Traits.

- UK: IntechOpen Limited, 2020. P. 338–481. <https://doi.org/10.5772/intechopen.91178>
2. *Cox R.M.* Sex steroids as mediators of phenotypic integration, genetic correlations, and evolutionary transitions // Mol. Cell. Endocrinol. 2019. V. 502. P. 110668. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110668>
3. *Weber C., Capel B.* Sex reversal // Curr. Biol. 2018. V. 28. № 21. P. R1234–R1236. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.09.04>
4. *Wilhelm D., Palmer S.J., Koopman P.* Sex determination and gonadal development in mammals // Physiol. Rev. 2007. V. 87. № 1. P. 1–28. <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2006>
5. *Wilhelm D., Pask A.J.* Genetic mechanisms of sex determination // Encyclopedia of Reproduction. Elsevier Inc.: Acad. Press, 2018. V. 3. P. 245–248. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64460-4>
6. *Ni M., Feretzaki M., Sun S. et al.* Sex in fungi // Annu. Rev. Genet. 2011. V. 45. P. 405–430. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110410-132536>
7. *Smirnov A.F., Trukhina A.V.* Molecular-Genetic Mechanisms of Sex Determination in Animals. USA: Sci. Res. Publ., Inc., 2017. P. 162. ISBN: 978-1-61896-390-1.
8. *Tagirov M.T.* Sex determination and control mechanisms in birds // Biotechnologia Acta. 2013. V. 6. № 1. P. 62–72. <https://doi.org/10.15407/biotech6.01.062>
9. *Bull J.J.* Evolution of environmental sex determination from genotypic sex determination // Heredity. 1981. V. 47. № 2. P. 173–184.
10. *Holleley C.E., O’Meally D., Sarre S.D. et al.* Sex reversal triggers the rapid transition from genetic to temperature-dependent sex // Nature. 2015. V. 523. № 7558. P. 79–82. <https://doi.org/10.1038/nature14574>
11. *Pennell M.W., Mank J.E., Peichel C.L.* Transitions in sex determination and sex chromosomes across vertebrate species // Mol. Ecol. 2018. V. 27. № 19. P. 3950–3963. <https://doi.org/10.1111/mec.14540>
12. *Nakamura M.* Is a sex-determining gene(s) necessary for sex-determination in amphibians? Steroid hormones may be the key factor // Sex. Dev. 2013. V. 7. № 1–3. P. 104–114. <https://doi.org/10.1159/000339661>
13. *Ma W.-J., Veltsos P.* The diversity and evolution of sex chromosomes in frogs // Genes. 2021. V. 12. P. 483. <https://doi.org/10.3390/genes12040483>
14. *Miura I.* Sex determination and sex chromosomes in amphibian // Sex. Dev. 2017. V. 11. № 5–6. P. 298–306. <https://doi.org/10.1159/000485270>
15. *Wallace H., Badawy G.M.I., Wallace B.M.N.* Amphibian sex determination and sex reversal // Cell. Mol. Life Sci. 1999. V. 55. P. 901–909. <https://doi.org/10.1007/s00033-99-070901-09>
16. *Eggert C.* Sex determination: the amphibian models // Reprod. Nutr. Dev. 2004. V. 44. P. 539–549. <https://doi.org/10.1051/rnd:2004062>
17. *Keating S.E., Blumer M., Grismer L.L. et al.* Sex chromosome turnover in bent-toed geckos (*Cyrtodactylus*) //

- Genes. 2021. V. 12. P. 116.
<https://doi.org/10.3390/genes12010116>
18. *Rovatsos M., Vukić J., Mrugała A. et al.* Little evidence for switches to environmental sex determination and turnover of sex chromosomes in lacertid lizards // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 7832.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44192-5>
 19. *Прокопьев Я.В., Антропова Е.Ю., Мазитова М.И., Ключаров И.В.* XX-тестикулярная форма нарушения формирования пола: редкая форма мужского бесплодия. Клиническое наблюдение // *РМЖ.* 2019. № 11. С. 26–28.
 20. *Ogino Y., Tohyama S., Kohno S. et al.* Functional distinctions associated with the diversity of sex steroid hormone receptors ESR and AR // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2018. V. 184. P. 38–46.
<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.06.002>
 21. *Rajendiran P., Jaafar F., Kar S. et al.* Sex determination and differentiation in teleost: roles of genetics, environment, and brain // *Biology (Basel).* 2021. V. 10. P. 973.
<https://doi.org/10.3390/biology10100973>
 22. *Nakamura M., Kobayashi T., Chang X.-T., Nagahama Y.* Gonadal sex differentiation in teleost fish // *J. Exp. Zool.* 1998. V. 281. P. 362–372.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19980801\)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M)
 23. *Yamamoto Y., Hattori R.S., Patiño R., Strüssmann C.A.* Environmental regulation of sex determination in fishes: insights from Atheriniformes // *Curr. Top. Dev. Biol.* 2019. V. 134. P. 49–69.
<https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2019.02.003>
 24. *Camerino G., Parma P., Radi O., Valentini S.* Sex determination and sex reversal // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2006. V. 16. № 3. P. 289–292.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2006.04.014>
 25. *Guerrero-Estévez S., Moreno-Mendoza N.* Sexual determination and differentiation in teleost fish // *Rev. Fish Biol. Fish.* 2009. V. 20. № 1. P. 101–121.
<https://doi.org/10.1007/s11160-009-9123-4>
 26. *Hattori R.S., Strüssmann C.A., Fernandino J. et al.* Genotypic sex determination in teleosts: insights from the testis-determining amhy gene // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2013. V. 192. P. 55–59.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.03.019>
 27. *Kobayashi Y., Nagahama Y., Nakamura M.* Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes // *Sex. Dev.* 2012. V. 7. № 1–3. P. 115–125.
<https://doi.org/10.1159/000342009>
 28. *Baroiller J.F., D’Cotta H., Saillant E.* Environmental effects on fish sex determination and differentiation // *Sex. Dev.* 2009. V. 3. № 2–3. P. 118–135.
<https://doi.org/10.1159/000223077>
 29. *Devlin R.H., Nagahama Y.* Sex determination and sex differentiation in fish: an over-view of genetic, physiological, and environmental influences // *Aquaculture.* 2002. V. 208. № 3–4. P. 191–364.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00057-1)
 30. *Strüssmann C.A., Nakamura M.* Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes // *Fish Physiol. Biochem.* 2002. V. 26. P. 13–29.
<https://doi.org/10.1023/A:1023343023556>
 31. *Mustapha U.F., Huang Y., Huang Y.-Q. et al.* Gonadal development and molecular analysis revealed the critical window for sex differentiation, and E2 reversibility of XY-male spotted scat, *Scatophagus argus* // *Aquaculture.* 2021. V. 544. Article 737147.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737147>
 32. *Hsiao C.-D., Tsai H.-J.* Transgenic zebrafish with fluorescent germ cell: A useful tool to visualize germ cell proliferation and juvenile hermaphroditism *in vivo* // *Dev. Biol.* 2003. V. 262. P. 313–323.
[https://doi.org/10.1016/S0012-1606\(03\)00402-0](https://doi.org/10.1016/S0012-1606(03)00402-0)
 33. *Wu G.-C., Chang C.-F.* Primary males guide the femaleness through the regulation of testicular Dmrt1 and ovarian Cyp19a1a in protandrous black porgy // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2018. V. 261. P. 198–202.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.01.033>
 34. *Tang Y., Chen J.-Y., Ding G.-H., Lin Z.-H.* Analyzing the gonadal transcriptome of the frog *Hoplobatrachus rugulosus* to identify genes involved in sex development // *BMC Genomics.* 2021. V. 22. P. 552.
<https://doi.org/10.1186/s12864-021-07879-6>
 35. *Mendoza-Cruz E., Moreno-Mendoza N., Zambrano L., Villagrán-SantaCruz M.* Development and gonadal sex differentiation in the neotenic urodele: *Ambystoma mexicanum* // *Zoomorphology.* 2017. V. 136. P. 497–509.
<https://doi.org/10.1007/s00435-017-0361-z>
 36. *Lambert M.R., Tran T., Kilian A. et al.* Molecular evidence for sex reversal in wild populations of green frogs (*Rana clamitans*) // *PeerJ.* 2019. V. 7. P. e6449.
<https://doi.org/10.7717/peerj.6449>
 37. *Flament S.* Sex reversal in amphibians // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. № 5–6. P. 267–278.
<https://doi.org/10.1159/000448797>
 38. *Oike A., Kodama M., Yasumasu S. et al.* Participation of androgen and its receptor in sex determination of an amphibian species // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 6. P. e0178067.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178067>
 39. *Roco Á.S., Ruiz-García A., Ballejos M.* Testis development and differentiation in amphibians // *Genes.* 2021. V. 12. P. 578.
<https://doi.org/10.3390/genes12040578>
 40. *Valenzuela N., Badenhorst D., Montiel E.E., Literman R.* Molecular cytogenetic search for cryptic sex chromosomes in painted turtles *Chrysemys picta* // *Cytogenet. Genome Res.* 2014. V. 144. № 1. P. 39–46.
<https://doi.org/10.1159/000366076>
 41. *Pieau C., Dorizzi M., Richard-Mercier N.* Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles // *Genes and Mechanisms in Vertebrate Sex Determination* / Eds Scherer G., Schmid M. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel, 2001. P. 117–141.
 42. *Merchant-Larios H., Díaz-Hernández V.* Environmental sex determination mechanisms in reptiles // *Sex. Dev.* 2012. V. 7. № 1–3. P. 95–103.
<https://doi.org/10.1159/000341936>
 43. *Georges A., Holleley C.E.* How does temperature determine sex? // *Science.* 2018. V. 360. № 6389. P. 601–602.
<https://doi.org/10.1126/science.aat5993>

44. *Glersberg M.F., Kemper N.* Rearing male layer chickens: A German perspective // *Agriculture*. 2018. V. 8. P. 176. <https://doi.org/10.3390/agriculture8110176>
45. *Singh L., Wadhwa R., Naidu S. et al.* Sex- and tissue specific Bkm (GATA)-binding protein in the germ cells of heterogametic sex // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. № 41. P. 25321–25327.
46. *Смирнов А.Ф., Трухина А.В.* Молекулярно-генетические механизмы детерминации пола у животных. СПб: Нестор-История, 2016. 168 с.
47. *Elbrecht A., Smith R.G.* Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens // *Science*. 1992. V. 255. № 5043. P. 467–470. <https://doi.org/10.1126/science.1734525>
48. *Vaillant S., Guémené D., Dorizzi M. et al.* Degree of sex reversal as related to plasma steroid levels in genetic female chickens (*Gallus domesticus*) treated with Fadrozole // *Mol. Rep. Dev.* 2003. V. 65. № 4. P. 420–428. <https://doi.org/10.1002/mrd.10318>
49. *Fazli N., Hassanabadi A., Mottaghtalab M., Hajati H.* Manipulation of broiler chickens sex differentiation by in ovo injection of aromatase inhibitors, and garlic and tomato extracts // *Poult. Sci.* 2015. V. 94. № 11. P. 2778–2783. <https://doi.org/10.3382/ps/pev236>
50. *Yang X., Zheng J., Na R. et al.* Degree of sex differentiation of genetic female chicken treated with different doses of an aromatase inhibitor // *Sex. Dev.* 2008. V. 2. № 6. P. 309–315. <https://doi.org/10.1159/000195680>
51. *Yang X., Zheng J., Qu L. et al.* Methylation status of cMHM and expression of sex-specific genes in adult sex-reversed female chickens // *Sex. Dev.* 2011. V. 5. № 3. P. 147–154. <https://doi.org/10.1159/000327712>
52. *Yang X., Deng J., Zheng J. et al.* A Window of MHM demethylation correlates with key events in gonadal differentiation in the chicken // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. № 3. P. 152–158. <https://doi.org/10.1159/000447659>
53. *Mohammadrezaei M., Toghiani M., Gheisari A. et al.* Synergistic effect of fadrozole and insulin-like growth factor-I on female-to-male sex reversal and body weight of broiler chicks // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 7. P. e103570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103570>
54. *Трухина А.В., Лукина Н.А., Смирнов А.Ф.* Гормональная инверсия пола и некоторые аспекты его генетической детерминации у курицы // *Генетика*. 2018. Т. 54. № 9. С. 1047–1056.
55. *Estermann M.A., Major A.T., Smith C.A.* Gonadal sex differentiation: Supporting versus steroidogenic cell lineage specification in mammals and birds // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. V. 8. Article 616387. P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.616387>
56. *Abinawanto, Zhang C., Saito N. et al.* Identification of sperm-bearing female-specific chromosome in the sex-reversed chicken // *J. Exp. Zool.* 1998. V. 280. № 2. P. 65–72. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-010x\(19980101\)280:1<65::aid-jez8>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-010x(19980101)280:1<65::aid-jez8>3.0.co;2-f)
57. *Takagi S., Ono T., Tsukada A. et al.* Fertilization and blastoderm development of quail oocytes after intracytoplasmic injection of chicken sperm bearing the W chromosome // *Poult. Sci.* 2007. V. 86. № 5. P. 937–943. <https://doi.org/10.1093/ps/86.5.937>
58. *Ellis H.L., Shioda K., Rosenthal N.F. et al.* Masculine epigenetic sex marks of the cyp19a1/aromatase promoter in genetically male chicken embryonic gonads are resistant to estrogen-induced phenotypic sex conversion // *Biol. Reprod.* 2012. V. 87. № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.099747>
59. *Major A.T., Smith C.A.* Sex reversal in birds // *Sex. Dev.* 2016. V. 10. P. 288–300. <https://doi.org/10.1159/000448365>
60. *Morris K.R., Hirst C.E., Major A.T. et al.* Gonadal and endocrine analysis of a gynandromorphic chicken // *Endocrinology*. 2018. V. 159. № 10. P. 3492–3502. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00553>
61. *Estermann M.A., Major A.T., Smith C.A.* Genetic regulation of avian testis development // *Genes*. 2021. V. 12. P. 1459. <https://doi.org/10.3390/genes12091459>
62. *Lambeth L.S., Cummins D.M., Doran T.J. et al.* Overexpression of aromatase alone is sufficient for ovarian development in genetically male chicken embryos // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 6. P. e68362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068362>
63. *Vining B., Ming Z., Bagheri-Fam S. et al.* Diverse regulation but conserved function: SOX9 in vertebrate sex determination // *Genes*. 2021. V. 12. P. 486. <https://doi.org/10.3390/genes12040486>
64. *Smith C.A., Roeszler K.N., Ohnesorg T. et al.* The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken // *Nature*. 2009. V. 461. № 7261. P. 267–271. <https://doi.org/10.1038/nature08298>
65. *Lambeth L.S., Morris K.R., Wise T.G. et al.* Transgenic chickens overexpressing aromatase have high estrogen levels but maintain a predominantly male phenotype // *Endocrinology*. 2016. V. 157. № 1. P. 83–90. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1697>
66. *Wang J., Gong Y.* Transcription of CYP19A1 is directly regulated by SF-1 in the theca cells of ovary follicles in chicken // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2017. V. 247. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.03.013>
67. *Jin K., Zuo Q., Song J. et al.* CYP19A1 (aromatase) dominates female gonadal differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryos sexual differentiation // *Biosci. Rep.* 2020. V. 40. № 10. P. BSR20201576. <https://doi.org/10.1042/BSR20201576>
68. *Hung T., Chang H.Y.* Long noncoding RNA in genome regulation: prospects and mechanisms // *RNA Biol.* 2010. V. 7. № 5. P. 582–585. <https://doi.org/10.4161/rna.7.5.13216>
69. *Yoon J.-H., Abdelmohsen K., Gorospe M.* Posttranscriptional gene regulation by long noncoding RNA // *J.*

- Mol. Biol. 2013. V. 425. № 19. P. 3723–3730.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2012.11.024>
70. Huang Sh., Ye L., Chen H. Sex determination and maintenance: the role of DMRT1 and FOXL2 // Asian J. Androl. 2017. V. 19. № 6. P. 619–624.
<https://doi.org/10.4103/1008-682X.194420>
71. Ioannidis J., Taylor G., Zhao D. et al. Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics // PNAS. 2021. V. 118. № 10. P. e2020909118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2020909118>
72. Clinton M., Zhao D., Nandi S., McBride D. Evidence for avian cell autonomous sex identity (CASI) and implications for the sex-determination process? // Chromosome Res. 2012. V. 20. № 1. P. 177–190.
<https://doi.org/10.1007/s10577-011-9257-9>
73. Piferrer F., Anastasiadi D. Do the offspring of sex reversals have higher sensitivity to environmental perturbations? // Sex. Dev. 2021. № 15. P. 134–147.
<https://doi.org/10.1159/000515192>
74. Smith C.A., Major A.T., Esterman M.A. The curious case of avian sex determination // Trends Genet. 2021. V. 37. № 6. P. 496–497.
75. Smith C.A., Major A.T., Estermann M.A. Chicken, sex and revisiting an old paradigm // Endocrinology. 2021. V. 162. № 7. P. bqab106.
<https://doi.org/10.1210/endo/bqab106>
76. Shioda K., Odajima J., Kobayashi M. et al. Transcriptional and epigenetic preservation of genetic sex identity in estrogen – feminized male chicken embryonic gonads // Endocrinology. 2021. V. 162. № 1. P. bqaa208.
<https://doi.org/10.1210/endo/bqaa208>
77. Aslam M.L., Woelders H. Steroid hormones and female energy balance: Relation to offspring primary sex ratio // Egg Innovations and Strategies for Improvements. United States: Acad. Press, 2017. P. 47–54.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800879-9.00005-6>
78. Wrobel E.R., Molina E., Khan N. et al. Androgen and mineralocorticoid receptors are present on the germinal disc region in laying hens: Potential mediators of sex ratio adjustment in birds? // Gen. Comp. Endocrinol. 2019. V. 287. № 2. P. 113353.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2019.113353>
79. Pinson S.E., Wilson J.L., Navara K.J. Timing matters: Corticosterone injections 4 h before ovulation bias sex ratios towards females in chickens // J. Comp. Physiol. B. 2015. V. 185. № 5. P. 539–546.
<https://doi.org/10.1007/s00360-015-0897-5>
80. Bruggeman V., As P.V., Decuypere E. Developmental endocrinology of the reproductive axis in the chicken embryo // Comp. Biochem. Physiol. Part A, Mol. Integr. Physiol. 2002. V. 131. № 4. P. 839–846.
[https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00022-3)
81. Teranishi M., Shimada Y., Hori T. et al. Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the DMRT1 locus // Chromosome Res. 2001. V. 9. № 2. P. 147–165.
<https://doi.org/10.1023/a:1009235120741>
82. Geffroy B., Douhard M. The adaptive sex in stressful environment // Trends Ecol. Evol. 2019. V. 34. № 7. P. 628–640.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.02.012>
83. Sánchez L., Chaouiya C. Logical modelling uncovers developmental constraints for primary sex determination of chicken gonads // J. R. Soc. Interface. 2018. V. 15. P. 20180165.
<https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0165>
84. Kuroiwa A. Sex-determining mechanism in avians // Adv. Exp. Med. Biol. 2017. V. 1001. P. 19–31.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-3975-1_2
85. Hirst C.E., Major A.T., Smith C.A. Sex determination and gonadal sex differentiation in the chicken model // Int. J. Dev. Biol. 2018. V. 62. № 1–2–3. P. 153–166.
<https://doi.org/10.1387/ijdb.170319cs>
86. Bellott D.W., Skaletsky H., Cho T.J. et al. Avian W and mammalian Y chromosomes convergently retained dosage-sensitive regulators // Nat. Genet. 2017. V. 49. № 3. P. 387–394.
<https://doi.org/10.1038/ng.3778>
87. Komissarov A.S., Galkina S.A., Koshelev E.I. et al. New high copy tandem repeat in the content of the chicken W chromosome // Chromosoma. 2018. V. 127. № 1. P. 73–83.
<https://doi.org/10.1007/s00412-017-0646-5>
88. Liu L., Fan Y., Zhao D. et al. Expression profile of chicken sex chromosome gene *BTF3* is linked to gonadal phenotype // Sex. Dev. 2019. V. 13. № 4. P. 212–220.
<https://doi.org/10.1159/000506344>
89. Xu L., Zhou Q. The female-specific W chromosomes of birds have conserved gene contents but are not feminized // Genes. 2020. V. 11. P. 1126.
<https://doi.org/10.3390/genes11101126>
90. Rogers T.F., Pizzari T., Wright A.E. Multi-copy gene family evolution on the avian W chromosome // Heredity. 2021. V. 112. № 3. P. 250–259.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esab016>
91. Sun C., Jin K., Zhou J. et al. Role and function of the *HintW* in early sex differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryo // Anim. Biotechnol. 2021. P. 1–11.
<https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1935981>
92. Jin K., Zhou J., Zuo Q. et al. UBE2I stimulates female gonadal differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryos // J. Integr. Agric. 2021. V. 20. P. 2–10.
[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63486-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63486-4)
93. Kinsella C.M., Ruiz-Ruano F.J., Dion-Côté A.M. et al. Programmed DNA elimination of germline development genes in songbirds // Nat. Commun. 2019. V. 10. P. 5468.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-13427-4>
94. Ezaz T., Deakin J.E. Repetitive sequence and sex chromosome evolution in vertebrates // Adv. Evol. Biol. 2014. Article ID: 104683. 9 p.
<https://doi.org/10.1155/2014/104683>
95. Nagahama Y., Chakraborty T., Paul-Prasanth B. et al. Sex determination, gonadal sex differentiation and plasticity in vertebrate species // J. Physiol. Rev. 2020. P. 213.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2019>

Natural and Experimental Sex Reversal in Birds and Other Groups of Vertebrates, Except Mammals

A. F. Smirnov^a, D. Yu. Leoke^b, and A. V. Trukhina^{a, *}

^a*Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 199034 Russia*

^b*Biological Station "Rybachy" of Zoological Institute of Russian Academy of Sciences,
Kaliningrad Region, p. Rybachii, 238535 Russia*

**e-mail: trukhina_ant@mail.ru*

The article is devoted to the actual problem – the phenomenon of sex determination. Many scientific articles have been published on this problem, but all the details of its mechanisms have not yet been disclosed, since they are very diverse. The article summarizes the new material obtained in the study of cases of natural and experimental sex reversal in vertebrates. Representatives of cold-blooded vertebrates (fish, amphibians, reptiles) and warm-blooded (birds) are considered. Sex reversal that occurs both in natural conditions and under experimental conditions can be the result of genetic disorders that manifest themselves in the early stages of embryonic development, and normal changes that occur in sexually mature animals under the control of the neuroendocrine system. It is assumed that sex reversal and sex determination may be interrelated phenomena. Particular attention is paid to inversion and determination of sex in birds; works on experimental sex reversal in these animals are considered in detail. For this, the data of scientific works on the relationship between the phenotypic manifestation of sex at the cellular, tissue and organ levels, its chromosomal and hormonal determination, as well as genetic and epigenetic control are summarized. At the end of the article, promising directions in the study of natural and experimental sex inversion in vertebrates are proposed.

Keywords: sex determination, sex reversal, genetic control, epigenetic control, hormonal sex determination, Vertebrates.

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 575.13,3578.894

ПРИОНЫ КАК НЕКАНОНИЧЕСКИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФАКТОРЫ

© 2022 г. О. Н. Тиходеев*, **

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: tikhodeyev@mail.ru

**e-mail: o.tihodeev@spbu.ru

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 27.12.2021 г.

Принята к публикации 17.01.2022 г.

Настоящий обзор посвящен разнообразию прионов (инфекционных частиц белковой природы), а также механизмам их воспроизведения. Рассмотрены различные штаммы одного и того же приона. Показано, что любой штамм приона, независимо от своей молекулярной организации и видовой принадлежности, при пассировании на изогенном гомозиготном фоне представляет собой вирусоподобный наследственный фактор. Его свойства совместно обусловлены двумя параметрами: во-первых, аминокислотной последовательностью прионного белка, которая детерминирована нуклеотидной последовательностью соответствующего гена, а во-вторых, конкретным состоянием данного белка. Изменение любого из двух перечисленных параметров, если оно стабильно и нелегально, приводит к возникновению нового штамма приона. Таким образом, по сравнению с каноническими наследственными факторами штаммы прионов имеют более сложную (бимодулярную) природу. Бимодулярный принцип очень удобен и для описания любых состояний отсутствия приона. Рассмотрен вопрос о включении прионов в систему общегенетических представлений о наследственных факторах.

Ключевые слова: белковая наследственность, прионы, штаммы прионов, бимодулярные наследственные факторы.

DOI: 10.31857/S0016675822060121

Прионы (инфекционные частицы белковой природы [1–3]) весьма разнообразны по своей молекулярной организации. Большинство из них являются амилоидами – фибриллярными белковыми агрегатами с отчетливо выраженной кросс-бета структурой. Такие агрегаты способны расти, присоединяя к себе новые молекулы прионного белка с изменением их нативной конформации в амилоидную, а затем фрагментироваться под действием специфических шаперонов, что приводит к возникновению новых поколений агрегатов с теми же свойствами [4–6]. Амилоидные прионы известны у дрожжей-сахаромицетов [6, 7], плесневого гриба *Podospora anserina* [8] и некоторых млекопитающих, включая человека [3–5].

Помимо амилоидных существуют и другие прионы. К настоящему времени они выявлены только у грибов. В этих случаях прионизированное состояние белка воспроизводится за счет неких автокаталитических процессов. В частности, описаны неамилоидные прионы, в основе поддержания которых лежит фосфорилирование белков [9], химическая модификация гистонов [10], протеолитическое расщепление [11], взаимодействие между негомологичными белками

[12]. Разнообразие перечисленных механизмов позволяет предположить, что любой или почти любой молекулярный процесс, способный поддерживать измененное состояние белка посредством некой положительной обратной связи, потенциально может продуцировать неамилоидные прионы.

Прионы млекопитающих заслуживают пристального внимания в связи с тем, что они индуцируют тяжелые нейродегенеративные патологии, пока не поддающиеся лечению [13, 14]. Прионы грибов интересны с двух точек зрения. Во-первых, амилоидные прионы грибов являются удобной моделью для детального изучения механизмов формирования амилоидных агрегатов [15]; решать эту задачу на млекопитающих довольно трудно. Во-вторых, прионы грибов способны передаваться в клеточных делениях и тем самым являются неканоническими наследственными факторами [5, 6, 16]. Всестороннее изучение таких прионов крайне важно для построения современных общегенетических концепций, охватывающих все разнообразие наследственных факторов, как канонических, так и неканонических.

До сих пор все фундаментальные генетические концепции (хромосомная теория наследственности, теория мутационного процесса, центральная догма молекулярной биологии, синтетическая теория эволюции и т.п.) базируются на представлениях середины прошлого века, утверждающих, что единственным материалом наследственности является ДНК (у некоторых вирусов — геномная РНК). Наследуемые прионы не укладываются в эту парадигму (они имеют эпигенетическую, точнее — белковую природу), а потому при их описании используют терминологию, никак не связанную с ключевыми понятиями генетики. Более того, прионная терминология была сформирована в отрыве от понятий, используемых для других эпигенетических наследственных факторов, например для эпиааллелей, обусловленных метилированием ДНК или химической модификацией гистонов. В результате генетическая фактология оказалась фрагментированной на множество разрозненных направлений, что препятствует разработке современных общегенетических концепций.

Эту проблему можно успешно преодолеть. Дело в том, что один и тот же наследуемый прион может быть представлен множеством разных вариантов (штаммов), в том числе существенно различающихся своими свойствами [17, 18]. Нетрудно заметить отчетливую аналогию с разными аллелями одного и того же гена. В соответствии с этим мы вправе рассматривать разные варианты одного и того же приона в качестве *прионных аллелей* [16]. Специфические свойства каждого такого аллеля совместно обусловлены двумя параметрами: во-первых, аминокислотной последовательностью прионного белка, которая детерминирована нуклеотидной последовательностью соответствующего гена, а во-вторых, конкретным состоянием данного белка. В связи с этим любой прионный аллель является *бимодулярным* наследственным фактором, свойства которого определяются взаимодействием *ДНКовой детерминанты* и *эпигенетической детерминанты* [16]. Например, в случае дрожжевого приона [PSI^+] (амилоидные агрегаты из аномально уложенных молекул белка SUP35 [6, 7]) ДНКовая детерминанта представлена конкретной нуклеотидной последовательностью гена *SUP35*, а эпигенетическая — конкретным вариантом амилоидной укладки SUP35p.

Предложенный нами *бимодулярный принцип* очень удобен для описания любых прионных аллелей, а также любых состояний отсутствия приона. В частности, конкретный аллель [PSI^+] получает обозначение $SUP35^i[PSI^+]^j$, где i и j символизируют соответствующую ДНКовую и эпигенетическую детерминанту. По аналогии конкретное состояние [psi^-] (отсутствие приона, т.е. нативная конформация прионного белка) получает обозначение $SUP35^i[psi^-]^j$. В зависимости от ДНКовой детер-

минанты такие *прионные нуль-аллели* существенно варьируют по своим фенотипическим проявлениям, например по способности конвертировать в состояние [PSI^+] (см. ниже).

Бимодулярный принцип успешно применим не только к прионам. Он универсален для любых эпигенетических наследственных факторов вне зависимости от их молекулярной организации [19], что создает хорошие перспективы для объединения разных направлений эпигенетики. В настоящем обзоре мы продемонстрируем, что прионы млекопитающих тоже охватываются бимодулярным принципом.

ПРИОНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Способность формировать прионы строго доказана или весьма вероятно по меньшей мере для пяти белков млекопитающих: PrP, α -синуклеина, белка *tau*, Cu/Zn супероксиддисмутаза, а также бета-амилоидного пептида. Их свойства подробно рассмотрены в многочисленных обзорах [7, 8, 20], а потому мы сконцентрируемся только на деталях, имеющих непосредственное отношение к бимодулярному принципу.

Наиболее изученным прионом млекопитающих является PrP^{Sc}, амилоидная форма белка, кодируемого геном *PRNP* (*prion protein*). Этот прион накапливается в цитоплазме различных типов клеток, главным образом — в фолликулярных дендритных клетках и нейронах центральной нервной системы. PrP^{Sc} инфекционен как при инъекциях, так и при естественной передаче между организмами через пищеварительную систему или различные жидкости. При этом он способен преодолевать некоторые, но не все межвидовые барьеры [21].

Амилоидные агрегаты α -синуклеина, небольшого белка, кодируемого геном *SNCA*, тоже локализованы в цитоплазме. Они формируются в нейронах головного мозга, главным образом в *substantia nigra*, и могут быть переданы здоровым особям [22]. Однако такая передача возможна только посредством инъекций.

Белок *tau* представляет собой целый спектр родственных полипептидов, образующихся в результате альтернативного сплайсинга первичного транскрипта, считываемого с гена *MAPT*. Данный белок в гиперфосфорилированном состоянии формирует амилоидные агрегаты, обнаруживаемые в цитоплазме различных нейронов головного мозга. Инфекционность этих агрегатов на клеточном уровне не вызывает сомнений, однако их способность передаваться между организмами остается пока дискуссионной [23].

Молекулы Cu/Zn супероксиддисмутаза (продукта гена *SOD1*) претерпевают при определенных обстоятельствах неправильную укладку, в результа-

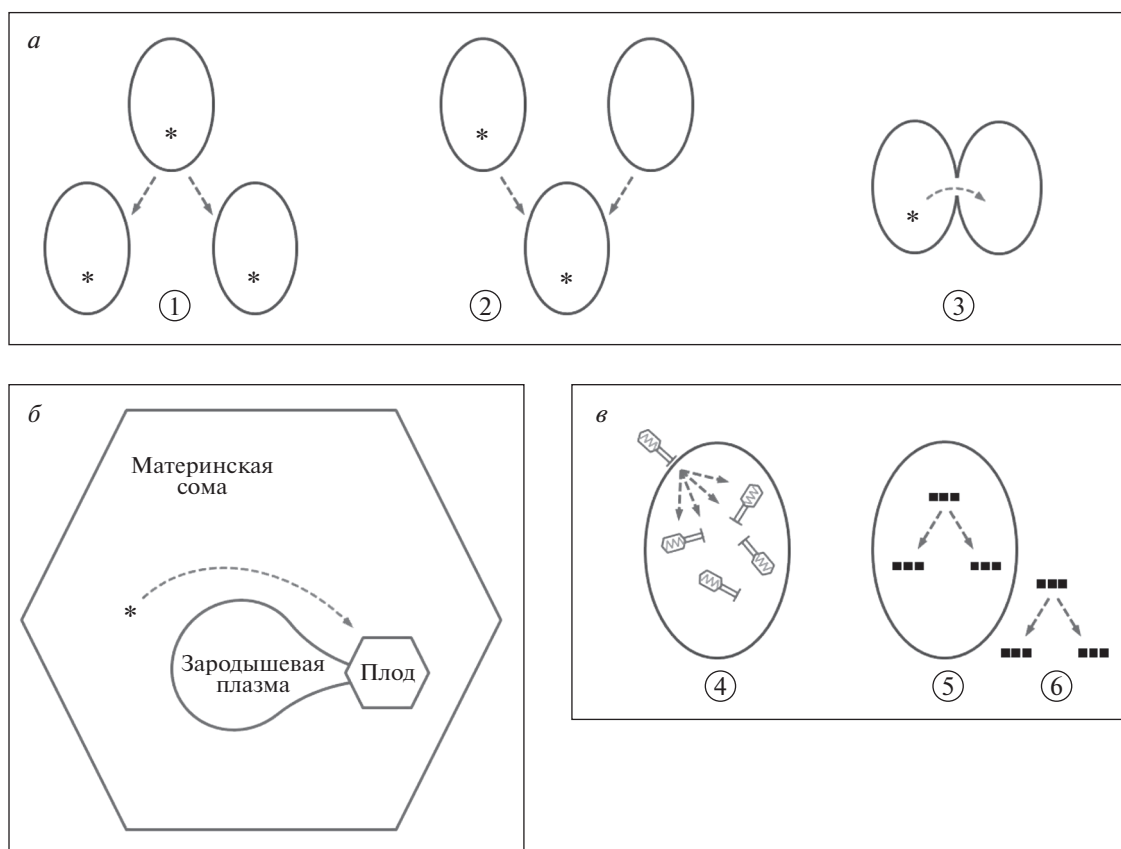


Рис. 1. Разнообразие путей наследования. *а* – обобщенная схема наследования от клетки к клетке; *б* – обобщенная схема наследования от тела к телу у млекопитающих за счет передачи воспроизводимых молекулярных структур от матери плоду через плаценту; *в* – обобщенная схема наследования у неклеточных объектов. Овалами обозначены клетки; шестиугольниками – многоклеточные организмы; звездочками – наследственные факторы; черными квадратами – прионизированные белки на примере амилоидов. Цифрами в кругах обозначены: 1 – клеточное деление, 2 – оплодотворение, 3 – конъюгация или цитодукция, 4 – размножение вирусов, 5 – размножение внутриклеточных прионов, 6 – размножение внеклеточных прионов.

те чего в нейронах спинного мозга формируются цитоплазматически локализованные амилоидные агрегаты. В дальнейшем указанные амилоиды прогрессивно распространяются и на соседние клетки [24], но случаи их передачи от одного организма к другому пока неизвестны.

Бета-амилоидный пептид образуется в результате протеолиза белка, кодируемого геном *APP* (transmembrane amyloid precursor protein). В отличие от вышеупомянутых прионов млекопитающих амилоидные агрегаты данного белка (A β) локализованы в межклеточных пространствах головного мозга. Многочисленные косвенные данные свидетельствуют о том, что эти агрегаты могут передаваться между организмами [25], однако надежных подтверждений до сих пор не получено.

Ни один из перечисленных прионов млекопитающих не обнаружен в гаметх или стволовых клетках. В соответствии с этим принято считать, что указанные прионы не наследуются ни мейотически, ни митотически. Тем не менее существует ряд

аргументов, позволяющих рассматривать прионы млекопитающих в качестве специфических наследственных факторов.

РАЗНООБРАЗИЕ ПУТЕЙ НАСЛЕДОВАНИЯ

Под наследственностью понимают способность биологических объектов передавать свои признаки (точнее – их задатки) от предков потомкам. Чаще всего такая передача осуществляется за счет клеточных делений или слияний (оплодотворения, конъюгации, цитодукции и т.п.); данный путь называют наследованием *от клетки к клетке* (рис. 1, *а*) [26, 27]. Однако существуют и другие пути передачи наследственных задатков.

Один из них – наследование *от тела к телу* [26, 27]: потомок получает некоторые наследственные задатки от своего родителя, но неканоническим путем. У млекопитающих в основе этого явления может лежать передача каких-либо воспроизводимых молекул из материнской сомы в плод через плаценту. Реальность такого пути на-

следования доказана для мунтжаков (*Muntiacus reevesi*) и вапити (*Cervus canadensis nelsoni*), причем у последних агрегаты PrP эффективно передаются плоду от матери не только в лабораторных условиях, но и в природе [28, 29]. По сути речь идет о горизонтальном переносе белковых наследственных задатков от родителя потомкам (рис. 1, б). Инфекции, возникающие при передаче агрегатов PrP через пищеварительную систему [21], являются примерами сходного горизонтального переноса, но между неродственными особями.

Еще один путь наследования характерен для вирусов. Несмотря на свою неклеточную организацию, они широко используются в качестве модельных генетических объектов. В частности, бактериофаг T4 сыграл важную роль в доказательстве делимости гена [30, 31]. Нетрудно заметить, что наследование у вирусов не вписывается ни в один из двух перечисленных путей. Действительно в данном случае биологическими объектами являются не организмы или клетки, а вирусные частицы. Организмы или отдельные клетки используются лишь в качестве “внешней среды”, необходимой для размножения вирусных частиц и выявления их наследуемых свойств.

Подобно вирусам прионы тоже не имеют клеточной организации и тоже нуждаются в организмах или отдельных клетках лишь в качестве “внешней среды” для своего размножения. Однако поскольку молекулярная организация вирусов и прионов неодинакова логично вычленим два близких пути наследования: *от вируса к вирусу* и *от приона к приону* (рис. 1, в).

Чтобы продемонстрировать общие закономерности наследования от приона к приону, рассмотрим различные варианты (штаммы) одного и того же приона у грибов и млекопитающих.

ВАРИАНТЫ ОДНОГО И ТОГО ЖЕ ПРИОНА У ГРИБОВ

К настоящему времени наибольшее число вариантов (по меньшей мере несколько сотен) выявлено у дрожжевого приона $[PSI^+]$ – амилоидных агрегатов белка SUP35. Указанные варианты могут различаться своими аминокислотными последовательностями, морфологией амилоидных агрегатов, долей прионизированного SUP35p, взаимодействием со специфическими мутациями, митотической и/или мейотической стабильностью, фенотипическими проявлениями и некоторыми другими характеристиками [16, 18]. Ниже мы кратко рассмотрим несколько примеров такого разнообразия.

Находясь в своей нативной конформации, белок SUP35 является эукариотическим фактором терминации трансляции [32]. В прионизированном состоянии он утрачивает эту функцию, что

приводит к снижению эффективности распознавания всех трех типов нонсенс-кодонов. В связи с этим прион $[PSI^+]$ фенотипически проявляется как омпотентный нонсенс-супрессор [33]. В зависимости от конкретного варианта $[PSI^+]$ эффективность нонсенс-супрессии существенно варьирует, в результате чего различают сильные и слабые варианты ($[PSI^+]^S$ и $[PSI^+]^W$ соответственно). Некоторые варианты $[PSI^+]$ настолько слабы, что не способны обеспечить почти никакой супрессии [34].

$[PSI^+]$ благодаря своей цитоплазматической локализации ведет себя как нехромосомный наследственный фактор. Как правило, сильные варианты демонстрируют высокую стабильность и в митозах, и в мейозах (все потомки клетки, несущей $[PSI^+]$, получают данный прион). Стабильность некоторых слабых вариантов существенно ниже, иногда составив всего 40–60% [17]. Особенно низкая стабильность присуща так называемым “токсичным вариантам” [35], однако она обусловлена не ослабленным воспроизведением прионных агрегатов, а отбором против клеток с соответствующим вариантом $[PSI^+]$.

Указанная токсичность может быть результатом взаимодействия между некоторыми вариантами $[PSI^+]$ и конкретными мутациями. Например, при объединении с мутантным аллелем *sup45-2*, который сам обладает свойствами омпотентного супрессора, некоторые варианты $[PSI^+]$ вызывают доминантный летальный эффект [34]. В этом взаимодействии участвуют и некоторые другие гены [35, 36].

Способность SUP35p к прионизации во многом определяется его аминокислотной последовательностью, которая детерминирована нуклеотидной последовательностью гена SUP35. Нормальный продукт данного гена содержит три домена (N, M и C). Последний из них необходим для жизнеспособности клетки [36, 37], а потому исследованные изменения аминокислотной последовательности SUP35p локализованы главным образом в N- и M-доменах. К настоящему времени изучены многие десятки таких изменений, и некоторые оказывают существенное влияние на свойства $[PSI^+]$ [15, 38–42]. N-домен абсолютно необходим для прионизации, а потому получил название “прионный домен”. В его отсутствие (т.е. при делеции соответствующего участка гена) SUP35p не способен продуцировать $[PSI^+]$ [37, 38].

Как правило, прионизируется не весь пул молекул SUP35p: некоторые молекулы сохраняют нативную конформацию, иначе клетка погибла бы из-за отсутствия жизненно важной функции C-домена. Доля прионизированного SUP35p существенно варьирует у разных вариантов $[PSI^+]$: у $[PSI^+]^S$ она обычно выше, чем у $[PSI^+]^W$ [40, 43].

Любая частица [*PSI*⁺] представляет собой амилоидную фибриллу, в которой все молекулы имеют сходные кросс-β-структуры, служащие конформационными матрицами для новых поколений агрегатов SUP35p. Однако данный белок способен переходить в разные амилоидные конформации, различающиеся пространственным расположением и количеством кросс-β-структур [6, 15]. Даже молекулы с идентичными аминокислотными последовательностями могут агрегировать различными способами с образованием фенотипически разных вариантов [*PSI*⁺] [15, 44].

При определенных обстоятельствах каждый вариант [*PSI*⁺] является наследуемым: он продуцирует новые поколения агрегатов с такими же свойствами. Существование как минимум нескольких наследуемых вариантов продемонстрировано и для ряда других прионов грибов, в частности — для [*PIN*⁺] и [*URE3*] у дрожжей-сахаромицетов, а также для [*Het-S*] у *Podospora anserina* [17, 18, 40, 45, 46]. Аналогичную ситуацию нетрудно получить и для любого другого приона дрожжей: достаточно прионизировать молекулы соответствующего белка, отличающиеся хотя бы одной аминокислотной заменой. Даже если полученные варианты окажутся фенотипически неотличимыми, они будут разными, подобно разным аллелям при молчащем нуклеотидном полиморфизме.

ШТАММЫ ОДНОГО И ТОГО ЖЕ ПРИОНА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Разные варианты одного и того же приона у млекопитающих чаще всего называют штаммами. Яркой иллюстрацией этого явления служат многочисленные штаммы PrP^{Sc} у овец, коз, крупного рогатого скота, оленей, норок, хомячков, мышей и человека [47–50]. Каждый штамм PrP^{Sc}, если он демонстрирует достаточную стабильность, обладает рядом свойств, сохраняющихся в многократных пассажах при использовании организмов или клеточных линий определенного вида. Некоторые примеры этого разнообразия кратко рассмотрены ниже.

Обязательным условием для возможности продуцировать PrP^{Sc} или воспроизводить его после инфицирования является наличие в организме/клетке гена *PRNP* [51]. Более того, от конкретных нуклеотидных последовательностей этого гена зависят некоторые свойства PrP^{Sc}. В первую очередь это касается аминокислотной последовательности PrP, а она может существенно влиять на другие характеристики приона. Так, у мышей штаммы PrP^{Sc}, в которых одновременно присутствуют 108L и 189T, отличаются более коротким инкубационным периодом по сравнению со штаммами, несущими 108F и 189V [52]. Если при перенесении PrP^{Sc} в организм или клетку с новой нуклео-

тидной последовательностью *PRNP* образуются молекулы PrP хотя бы с одним единственным аминокислотным отличием, возникает новый штамм данного приона. При этом не имеет значения будет ли он фенотипически отличаться от “родительского” (см. раздел, посвященный вариантам одного и того же приона у грибов). Таким образом, каждый штамм PrP^{Sc} способен воспроизводиться только на фоне строго определенной нуклеотидной последовательности гена *PRNP*.

На уровне своей молекулярной организации разные штаммы PrP^{Sc} могут отличаться друг от друга и иными особенностями, в частности — спецификой гликозилирования [53], устойчивостью к хаотропным агентам [54], устойчивостью к протеиназе К [55], электрофоретической подвижностью после воздействия протеиназы К [56]. Последняя характеристика заслуживает особого внимания. Если два или более штаммов PrP^{Sc}, независимо возникших на фоне гомозиготности по строго определенной нуклеотидной последовательности *PRNP*, а значит идентичных по своим аминокислотным последовательностям, демонстрируют неодинаковую электрофоретическую подвижность, это считается свидетельством того, что указанные штаммы имеют разную амилоидную конформацию [49]. Ярким примером таких различий служат штаммы Drowsy (DY) и Нурет (HY) у золотого хомячка [57].

Штаммы PrP^{Sc} могут заметно отличаться друг от друга своими клиническими эффектами, в частности — локализацией в головном мозге. Так, штаммы 22L и ME7 овец, будучи перенесенными в мышей линии C57BL/10, обнаруживаются в разных отделах головного мозга: первый — преимущественно в астроглие, а второй — главным образом в нейронах и нейропиле [58].

Еще одной важной клинической характеристикой штаммов PrP^{Sc} являются вызываемые ими поведенческие нарушения. Упомянутые выше штаммы DY и HY золотого хомячка четко различаются по этой характеристике: DY провоцирует летаргическое состояние, в то время как HY приводит к гипервозбудимости. Соответствующие инкубационные периоды тоже неодинаковы: обусловленные штаммом DY поведенческие нарушения становятся заметны примерно в 3 раза позже, нежели нарушения, вызванные штаммом HY [57].

Вся совокупность молекулярных (*in vitro*) и клинических (*in vivo*) особенностей конкретного штамма PrP^{Sc} сохраняется в многократных пассажах на фоне изогенной гомозиготной ДНК. Это значит, что новые поколения прионных агрегатов наследуют свойства своего “родителя”. Таким образом, частицы конкретного штамма PrP^{Sc} при пассировании в организмах или отдельных клетках на фоне изогенной гомозиготной ДНК пред-

ставляют собой эпигенетические наследственные факторы, соответствующие пути наследования от приона к приону (рис. 1, в).

Та же логика применима и к штаммам АВ [59]. Более того, она способна охватить любые другие прионы млекопитающих, если для них будут выявлены штаммы, различающиеся хотя бы одним аминокислотным положением или же нюансами амилоидной конформации.

ПРИОНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КАК БИМОДУЛЯРНЫЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФАКТОРЫ

Как уже было отмечено нами выше, каждый конкретный штамм приона млекопитающих при воспроизведении на фоне строго изогенной гомозиготной ДНК представляет собой, подобно штаммам дрожжевых прионов, эпигенетический наследственный фактор, соответствующий пути наследования от приона к приону. Поэтому в дальнейшем мы будем обозначать прионы млекопитающих курсивом, как это принято для прионов дрожжей. Кроме того, мы будем ставить соответствующие обозначения в фигурные скобки ($\{PrP^{Sc}\}$, $\{A\beta\}$ и т.п.). Это связано со следующими причинами. Во-первых, прионы имеют неядерную локализацию, что у грибов принято обозначать прямыми скобками ($[PSI^+]$, $[PIN^+]$, $[URE3]$, $[Het-S]$ и т.п.). Во-вторых, прионы млекопитающих, в отличие от грибных, не передаются дочерним организмам/клеткам посредством клеточных делений или слияний. Именно для отражения этой специфики мы будем использовать для прионов млекопитающих фигурные, а не прямые скобки.

Тот факт, что некоторые прионы млекопитающих существуют в виде множества разных штаммов, полностью соответствует фундаментальным генетическим представлениям об аллельных состояниях гена (речь идет о гене в классическом понимании, не ограниченном узкомолекулярными трактовками). В связи с этим мы имеем право рассматривать разные штаммы одного и того же приона млекопитающих как его аллельные формы. Ранее [16] понятие “прионный аллель” использовалось нами только для прионов грибов, теперь мы распространяем его и на прионы млекопитающих.

Следует особо оговорить, что данное понятие применимо лишь к штаммам, пассируемым в организмах или клетках одного и того же вида. Так, штаммы $\{PrP^{Sc}\}$ 22L и ME7 овец аллельны друг другу. То же самое справедливо и для их мышинных производных. Однако штамм $\{PrP^{Sc}\}$ 22L овец и результат его адаптации у мышей не аллельны друг другу, а ортологичны. Это связано с тем, что овечий и мышинный PrP кодируются ортологич-

ными последовательностями *PRNP* (ортологичные последовательности ДНК не аллельны друг другу).

Итак, свойства конкретного аллеля приона обусловлены, во-первых, нуклеотидной последовательностью гена, кодирующего прионный белок, а во-вторых, состоянием данного белка. В соответствии с этим аллели любого приона можно рассматривать как бимодулярные наследственные факторы [16]. Например, конкретный аллель $\{PrP^{Sc}\}$ может быть обозначен $PRNP^i\{PrP^{Sc}\}_j$, где $PRNP^i$ – ДНКовая детерминанта (нуклеотидная последовательность гена *PRNP*), а $\{PrP^{Sc}\}_j$ – эпигенетическая детерминанта (конкретная амилоидная конформация $\{PrP^{Sc}\}$). Если сопоставляются прионы разных видов, должна быть указана и видовая принадлежность *PRNP*. Например, аллели 22L и ME7 $\{PrP^{Sc}\}$ овец (*Ovis aries*) получают обозначения $OaPRNP\{PrP^{Sc}\}^{22L}$ и $OaPRNP\{PrP^{Sc}\}^{ME7}$ с детализацией нуклеотидных последовательностей *OaPRNP*. В результате адаптации этих аллелей у мышей будут получены их ортологи $MmPRNP\{PrP^{Sc}\}^{22L}$ и $MmPRNP\{PrP^{Sc}\}^{ME7}$, опять-таки с соответствующей детализацией ДНКовых детерминант.

Иногда в ходе адаптации приона к новой ДНКовой детерминанте его эпигенетическая детерминанта остается неизменной; по-видимому, это довольно типично для дрожжей [16]. Между тем у млекопитающих в процессе адаптации эпигенетическая детерминанта обычно претерпевает некие изменения (исходная $\{PrP^{Sc}\}$ преобразуется в $\{PrP^{Sc}\}^*$). Это приводит к так называемым “мутациям приона”, особенно часто наблюдаемым при переносе приона в другой вид животных [60]. В простейшем случае перенесенный штамм приона быстро замещается новым, адаптированным. Однако нередко на основе исходной эпигенетической детерминанты возникает смесь различных ее производных [49]. Более того, если эта смесь нестабильна, из нее постепенно, через несколько пассажей, может сформироваться новый штамм приона [61, 62]. На первый взгляд такой сложный сценарий не имеет ничего общего с закономерностями мутационного процесса. Тем не менее даже канонические точковые мутации происходят не в один шаг: они осуществляются через довольно протяженную промежуточную стадию, в ходе которой структура первичного повреждения ДНК может претерпевать значительные изменения под действием разнообразных механизмов репарации [63].

На основе бимодулярного принципа можно объяснить и стабильное сосуществование разных прионных аллелей в одном и том же организме или одной и той же клетке. Во-первых, при гетерозиготности организма/клетки по гену *PRNP* могут сформироваться два аллеля $\{PrP^{Sc}\}$, разли-

чающихся своими ДНКовыми детерминантами ($PRNP^x\{PrP^{Sc}\}$ и $PRNP^y\{PrP^{Sc}\}$). Такая ситуация возможна в том случае, если молекулы прионного белка, различающиеся своими аминокислотными последовательностями, не могут быть включены в один и тот же амилоидный агрегат. Во-вторых, на основе конкретной аминокислотной последовательности прионного белка могут быть сформированы разные прионные аллели, различающиеся своими эпигенетическими детерминантами ($PRNP^i\{PrP^{Sc}\}_x$, $PRNP^i\{PrP^{Sc}\}_y$, $PRNP^i\{PrP^{Sc}\}_z$ и т.п.). Наконец, оба вышеописанных сценария могут быть реализованы совместно, в результате чего сформируется сложная комбинация прионных аллелей.

Как уже было отмечено выше, прионные аллели известны не только для $\{PrP^{Sc}\}$, но и для $\{A\beta\}$ [59, 64]. Конкретный аллель $\{A\beta\}$ по аналогии с $PRNP^i\{PrP^{Sc}\}_j$ можно обозначить $APP^i\{A\beta\}_j$. В данном случае фигурные скобки дополнительно отражают тот факт, что агрегаты $\{A\beta\}$ способны формироваться и воспроизводиться в межклеточниках. Однако эта деталь не имеет принципиального значения для сути наследования по пути от приона к приону (рис. 1, в).

ПРИОННЫЕ НУЛЬ-АЛЛЕЛИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Одним из возможных аллельных состояний конкретного гена является его нуль-аллель, т.е. полное отсутствие. По аналогии отсутствие $\{PrP^{Sc}\}$ можно рассматривать в качестве прионного нуль-аллеля. Данное состояние традиционно обозначают PrP^C (нативная конформация PrP). Мы полагаем, что этот символ логичнее записывать строчными буквами: $\{prp^C\}$, подобно $\{psi^-\}$ у дрожжей. Важно отметить, что сходство между $\{psi^-\}$ и $\{prp^C\}$ не ограничивается отсутствием соответствующего приона: известны разные варианты как $\{psi^-\}$, так и $\{prp^C\}$. Ниже мы кратко рассмотрим это явление.

У дрожжей различают три типа $\{psi^-\}$. Такое деление основано на их способности конвертировать в состояние $[PSI^+]$ в результате цитодукции или белковой трансформации. Первый тип представлен нуль-аллелями $SUP35^{ref}\{psi^-\}$, где *ref* обозначает типовые последовательности $SUP35$ с обычными вариантами нуклеотидного полиморфизма, не влияющими на свойства $SUP35p$. Нуль-аллели данного типа способны конвертировать в $SUP35^{ref}\{PSI^+\}$ при внесении в клетку широкого спектра амилоидных матриц [16, 65]. Вторым тип нуль-аллелей представлен молекулами $SUP35p$, имеющими нативную конформацию, но необычную аминокислотную последовательность, для прионизации которой необходимы

специфические амилоидные матрицы. Одной из наиболее известных нуль-аллелей данного типа является $SUP35^{PNM2}\{psi^-\}$ [40]. Наконец, нуль-аллели третьего типа принципиально не конвертируемы в состояние $[PSI^+]$. Ярким примером является $SUP35^{\Delta N}\{psi^-\}$ — белок $SUP35p$, полностью лишенный прионного домена [37, 38].

Хотя полиморфизм гена $PRNP$ изучен не столь подробно как в случае $SUP35$, уже сейчас известны аллели $\{prp^C\}$, различающиеся своей способностью конвертировать в $\{PrP^{Sc}\}$. Продемонстрируем это несколькими наглядными примерами. Прионные нуль-аллели $OaPRNP^{VRO}\{prp^C\}$ и $OaPRNP^{ARR}\{prp^C\}$ контрастно реагируют на введение в организм обычных овечьих $\{PrP^{Sc}\}$: первый эффективно конвертирует в $OaPRNP^{VRO}\{PrP^{Sc}\}$, а второй полностью нечувствителен к такому воздействию [66]. Прионные нуль-аллели коз $ChPRNP^{K222}\{prp^C\}$ и $ChPRNP^{Q222}\{prp^C\}$ резко различаются по спектру амилоидных матриц $\{PrP^{Sc}\}$, способных индуцировать прионизацию соответствующих PrP [67]. Наконец, полная делеция гена $PRNP$ (данный ген не является жизненно важным [68]) обуславливает такой прионный нуль-аллель, который в принципе не может быть конвертирован в $\{PrP^{Sc}\}$.

Следует подчеркнуть, что к настоящему времени у млекопитающих неизвестно ни одного прионного нуль-аллеля, аналогичного $SUP35^{\Delta N}\{psi^-\}$ у дрожжей. Тем не менее общая закономерность вполне очевидна: и у грибов, и у млекопитающих свойства конкретного прионного нуль-аллеля совместно детерминированы не только отсутствием прионных частиц, но и нуклеотидной последовательностью соответствующего гена. Таким образом, бимодулярный принцип в равной степени применим как к прионным аллелям, так и к прионным нуль-аллелям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Идея о том, что белки могли бы выполнять функцию генетического материала, немолода. В конце 20-х годов прошлого века, когда хромосомная теория наследственности еще только формировалась, большинство генетиков полагало, что носителями наследственной информации являются именно белки, а не ДНК [69, 70]. Такая точка зрения казалась вполне обоснованной с учетом более сложной молекулярной организации белков. С открытием генетической роли ДНК [71, 72] эта идея была надолго похоронена. В результате возникла ДНКовая теория наследственности [73], в соответствии с которой принимали за аксиому, что любые наследственные факторы имеют исключительно ДНКовую природу. При этом все фундаментальные генетические понятия (ген, аллель, генотип, мутация и т.п.) оказались жестко

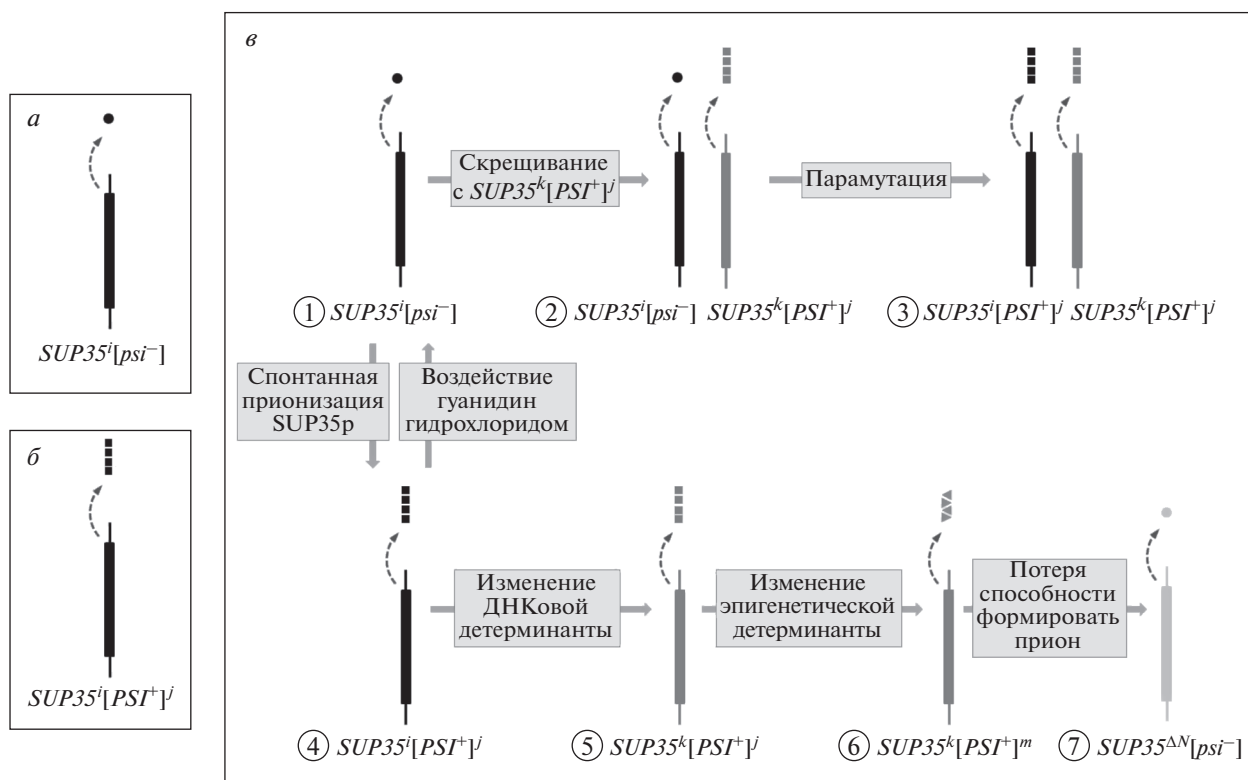


Рис. 2. Изменения прионных аллелей и прионных нуль-аллелей на примере различных вариантов $[PSI^+]$ и $[psi^-]$. *a* – обобщенная схема аллелей $[psi^-]$; *б* – обобщенная схема аллелей $[PSI^+]$; *в* – разнообразные изменения аллелей $[PSI^+]$ и $[psi^-]$. Закрашенными прямоугольниками обозначены нуклеотидные последовательности гена *SUP35*; закрашенными мелкими кругами – SUP35p в нативной конформации; закрашенными квадратами и треугольниками – различные варианты прионизированного SUP35p; черным, темно-серым и светло-серым цветом – разные ДНКовые детерминанты и соответствующие им аминокислотные последовательности. Цифрами в кругах обозначены: 1 – аллель $[psi^-]$, способный конвертировать в $[PSI^+]$; 2 – гетерозигота $[psi^-]/[PSI^+]$, возникшая сразу после слияния клеток *SUP35[psi^-]* и *SUP35^k[PSI⁺]^j*; 3 – гетерозигота с двумя разными аллелями $[PSI^+]$, возникшая из 2 в результате парамутации; 4 – аллель $[PSI^+]$, возникший в результате спонтанной прионизации SUP35p в 1; 5 – новый прионный аллель, возникший в результате изменения ДНКовой детерминанты в 4; 6 – новый прионный аллель, возникший в результате изменения эпигенетической детерминанты в 5; 7 – аллель $[psi^-]$, неспособный конвертировать в $[PSI^+]$. Для каждого прионного аллеля или нуль-аллеля представлено его бимодулярное описание. Изменение любой из двух детерминант или одновременно обеих, если оно стабильно и не летально, приводит к возникновению нового бимодулярного аллеля.

привязанными к первичной структуре молекул ДНК. То же самое произошло и с понятием “генетический”.

Попытки рассмотреть хотя бы теоретическую возможность наследственной роли генных продуктов [74–77] не привлекали к себе серьезного внимания. Только после открытия таких явлений как кортикальная наследственность у инфузорий [78], наследование центриолей [79], прионы грибов [44, 80], наследование гистонового кода [81], альтернативные состояния бактериальных эпигенов [82] и т.п. идея белковой наследственности начала постепенно становиться одним из элементов неканонической генетики [83].

В прионной тематике эта идея была преобразована в так называемую “protein-only” гипотезу [43, 56, 84, 85], в соответствии с которой “*prion strain specificity is believed to be encoded at the level of protein conformation*” (см. [48], р. 99). Данная гипотеза

вовполне справедлива в том смысле, что инфекционным агентом является исключительно белок. Однако словосочетание “protein-only” порождает неверное впечатление, что все свойства новых поколений прионных частиц детерминированы состоянием “родительских”. На самом же деле свойства “дочерних” частиц обусловлены не только состоянием белка в “родительских” частицах, но нуклеотидной последовательностью соответствующего гена, ведь аминокислотная последовательность прионного белка тоже существенно влияет на эти свойства [50, 86, 87]. Таким образом, бимодулярный принцип существенно адекватнее “protein-only” гипотезы. Более того, он обеспечивает простую и удобную систему обозначений прионных аллелей и прионных нуль-аллелей (рис. 2).

Первый шаг к включению прионов в единую систему наследственных факторов был сделан

Таблица 1. Разнообразие аллелей по их локализации и молекулярной природе

Принцип классифицирования		Молекулярная природа аллелей	
		каноническая	неканоническая
Локализация аллелей	Каноническая (хромосомная)	Аллели, обусловленные полиморфизмом нуклеотидных последовательностей хромосомной ДНК ¹	Эпиаллели, обусловленные степенью метилирования хромосомной ДНК или гистоновым кодом ²
	Неканоническая (нехромосомная)	Аллели, обусловленные полиморфизмом нуклеотидных последовательностей митохондриальной, пластидной, нуклеоидной, плазмидной или вирусной ДНК ^{3, 4}	Аллели, обусловленные нехромосомными эпигенетическими детерминантами (прионизированными состояниями белков, малыми РНК, различиями в структуре кортекса, альтернативными состояниями бактериальных эпигенов и т.п.) [19] ³

¹ Способны к менделевскому наследованию.

² Способны к менделевскому наследованию, если мейотически стабильны.

³ Не способны к менделевскому наследованию.

⁴ У некоторых вирусов аллели обусловлены полиморфизмом нуклеотидных последовательностей геномной РНК.

Ю.О. Черновым [83], предложившим рассматривать прионизированное и нативное состояния белка SUP35 в качестве аллелей. В дальнейшем Wickner и соавт. [88, 89] предложили считать прионы грибов белковыми генами. Tuite [90] обратил внимание на то, что переход SUP35^r из нативной конформации в прионную у гибридов [psi⁻] × [PSI⁺] соответствует понятию парамутация (изменение одного из двух аллелей в гетерозиготе, вызванное их специфическим взаимодействием) [91, 92]. В 2017 г., опираясь на изложенные выше соображения, мы разработали концепцию бимодулярности прионных аллелей и нуль-аллелей у грибов [16]. В настоящей работе мы делаем следующий шаг: распространяем нашу концепцию на прионы млекопитающих.

Феноменология прионных аллелей у грибов и млекопитающих очень близка. В обоих случаях речь идет о белковых инфекционных частицах, способных к воспроизведению в организмах или клетках с сохранением своих *in vivo* и *in vitro* характеристик (при пассировании на фоне изогенной гомозиготной ДНК). На первый взгляд прионные аллели — это некая экзотика, недостойная включения в общегенетические концепции. Однако современная генетика знакома с множеством неканонических явлений. На ранних этапах развития генетики все наследственные факторы имели хромосомную локализацию, что и привело к хромосомной теории наследственности. Но с открытием нехромосомного наследования стало ясно, что существуют аллели с неканонической локализацией [93, 94]. Другая каноническая точка зрения состояла в том, что все наследственные факторы имеют ДНКовую при-

роду [73]. Но и эта идея оказалась неверной: на рубеже XX и XXI веков была открыта эпигенетическая наследственность [95, 96]. Прионные аллели являются неканоническими и по своей молекулярной природе, и по локализации, придавая тем самым логическую завершенность современным представлениям о разнообразии наследственных факторов (табл. 1).

В табл. 2 разнообразие прионных явлений сопоставлено с явлениями канонической генетики. Существенное сходство этих явлений открывает широкие перспективы для построения современных генетических концепций, в равной степени охватывающих как каноническую, так и неканоническую фактологию.

Автор глубоко благодарен С.А. Бондареву и О.А. Тарасову за плодотворные дискуссии о бимодулярной организации прионов, а также Е.О. Тиходевой за помощь в подготовке рисунков.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен в рамках государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня “Агробиотехнологии будущего”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Таблица 2. Аналогии между прионными явлениями и явлениями канонической генетики

Прионное явление	Примеры у грибов	Примеры у млекопитающих	Аналог в канонической генетике
Прион	$[PSI^+]$	$\{PrP^{Sc}\}$	Ген
Прионный аллель	$SUP35[PSI^+]$	$PRNP\{PrP^{Sc}\}$	Аллель
Прионный нуль-аллель	$SUP35[psi^-]$	$PRNP\{prp^C\}$	Нуль-аллель
Существование двух вариантов прионного белка, один из которых прионизирован, а другой – нет	$SUP35[PSI^+]$ и $SUP35^{\Delta N}[psi^-]$	Пока неизвестны	Гетерозигота
Существование прионных аллелей, различающихся ДНКовыми детерминантами	$SUP35[PSI^+]$ и $SUP35^k[PSI^+]$	$PRNP\{PrP^{Sc}\}$ и $PRNP^k\{PrP^{Sc}\}$	
Существование прионных аллелей, различающихся эпигенетическими детерминантами	$SUP35[PSI^+]^m$ и $SUP35[PSI^+]^n$	$PRNP\{PrP^{Sc}\}^m$ и $PRNP\{PrP^{Sc}\}^n$	
Фенотипическое проявление аллеля $[PRION^+]$ в стабильной гетерозиготе $[PRION^+]/[prion^-]$	$SUP35[PSI^+]$ и $SUP35^{\Delta N}[psi^-]$	Пока неизвестны	Доминантный аллель, рецессивный аллель
Прионизация нативного прионного белка в гибриде $[prion^-] \times [PRION^+]$	$SUP35[psi^-]$ и $SUP35[PSI^+] \rightarrow SUP35[PSI^+]$	Пока неизвестны	Гомозиготизация аллеля
Перенос приона на новый для него фон ДНК	$SUP35[psi^-]$ и $SUP35^k[PSI^+] \rightarrow SUP35[PSI^+]$	Пока неизвестны	Парамутация
Перенос приона на новый для него фон ДНК	$SUP35[PSI^+] \rightarrow SUP35^k[PSI^+]$	$PRNP\{PrP^{Sc}\} \rightarrow PRNP^k\{PrP^{Sc}\}$	Трансгенез
Результаты переноса приона между разными видами	$ScSUP35[PSI^+]$ и $SeSUP35[PSI^+]$	$OaPRNP\{PrP^{Sc}\}$ и $MmPRNP\{PrP^{Sc}\}$	Ортологи
Воспроизведение конкретного варианта прионных частиц	Возникновение новых поколений агрегатов $SUP35[PSI^+]$	Возникновение новых поколений агрегатов $PRNP\{PrP^{Sc}\}$	Репликация генетического материала
Взаимодействие между разными прионами	Взаимодействие между $[SWI^+]$ и $[PIN^+]$ ²	Пока неизвестны	Взаимодействие генов

¹ Если белковые молекулы, различающиеся своими аминокислотными последовательностями, не способны коагрегировать в амилоиде.
² [97].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Diener T.O., McKinley M.P., Prusiner S.B.* Viroids and prions // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1982. V. 79. P. 5220–5224.
<https://doi.org/10.1073/pnas.79.17.5220>
2. *Prusiner S.B.* Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie // *Science.* 1982. V. 216. P. 136–144.
<https://doi.org/10.1126/science.6801762>
3. *Prusiner S.B.* Prions // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 13363–13383.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13363>
4. *Collinge J.* Mammalian prions and their wider relevance in neurodegenerative diseases // *Nature.* 2016. V. 539. P. 217–226.
<https://doi.org/10.1038/nature20415>
5. *Terry C., Wadsworth J.D.F.* Recent advances in understanding mammalian prion structure: A mini review // *Front. Mol. Neurosci.* 2019. V. 12. # 169.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00169>
6. *Crow E.T., Li L.* Newly identified prions in budding yeast, and their possible functions // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2011. V. 22. P. 452–459.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.03.003>
7. *Liebman S.W., Chernoff Y.O.* Prions in yeast // *Genetics.* 2012. V. 191. P. 1041–1072.
<https://doi.org/10.1534/genetics.111.137760>
8. *Wan W., Stubbs G.* Fungal prion HET-s as a model for structural complexity and self-propagation in prions // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 5201–5206.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1322933111>
9. *Kicka S., Bonnet C., Sobering A.K. et al.* A mitotically inheritable unit containing a MAP kinase module // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. P. 13445–13450.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0603693103>
10. *Harvey Z.H., Chakravarty A.K., Futia R.A., Jarosz D.F.* A prion epigenetic switch establishes an active chromatin state // *Cell.* 2020. V. 180. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.014>
11. *Roberts B.T., Wickner R.B.* Heritable activity: A prion that propagates by covalent autoactivation // *Genes Dev.* 2003. V. 17. P. 2083–2087.
<https://doi.org/10.1101/gad.1115803>
12. *Brown J.C.S., Lindquist S.* A heritable switch in carbon source utilization driven by an unusual yeast prion // *Genes Dev.* 2009. V. 23. P. 2320–2332.
<https://doi.org/10.1101/gad.1839109>
13. *Prusiner S.B., Scott M.R.* Genetics of prions // *Annu. Rev. Genet.* 1997. V. 31. P. 139–175.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.31.1.139>
14. *Prusiner S.B.* Biology and genetics of prions causing neurodegeneration // *Annu. Rev. Genet.* 2013. V. 47. P. 601–623.
<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155524>
15. *Bondarev S.A., Zhouravleva G.A., Belousov M.V., Kajaeva A.V.* Structure-based view on [PSI⁺] prion properties // *Prion.* 2015. V. 9. P. 190–199.
<https://doi.org/10.1080/19336896.2015.1044186>
16. *Tikhodeyev O.N., Tarasov O.V., Bondarev S.A.* Allelic variants of hereditary prions: the bimodularity principle // *Prion.* 2017. V. 11. P. 4–24.
<https://doi.org/10.1080/19336896.2017.1283463>
17. *Bradley M.E., Edskes H.K., Hong J.Y. et al.* Interactions among prions and prion “strains” in yeast // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. Suppl. 4. P. 16392–16399.
<https://doi.org/10.1073/pnas.152330699>
18. *Wickner R.B., Son M., Edskes H.K.* Prion variants of yeast are numerous, mutable, and segregate on growth, affecting prion pathogenesis, transmission barriers, and sensitivity to anti-prion systems // *Viruses.* 2019. V. 11. pii: E238.
<https://doi.org/10.3390/v11030238>
19. *Tikhodeyev O.N.* The mechanisms of epigenetic inheritance: how diverse are they? // *Biol. Rev.* 2018. V. 93. P. 1987–2005.
<https://doi.org/10.1111/brv.12429>
20. *Галкин А.П., Велижанина М.Е., Сопова Ю.В. и др.* Прионы и неинфекционные амилоиды млекопитающих – сходства и отличия // *Биохимия.* 2018. Т. 83. № 10. С. 1476–1489.
<https://doi.org/10.1134/S0320972518100044>
21. *Weissmann C., Enari M., Klöhn P.-C. et al.* Transmission of prions // *J. Infect. Dis.* 2002. V. 186. Suppl. 2. S. 157–165.
<https://doi.org/10.1086/344575>
22. *Luk K.C., Kehm V., Carroll J. et al.* Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice // *Science.* 2012. V. 338. P. 949–953.
<https://doi.org/10.1126/science.1227157>
23. *Kfoury N., Holmes B.B., Jiang H. et al.* Transcellular propagation of tau aggregation by fibrillar species // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 19440–19451.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.346072>
24. *Grad L.I., Yerbury J.J., Turner B.J. et al.* Intercellular propagated misfolding of wild-type Cu/Zn superoxide dismutase occurs via exosome-dependent and -independent mechanisms // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 3620–3625.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1312245111>
25. *Bu X.L., Xiang Y., Jin W.S. et al.* Blood-derived amyloid β protein induces Alzheimer’s disease pathologies // *Mol. Psychiatry.* 2018. V. 23. P. 1948–1956.
<https://doi.org/10.1038/mp.2017.204>
26. *Jablonka E., Lamb M.* Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life. Cambridge: MIT Press, 2005. 480 p.
27. *Jablonka E., Lamb M.J.* The evolution of information in the major transitions // *J. Theor. Biol.* 2006. V. 239. P. 236–246.
<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.08.038>
28. *Nalls A.V., McNulty E., Powers J. et al.* Mother to offspring transmission of chronic wasting disease in reeves’ muntjac deer // *PLoS One.* 2013. V. 8. e71844.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071844>
29. *Selariu A., Powers J.G., Nalls A. et al.* In utero transmission and tissue distribution of chronic wasting disease-associated prions in free-ranging rocky mountain elk // *J. Gen. Virol.* 2015. V. 96. P. 3444–3455.
<https://doi.org/10.1099/jgv.0.000281>

30. Benzer S. Fine structure of a genetic region in bacteriophage // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1955. V. 41. № 6. P. 344–354.
<https://doi.org/10.1073/pnas.41.6.344>
31. Benzer S. The elementary units of heredity // The Chemical Basis of Heredity. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1957. P. 70–93.
32. Zhouravleva G., Frolova L., Le Goff X. et al. Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors, eRF1 and eRF3 // EMBO J. 1995. V. 14. P. 4065–4072.
<https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00078.x>
33. Tuite M.F., Staniforth G.L., Cox B.S. [PSI⁺] turns 50 // Prion. 2015. V. 9. P. 318–332.
<https://doi.org/10.1080/19336896.2015.1111508>
34. Zhou P., Derkatch I.L., Uptain S.M. et al. The yeast non-Mendelian factor [ETA⁺] is a variant of [PSI⁺], a prionlike form of release factor eRF3 // EMBO J. 1999. V. 18. P. 1182–1191.
<https://doi.org/10.1093/emboj/18.5.1182>
35. Kiktev D.A., Inge-Vechtomov S.G., Zhouravleva G.A. Prion-dependent lethality of *sup45* mutants in *Saccharomyces cerevisiae* // Prion. 2007. V. 1. № 2. P. 136–143.
<https://doi.org/10.4161/pri.1.2.4533>
36. Матвеевко А.Г., Земляк О.М., Журавлева Г.А. Идентификация генов *Saccharomyces cerevisiae*, влияющих на синтетическую летальность приона [PSI⁺] с мутациями в гене *SUP45* // Мол. биология. 2013. Т. 47. № 4. С. 609–617.
<https://doi.org/10.7868/S0026898413040113>
37. Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V., Dagkesamanskaya A.R. et al. Deletion analysis of the *SUP35* gene of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* reveals two non-overlapping functional regions in the encoded protein // Mol. Microbiol. 1993. V. 7. P. 683–792.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1993.tb01159.x>
38. Bradley M.E., Liebman S.W. The Sup35 domains required for maintenance of weak, strong or differentiated yeast [PSIC] prions // Mol. Microbiol. 2004. V. 51. P. 1649–1659.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2003.03955.x>
39. Derkatch I.L., Bradley M.E., Zhou P., Liebman S.W. The PNM2 mutation in the prion protein domain of SUP35 has distinct effects on different variants of the [PSIC] prion in yeast // Curr. Genet. 1999. V. 35. P. 59–67.
<https://doi.org/10.1007/s002940050433>
40. King C.Y. Supporting the structural basis of prion strains: induction and identification of [PSI⁺] variants // J. Mol. Biol. 2001. V. 307. P. 1247–1260.
<https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4542>
41. Bondarev S.A., Shepachev V.V., Kajava A.V., Zhouravleva G.A. Effect of charged residues in the N-domain of Sup35 protein on prion [PSIC] stability and propagation // J. Biol. Chem. 2013. V. 288. P. 28503–28513.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.471805>
42. Bondarev S.A., Shirokolobova E.D., Trubitsina N.P., Zhouravleva G.A. Modification of [PSI⁺] prion properties by combining amino acid changes in N-terminal domain of Sup35 protein // Mol. Biol. 2014. V. 48. P. 270–277.
<https://doi.org/10.1134/S0026893314020034>
43. Tanaka M., Chien P., Naber N. et al. Conformational variations in an infectious protein determine prion strain differences // Nature. 2004. P. 428. P. 323–328.
<https://doi.org/10.1038/nature02392>
44. Derkatch I.L., Chernoff Y.O., Kushnirov V.V. et al. Genesis and variability of [PSI⁺] prion factor in *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. 1996. V. 144. P. 1375–1386.
<https://doi.org/10.1093/genetics/144.4.1375>
45. Coustou V., Deleu C., Saupe S.J., Bégueret J. Mutational analysis of the [Het-s] prion analog of *Podospora anserina*: A short N-terminal peptide allows prion propagation // Genetics. 1999. V. 153. P. 1629–1640.
<https://doi.org/10.1093/genetics/153.4.1629>
46. Schlumpberger M., Prusiner S.B., Herskowitz I. Induction of distinct [URE3] yeast prion strains // Mol. Cell. Biol. 2001. V. 21. P. 7035–7046.
<https://doi.org/10.1128/MCB.21.20.7035-7046.2001>
47. Collinge J., Clarke A.R. A general model of prion strains and their pathogenicity // Science. 2007. V. 318. P. 930–936.
<https://doi.org/10.1126/science.1138718>
48. Solfarosi L., Milani M., Mancini N. et al. A closer look at prion strains. Characterization and important implications // Prion. 2013. V. 7. P. 99–108.
<https://doi.org/10.4161/pri.23490>
49. Bartz J.C. Prion strain diversity // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2016. V. 6. a024349.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a024349>
50. Wemheuer W.M., Wrede A., Schulz-Schaeffer W.J. Types and strains: Their essential role in understanding protein aggregation in neurodegenerative diseases // Front. Aging Neurosci. 2017. V. 9. # 187.
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00187>
51. Büeler H., Aguzzi A., Sailer A. et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie // Cell. 1993. V. 73. P. 1339–1347.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90360-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90360-3)
52. Westaway D., Goodman P.A., Mirenda C.A. et al. Distinct prion proteins in short and long scrapie incubation period mice // Cell. 1987. V. 51. P. 651–662.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90134-6](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90134-6)
53. Khalili-Shirazi A., Summers L., Linehan J. et al. PrP glycoforms are associated in a strain-specific ratio in native PrP^{Sc} // J. Gen. Virol. 2005. V. 86. P. 2635–2644.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.80375-0>
54. Safar J., Wille H., Itri V. et al. Eight prion strains have PrP(Sc) molecules with different conformations // Nat. Med. 1998. V. 4. P. 1157–1165.
<https://doi.org/10.1038/2654>
55. Collinge J., Sidle K.C.L., Meads J. et al. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of “new variant” CJD // Nature. 1996. V. 383. P. 685–690.
<https://doi.org/10.1038/383685a0>
56. Bessen R.A., Kocisko D.A., Raymond G.J. et al. Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein // Nature. 1995. V. 375. P. 698–700.
<https://doi.org/10.1038/375698a0>

57. *Bessen R.A., Marsh R.F.* Biochemical and physical properties of the prion protein from two strains of the transmissible mink encephalopathy agent // *J. Virol.* 1992. V. 66. P. 2096–2101.
<https://doi.org/10.1128/jvi.66.4.2096-2101.1992>
58. *Carroll J.A., Striebel J.F., Rangel A. et al.* Prion strain differences in accumulation of PrP^{Sc} on neurons and glia are associated with similar expression profiles of neuroinflammatory genes: Comparison of three prion strains // *PLoS Pathog.* 2016. V. 12. № 4. e1005551.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005551>
59. *Watts J.C., Condello C., Stohr J. et al.* Serial propagation of distinct strains of A β prions from Alzheimer's disease patients // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 10323–10328.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1408900111>
60. *Bruce M.E.* Scrapie strain variation and mutation // *Br. Med. Bull.* 1993. V. 49. № 4. P. 822–838.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072649>
61. *Kimberlin R., Cole S., Walker C.* Temporary and permanent modifications to a single strain of mouse scrapie on transmission to rats and hamsters // *J. Gen. Virol.* 1987. V. 68. P. 1875–1881.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-7-1875>
62. *Bartz J.C., Bessen R.A., McKenzie D. et al.* Adaptation and selection of prion protein strain conformations following interspecies transmission of transmissible mink encephalopathy // *J. Virol.* 2000. V. 74. P. 5542–5547.
<https://doi.org/10.1128/JVI.74.12.5542-5547.2000>
63. *Hastings P.J., Quah S.K., Von Borstel R.C.* Spontaneous mutation by mutagenic repair of spontaneous lesions in DNA // *Nature.* 1976. V. 264. P. 719–722.
<https://doi.org/10.1038/264719a0>
64. *Meyer-Luehmann M., Coomaraswamy J., Bolmont T. et al.* Exogenous induction of cerebral beta amyloidogenesis is governed by agent and host // *Science.* 2006. V. 313. P. 1781–1784.
<https://doi.org/10.1126/science.1131864>
65. *Bateman D.A., Wickner R.B.* The [PSI⁺] prion exists as a dynamic cloud of variants // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. e1003257.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006591>
66. *Sabuncu E., Petit S., Le Dur A. et al.* PrP polymorphisms tightly control sheep prion replication in cultured cells // *J. Virology.* 2003. V. 77. P. 2696–2700.
<https://doi.org/10.1128/JVI.77.4.2696-2700.2003>
67. *Aguilar-Calvo P., Espinosa J.C., Pintado B. et al.* Role of the goat K222-PrPc polymorphic variant in prion infection resistance // *J. Virol.* 2014. V. 88. P. 2670–2676.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02074-13>
68. *Steele A.D., Lindquist S., Aguzzi A.* The prion protein knockout mouse. A phenotype under challenge // *Prion.* 2007. V. 1. P. 83–93.
<https://doi.org/10.4161/pri.1.2.4346>
69. *Koltzoff N.K.* Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie // *Biologisches Zentralblatt.* 1928. V. 48. S. 345–369.
70. *Mirsky A.E.* Chromosomes and nucleoproteins // *Adv. Enzymol.* 1943. V. 3. P. 1–34.
71. *Avery O.T., MacLeod C.M., McCarty M.* Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types // *J. Exp. Med.* 1944. V. 79. P. 137–158.
72. *Hershey A.D., Chase M.* Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage // *J. Gen. Physiol.* 1952. V. 36. P. 39–56.
73. *Portin P.* The birth and development of the DNA theory of inheritance: sixty years since the discovery of the structure of DNA // *J. Genet.* 2014. V. 93. P. 293–302.
<https://doi.org/10.1007/s12041-014-0337-4>
74. *Wright S.* Genes as physiological agents: general considerations // *Am. Nat.* 1945. V. 79. P. 289–303.
75. *Lederberg J.* Genetic approaches to somatic cell variation: summary comment // *J. Cell. Physiol.* 1958. V. 52. Suppl. 1. P. 383–402.
76. *Griffith J.S.* Self-replication and scrapie // *Nature.* 1967. V. 215. P. 1043–1044.
77. *Чупаев П.Н.* Гипотеза об эпигенезе // Исследования по математической генетике. Новосибирск: ИЦГ АН СССР, 1975. С. 77–94.
78. *Beisson J.* Preformed cell structure and cell heredity // *Prion.* 2008. V. 2. P. 1–8.
<https://doi.org/10.4161/pri.2.1.5063>
79. *Wilson P.G.* Centriole inheritance // *Prion.* 2008. V. 2. P. 9–16.
<https://doi.org/10.4161/pri.2.1.5064>
80. *Wickner R.B.* [URE3] as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae* // *Science.* 1994. V. 264. P. 566–569.
<https://doi.org/10.1126/science.7909170>
81. *Strahl B.D., Allis C.D.* The language of covalent histone modifications // *Nature.* 2000. V. 403. P. 41–45.
<https://doi.org/10.1038/47412>
82. *Tchuraev R.N., Stupak I.V., Tropynina T.S., Stupak E.E.* Epigenes: design and construction of new hereditary units // *FEBS Lett.* 2000. V. 486. P. 200–202.
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)02300-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)02300-0)
83. *Chernoff Y.O.* (ed.) Protein-Based Inheritance. Austin, Texas: Landes Bioscience, 2007. 154 p.
84. *Telling G.C., Parchi P., DeArmond S.J. et al.* Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity // *Science.* 1996. V. 274. P. 2079–2082.
<https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2079>
85. *Morales R., Abid K., Soto C.* The prion strain phenomenon: Molecular basis and unprecedented features // *Biochim. Biophys. Acta.* 2007. V. 1772. P. 681–691.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.12.006>
86. *Wickner R.B., Kelly A.C.* Prions are affected by evolution at two levels // *Cell. Mol. Life. Sci.* 2016. V. 73. P. 1131–1144.
<https://doi.org/10.1007/s00018-015-2109-6>
87. *Tikhodeyev O.N.* Heredity determined by the environment: Lamarckian ideas in modern molecular biology // *Sci. Total Environ.* 2020. V. 710. #135521.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135521>
88. *Wickner R.B., Edskes H.K., Roberts B.T. et al.* Prions: proteins as genes and infectious entities // *Genes Dev.* 2004. V. 18. P. 470–485.
<https://doi.org/10.1101/gad.1177104>
89. *Wickner R.B., Shewmaker F., Edskes H. et al.* Prion amyloid structure explains templating: how proteins can be

- genes // FEMS Yeast Res. 2010. V. 10. P. 980–991.
<https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2010.00666.x>
90. Tuite M.F. Yeast prions: Paramutation at the protein level? // Semin. Cell. Dev. Biol. 2015. V. 44. P. 51–61.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.016>
91. Brown D., Brink R. Paramutagenic action of paramutant R-r and R-g alleles in maize // Genetics. 1960. V. 45. P. 1313–1316.
92. Hollick J.B. Paramutation and related phenomena in diverse species // Nature Rev. Genet. 2016. V. 18. P. 5–23.
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.115>
93. Conklin E.G. The mechanism of heredity // Science. 1908. V. 27. № 681. P. 89–99. New Series.
94. Correns C. Über nichtmendelnde Vererbung // Zeitschrift für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. 1928. Bd. 1. S. 131–168. Supplementband.
95. Kakutani T., Munakata K., Richards E.J., Hirochika H. Meiotically and mitotically stable inheritance of DNA hypomethylation induced by *ddm1* mutation of *Arabidopsis thaliana* // Genetics. 1999. V. 151. P. 831–838.
<https://doi.org/10.1093/genetics/151.2.831>
96. Mittelsten Scheid O., Afsar K., Paszkowski J. Formation of stable epialleles and their paramutation-like interaction in tetraploid *Arabidopsis thaliana* // Nat. Genet. 2003. V. 34. P. 450–454.
<https://doi.org/10.1038/ng1210>
97. Nizhnikov A.A., Ryzhova T.A., Volkov K.V. et al. Interaction of prions causes heritable traits in *Saccharomyces cerevisiae* // PLoS Genet. 2016. V. 12. № 12. e1006504.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006504>

Prions as Non-Canonical Hereditary Factors

O. N. Tikhodeyev*, **

Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: tikhodeyev@mail.ru

**e-mail: o.tihodeev@spbu.ru

The present review concerns the diversity of prions (proteinaceous infectious particles) and the mechanisms of their reproduction. Various strains of the same prion are considered. We demonstrate that any prion strain regardless its molecular organization and species identity, under passaging on the isogenic homozygous background, is per se a virus-like hereditary factor. Its features depend on (i) the amino acid sequence of the prion protein that is encoded by the nucleotide sequence of the corresponding gene, and (ii) the state of the prion protein. Alteration of any of these two parameters, if stable and non-lethal, leads to a novel strain of the prion. Thus, contrast to canonical hereditary factors, prion strains are of more complex (bimodular) molecular nature. The bimodular principle is also very useful for describing any prion⁻ states. Inclusion of prions in the general system of hereditary factors is considered.

Keywords: protein-based inheritance, prions, prion strains, bimodular hereditary factors.

ФИТОПАТОГЕНЫ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИМИКРИЯ

© 2022 г. И. Е. Додуева¹, *, М. А. Лебедева¹, Л. А. Лутова¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: Wildtype@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 30.11.2021 г.

Принята к публикации 12.01.2022 г.

Коэволюция растений и их патогенов является примером “гонки вооружений” между факторами вирулентности патогенов и иммунной системой растения-хозяина. При этом патогены используют разнообразные стратегии, в том числе — основанные на молекулярной мимикрии. В геномах фитопатогенных организмов разных групп идентифицированы гены, продукты которых сходны с определенными группами белков растений — ферментами дестабилизации клеточных стенок, предшественниками пептидных фитогормонов и т.д. В частности, способность продуцировать эффекторы, которые используются для изменения роста растения-хозяина и подавления его защитных реакций, получила широкое распространение среди фитопатогенов из разных царств живого мира — бактерий, грибов и животных (а именно нематод). В настоящем обзоре мы рассмотрим основные примеры молекулярной мимикрии, обнаруженные в патогенах растений.

Ключевые слова: молекулярная мимикрия, фитопатогены, бактерии, грибы, нематоды, коэволюция растений и патогенов, горизонтальный перенос генов.

DOI: 10.31857/S0016675822060030

Молекулярная мимикрия — стратегия выживания паразитов, при которой молекулярная структура белков паразитов воспроизводит структуру определенных белков хозяина. В случае животных речь идет, как правило, о мимикрии патогенами иммунорегуляторных белков хозяина; кроме того, поверхностные антигенные детерминанты паразита могут совпадать с антигенами хозяина. Сходство аминокислотных последовательностей и/или конформации между белками хозяина и патогена (так называемая перекрестная реактивность) вызывает аутоиммунный ответ. За последние годы было показано, что такая молекулярная мимикрия является одним из основных механизмов развития аутоиммунных заболеваний. Например, вирус Эпштейна–Барра (EBV) считается основным инфекционным агентом, связанным с рассеянным склерозом — аутоиммунным заболеванием у людей, которое приводит к прогрессирующему разрушению миелиновых оболочек аксонов. Наличие структурной гомологии между основным белком миелина и определенными пептидами EBV приводит к перекрестным реактивным аутоиммунным ответам, что способствует развитию заболевания [1].

Вместе с тем молекулярная мимикрия также широко распространена среди патогенов высших растений. Наземные растения живут в постоянном взаимодействии с другими организмами, преимущественно с микроорганизмами, с разнообраз-

ными жизненными стратегиями (от симбиоза до некротрофного патогенеза), при этом между растением-хозяином и взаимодействующими с ним организмами происходит постоянный обмен сигналами [2]. Известно, что некоторые группы фитопатогенных бактерий, грибов, нематод продуцируют и секретируют в ткани растения-хозяина белки, имитирующие белки растений с разными функциями, например ферменты-дестабилизаторы клеточной стенки [3], предшественники пептидных фитогормонов разных групп [4] и т.д. Более того, молекулярная мимикрия в случае фитопатогенов не ограничивается только белками: в частности, целый ряд взаимодействующих с растениями организмов (как “вредных”, так и “полезных”) может продуцировать фитогормоны и другие регуляторы роста растений небелковой природы [5–8].

По-видимому, способность к молекулярной мимикрии возникла независимо у разных групп взаимодействующих с растениями организмов, причем для ряда примеров можно с высокой вероятностью предположить ее возникновение за счет конвергентной эволюции патогена и хозяина или же за счет горизонтального переноса генов (ГПГ) [9, 10]. Так, обширный филогенетический анализ показал, что не менее 3.5% генов фитопаразитических нематод, в особенности — гены, связанные с регуляцией паразитизма, имеют не-

животное происхождение и могли быть приобретены путем ГПГ от бактерий или грибов [10–12].

Некоторые варианты молекулярной мимикрии распространены очень широко: к примеру, способность к биосинтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и цитокининов (ЦК) очень широко распространена у разных групп прокариот и эукариот и используется многими из них для взаимодействия с растениями [5, 6, 13]. С другой стороны, у некоторых фитопатогенов имеются свои уникальные варианты молекулярной мимикрии: например, наличие хоризматмутаза и ферментов гидролиза клеточной стенки среди нематод характерно только для видов, паразитирующих на растениях [9, 14].

Зачастую один и тот же фитопатоген использует для колонизации организма хозяина сразу несколько стратегий молекулярной мимикрии: к примеру, те же фитопаразитические нематоды могут продуцировать ЦК [15], эффекторы, взаимодействующие с белками полярного транспорта ИУК [16] и ответа на ИУК [17], ферменты-модификаторы клеточной стенки [3] и, наконец, пептидные фитогормоны трех разных семейств [18]. В табл. 1 представлены примеры молекулярной мимикрии, характерные для разных групп организмов, взаимодействующих с растениями.

Различные стратегии молекулярной мимикрии помогают фитопатогенам и другим взаимодействующим с растениями организмам преодолеть защитную систему растения и/или модулировать его физиологию, способствуя более успешной колонизации растения-хозяина. В обзоре мы рассмотрим примеры молекулярной мимикрии у разных групп фитопатогенов, их роль во взаимодействии патогенов с растениями-хозяевами и возможное эволюционное происхождение.

ОСНОВНЫЕ СТРАТЕГИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МИМИКРИИ У ФИТОПАТОГЕНОВ

В соответствии с тем, какие именно молекулы растения-хозяина воспроизводятся фитопатогеном, можно выделить несколько направлений молекулярной мимикрии, используемой фитопатогенами для колонизации растений. Ниже мы более подробно охарактеризуем основные из этих направлений.

Одними из наиболее известных фитопатогенных организмов, которые часто используют разные варианты молекулярной мимикрии для заражения растений, являются нематоды, паразитирующие на корнях растений. Поскольку их примеры молекулярной мимикрии наиболее разнообразны и хорошо изучены на сегодняшний день, в настоящем обзоре им будет уделено наибольшее внимание.

Среди фитопаразитических нематод есть экто- и эндопаразиты, которые могут быть мигрирую-

щими или сидячими [14]. Типичная жизненная стратегия фитопаразитических нематод заключается в формировании так называемых сайтов кормления (feeding sites) – крупных клеток с высоким уровнем метаболизма, которые обеспечивают питание нематод. Две группы малоподвижных эндопаразитических нематод, цистовые (cyst nematodes) – представители родов *Globodera* и *Heterodera* и галловые (root-knot nematodes) – виды рода *Meloidogyne*, вызывают неоплазию тканей корня хозяина – образование галлов за счет повышения скорости деления и быстрого расширения клеток. Давно известно, что этот эффект вызывается секретом пищеводных желез нематоды, который впрыскивается в ткани растения-хозяина через ее ротовой аппарат (стилет) [14, 19]. За этим событием следуют усиленная пролиферация и рост клеток, формирующих в дальнейшем сайт кормления нематоды. Цистовые и галловые нематоды используют разные стратегии для создания сайтов кормления: в случае цистовых происходит сливание сотен клеток в синцитий, в то время как галловые нематоды вызывают повторяющиеся циклы эндоредупликации и роста клеток в отсутствие цитокинеза, что приводит к образованию гигантских клеток. Формирование сайтов кормления синцитиального типа характерно также для группы почковидных нематод (виды рода *Rotylenchulus*) – эндопаразитов, не вызывающих образования галлов на корнях [14, 20].

Формирование сайтов кормления цистовых, галловых и почковидных нематод сопровождается резким усилением экспрессии генов клеточного цикла [21]. По всей видимости, такое усиление деления клеток вызывается разнообразными эффекторами, содержащимися в секрете пищеводных желез фитопаразитических нематод: ЦК, пептидными фитогормонами, белками, влияющими на транспорт и сигналинг ИУК, ферментами, вызывающими перестройку клеточных стенок (рис. 1).

Молекулярная мимикрия, направленная на изменение баланса “гормонов роста”

Стратегии колонизации растений патогенами часто направлены на изменение параметров их роста. Особенно ярко это проявляется у фитопатогенов, которые индуцируют новообразования (галлы и опухоли) у растения-хозяина для того, чтобы обеспечить себе источник пищи и среду обитания [22]. Одним из способов достижения этих целей является изменение баланса основных гормонов, регулирующих деление клеток и рост растения, – ИУК и ЦК в организме растения-хозяина. Помимо изменения роста тканей растений повышение уровня ИУК и ЦК может ослабить передачу сигнала салициловой кислоты – основ-

Таблица 1. Примеры молекулярной мимикрии у фитопатогенов

Группа фитопатогенов	Вид	Эффекторы	Функции	Ссылка
Нематоды	Все виды	Цитокинины	Деление клеток растения, подавление иммунитета	[15]
	<i>Heterodera schachtii</i>	Белок 19C07	Усиление импорта ИУК при связывании с белком LAX3, усиление роста клеток растения	[16]
	<i>Heterodera schachtii</i>	Белок 10A07	Снятие репрессии ответа на ИУК при связывании с белком IAA16, усиление роста клеток растения	[17]
	Все виды	Ферменты хоризматмутаза	Снижение уровня биосинтеза салициловой кислоты, облегчение заражения растения	[39–42]
	Все виды	Целлюлазы, ксиланазы, пектацелиазы, полигалактуроназы, экспансин-подобные белки	Дестабилизация клеточной стенки растения	[3]
	<i>Heterodera schachtii</i>	Белок HgCBP	Активация пектинметилэстеразы, дестабилизация клеточной стенки растения	[58]
	<i>Heterodera</i> spp. <i>Globodera</i> spp.	Пептиды CLE	Деление клеток растения	[69, 72]
	<i>Meloidogyne</i> spp.	Пептиды CLE	Деление клеток растения	[82]
	<i>Roylenchulus</i> spp.	Пептиды CLE	Деление клеток растения	[68]
	<i>Meloidogyne</i> spp.	Пептиды CEP	Подавление деления клеток растения	[20]
	<i>Roylenchulus</i> spp.	Пептиды CEP	Подавление деления клеток растения	[71]
	<i>Meloidogyne</i> spp.	Пептиды IDA	Дестабилизация клеточной стенки растения	[81]
	Грибы	Все виды	Цитокинины	Деление клеток растения, подавление иммунитета
Все виды		ИУК	Деление клеток растения, подавление иммунитета	[5]
<i>Ustilago maydis</i>		Фермент хоризматмутаза	Снижение уровня биосинтеза салициловой кислоты, облегчение заражения растения	[44]
<i>Phytophthora sojae</i> , <i>Verticillium dahlia</i>		Ферменты изохоризматазы	Снижение уровня биосинтеза салициловой кислоты, облегчение заражения растения	[48]
<i>Fusarium graminearum</i>		Целлюлазы, экспансин-подобные белки	Дестабилизация клеточной стенки растения	[54]

Таблица 1. Окончание

Группа фитопатогенов	Вид	Эффекторы	Функции	Ссылка
Бактерии	<i>Fusarium oxysporum</i>	RALF	Замедление роста растения, снижение устойчивости к грибу	[91, 93]
	<i>Tilletia</i> spp., 19 видов <i>Ascomycota</i>	PSK	Неизвестны	[63]
	<i>Melampsora larici-populina</i> , <i>Colletotrichu trifurcicola</i>	IDA	Неизвестны	[63]
	Все виды	Цитокинины	Деление клеток растения, подавление иммунитета	[6, 13]
	Все виды	ИУК	Деление клеток растения, подавление иммунитета	[5]
	<i>Pseudomonas syringae</i>	Белок AvrRpt2	Снятие репрессии ответа на ИУК путем стимуляции протеасомной деградации белков AUX/IAA	[36]
	<i>Pseudomonas syringae</i>	Коронатин (аналог жасмонатов)	Усиление ответа на жасмоновую кислоту и снижение ответа на салициловую кислоту	[8]
	<i>Pseudomonas syringae</i>	Белок HopZ1a	Усиление ответа на жасмоновую кислоту через ацетилирования репрессоров ответа JAZ	[7]
	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> , <i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>juglandis</i>	Фермент хоризматмугаза	Снижение уровня биосинтеза салициловой кислоты, подавление гиперинфицирования растения	[45, 46]
	Все виды	Целлюлазы, ксиланазы, пектацтиазы, полигалактуроназы, экспансин-подобные белки	Дестабилизация клеточной стенки растения	[52]
<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	Пептид РахХ	Усиление роста растения, снижение устойчивости к бактериям	[86, 87]	
9 видов <i>Actinobacteria</i>	RALF	Неизвестны	[93]	

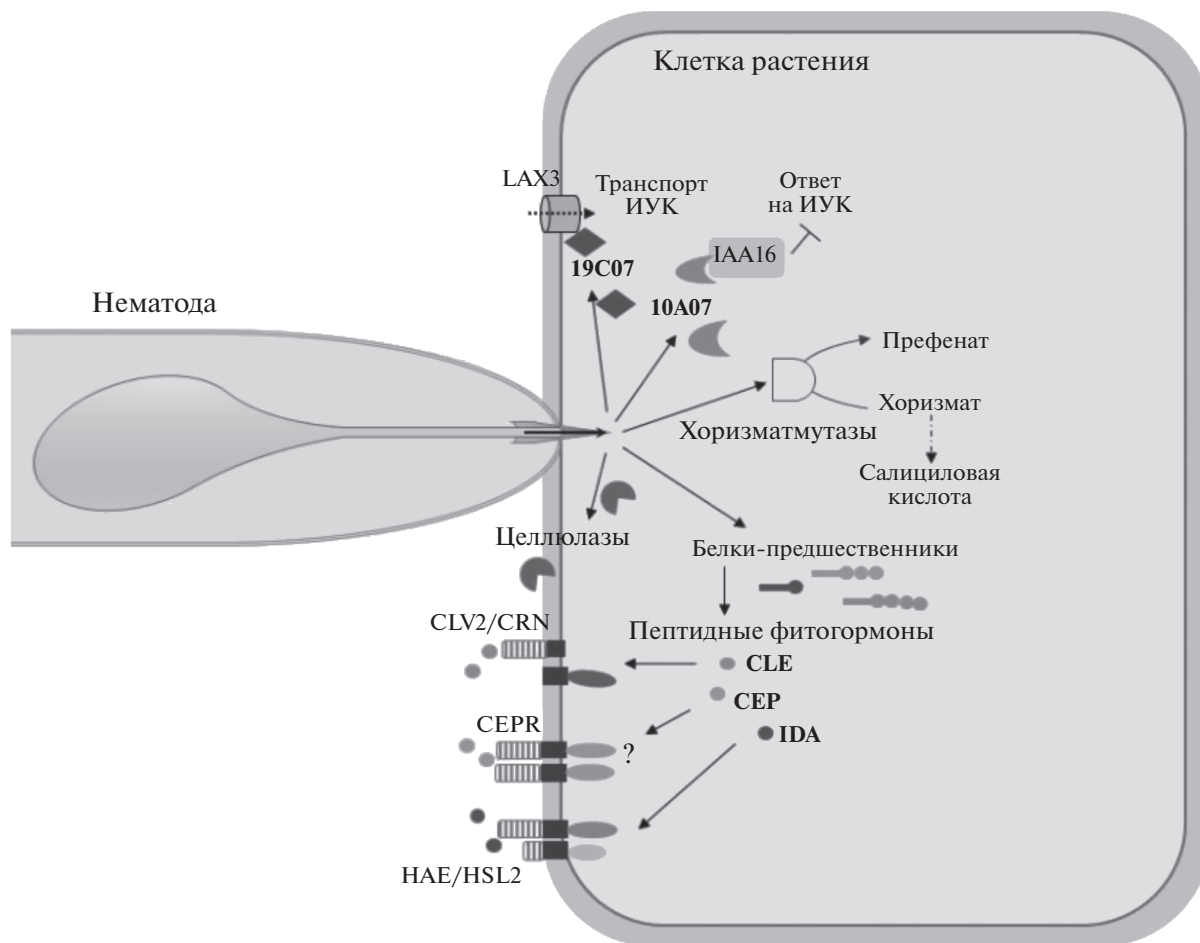


Рис. 1. Примеры эффекторов паразитических нематод, имитирующих различные белки растения-хозяина. Белок 19C07 усиливает транспорт ИУК в клетку растения, взаимодействуя с транспортным белком LAX3; белок 10A07 связывается с репрессором транскрипции белком IAA16, активируя ответ на ИУК. Секретируемые хоризматмутазы стимулируют синтез префената из хоризмата, тем самым снижая уровень основного гормона системного иммунитета – салициловой кислоты. Секретируемые целлюлазы и другие ферменты дестабилизации клеточных стенок повышают лабильность клеточных стенок растения, облегчая продвижение нематоды в растении и способствуя растяжению. Предшественники пептидных фитогормонов CLE, CEP и IDA, секретируемые нематодой, претерпевают созревание за счет ферментов растения-хозяина и связываются с рецепторами соответствующих пептидных фитогормонов растения-хозяина, вызывая ростовые ответы.

ного гормона системного иммунитета растений [23, 24].

В свою очередь, изменение баланса ИУК и ЦК в тканях растения-хозяина может быть достигнуто патогеном разными способами: за счет способности патогена синтезировать и секретировать эти фитогормоны, а также за счет его белков-эффекторов, которые могут изменять транспорт или передачу сигнала ИУК или ЦК.

Гены, кодирующие ферменты биосинтеза ИУК и ЦК, были задолго до их идентификации у растений идентифицированы у амёбы *Dictyostelium* [25], а также в вирулентной плазмиде фитопатогенной бактерии *Agrobacterium tumefaciens*, которая способна переносить часть этой плазмиды в геном растения-хозяина, что приводит к увеличе-

нию содержания ИУК и ЦК в растительных тканях и индукции опухоли [26, 27].

В настоящее время считается, что ИУК и ЦК – эволюционно консервативные молекулы, впервые появившиеся у прокариот, в то время как эукариоты могли получить гены биосинтеза ИУК и ЦК как в процессе эволюции от своих прокариотных предков, так и путем ГПГ [28, 29]. Помимо регуляции роста растений эти ферменты могут использоваться у разных живых организмов и для других целей.

Так, самые распространенные из ферментов биосинтеза ЦК тРНК-изопентенилтрансферазы (tRNA-IPT), которые выявлены у бактерий, растений, грибов и животных, включая человека [30], важны для эффективности и точности трансля-

ции белка рибосомой [31]. Другие ферменты этой группы, изопентенилтрансферазы (IPT), синтезирующие ЦК из свободных аденозинфосфатов, а также ферменты катаболизма ЦК цитокининоксидазы (СКХ), помимо растений и взаимодействующих с ними организмов, были идентифицированы у цианобактерий и других бактерий [32]. Это позволяет предположить, что гены метаболизма ЦК у растений были приобретены путем ГПГ через хлоропласты, которые имеют цианобактериальное происхождение [29].

Считается, что ИУК, продуцируемая бактериями и грибами, является вторичным метаболитом, возникающим в процессе метаболизма триптофана, а также используется в качестве сигнала для регуляции генов у некоторых бактерий [28]. Биоинформатические данные свидетельствуют о том, что некоторые ферменты биосинтеза ИУК могли независимо возникнуть у бактерий, водорослей, грибов и высших растений. Кроме того, филогенетический анализ семейств генов, кодирующих ферменты триптофанаминотрансферазы (ТАА) и флавиномонooksигеназы (YUC), задействованные в основном пути производства ИУК у растений, показал, что они могли быть приобретены предками наземных растений от бактерий путем ГПГ [33].

На сегодняшний день гены биосинтеза ИУК и/или ЦК обнаружены у множества видов бактерий и грибов, включая патогенные, симбиотические и свободноживущие виды, а также у нематод, паразитирующих на растениях [5, 6].

Для фитопатогенов разных групп была продемонстрирована важная роль генов биосинтеза ИУК и ЦК во взаимодействии с растением-хозяином. Так, у спорыньи ржи (*Claviceps purpurea*) в биосинтезе ЦК задействованы как ферменты tRNA-IPT, имеющиеся у всех групп живых организмов, так и уникальный для грибов гибридный фермент IPT-LOG, который катализирует обе последовательные реакции биосинтеза ЦК *de novo* [34]. Мутанты по любому из генов, кодирующих эти два фермента, способны к заражению ржи, но не образуют плодовых тел, тогда как штаммы с нокаутом обоих генов tRNA-IPT и IPT-LOG неспособны к заражению растений, вероятно, из-за неспособности ослабить иммунитет хозяина или обеспечить эффективное снабжение внедряющихся в растение гиф питательными веществами [34].

Помимо биосинтеза ИУК и ЦК некоторые фитопатогены способны также влиять на транспорт или передачу сигнала этих гормонов за счет определенных белков-эффекторов.

Примеры таких эффекторов изучены у паразитических нематод. Один из них, белок 19C07 свекловичной цистовой нематоды *Heterodera schachtii*, будучи впрыснут в ткани растения-хозяина через ротовой аппарат (стилет) нематоды в составе секре-

та ее пищеводных желез, может связываться на поверхности растительных клеток с белком LAX3, функцией которого является транспорт ИУК в клетку [16]. По всей видимости это обеспечивает приток ИУК в клетки, которые образуют так называемый сайт кормления нематоды, способствуя их разрастанию, делению и последующему слиянию в синцитий.

Другой эффектор *H. schachtii*, белок 10A07, в клетках арабидопсиса взаимодействует с регулятором ответа на ИУК – белком IAA16 [17]. Белок IAA16 относится к семейству белков AUX/IAA, которые являются репрессорами транскрипции ИУК-регулируемых генов, образуя гетеродимеры с ИУК-регулируемыми ТФ ARF [35], – таким образом, связывание 10A07 с IAA16 может привести к снятию репрессии ответа на ИУК. Действительно, растения, сверхэкспрессирующие ген *10A07*, демонстрируют повышенную экспрессию *ARF6-8* и *ARF19* и более восприимчивы к *H. schachtii*, чем контрольные растения [17]. Более того, белок 10A07, как оказалось, использует растительную регуляторную систему для доставки в ядро: в цитоплазме клеток арабидопсиса он взаимодействует с протеинкиназой, получившей название IPK (interacting plant kinase), которая фосфорилирует 10A07 по консервативным остаткам серина, опосредуя его доставку в ядро. Гены *IPK* и *IAA16* активно экспрессируются в синцитиях, индуцированных *H. schachtii* [17].

Способностью к взаимодействию с белками AUX/IAA обладают и некоторые бактериальные эффекторы. Например, эффектор AvrRpt2 биотрофной фитопатогенной бактерии *Pseudomonas syringae* позитивно регулирует передачу сигнала ИУК, стимулируя протеасомную деградацию AUX/IAA [36].

Молекулярная мимикрия, направленная на изменение баланса “гормонов иммунитета”

Салициловая кислота (СК) и жасмоновая кислота (ЖК) с ее производными (вместе называемые жасмонатами) считаются основными гормонами, регулирующими системный иммунитет растений. В регуляции защиты растений от патогенов СК и ЖК могут действовать в одном направлении или быть антагонистами; в целом считается, что СК играет центральную роль в защите от биотрофных патогенов, тогда как ЖК подавляет некротрофные микроорганизмы и предотвращает поедание растений насекомыми [37].

Известно, что некоторые фитопатогены могут снижать выработку СК в организме растения-хозяина, секретировав в качестве белков-эффекторов ферменты хоризматмутазы. Эти ферменты относятся к шикиматному пути, который является одним из древнейших эволюционно консерватив-

ных метаболических путей. Хоризматмутазы катализируют превращение хоризмата в префенат, предшественник синтеза тирозина и фенилаланина, и предотвращают образование изохоризмата – предшественника СК.

Первые из обнаруженных примеров секреции хоризматмутаз фитопатогенами были выявлены у паразитических цистовых и галловых нематод [38]. В дальнейшем оказалось, что гены, кодирующие хоризматмутазы, имеются у большого количества видов фитопаразитических нематод, как способных, так и неспособных к индукции галлов на корнях [39–42]. В то же время гены хоризматмутаз отсутствуют у свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* и нематод, паразитирующих на животных, что свидетельствует об их важной роли именно для фитопаразитов [43]. Во многих случаях было получено подтверждение важной роли хоризматмутаз в способности нематод к заражению растений. Так, у галловой нематоды *Meloidogyne incognita* была подробно изучена роль одного из трех ее генов хоризматмутаз, MiCM3, во взаимодействии с растениями *Nicotiana benthamiana*. Конститутивная экспрессия MiCM3 у растений подавляла рост корней и повышала восприимчивость к инфекции *M. incognita*. Кроме того, экспрессия MiCM3 вызвала у растений снижение уровней СК и мРНК гена, кодирующего защитный белок PR1. С помощью конфокальной микроскопии было показано, что белок MiCM3 локализуется в цитоплазме и ядре трансфицированных клеток листьев *N. benthamiana*, но не в пластидах, где проходят первые этапы биосинтеза СК из хоризмата [42].

Помимо снижения уровня СК экспрессия “нематодных” хоризматмутаз может влиять также на уровень ИУК, поскольку основная масса ИУК в растении синтезируется из триптофана, предшественником которого также является хоризмат. Например, сверхэкспрессия гена хоризматмутазы *MjCM-1* галловой нематоды *Meloidogyne javanica* у сои вызывала подавление формирования боковых корней, и этот эффект компенсировался синтетическими ауксинами [39].

В дальнейшем секреция хоризматмутаз была обнаружена у многих других фитопатогенов. В частности, хоризматмутазы играют важную роль в вирулентности биотрофного патогенного гриба *Ustilago maydis*, возбудителя пузырчатой головни – широко распространенного заболевания кукурузы, характеризующегося развитием опухолей у пораженных растений. Репертуар эффекторов *U. maydis* включает в себя множество белков, гены которых экспрессируются исключительно на стадии биотрофии, в том числе ген *Stu1*, кодирующий хоризматмутазу. Было показано, что *Stu1* секретируется в месте контакта заражающих гиф с растительными клетками, попадая в их цито-

плазму, а также может распространяться в соседние клетки и ткани, изменяя метаболический статус этих клеток посредством метаболического прайминга [44].

У бактерий, в том числе фитопатогенных, также были выявлены гены хоризматмутаз. Так, бактерия *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, возбудитель бактериального ожога риса (rice leaf blight disease), содержит ген хоризматмутазы *CM*, который экспрессируется при заражении растений [45]. Как ни странно, нокаут этого гена резко повышает вирулентность *X. oryzae*. Аналогичные данные о гипервирулентности мутанта с потерей функции гена хоризматмутазы были получены для близкородственной бактерии *X. arboricola* pv. *juglandis*, вызывающей заболевание грецкого ореха [46]. Эти данные позволяют предположить роль хоризматмутаз как супрессоров вирулентности ксантомонад: они могут участвовать в подавлении гиперинфицирования, которое может привести к преждевременной гибели растения-хозяина [45].

Широкое распространение секретируемых хоризматмутаз и их роль в вирулентности фитопатогенных нематод, грибов и бактерий свидетельствуют о том, что этот эволюционно древний путь может быть в числе высоко консервативных, общих для разных патогенов инструментов манипуляции с метаболизмом растения-хозяина. В то же время филогенетический анализ показал, что по крайней мере некоторые из генов секретируемых хоризматмутаз фитопаразитических нематод с высокой вероятностью могли быть приобретены в результате ГПГ от почвенных бактерий *Burkholderia* [47].

Помимо хоризматмутаз некоторые фитопатогены могут секретировать также другие ферменты шикиматного пути, снижающие уровень СК в растении, например изохоризматазы. Так, изохоризматазы, секретируемые оомицетами *Phytophthora sojae* и *Verticillium dahlia*, повышают вирулентность этих патогенов, снижая уровень СК в тканях растений-хозяев [48].

В основе другого известного пути подавления СК-опосредованного иммунитета растений лежит активация передачи сигнала ЖК и жасмонатов, поскольку в системном иммунитете антагонизм СК и ЖК играет важную роль, по крайней мере, на начальных этапах его развития [37].

Этот путь используется патогенными биотрофными бактериями *P. syringae* [49]. Во-первых, *P. syringae* в качестве фитотоксина (вторичного метаболита, негативно влияющего на жизнедеятельность растительных клеток) секретирует коронатин, структурный и функциональный аналог производного ЖК жасмонил-1-изолейцина. Коронатин, как и жасмонаты, в растительной клетке может взаимодействовать с рецептором ЖК – белком CORONATINE INSENSITIVE 1 (COI1) и

активировать нижележащий сигнальный каскад, приводя к репрессии СК-зависимого защитного ответа растений [8]. Коронатин продуцируется разными патоварами *P. syringae*, и способность к его синтезу определяет ее вирулентность по отношению к разным видам растений, а также коррелирует с проявлением симптомов, вызываемых *P. syringae* – диффузными хлорозами [49].

Кроме того, белок-эффектор HopZ1a той же *P. syringae* напрямую взаимодействует с белками JAZ (Jasmonate ZIM-domain), репрессорами транскрипции ЖК-регулируемых генов [7]. Известно, что убиквитин-зависимая протеасомная деградация белков JAZ запускается при связывании ЖК с рецептором COI1, который является субъединицей убиквитин-лигазного комплекса [50]. Эффектор HopZ1a активирует этот процесс: при взаимодействии с HopZ1a имеет место ацетилирование белков JAZ за счет предполагаемой ацетилтрансферазной активности этого бактериального эффектора, что способствует деградации взаимодействующих с HopZ1 JAZ и активирует передачу сигнала ЖК. Более того, HopZ1a может частично устранить дефект вирулентности у мутанта *P. syringae*, неспособного к синтезу коронатаина [7]. Эффектор HopZ1a на сегодняшний день нельзя считать примером молекулярной мимикрии, так как никакого его аналога у растений выявлено не было. Тем не менее кооперация двух эффекторов *P. syringae*, нацеленных на активацию сигналинга ЖК, свидетельствует о чрезвычайной важности этого пути для вирулентности этого бактериального фитопатогена [8].

Молекулярная мимикрия, направленная на дестабилизацию клеточной стенки растения

Стенка растительной клетки – первое препятствие, с которым сталкиваются фитопатогены в ходе заражения растений. В связи с этим патогены используют ферменты дестабилизации клеточных стенок как для своего роста и продвижения в тканях растения-хозяина, так и для получения доступа к питанию через разрушение растительных клеток. У разнообразных фитопатогенных организмов – бактерий, грибов, простейших, паразитических нематод был выявлен целый ряд ферментов, разрушающих клеточную стенку растений, включая целлюлазы, ксиланазы, пектатлиазы, полигалактуроназы, а также экспансин-подобные белки, сходные с таковыми у растений.

Более того, наличие ферментов этой группы присуще не только фитопатогенам. Например, целлюлазы как индуцибельные ферменты, синтезируемые различными микроорганизмами, включая бактерии и грибы, во время их роста на целлюлозных материалах, нашли широкое применение в промышленности [51]. Экспансины – небольшие белки без каталитической активности, которые

ослабляют связь между целлюлозными фибриллами в стенках растительных клеток, также выявлены у многих бактерий и грибов, которые взаимодействуют с растениями в патогенных и мутуалистических сообществах, а также у микробов, питающихся растительными останками [52].

Наличие активности белков, вызывающих дестабилизацию и/или гидролиз клеточной стенки растений, важно для вирулентности многих фитопатогенных микроорганизмов. Например, у *Clavibacter michiganensis*, актиномицета, вызывающего кольцевую бактериальную гниль картофеля и томатов, основные гены вирулентности сосредоточены на плаزمиде, потеря которых превращает этого биотрофного патогена в эндофита. К потере вирулентности *C. michiganensis* ведет также потеря функции локализованного на одной из вирулентных плазмид гена *CelA*, кодирующего целлюлазу с экспансин-подобным доменом [53]. Целлюлазы и экспансин-подобные белки играют важную роль в вирулентности *Fusarium graminearum* – грибного патогена, вызывающего фузариоз колоса пшеницы: их активность необходима для продвижения патогена в тканях растения и коррелирует с интенсивностью вызываемых симптомов [54].

Ферменты дестабилизации клеточных стенок играют важную роль в жизненном цикле различных видов нематод, паразитирующих на растениях [3]. Первые из ферментов этой группы, выявленные у животных, – целлюлазы цистовых нематод *Globodera rostochiensis* и *Heterodera glycines* – были идентифицированы еще в 1998 г. [55], в дальнейшем у каждого из изученных видов фитопаразитических нематод были выявлены целые группы этих ферментов [56]. Такие ферменты секретируются в клетки растений через прокалывающий их стилет в составе секрета пищеводных желез фитопаразитических нематод и играют роль как в продвижении нематоды по растительным тканям, так и в формировании синцитиев в сайтах кормления цистовых и галловых нематод [3]. Например, РНК-интерференция гена целлюлозосинтазы *G. rostochiensis* снижает эффективность проникновения нематод в корень, а также количество синцитиев и их размеры [57].

Помимо “своих” нематоды могут использовать и растительные белки, влияющие на стабильность клеточной стенки: для этого у ряда нематод тоже есть соответствующие эффекторы. Так, пектинметилэстераза арабидопсиса PМЕЗ взаимодействует с целлюлозосвязывающим белком НgСВР, который секретируется *H. schachtii* на ранних этапах развития синцития. Трансгенные растения, сверхэкспрессирующие ген PМЕЗ, были более восприимчивы к инфекции *H. schachtii*, в то время как нокаут-мутант показал противоположный эффект, что указывает на важ-

ность РМЕЗ для паразитизма нематод. При этом сверхэкспрессия HgCBP у арабидопсиса резко повышает активность фермента РМЕЗ *in planta* [58].

В то же время нематоды, не паразитирующие на растениях, обычно не нуждаются в ферментах дестабилизации клеточной стенки, и соответствующие гены не были идентифицированы в их геномах [10, 11]. Считается, что гены ферментов дестабилизации клеточной стенки появились у фитопаразитических нематод в результате ГПГ. Действительно, белковые последовательности этих ферментов демонстрируют высокий уровень сходства с соответствующими бактериальными белками: например, ближайшие “родственники” полигалактуроназ GH28 видов *Meloidogyne* обнаружены у *Ralstonia solanacearum* – патогенной почвенной бактерии, которая заражает те же растения-хозяева, что и *Meloidogyne*. В то же время пектатлиазы *Meloidogyne* PL3 кластеризуются с соответствующими ферментами *C. michiganensis* [10, 12].

В свою очередь, несмотря на наличие у бактерий и грибов “своих” генов целлюлаз, полигалактуроназ, пектатлиаз и т.д., их экспансин-подобные белки были, возможно, приобретены с помощью ГПГ от растений, а в дальнейшем могли передаваться через ГПГ между микроорганизмами. Об этом свидетельствует нерегулярное таксономическое распределение генов, кодирующих экспансины, у микроорганизмов [52].

Молекулярная мимикрия, направленная на имитацию пептидных фитогормонов

Пептидные фитогормоны – обширная группа регуляторов роста растений белковой или пептидной природы. В настоящее время у растений идентифицировано более двадцати классов пептидных фитогормонов с очень разнообразными функциями в развитии: от контроля деления клеток и органогенеза до регуляции ответов на факторы окружающей среды и защиты от патогенов [59]. Изучение пептидных фитогормонов – очень быстро развивающаяся область биологии растений, при этом постоянно идет идентификация не только новых компонентов их сигнальных путей, но и выявление новых групп пептидных регуляторов роста, в том числе – за пределами растительного царства [4].

Большинство классов пептидных фитогормонов кодируются большими генными семействами у каждого вида высших растений. Пептидные фитогормоны синтезируются в виде белков-предшественников, которые обычно включают в себя N-концевой сигнальный домен, направляющий пептид по секреторному пути, варибельную область и функционально значимый C-концевой домен, который отщепляется от белка- предше-

ственника во время протеолитического процессинга и претерпевает модификации некоторых консервативных аминокислотных остатков [60]. Зрелые пептидные фитогормоны, последовательности которых соответствуют C-концевым доменам белков-предшественников с внесенными пост-трансляционными модификациями, секретируются в апопласт, где взаимодействуют на поверхности растительных клеток со своими рецепторами – как правило, ими являются серин-треониновые протеинкиназы с внеклеточным доменом, содержащим лейцин-богатые повторы (LRR-RLK, Leucine-Rich Repeats Receptor Like Kinase) [61, 62].

В настоящее время вне растительного царства гены, кодирующие пептидные фитогормоны, были выявлены у ряда бактерий и грибов (как правило, фитопатогенных, но также у некоторых симбиотических и других ассоциированных с растениями организмов, таких как грибы арбускулярной микоризы и ризосферные бактерии), а также у паразитических нематод. Некоторые из “нерастительных” пептидных фитогормонов подробно изучены, например у паразитических нематод [18], другие же были выявлены совсем недавно, и их роль во взаимодействии патогенов с растениями не выяснена [63].

Скорее всего способность синтезировать эффекторы, имитирующие пептидные фитогормоны, развивалась независимо у разных групп организмов, взаимодействующих с растениями. Важный вопрос – как появились гены пептидных фитогормонов у растительных паразитов и симбионтов: произошло ли это в результате длительной совместной эволюции паразита/симбионта и хозяина или в результате ГПГ. С одной стороны, гипотеза конвергентной эволюции кажется более логичной, чем ГПГ, поскольку отсутствуют доказательства, необходимые для принятия гипотезы ГПГ (например, филогенетическое несоответствие между происхождением видов и деревьями генов). С другой стороны, относительно короткие последовательности генов, кодирующих пептидные фитогормоны, обладают ограниченным филогенетическим сигналом, что затрудняет получение данных о происхождении таких пептидов [9].

В случае “нерастительных” пептидных фитогормонов конвергентная эволюция, скорее всего, имела место для наиболее изученного случая пептидно-фитогормональной мимикрии у бактерий, а именно PSY1-подобных пептидов RaхX видов *Xanthomonas* (см. ниже).

В то же время для пептидных фитогормонов паразитических нематод гипотеза ГПГ также представляется весьма вероятной, учитывая, что такие необходимые факторы паразитизма как гены белков-дестабилизаторов клеточной стенки были приобретены нематодами от бактерий и грибов [11]. Совсем недавно гены, кодирующие

пептидные фитогормоны тех же семейств, что играют роль в паразитизме у нематод, были выявлены у некоторых видов бактерий и грибов, взаимодействующих с растениями, что также может быть косвенным подтверждением гипотезы ГПГ [63].

*Пептидные фитогормоны нематод:
регуляторы деления клеток*

К настоящему времени пептидные фитогормоны идентифицированы у нескольких групп фитопаразитических нематод, а именно цистовых (представители родов *Globodera* и *Heterodera*) и галловых (род *Meloidogyne*), образующих галлы на корнях растений-хозяев, а также у близких к цистовым почковидных нематод (род *Rotylenchulus*), неспособных к галлообразованию, но также индуцирующих синцитиальные сайты кормления. У паразитических нематод обнаружены пептидные фитогормоны семейств CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED (CLE), C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDES (CEP) и INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION (IDA) [18].

Пептиды CLE – первые из идентифицированных и наиболее хорошо изученные пептидные гормоны растений – играют важную роль в таких процессах как контроль активности меристем, эмбриогенез, ответ на абиотические факторы среды (содержание нитратов, доступность воды) и растительно-микробные взаимодействия (развитие азотфиксирующих клубеньков при взаимодействии с ризобиями) [59, 64]. Пептиды CEP – регуляторы роста стебля и корня, а также развития боковых корней и клубеньков и ответа на абиотический стресс, в особенности – на дефицит азота [59, 65]. Пептиды IDA опосредованно регулируют дестабилизацию клеточной стенки при таких процессах как формирование отдельного слоя опадающих листьев, цветков и плодов, рост примордия бокового корня через слои клеток эндодермы и коры, а также взаимодействие с патогенами [59, 66].

При этом у галловых нематод имеются гены, кодирующие пептиды всех трех семейств (а также близкие к ним пептиды MAP, см. ниже), у цистовых – только гены CLE, а у почковидных – CLE и CEP. Более того, последовательности и доменная структура соответствующих пептидов различаются у разных групп нематод, особенно у цистовых и галловых. Как и пептидные гормоны растений, предшественники пептидных фитогормонов нематод помимо функционального С-концевого домена (CLE-, CEP- или IDA-домена, соответственно) содержат N-концевой сигнальный домен, который предположительно направляет их к упаковке в секреторные гранулы в клетках пищеводных желез [18]. Также предшественники пептидных фитогормонов всех цистовых и почко-

видных нематод, но не галловых нематод, включают в себя центральный вариабельный домен [18, 67, 68]. Некоторые виды нематод (как и некоторые виды растений) имеют мультидоменные предшественники пептидных фитогормонов, содержащие от двух до девяти функциональных С-концевых доменов: например, все CLE картофельной цистовой нематоды *Globodera rostochiensis* [69], CLE-подобные белки MAP (*Meloidogyne Avirulense* Proteins) галловых нематод [70] и CEP почковидных нематод рода *Rotylenchulus* [71].

Как и прочие эффекторы фитопаразитических нематод, предшественники пептидных фитогормонов секретируются в клетки корня растения-хозяина в составе секрета пищеводных желез [20, 72, 73]. В клетках растений они подвергаются процессингу, в результате которого получаются зрелые пептиды. В частности, на примере мультидоменных CLE *G. rostochiensis* было показано, что для протеолитического процессинга и гликозилирования предшественников пептидных фитогормонов нематод используются соответствующие ферменты растения-хозяина [69].

Зрелые пептиды, полученные в результате процессинга “нематодных” предшественников пептидных фитогормонов в растительной клетке, способны взаимодействовать с рецепторами соответствующих пептидных гормонов растения и активировать нижележащие сигнальные пути. Например, было показано, что на поверхности клеток арабидопсиса пептиды CLE свекловичной нематоды *H. schachtii* (HsCLE) могут связываться с рецепторами растительных CLE: CLAVATA1 (CLV1), CLAVATA2/CORYNE (CLV2/CRN) BARELY ANY MERISTEM 1 и 2 (BAM1, BAM2), RECEPTOR PROTEIN KINASE 2 (RPK2) и TDIF RECEPTOR (TDR) [74–78], тогда как пептиды GrCLE золотистой картофельной нематоды *G. rostochiensis* способны связываться с рецептором StCLV2 картофеля [79]. Гены, кодирующие рецепторы CLV1, CLV2-CRN и RPK2, экспрессируются в синцитиях, индуцированных *H. schachtii* в корнях арабидопсиса [76], а РНК-интерференция генов, кодирующих эти же рецепторы у сои, повышает устойчивость растений к соевой нематоды *Heterodera glycines* [80].

Связывание с растительными рецепторами HAESA (HAE) и HAESA-LIKE 2 (HSL2) предполагается также для IDA пептидов галловых нематод MiIDL1 и MiIDL2 (*M. incognita* IDA-Like): мутанты арабидопсиса с потерей функции этих рецепторов не способны к ростовому ответу на MiIDL и “растительные” IDA [81].

Помимо рецепторов пептидных гормонов растений некоторые из “нематодных” пептидных фитогормонов могут взаимодействовать с другими белками в растительных клетках. Так, пептид CLE *M. incognita*, он же белок-эффектор 16D10, в

клетках растений напрямую взаимодействует с ядерными белками SCL6/HAM3 и SCL2 (SCARECROW-LIKE6 и 2) из семейства ТФ GRAS [82]. Известно, что SCL6/HAM3 принимает участие в спецификации апикальной меристемы корня [83], однако механизм и значение взаимодействия 16D10 с ТФ SCL остаются неясным.

Пептидные фитогормоны паразитических нематод в экспериментах по экзогенной обработке и сверхэкспрессии соответствующих генов вызывали у растений ростовые ответы, сходные с теми, которые вызываются аналогичными семействами пептидных фитогормонов растительного происхождения. Например, экзогенная обработка растений арабидопсиса разными группами пептидов CLE нематод (имеющих сходство с разными группами пептидов CLE растений) вызывает массивную пролиферацию клеток в корнях, что позволяет предположить, что обе группы пептидов CLE нематод могут способствовать пролиферации клеток во время формирования сайта кормления [75]. Сверхэкспрессия гена *16D10 M. incognita* вызывает ускоренный рост корней у арабидопсиса [82]. Сверхэкспрессия генов *H. schachtii HsCLE1* и *HsCLE2* восстанавливает нормальный фенотип у мутанта *clv3* [78], а сверхэкспрессия гена *MiIDL1 M. incognita* – у мутанта *ida* [81]. Напротив, пептиды CEP нематод, по-видимому, ограничивают размер сайтов кормления, так как обработка корней арабидопсиса пептидом RrCEP1 из *Rotylenchulus reniformis* вызывает уменьшение размера синцитиев при заражении нематодами [71].

Очевидно, что ростовые реакции, вызываемые пептидными фитогормонами нематодного происхождения, вносят вклад в способность нематод заражать корни растений. Так, активация экспрессии генов, кодирующих пептидные фитогормоны, на паразитарных стадиях развития нематод [20, 69, 71–73, 84, 85] наряду с тем фактом, что трансгенные растения, экспрессирующие двухцепочечную РНК, комплементарную CLE нематод, устойчивы к нематодному заражению [85], указывают на важную роль этих пептидов в паразитизме. Об этом же свидетельствует тот факт, что РНК-интерференция гена *16D10 M. incognita* у картофеля повышает устойчивость растений к пяти видам *Meloidogyne* [82].

Пептидные фитогормоны бактерий: сигнал для иммунитета растений (и не только)

Наиболее изученным примером бактериальных эффекторов, имитирующих пептидные фитогормоны, является пептид RaxX, продуцируемый бактерией *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Этот белок является гомологом белков PLANT PEPTIDES CONTAINING SULFATED TYROSINE (PSY) растений [86, 87].

В геноме арабидопсиса имеются два гена, кодирующие пептиды-предшественники PSY: наиболее высокий уровень их экспрессии имеет место в апикальной меристеме побега и зоне элонгации корня. Рецептор PSY1 – рецепторная киназа PSY1R (PSY1 RECEPTOR) – при связывании лиганда образует гетеродимер с корцептором SERK1 (SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE1). Мишенью ее действия является мембранная H⁺-АТФаза 2: фосфорилируя и активируя ее, киназа PSY1R способствует закислению межклеточного пространства и повышению лабильности клеточной стенки, что способствует росту клеток растяжением [88].

Изучение бактериального эффектора RaxX началось с открытия гена *Xa21* риса, который кодирует рецепторную киназу семейства LRR-RLK и придает устойчивость растения к *X. oryzae* pv. *oryzae* [89]. Поиск генов *X. oryzae*, необходимых для активации *Xa21* (генов *Rax*, от Required for Activation of *Xa21*), привел к идентификации гена *RaxX*. В дальнейшем гены *RaxX* были обнаружены у многих видов *Xanthomonas*. Высокая консервативность последовательностей генов *RaxX* у разных видов свидетельствует об их важной биологической функции [86, 87].

Продукт другого *Xa21*-активирующего гена *X. oryzae*, кодирующего бифункциональную протеазу/переносчик RaxB, необходим для протеолитического процессинга и созревания пептида RaxX. Кроме того, для функционирования RaxX важно его сульфатирование по консервативному остатку тирозина тирозинсульфотрансферазой RaxST. Таким образом, *Xanthomonas* самостоятельно обеспечивает созревание пептида RaxX в бактериальной клетке и секретирует его в виде протеолитически процессированного и сульфатированного зрелого пептида [90]. Это отличается от ситуации с фитопатогенными грибами и нематодами, которые секретируют только предшественники пептидных фитогормонов и используют ферменты растения-хозяина для их созревания [79, 91].

Пептид RaxX из различных видов *Xanthomonas*, как и пептид AtPSY1 арабидопсиса, стимулирует рост корней. В то же время пептид AtPSY1, в отличие от RaxX, не может активировать *Xa21*-опосредованный иммунитет у растений риса [86]. Наконец, было показано, что пептиды RaxX и AtPSY1 взаимодействуют с разными рецепторами: RaxX, но не AtPSY1, напрямую и с высокой аффинностью связывается с LRR-RLK *Xa21* риса [90].

На сегодняшний день *Xanthomonas* – единственный известный фитопатоген, который секретирует готовый пептидный фитогормон. Кроме того, уникальной является ситуация со специфичностью рецептора этого пептида: только RaxX взаимодействует с рецептором *Xa21* риса, который, следовательно, является не рецептором

растительного гормона, а специализированным рецептором для бактериального эффектора. В связи с этим предполагается, что система RaxX–Xa21, судя по всему, представляет собой частный случай иммунитета растения, запускаемого эффектором (Effector-Triggered Immunity, ETI). Эта система включает в себя бактериальные эффекторы и связывающие их высокоспецифичные поверхностные или внутриклеточные LRR-содержащие иммунные рецепторы растения, которые возникли в результате длительной коэволюции патогенов и их хозяев [92]. Пептид RaxX используется бактерией для облегчения заражения растений, однако иммунная система растений “обманула” *Xanthomonas*, поскольку захват эффектора RaxX рецептором Xa21, ставшим частью системы ETI, останавливает распространение бактерии [86, 87].

Недавно у фитопатогенных бактерий были выявлены также пептидные фитогормоны семейств CEP и RAPID ALKALINIZATION FACTOR (RALF), но биологические функции этих пептидов пока не выяснены. Так, девять видов актинобактерий, большинство из которых являются патогенными для растений, например *Streptomyces acidiscabies*, возбудитель парши картофеля, продуцируют белки, содержащие С-концевой домен RALF. Уникальной особенностью бактериальных белков RALF является домен, гомологичный субъединице S1 коклюшного токсина, который отсутствует в RALF растений и грибов и может свидетельствовать о различиях функций бактериальных и прочих RALF белков [93]. Бактериальный гомолог CEP был обнаружен у *Ralstonia solanaceae* subsp. *solanaceae* – патогена, вызывающего болезнь Суматры у гвоздичных деревьев в Индонезии [63].

Пептидные фитогормоны грибов: неясные функции

Фитопатогенные грибы растений могут манипулировать развитием и иммунным ответом растений-хозяев с помощью сложных и разнообразных механизмов, включая выработку ИУК и ЦК [5, 6], а также секрецию белковых эффекторов – гомологов пептидных гормонов растений (см. ниже).

На сегодняшний день у фитопатогенных грибов выявлены эффекторы, имитирующие пептидные фитогормоны семейств RAPID ALKALINIZATION FACTOR (RALF), фитосульфокины (PSK) и IDA: пептиды RALF и PSK широко распространены в царстве грибов и были идентифицированы более чем у 20 фитопатогенных видов аскомицетов и базидиомицетов [63, 91, 93], в то время как пептиды IDA были обнаружены только у двух видов грибов [63].

Ген, кодирующий близкий гомолог растительных пептидов RALF, был впервые идентифицирован у *Fusarium oxysporum* – распространенного фитопатогенного гриба с широким кругом хозяев, гифы которого распространяются по сосудистой системе растений, вызывая дефицит воды и увядание – фузариозный вилт [94].

Пептиды RALF у растений впервые были обнаружены как факторы, повышающие pH среды при их добавлении в культуру клеток табака: конечной мишенью их действия, по-видимому, является H⁺-АТФаза 2, активность которой негативно регулирует RALF. Благодаря такому действию пептиды RALF являются негативными регуляторами ИУК: обработка растений пептидами RALF вызывает снижение скорости удлинения корней. Кроме того, пептиды RALF известны как регуляторы повышения уровня активных форм кислорода (ROS, Reactive Oxygen Species) при биотическом и абиотическом стрессе [95].

Белок-предшественник RALF, кодируемый геном *F. oxysporum* (F-RALF), как и соответствующие белки растений, содержит консервативный домен RALF, соответствующий зрелому пептиду, и N-концевой сигнальный домен, необходимый для секреции. В дальнейшем гены RALF были идентифицированы в геномах 26 видов биотрофных и некротрофных фитопатогенных грибов: некоторые из этих видов грибов имеют по несколько RALF-подобных генов. Все виды грибов, которые обладают генами RALF, являются патогенами растений, что указывает на роль RALF в патогенезе грибов. По всей видимости, RALF *F. oxysporum* взаимодействует с растительным рецептором пептидов RALF – протеинкиназой FERONIA: мутант арабидопсиса с потерей функции этого рецептора не проявляет ингибирования роста в ответ на заражение *F. oxysporum* [91, 93].

Интересно, что у близкого вида фитопатогенных грибов, *Fusarium graminearum*, пептид RALF, по-видимому, не важен для вирулентности: мутантные штаммы с потерей функции своего единственного гена *FgRALF* проявляют нормальную способность к заражению растений [96]. Таким образом, консервативная роль пептидов RALF в патогенезе грибов остается под вопросом.

Также среди грибов довольно широко распространены гомологи пептидов PSK, которые были идентифицированы у пяти видов базидиомицетов (виды рода *Tilletia*) и 19 видов аскомицетов (но не у *F. oxysporum* и близких к нему видов) [63]. Фитосульфокины (PSK) растений, в отличие от пептидов RALF, являются активаторами роста и деления клеток, играя роль в контроле активности меристем, росте пыльцевой трубки и реакции на патогенез [97]. Все грибы, содержащие гомологи генов PSK, также являются фитопатогенными, что позволяет предположить роль “грибных”

фитосульфокинов во взаимодействии с растением-хозяином. Тем не менее роль генов *PSK* фитопатогенных грибов в настоящее время не была изучена в связи с совсем недавним их открытием [63].

Совершенно не изучены также функции пептидов *IDA*, выявленных у двух видов фитопатогенных грибов – базидиомицета *Melampsora larici-populina* и аскомицета *Colletotrichum fructicola* [63].

Другие примеры молекулярной мимикрии у фитопатогенов

Помимо вышеописанных примеров молекулярной мимикрии, у разных групп фитопатогенов описано довольно много частных случаев эффекторов, которые имитируют определенные белки растений-хозяев и способствуют повышению эффективности заражения, осуществляя определенные функции в клетке растений. Поскольку таких примеров множество, мы остановимся только на нескольких наиболее интересных эффекторах, обнаруженных у фитопаразитических нематод.

Нематоды рода *Heterodera* в числе прочих эффекторов секретируют в ткани корня растений аннексин-подобные белки, которые демонстрируют функциональное сходство с аннексинами растений [98, 99]. Аннексины – консервативные для эукариот белки, которые связывают ионы кальция и фосфолипиды и участвуют во множестве клеточных процессов, в том числе – в ответе на абиотический стресс и патогенез у растений. Предполагается, что аннексины нематод могут играть роль в подавлении иммунной реакции растений: так, экспрессия гена, кодирующего секретируемый аннексин *H. avenae*, вызывает подавление местной иммунной реакции сверхчувствительности (Hypersensitivity response, HR) на различные бактериальные индукторы, такие как флагеллин. Нокаут этого же гена у нематоды резко снижает ее способность к заражению растений [99].

Другой пример – нематодные эффекторы, вызывающие убиквитинирование белков растения-хозяина. У цистовых (но не у галловых) нематод были выявлены эффекторы из семейства белков удлинения цепей убиквитина (Ubiquitin Extension Protein, UEP). Было показано, что белки из этого семейства HsUB11 *H. schachtii* и GrUBCEP12 *G. rostochiensis* могут быть важны для развития успешного паразитизма на растении, так как их РНК-интерференция снижала восприимчивость растений к нематодам [100]. Мишени этих белков в растительных клетках неизвестны.

Наконец, некоторые эффекторный белки, секретируемые фитопатогенными нематодами, могут регулировать экспрессию генов растения-хозяина, выступая в качестве транскрипционных факторов. Так, эффектор *M. incognita* 7N08 имеет домены ядерной локализации и после секреции

доставляется в ядро растительной клетки. Более того, было показано, что этот белок может активировать транскрипцию репортерных генов как в дрожжевой системе, так и *in planta* [101].

ОБСУЖДЕНИЕ

Итак, для различных групп фитопатогенов в настоящее время выявлено множество примеров молекулярной мимикрии, направленной на достижение одной цели – повышение эффективности патогенеза, но реализуемой разными путями. Более того, распространение молекулярной мимикрии не ограничивается фитопатогенами: ее примеры есть и среди других организмов, взаимодействующих с растениями, в том числе – симбионтов.

Как и фитопатогены, симбиотические и полезные микробы также способны изменять процессы развития растений, производя различные эффекторы. Поскольку полезные микробы изначально воспринимаются растениями как потенциальные захватчики, вмешательство в иммунную систему растений, направленное на модулирование системы “защитных” фитогормонов, является фундаментальным для их выживания и установления отношений с растением-хозяином. Например, микоризные грибы могут модулировать передачу сигналов этилена – фитогормона, регулирующего ответ на биотические и абиотические стрессовые факторы и играющего важную роль в развитии первичной (местной) иммунной реакции. Во время колонизации растений грибом арбускулярной микоризы *Glomus intraradice* его эффекторный белок SP7 напрямую взаимодействует с этилен-зависимым ТФ Ethylene Response Factor 19 (ERF19) [102]. На снижении этилен-зависимых реакций “играют” также ризосферные бактерии рода *Rhizobacteria*, которые обладают АЦК-деаминазой, ферментом, который разрушает предшественник этилена аминоклопропанкарбоксилат (АЦК) и таким образом снижает уровень биосинтеза этилена в растении-хозяине [103].

Бактерии *Rhizobium*, способные к образованию азотфиксирующего симбиоза с бобовыми растениями, грибы арбускулярной микоризы, а также некоторые ризосферные бактерии и грибы способны к синтезу ЦК и ИУК, что важно для установления их взаимодействия с растением-хозяином [104–109]. Способность продуцировать ИУК и ЦК делает эти микроорганизмы важными регуляторами развития растений [107, 108].

Также у симбиотических и полезных микробов существуют примеры мимикрии пептидных фитогормонов. У некоторых видов эндофитных, эпифитных и ризосферных бактерий были идентифицированы гены, кодирующие возможные

гомологи пептидов CLE, CEP и PSK [63]. Гомологи растительных пептидных фитогормонов выявлены также у грибов арбускулярной микоризы: в геномах четырех видов рода *Rhizophagus* и одного вида рода *Gigaspora* идентифицированы гены, продукты которых имеют высокое сходство с некоторыми пептидами CLE арабидопсиса и люцерны. Более того, для *Rhizophagus irregularis* и *Gigaspora rosea* показана активация генов *CLE* (*RiCLE1* и *GrCLE1*) при развитии симбиоза. Обработка растений люцерны синтетическим пептидом RiCLE1 влияла на развитие корневой системы: подавляла рост первичных корней и стимулировала образование боковых корней. Этот эффект был менее выраженным у мутантов *clv2*, что позволяет предположить, что рецептор CLV2 может быть ответственным за восприятие RiCLE1. Экзогенная обработка проростков RiCLE1 перед инокуляцией *R. irregularis* усиливала дальнейшую микоризацию корня, что свидетельствует о роли пептидов CLE микоризных грибов в установлении симбиоза с растениями [110].

В литературе последних лет активно обсуждается происхождение разных вариантов молекулярной мимикрии у фитопатогенов [4, 14, 18]. Некоторые молекулы, используемые фитопатогенами, являются очень древними и консервативными (например, ИУК, ЦК, бактериальные целлюлазы) и могут использоваться разными группами организмов для разных целей, тогда как фитопатогены “научились” применять их для колонизации растений-хозяев. Более поздними приобретениями являются, например, гены, кодирующие пептидные фитогормоны нерастительного происхождения, которые могли возникнуть как в результате ГПГ, так и в результате конвергентной эволюции.

В последние годы идет активное накопление знаний о примерах молекулярной мимикрии у фитопатогенов и механизмах ее действия [13, 63]. Эти знания позволяют сделать выводы о происхождении таких примеров, а также о роли молекулярного диалога растений с его симбионтами и паразитами в установлении взаимоотношений растения-хозяина с полезными микроорганизмами и защитных реакций против патогенов.

Обзор написан при поддержке гранта РФФ 21-66-00012.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rojas M., Restrepo-Jiménez P., Monsalve D.M. et al. Molecular mimicry and autoimmunity // *J. Autoimmun.* 2018. V. 95. P. 100–123. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2018.10.012>
2. Nobori T., Mine A., Tsuda K. Molecular networks in plant-pathogen holobiont // *FEBS Lett.* 2018. V. 592. № 12. P. 1937–1953. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13071>
3. Bohlmann H., Sobczak M. The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes // *Front Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 89. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00089>
4. Dodueva I., Lebedeva M., Lutova L. Dialog between Kingdoms: enemies, allies and peptide phytohormones // *Plants (Basel)*. 2021. V. 10. № 11. P. 2243. <https://doi.org/10.3390/plants10112243>
5. Ludwig-Müller J. Bacteria and fungi controlling plant growth by manipulating auxin: balance between development and defense // *J. Plant Physiol.* 2015. V. 172. P. 4–12.
6. Spallek T., Gan P., Kadota Y., Shirasu K. Same tune, different song—cytokinins as virulence factors in plant-pathogen interactions? // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2018. V. 44. P. 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.03.002>
7. Jiang S., Yao J., Ma K.W. et al. Bacterial effector activates jasmonate signaling by directly targeting JAZ transcriptional repressors // *PLoS Pathog.* 2013. V. 9. № 10. P. e1003715. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003715>
8. Geng X., Jin L., Shimada M. et al. The phytotoxin coronatine is a multifunctional component of the virulence armament of *Pseudomonas syringae* // *Planta*. 2014. V. 240. № 6. P. 1149–1165. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2151-x>
9. Bird D.M., Jones J.T., Opperman C.H. et al. Signatures of adaptation to plant parasitism in nematode genomes // *Parasitology*. 2015. V. 142. Suppl. 1. P. S71–S84. <https://doi.org/10.1017/S0031182013002163>
10. Danchin E.G.J. What Nematode genomes tell us about the importance of horizontal gene transfers in the evolutionary history of animals // *Mob. Genet. Elements*. 2011. V. 1. № 4. P. 269–273. <https://doi.org/10.4161/mge.18776>
11. Danchin E.G.J., Rosso M.N., Vieira P. et al. Multiple lateral gene transfers and duplications have promoted plant parasitism ability in nematodes // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. № 41. P. 17651–17656. <https://doi.org/10.1073/pnas.1008486107>
12. Paganini J., Campan-Fournier A., Da Rocha M. et al. Contribution of lateral gene transfers to the genome composition and parasitic ability of root-knot nematodes // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 11. P. e50875. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050875>
13. Frébortová J., Frébort I. Biochemical and structural aspects of cytokinin biosynthesis and degradation in bacteria // *Microorganisms*. 2021. V. 9. № 6. P. 1314. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061>
14. Ali M.A., Azeem F., Li H., Bohlmann H. Smart parasitic nematodes use multifaceted strategies to parasitize

- plants // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1699.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01699>
15. Siddique S., Radakovic Z.S., De La Torre C.M. et al. A parasitic nematode releases cytokinin that controls cell division and orchestrates feeding site formation in host plants // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2015. V. 112. № 41. P. 12669–12674.
<https://doi.org/10.1073/pnas.15036571>
 16. Lee C., Chronis D., Kenning C. et al. The novel cyst nematode effector protein 19C07 interacts with the *Arabidopsis* auxin influx transporter LAX3 to control feeding site development // *Plant Physiol.* 2011. V. 155. № 2. P. 866–880.
<https://doi.org/10.1104/pp.110.16719>
 17. Hewezi T., Juvale P.S., Piya S. et al. The cyst nematode effector protein 10A07 targets and recruits host post-translational machinery to mediate its nuclear trafficking and to promote parasitism in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2015. V. 27. № 3. P. 891–907.
<https://doi.org/10.1105/tpc.114.135327>
 18. Gheysen G., Mitchum M.G. Phytoparasitic nematode control of plant hormone pathways // *Plant Physiol.* 2019. V. 179. № 4. P. 1212–1226.
<https://doi.org/10.1104/pp.18.01067>
 19. Haegeman A., Mantelin S., Jones J.T., Gheysen G. Functional roles of effectors of plant-parasitic nematodes // *Gene.* 2012. V. 492. № 1. P. 19–31.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.10.040>
 20. Bobay B.G., DiGennaro P., Scholl E. et al. Solution NMR studies of the plant peptide hormone CEP in-form function // *FEBS Lett.* 2013. V. 587. № 24. P. 3979–3985.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.10.033>
 21. de Almeida Engler J., Kyndt T., Vieira P. et al. CCS52 and DEL1 genes are key components of the endocycle in nematode-induced feeding sites // *Plant J.* 2012. V. 72. № 2. P. 185–198.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05054.x>
 22. Doduева I.E., Lebedeva M.A., Kuznetsova K.A. et al. Plant tumors: a hundred years of study // *Planta.* 2020. V. 251. № 4. P. 82.
<https://doi.org/10.1007/s00425-020-03375-5>
 23. Chen Z., Agnew J.L., Cohen J.D. et al. *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 alters *Arabidopsis thaliana* auxin physiology // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 50. P. 20131–20136.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0704901104>
 24. Choi J., Huh S.U., Kojima M. et al. The cytokinin-activated transcription factor ARR2 promotes plant immunity via TGA3/NPR1-dependent salicylic acid signaling in *Arabidopsis* // *Dev. Cell.* 2010. V. 19. № 2. P. 284–295.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.07.011>
 25. Taya Y., Tanaka Y., Nishimura S. 5'-AMP is a direct precursor of cytokinin in *Dictyostelium discoideum* // *Nature.* 1978. V. 271. № 5645. P. 545–547.
<https://doi.org/10.1038/271545a0>
 26. Barry G.F., Rogers S.G., Fraley R.T., Brand L. Identification of a cloned cytokinin biosynthetic gene // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1984. V. 81. № 15. P. 4776–4780.
<https://doi.org/10.1073/pnas.81.15.4776>
 27. Kemper E., Wafenschmidt S., Weiler E.W. et al. T-DNA-encoded auxin formation in crown-gall cells // *Planta.* 1985. V. 163. № 2. P. 257–262.
<https://doi.org/10.1007/BF00393516>
 28. Fu S.-F., Wei J.Y., Chen H.W. et al. Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms // *Plant Signal. Behav.* 2015. V. 10. № 8. P. e1048052.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1048052>
 29. Spíchal L. Cytokinins – recent news and views of evolutionarily old molecule // *Funct. Plant Biol.* 2012. V. 39. № 4. P. 267–284.
<https://doi.org/10.1071/FP11276>
 30. Takei K., Sakakibara H., Sugiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, A cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 28. P. 26405–26410.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M102130200>
 31. Persson B.C., Esberg B., Olafsson O., Björk G.R. Synthesis and function of isopentenyl adenosine derivatives in tRNA // *Biochimie.* 1994. V. 76. № 12. P. 1152–1160.
[https://doi.org/10.1016/0300-9084\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0300-9084(94)90044-2)
 32. Frébort I., Kowalska M., Hluska T. et al. Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation // *J. Exp. Bot.* 2011. V. 62. № 8. P. 2431–2452.
<https://doi.org/10.1093/jxb/err004>
 33. Yue J., Hu X., Huang J. Origin of plant auxin biosynthesis // *Trends Plant Sci.* 2014. V. 19. № 12. P. 764–770.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.004>
 34. Hinsch J., Galuszka P., Tudzynski P. Functional characterization of the first filamentous fungal tRNA-isopentenyltransferase and its role in the virulence of *Claviceps purpurea* // *New Phytol.* 2016. V. 211. № 3. P. 980–992.
<https://doi.org/10.1111/nph.13960>
 35. Chapman E.J., Estelle M. Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants // *Annu. Rev. Genet.* 2009. V. 43. P. 265–285.
<https://doi.org/10.1242/dev.131870>
 36. Cui F., Wu S., Sun W. et al. The *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 promotes pathogen virulence via stimulating *Arabidopsis* auxin/indole acetic acid protein turnover // *Plant Physiol.* 2013. V. 162. № 2. P. 1018–1029.
<https://doi.org/10.1104/pp.113.219659>
 37. Pieterse C.M.J., Van der Does D., Zamioudis C. et al. Hormonal modulation of plant immunity // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2012. V. 28. P. 489–521.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
 38. Lambert K.N., Allen K.D., Sussex I.M. Cloning and characterization of an esophageal-gland-specific chorismate mutase from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne javanica* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 1999. V. 12. № 4. P. 328–336.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.4.328>
 39. Doyle E.A., Lambert K.N. *Meloidogyne javanica* chorismate mutase 1 alters plant cell development // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2003. V. 16. № 2. P. 123–131.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.2.123>

40. Huang G., Dong R., Allen R. et al. Two chorismate mutase genes from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* // Mol. Plant Pathol. 2005. V. 6. № 1. P. 23–30. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2004.00257.x>
41. Vanholme B., Kast P., Haegeman A. et al. Structural and functional investigation of a secreted chorismate mutase from the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii* in the context of related enzymes from diverse origins // Mol. Plant Pathol. 2009. V. 10. № 2. P. 189–200. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00521.x>
42. Wang X., Xue B., Dai J., Qin X. A novel *Meloidogyne incognita* chorismate mutase effector suppresses plant immunity by manipulating the salicylic acid pathway and functions mainly during the early stages of nematode parasitism // Plant Pathology. 2018. V. 67. № 6. P. 1436–1448. <https://doi.org/10.1111/ppa/12841>
43. Parkinson J., Whitton C., Guiliano D. et al. 200000 nematode expressed sequence tags on the Net // Trends Parasitol. 2001. V. 17. № 8. P. 394–396. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(01\)01954-7](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(01)01954-7)
44. Djamei A., Schipper K., Rabe F. et al. Metabolic priming by a secreted fungal effector // Nature. 2011. V. 478. № 7369. P. 395–398. <https://doi.org/10.1038/nature10454>
45. Degrassi G., Devescovi G., Bigirimana J., Venturi V. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* XKK.12 contains an AroQgamma chorismate mutase that is involved in rice virulence // Phytopathology. 2010. V. 100. № 3. P. 262–270. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-3-0262>
46. Assis R. de A.B., Sagawa C.H.D., Zaini P.A. et al. A secreted chorismate mutase from *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* attenuates virulence and walnut blight symptoms // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 19. P. 10374. <https://doi.org/10.3390/ijms221910374>
47. Noon J.B., Baum T.J. Horizontal gene transfer of acetyltransferases, invertases and chorismate mutases from different bacteria to diverse recipients // BMC Evol. Biol. 2016. V. 16. P. 74. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0651-y>
48. Liu T., Song T., Zhang X. et al. Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis // Nat. Commun. 2014. V. 5. P. 4686. <https://doi.org/10.1038/ncomms5686>
49. Brooks D.M., Bender C.L., Kunkel B.N. The *Pseudomonas syringae* phytotoxin coronatine promotes virulence by overcoming salicylic acid-dependent defences in *Arabidopsis thaliana* // Mol. Plant Pathol. 2005. V. 6. № 6. P. 629–639. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00311.x>
50. Thines B., Katsir L., Melotto M. et al. JAZ repressor proteins are targets of the SCF(CO11) complex during jasmonate signalling // Nature. 2007. V. 448. № 7154. P. 661–665. <https://doi.org/10.1038/nature05960>
51. Ejaz U., Sohail M., Ghanemi A. Cellulases: From bioactivity to a variety of industrial applications // Biomimetics (Basel). 2021. V. 6. № 3. P. 44. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6030044>
52. Cosgrove D.J. Microbial Expansins // Annu. Rev. Microbiol. 2017. V. 71. P. 479–497. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090816-093315>
53. Jahr H., Dreier J., Meletzus D. et al. The endo-beta-1,4-glucanase CelA of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* is a pathogenicity determinant required for induction of bacterial wilt of tomato // Mol. Plant Microbe Interact. 2000. V. 13. № 7. P. 703–714. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.7.703>
54. Quarantin A., Castiglioni C., Schäfer W. et al. The *Fusarium graminearum* cerato-platanins loosen cellulose substrates enhancing fungal cellulase activity as expansin-like proteins // Plant Physiol. Biochem. 2019. V. 139. P. 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.025>
55. Smant G., Stokkermans J.P., Yan Y. et al. Endogenous cellulases in animals: Isolation of beta-1, 4-endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. № 9. P. 4906–4911. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.9.4906>
56. Ali S., Magne M., Chen S. et al. Analysis of putative apoplastic effectors from the nematode, *Globodera rostochiensis*, and identification of an expansin-like protein that can induce and suppress host defenses // PLoS One. 2015. V. 10. № 1. P. e0115042. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115042>
57. Chen Q., Rehman S., Smant G., Jones J.T. Functional analysis of pathogenicity proteins of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* using RNAi // Mol. Plant Microbe Interact. 2005. V. 18. № 7. P. 621–625. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0621>
58. Hewezi T., Howe P., Maier T.R. et al. Cellulose binding protein from the parasitic nematode *Heterodera schachtii* interacts with *Arabidopsis* pectin methylesterase: cooperative cell wall modification during parasitism // Plant Cell. 2008. V. 20. № 11. P. 3080–3093. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063065>
59. Ганчева М.С., Маловичко Ю.В., Полюшкевич Л.О. и др. Пептидные гормоны растений // Физиол. растений. 2019. Т. 66. № 2. С. 83–103. <https://doi.org/0.1134/S001533031901007X>
60. Stührwoldt N., Schaller A. Regulation of plant peptide hormones and growth factors by post-translational modification // Plant Biol. (Stuttg). 2019. V. 21. Suppl 1. P. 49–63. <https://doi.org/10.1111/plb.12881>
61. Полюшкевич Л.О., Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Рецепторы пептидов CLE у растений // Физиол. растений. 2020. Т. 67. № 1. С. 3–19. <https://doi.org/0.31857/S0015330320010285X>
62. Chakraborty S., Nguyen B., Wasti S.D., Xu G. Plant Leucine-Rich Repeat Receptor kinase (LRR-RK): structure, ligand perception, and activation mechanism // Molecules. 2019. V. 24. № 17. P. E3081. <https://doi.org/10.3390/molecules24173081>
63. Yuan N., Furumizu C., Zhang B., Sawa S. Database mining of plant peptide homologues // Plant Biotechnol. (Tokyo). 2021. V. 38. № 1. P. 137–143. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.20.0720a>
64. Willoughby A.C., Nimchuk Z.L. WOX going on: CLE peptides in plant development // Curr. Opin. Plant Biol.

2021. V. 63. P. 102056.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.1020>
65. Taleski M., Imin N., Djordjevic M.A. CEP peptide hormones: key players in orchestrating nitrogen-demand signalling, root nodulation, and lateral root development // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. № 8. P. 1829–1836.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ery037>
 66. Aalen R.B., Wildhagen M., Stø I.M., Butenko M.A. IDA: A peptide ligand regulating cell separation processes in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. № 17. P. 5253–5261
<https://doi.org/10.1093/jxb/ert338>
 67. Wang J., Joshi S., Korkin D., Mitchum M.G. Variable domain I of nematode CLEs directs post-translational targeting of CLE peptides to the extracellular space // *Plant Signal. Behav.* 2010. V. 5. № 12. P. 1633–1635.
<https://doi.org/10.4161/psb.5.12.13774>
 68. Wubben M.J., Gavilano L., Baum T.J., Davis E.L. Sequence and spatiotemporal expression analysis of CLE-motif containing genes from the reniform nematode (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira) // *J. Nematol.* 2015. V. 47. № 2. P. 159–165.
 69. Lu S.-W., Chen S., Wang J. et al. Structural and functional diversity of CLAVATA3/ESR (CLE)-like genes from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2009. V. 22. № 9. P. 1128–1142.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-22-9-112>
 70. Rutter W.B., Hewezi T., Maier T.R. et al. Members of the *Meloidogyne avirulence* protein family contain multiple plant ligand-like motifs // *Phytopathology.* 2014. V. 104. № 8. P. 879–885.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-13-0326-R>
 71. Eves-Van Den Akker S., Lilley C.J., Yusup H.B. et al. Functional C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDE (CEP) plant hormone domains evolved de novo in the plant parasite *Rotylenchulus reniformis* // *Mol. Plant Pathol.* 2016. V. 17. № 8. P. 1265–1275.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12402>
 72. Wang X., Allen R., Ding X. et al. Signal peptide-selection of cDNA cloned directly from the esophageal gland cells of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2001. V. 14. № 4. P. 536–544.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.4.53>
 73. Tucker M.L., Yang R. A gene encoding a peptide with similarity to the plant IDA signaling peptide (AtIDA) is expressed most abundantly in the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) soon after root infection // *Exp. Parasitol.* 2013. V. 134. № 2. P. 165–170.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.03.019>
 74. Guo Y., Ni J., Denver R. et al. Mechanisms of molecular mimicry of plant CLE peptide ligands by the parasitic nematode *Globodera rostochiensis* // *Plant Physiol.* 2011. V. 157. № 1. P. 476–484.
<https://doi.org/10.1104/pp.111.180554>
 75. Guo X., Wang J., Gardner M. et al. Identification of cyst nematode B-type CLE peptides and modulation of the vascular stem cell pathway for feeding cell formation // *PLoS Pathog.* 2017. V. 13. № 2. P. e1006142.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006142>
 76. Replogle A., Wang J., Bleckmann A. et al. Nematode CLE signaling in *Arabidopsis* requires CLAVATA2 and CORYNE // *Plant J.* 2011. V. 65. № 3. P. 430–440.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.04433.x>
 77. Replogle A., Wang J., Paolillo V. et al. Synergistic interaction of CLAVATA1, CLAVATA2, and RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 2 in cyst nematode parasitism of *Arabidopsis* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2013. V. 26. № 1. P. 87–96.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-05-12-0118-F>
 78. Wang J., Replogle A., Hussey R. et al. Identification of potential host plant mimics of CLAVATA3/ESR (CLE)-like peptides from the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii* // *Mol. Plant Pathol.* 2011. V. 12. № 2. P. 177–186.
<https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00660.x>
 79. Chen S., Lang P., Chronis D. et al. In planta processing and glycosylation of a nematode CLAVATA3/ENDOSPERM SURROUNDING REGION-like effector and its interaction with a host CLAVATA2-like receptor to promote parasitism // *Plant Physiol.* 2015. V. 167. № 1. P. 262–272.
<https://doi.org/10.1104/pp.114.251637>
 80. Guo X., Chronis D., De La Torre C.M. et al. Enhanced resistance to soybean cyst nematode *Heterodera glycines* in transgenic soybean by silencing putative CLE receptors // *Plant Biotechnol. J.* 2015. V. 13. № 6. P. 801–810.
<https://doi.org/10.1111/pbi.12313>
 81. Kim J., Yang R., Chang C. et al. The root-knot nematode *Meloidogyne incognita* produces a functional mimic of the *Arabidopsis* INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION signaling peptide // *J. Exp. Bot.* 2018. V. 69. № 12. P. 3009–3021.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ery135>
 82. Huang G., Dong R., Allen R. et al. A root-knot nematode secretory peptide functions as a ligand for a plant transcription factor // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2006. V. 19. № 5. P. 463–470.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-19-046>
 83. Zhou Y., Liu X., Engstrom E.M. et al. Control of plant stem cell function by conserved interacting transcriptional regulators // *Nature.* 2015. V. 517. № 7534. P. 377–380.
<https://doi.org/10.1038/nature13853>
 84. Gao B., Allen R., Maier T. et al. The parasitome of the phytonematode *Heterodera glycines* // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2003. V. 16. № 8. P. 720–726.
<https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.8.720>
 85. Dinh P.T.Y., Zhang L., Mojtahedi H. et al. Broad meloidogyne resistance in potato based on RNA interference of effector gene I6D10 // *J. Nematol.* 2015. V. 47. № 1. P. 71–78.
 86. Pruitt R.N., Joe A., Zhang W. et al. A microbially derived tyrosine-sulfated peptide mimics a plant peptide hormone // *New Phytol.* 2017. V. 215. № 2. P. 725–736.
<https://doi.org/10.1111/nph.14609>
 87. Pruitt R.N., Schwessinger B., Joe A. et al. The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a Gram-negative bacterium // *Sci. Adv.*

2015. V. 1. № 6. P. e1500245.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1500245>
88. *Oehlenschläger C.B., Gersby L.B.A., Ahsan N. et al.* Activation of the LRR receptor-like kinase PSY1R requires transphosphorylation of residues in the activation loop // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 2005.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02005>
 89. *Wang G.L., Song W.Y., Ruan D.L. et al.* The cloned gene, Xa21, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants // *Mol. Plant Microbe Interact.* 1996. V. 9. № 9. P. 850–855.
<https://doi.org/10.1094/mpmi-9-085>
 90. *Luu D.D., Joe A., Chen Y. et al.* Biosynthesis and secretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2019. V. 116. № 17. P. 8525–8534.
<https://doi.org/10.1073/pnas.181827511>
 91. *Masachis S., Segorbe D., Turrà D. et al.* A fungal pathogen secretes plant alkalizing peptides to increase infection // *Nat. Microbiol.* 2016. V. 1. № 6. P. 16043.
<https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.43>
 92. *Cui H., Tsuda K., Parker J.E.* Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2015. V. 66. P. 487–511.
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040012>
 93. *Thynne E., Saur I.M.L., Simbaqueba J. et al.* Fungal phytopathogens encode functional homologues of plant rapid alkalization factor (RALF) peptides // *Mol. Plant Pathol.* 2017. V. 18. № 6. P. 811–824.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12444>
 94. *Gordon T.R.* *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2017. V. 55. P. 23–39.
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>
 95. *Blackburn M.R., Haruta M., Moura D.S.* Twenty years of progress in physiological and biochemical investigation of RALF peptides // *Plant Physiol.* 2020. V. 182. № 4. P. 1657–1666.
<https://doi.org/10.1104/pp.19.0131>
 96. *Wood A.K.M., Walker C., Lee W.S. et al.* Functional evaluation of a homologue of plant rapid alkalisation factor (RALF) peptides in *Fusarium graminearum* // *Fungal Biol.* 2020. V. 124. № 9. P. 753–765.
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.05.001>
 97. *Sauter M.* Phytosulfokine peptide signalling // *J. Exp. Bot.* 2015. V. 66. № 17. P. 5161–5169.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv071>
 98. *Patel N., Hamamouch N., Li C. et al.* A nematode effector protein similar to annexins in host plants // *J. Exp. Bot.* 2010. V. 61. № 1. P. 235–248.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erp293>
 99. *Chen C., Liu S., Liu Q. et al.* An ANNEXIN-like protein from the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* suppresses plant defense // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 4. P. e0122256.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122256>
 100. *Chronis D., Chen S., Lu S. et al.* A ubiquitin carboxyl extension protein secreted from a plant-parasitic nematode *Globodera rostochiensis* is cleaved in planta to promote plant parasitism // *Plant J.* 2013. V. 74. № 2. P. 185–196.
<https://doi.org/10.1111/tpj.12125>
 101. *Zhang L., Davies L.J., Elling A.A.* A *Meloidogyne incognita* effector is imported into the nucleus and exhibits transcriptional activation activity in planta // *Mol. Plant Pathol.* 2015. V. 16. № 1. P. 48–60.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12160>
 102. *Kloppholz S., Kuhn H., Requena N.* A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy // *Curr. Biol.* 2011. V. 21. № 14. P. 1204–1209.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.06.044>
 103. *Shaharoon B., Arshad M., Zahir Z.A.* Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.) // *Lett. Appl. Microbiol.* 2006. V. 42. № 2. P. 155–159.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01827.x>
 104. *Frugier F., Kosuta S., Murray J.D. et al.* Cytokinin: secret agent of symbiosis // *Trend. Plant Sci.* 2008. V. 13. № 3. P. 115–120.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.01.003>
 105. *Kisiala A., Laffont C., Emery R.J., Frugier F.* Bioactive cytokinins are selectively secreted by *Sinorhizobium meliloti* nodulating and nonnodulating strains // *Mol. Plant Microbe Interact.* 2013. V. 26. № 10. P. 1225–1231.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-02-13-0054-R>
 106. *Crafts C.B., Miller C.O.* Detection and identification of cytokinins produced by mycorrhizal fungi // *Plant Physiol.* 1974. V. 54. № 4. P. 586–588.
<https://doi.org/10.1104/pp.54.4.586>
 107. *Fu S.-F., Wei J.Y., Chen H.W. et al.* Indole-3-acetic acid: A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms // *Plant Signal. Behav.* 2015. V. 10. № 8. P. e1048052.
<https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1048052>
 108. *Duca D.R., Glick B.R.* Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. V. 104. № 20. P. 8607–8619.
<https://doi.org/10.1007/s00253-020-10869-5>
 109. *Pons S., Fournier S., Chervin C. et al.* Phytohormone production by the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* // *PLoS One.* 2020. V. 15. № 10. P. e0240886.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240886>
 110. *Marquer M.L., Bécard G., Frey N.F.* Arbuscular mycorrhizal fungi possess a CLAVATA3/embryo surrounding region-related gene that positively regulates symbiosis // *New Phytol.* 2019. V. 222. № 2. P. 1030–1042.
<https://doi.org/10.1111/nph.1564>

Phytopathogens and Molecular Mimicry

I. E. Dodueva^a, * , M. A. Lebedeva^a, and L. A. Lutova^a

^a*Saint Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia*

**e-mail: Wildtype@yandex.ru*

The co-evolution of plants and their pathogens is an example of an “arms race” between the virulence factors of pathogens and the immune system of the host plant. In this case, pathogens use a variety of strategies, including those based on molecular mimicry. In the genomes of phytopathogenic organisms of different groups, genes have been identified whose products are similar to certain groups of plant proteins – enzymes for cell walls destabilization, precursors of peptide phytohormones, etc. In particular, the ability to produce effectors that are used to alter the growth of the host plant and suppress its defense reactions has become widespread among phytopathogens from different kingdoms of the living world – bacteria, fungi and animals (namely, nematodes). In our review, we will consider the main examples of molecular mimicry found in plant pathogens.

Keywords: molecular mimicry, phytopathogens, bacteria, fungi, nematodes, co-evolution of plants and pathogens, horizontal gene transfer.

УДК [575.17+575.22]:582.683.2(470.5)

ПЕРВЫЕ ДАННЫЕ О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ВИДОВ РОДА *Alyssum* L. СЕКЦИИ *Odontarrhena* НА УРАЛЕ, СПОСОБНЫХ К НАКОПЛЕНИЮ НИКЕЛЯ

© 2022 г. Д. Р. Юнусова^{1, *}, А. Ю. Тептина², В. Л. Семериков¹, М. А. Полежаева¹¹Институт экологии растений и животных Уральского отделения
Российской академии наук, Екатеринбург, 620144 Россия²Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, 620002 Россия

*e-mail: dianaiunusova@mail.ru

Поступила в редакцию 18.01.2021 г.

После доработки 20.01.2022 г.

Принята к публикации 02.02.2022 г.

Впервые рассматриваются филогенетические отношения между видами *Alyssum obovatum* (С.А. Мей.) Turcz., *A. tortuosum* Willd. и *A. litvinovii* Knjaz. секции *Odontarrhena* на Урале, имеющими способность к накоплению никеля. Анализ изменчивости двух фрагментов хлоропластной ДНК позволил выявить 15 гаплотипов, распределение которых структурировано географически. Для некоторых популяций *A. obovatum* и *A. tortuosum* обнаружены видоспецифичные гаплотипы, однако большая часть близкородственных гаплотипов встречается у географически близких популяций обоих видов. Эндемичный вид *A. litvinovii* оказался мономорфным и генетически близким к двум другим видам.

Ключевые слова: генетическая изменчивость, хпДНК, Урал, гипераккумуляторы, *Alyssum*, *trnS-trnG*, *trnH-psbA*.

DOI: 10.31857/S0016675822060145

Гипераккумуляторы — растения, способные накапливать в своих тканях тяжелые металлы в концентрациях в сотни и тысячи раз больших, чем другие растения [1]. На сегодняшний день около 25% известных растений-гипераккумуляторов обнаружены в семействе Brassicaceae [2]. В основном это представители родов *Alyssum* L., *Noccaea* Moench., *Thlaspi* L., чаще всего накапливающих никель. Уникальная особенность этих растений используется при фиторемедиации — стратегии удаления тяжелых металлов из окружающей среды без использования химических или механических методов [3]. Многие растения-гипераккумуляторы в пределах Brassicaceae обладают большим запасом генетической изменчивости, что делает их перспективными для отбора в сельскохозяйственных и рекультивационных целях [4]. Однако помимо биотехнологического приложения, растения-гипераккумуляторы представляют интерес в качестве модельного объекта для изучения процессов микроэволюции и адаптации к экстремальным условиям среды. Так, в некоторых работах отмечается корреляция между уровнем генетической изменчивости и способностью к накоплению тяжелых металлов [5, 6], что обуславливает актуаль-

ность изучения генетического разнообразия и филогении данных видов.

В роде *Alyssum*, содержащем более сотни видов, в настоящее время проводится таксономическая ревизия. В отношении многих европейских видов выявлено несоответствие существующих таксономических концепций и филогенетических реконструкций, основанных на молекулярно-генетических маркерах, пloidности, а также морфологических параметрах [7–9]. Более того, ряд таксонов, до недавнего времени относившихся к роду *Alyssum* в ранге секции *Odontarrhena*, в настоящий момент предлагается выделить в отдельный род *Odontarrhena* [10]. Систематика данной секции в Северной Евразии не упорядочена. Спектр взглядов на таксономическое разнообразие *Odontarrhena* сводится к нескольким подходам, согласно которым следует выделять как единственный полиморфный вид *Alyssum obovatum* (= *Odontarrhena obovata*) [11], так и два–три вида [12], и даже восемь видов только для азиатской части России и Монголии [13]. Таким образом, границы и объем *A. obovatum* дискуссии [14].

Урал — зона совместного произрастания трех видов *Alyssum* секции *Odontarrhena*. Виды *A. obovatum* и *A. tortuosum* имеют широкий, но дизъюнк-

Таблица 1. Географические координаты мест сбора и выявленные гаплотипы хпДНК в изученных выборках *A. obovatum*, *A. tortuosum*, *A. litvinovii*, *A. lenense*

№	Популяция	Коорд., с.ш./в.д.	<i>N</i>	<i>M_h</i>	<i>N_s</i>
1	<i>A. litvinovii</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28′/58°10′	17	c:17	c1:1
2	<i>A. obovatum</i> Башк., Шигаево	53°48′/58°11′	17	d:8 c:9	d2:1
3	<i>A. obovatum</i> Башк., Калкан	54°25′/59°20′	9	d:1 c:8	d1:1
4	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Егоза	55°45′/60°26′	12	b:12	b1:1
5	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Вишневогорск	55°58′/60°38′	2	c:1 e:1	c4:1
6	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Горн. воздух	53°42′/58°39′	13	c:13	c2:2
7	<i>A. obovatum</i> Чел. обл., Карабаш	55°46′/60°19′	10	b:10	b2:2
8	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28′/58°10′	24	c:4 f:12 e:7 d:1	f1:2 c3.1:1 f2:1 c3.2:1
9	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Аккермановка	51°11′/58°08′	23	a:23	a:1
10	<i>A. tortuosum</i> Орен. обл., Хабарное	51°06′/58°06′	18	a:18	a:3
11	<i>A. lenense</i> Орен. обл., Новокиевка	51°28′/58°10′	3	g:3	g:2

Примечание. № – номер популяции на карте, *N* – объем выборки, *M_h* – число ПДРФ-гаплотипов, *N_s* – число секвенированных образцов.

тивный евроазиатский ареал и проявляют себя как облигатный и факультативный гипераккумуляторы никеля соответственно [15]. Третий вид, *A. litvinovii*, является эндемиком Урала [16] и имеет способность к гемиаккумуляции никеля [15]. Таким образом, на данной территории произрастает комплекс морфологически трудно различимых видов, которые никогда не исследовались ранее. Поэтому на начальном этапе исследования необходимо отработать методику молекулярно-генетических исследований для решения вопросов о генетической структуре и динамике ареалов видов *Alyssum* на Урале; о генетическом разнообразии популяций и существовании репродуктивных барьеров между видами.

Цель исследования – оценка эффективности использования маркеров хлоропластной ДНК (хпДНК) для выяснения генетических отношений между видами *A. obovatum*, *A. tortuosum* и *A. litvinovii* на территории Среднего и Южного Урала с особым вниманием к вопросу о происхождении *A. litvinovii*.

Исследуемые виды: *A. obovatum*, *A. tortuosum* и *A. litvinovii* – многолетники, представители петрофитно-степной флоры; в качестве внешней группы был выбран *A. lenense* Adams из секции *Alyssum* – вид, приуроченный к лесным сообществам. Все исследуемые виды секции *Odontarrhena* имеют перекрывающиеся морфологические характеристики и представляют собой стелющиеся полукустарнички с мелкими листьями, сложными соцветиями и односемянными локулами стручков. *A. obovatum* имеет широчайший для рода естественный ареал распространения: в Евразии – от Восточной Европы до севера Центральной Азии, а также на Северо-Востоке Аме-

рики [10]. *A. tortuosum* распространен в Юго-Восточной Европе, России (Кавказ, Урал, Сибирь). На Урале *A. obovatum* встречается на севере Башкирии, Свердловской и Челябинской областей, а *A. tortuosum* южнее – в Оренбургской и на юге Челябинской области. *A. litvinovii* – редкий вид, известный из единственного местонахождения – гора Дюртель Оренбургской обл. [16]. Ареал *A. lenense* включает Восточную Европу, Россию, Северный Китай. Экологические ниши, занимаемые видами, разнятся: *A. obovatum* встречается на остепненных скалах, каменистых склонах, в петрофитных степях [17]. *A. tortuosum* встречается на выходах известняков, песчаников, в каменистых степях, на щебнистых степных склонах [18]. *A. litvinovii* произрастает на карбонатизированных серпентинитах в единственном локалитете. *A. lenense* встречается на травянистых склонах, в лесах на разных типах пород.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего изучено 148 образцов из районов Южного и Среднего Урала (Оренбургская, Челябинская области, Республика Башкортостан), включающих шесть ценопопуляций *A. obovatum*, три ценопопуляции *A. tortuosum*, одну ценопопуляцию *A. litvinovii* и одну ценопопуляцию *A. lenense*. Список и номера ценопопуляций представлены в табл. 1, их географическое расположение на рис. 1,а; для удобства далее по тексту они будут упоминаться как популяции.

ДНК выделяли по стандартному протоколу для растительных тканей (СТАВ-метод) из свежего материала [19]. При отборе маркеров проводили амплификацию с наиболее часто используемыми в

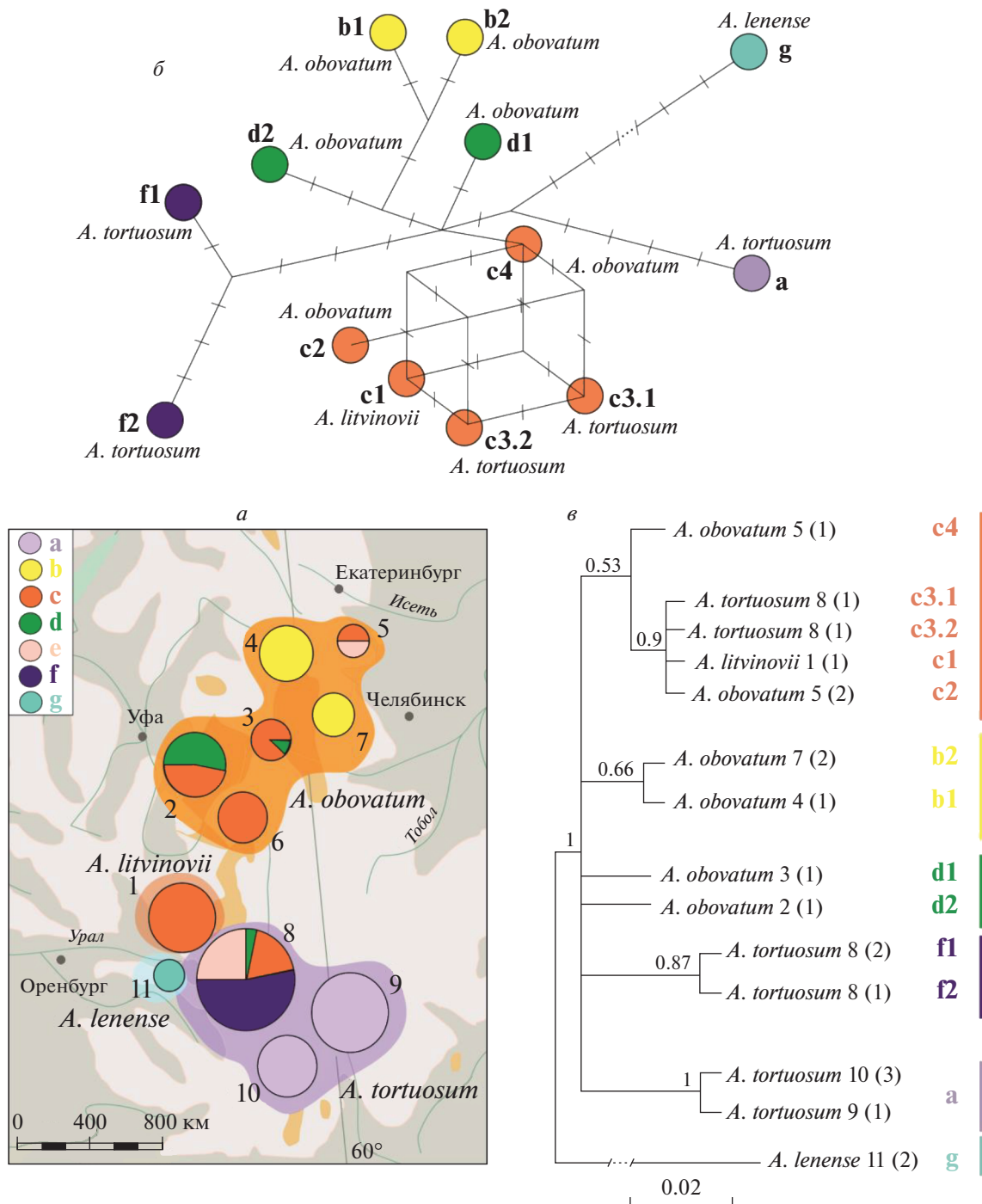


Рис. 1. а – карта местоположения изученных выборок, распределение частот обнаруженных гаплотипов хпДНК, основанное на ПДРФ анализе; размер окружностей пропорционален размеру выборки; популяции одного вида объединены тонируемой областью. б – сеть гаплотипов, построенная на основании последовательностей 20 образцов в программе Network; гаплотипы обозначены цветом и индексом (см. объяснение в тексте); мутации отмечены штрихами (для аутгруппы учтены не все мутации). в – филогенетическое древо, построено с помощью байесовского метода; над ветвями указано значение апостериорной вероятности; латинскими буквами обозначены гаплотипы; цифры соответствуют номерам популяций в табл. 1; в скобках указано количество секвенированных образцов.

филогенетических и популяционных исследованиях фрагментами хпДНК с универсальными праймерами *trnH-trnK*, *trnK1-trnK2*, *psaA-trnS* и *trnC-trnD* [20]; *trnF-trnV* [21], *trnT-trnF* [22], *trnS-trnG* [23]

при температурном профиле, рекомендуемом авторами. Для межгенного спейсера *psbA-trnH* *de novo* были разработаны родоспецифичные праймеры на основе полного хлоропластного генома

Alyssum desertorum (номер в GenBank KY498535.1) с использованием онлайн-программы Primer3Web (version 4.1.0) [24]: *psbAa* – GAACGACGG-GAATTGAACC; *trnHa* – TAACCGCGCTA-ACSTTGGTA. Амплификацию проводили при следующих условиях: предварительная денатурация при 94°C 5 мин, в последующих циклах: денатурация 45 с, отжиг праймеров при 60.5°C в течение 1 мин, элонгация при 72°C 2 мин, затем финальная элонгация 10 мин при 72°C. Всего 35 циклов реакции.

Далее продукты амплификации подвергались рестрикции с пятью ферментами: *HaeIII*, *HinfI*, *Kzo9I*, *TaqI*, *Tru9I*. Наиболее изменчивыми хлоропластными фрагментами оказались *trnS-trnG* и *psbAa-trnHa*, позволяющими определить наибольшее количество мутаций. Эти фрагменты в сочетании с перечисленными эндонуклеазами рестрикции использовались для анализа методом ПДРФ (полиморфизм длин рестриктных фрагментов) всех 148 образцов. Для 20 образцов всех четырех видов получены полные нуклеотидные последовательности по этим двум фрагментам с использованием генетического анализатора ABI 3130 (Applied Biosystems, USA). Выравнивание последовательностей проводили вручную в программе BioEdit [25]. Филогенетический анализ проведен только с использованием полных последовательностей байесовским методом в программе MrBayes v.3.1.2 [26] на основе модели нуклеотидных замен GTR + G + I. Инсерции, инверсии и делеции рассматривались как одиночные события и были закодированы в виде бинарной матрицы данных, состоящей из нулей и единиц. Визуализировались консенсус-деревья с помощью программы Fig Tree v1.4.3 [27]. Сеть гаплотипов построена на основании метода Median Joining (MJ) в программе Network v.5.0.0.3 [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе отбора маркеров на 24 образцах четырех видов большинство анализируемых фрагментов хпДНК проявили себя как мономорфные, с низкой изменчивостью, либо с нестабильной амплификацией. Высокополиморфными оказались два фрагмента – межгенный спейсер *trnS-trnG* и межгенный спейсер *trnHa-psbAa*. На втором этапе проведен рестриктный анализ (ПДРФ) двух выбранных фрагментов с пятью рестриктазами на всем объеме материала (148 образцов). В результате выявлено семь гаплотипов: **a**, **b**, **c**, **d**, **e**, **f** и **g**. По распределению гаплотипов и их частот (рис. 1,а) можно заключить, что изменчивость структурирована географически и не носит строгий видоспецифичный характер. Так, видоспецифичным гаплотипом **a** объединены самые южные популяции *A. tortuosum* (поп. 9 и 10) из Аккермановки и Хабарного; видоспецифичный гап-

тип **b** характерен для северных популяций *A. obovatum* (4 и 7) из Егозы и Карабаша. Однако у всех трех видов секции *Odontarrhena* распространен общий гаплотип **c**, который встретился у *A. tortuosum* в популяции из Новокиевки (8) и у *A. obovatum* сразу в нескольких популяциях – из Вишневогорска (5), Горного воздуха (6), Калкана (3) и Шигаево (2), а локальный эндемик *A. litvinovii* (популяция 1) оказался мономорфным по этому гаплотипу. Гаплотип **d** встретился у обоих видов – у *A. obovatum* из Шигаево (2) и Калкана (3), у *A. tortuosum* в Новокиевке (8). Редкий гаплотип **e** также обнаружен у *A. obovatum* из Вишневогорска (5) и у *A. tortuosum* из Новокиевки (8). Популяция *A. tortuosum* из Новокиевки оказалась самой разнообразной: в нее вошли четыре гаплотипа (**c**, **d**, **e**, **f**), причем большая часть образцов в популяции имела уникальный гаплотип **f**. Образцы *A. lenense* (популяция 11), взятые в качестве внешней группы имеют видоспецифичный гаплотип **g**, далеко отстоящий от остальных (95 мутаций). Таким образом, из семи гаплотипов три являются общими.

Более детальное представление об изменчивости уральских популяций *Alyssum* удалось получить методом секвенирования. Последовательности фрагментов для каждого гаплотипа размещены в Генбанке (GenBank) под номерами доступа (OK329970–OK329993). Длина объединенной последовательности составила 1196 пар нуклеотидов (*trnS-trnG* 1–688 пн; *trnHa-psbAa* 689–1196 пн). В исследованных образцах выявлено большое количество точковых мутаций (87), инделей (34) и небольшое количество инверсий (3). Всего обнаружено 124 изменчивых сайта, из них только 8 парсимонистически информативных. Обнаружена внутривидовая и внутрипопуляционная изменчивость. Таким образом, секвенирование позволило обнаружить большую изменчивость, чем ПДРФ-анализ – количество обнаруженных гаплотипов возросло с 7 до 15. При этом общая картина распределения изменчивости осталась прежней – с ярко выраженной географической структурой, а установленные ранее гаплотипы образовали кластеры близких гаплотипов, отличающихся на 1–3 мутации.

Медианная сеть генеалогических связей между гаплотипами (рис. 1,б) выявила пул из пяти гаплотипов (**c1**, **c2**, **c3.1**, **c3.2** и **c4**), на которые распался гаплотип **c**, общий для образцов из близлежащих популяций Оренбургской и Челябинской областей. Так, на этапе ПДРФ-анализа образцы *A. obovatum* из популяции Горный воздух (6) имели общий с образцами *A. litvinovii* (1) гаплотип **c**. Секвенирование позволило разделить эти образцы на два отдельных гаплотипа: **c1** для *A. litvinovii* и **c2** для *A. obovatum*. У *A. tortuosum* из Новокиевки (8) гаплотип **c** проявил внутрипопуляционную изменчивость, распавшись на **c3.1** и **c3.2**. У *A. obovatum* из Вишневогорска (5) выделился гаплотип **c4**.

Специфичный для *A. tortuosum* гаплотип **a** далее не разделился, а специфичный для *A. obovatum* гаплотип **b** разделился на гаплотипы **b1** Егоза (4) и **b2** Карабаш (7). У *A. obovatum* гаплотип **d** распался на **d1** в Калкане (3) и **d2** в Шигаево (2), у *A. tortuosum* его секвенировать не удалось, также как и гаплотип **e**. В уникальном для *A. tortuosum* гаплотипе **f** выделилось два: **f1** и **f2**. Таким образом, секвенирование нуклеотидных последовательностей позволило углубить представление об изменчивости, существующей в уральских популяциях рода *Alyssum*.

На филогенетическом древе, построенном бэсовым методом (рис. 1, в) выделяются четыре клады, соответствующие основным гаплотипам, детектированным еще на стадии ПДРФ-анализа. С высокой статистической поддержкой (*PPvalue* 0.87–1.00) выделяются клады образцов *A. tortuosum* с видоспецифичными гаплотипами **a** и **f1**, **f2**. Клада пула гаплотипов **c** объединила три вида, в ее пределах субклады соответствуют разным популяциям. Другие клады выделены с меньшими поддержками, однако, с четкой структурой по региону в пределах Урала и содержат по одному виду.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдаемая картина соответствует ситуации, когда предполагаемые виды еще не обрели репродуктивную изоляцию, активно образуют гибриды и связаны существенным генетическим потоком. Исследователи [29] склонны рассматривать современный ареал распространения видов из секции *Odontarrhena* как следствие феномена быстрой экспансии видов после эпохи оледенения, поэтому можно предполагать, что в данной таксономической группе в настоящий момент идет постепенная фиксация предкового полиморфизма [30–32]. По этой причине уральские виды, хотя уже и имеют специфичные гаплотипы (**a**, **b**, **f**), но благодаря неполному “lineage sorting” у разных видов с высокой частотой встречаются общие или близкие варианты гаплотипов. В дальнейшем редкие варианты могут быть утеряны, а в пределах подгруппы близких гаплотипов может накопиться значительное количество мутаций, что приведет к закреплению специфичных для видов хлоропластных линий. Например, в группе гаплотипов **c** уже заметно обособление хлоропластных вариантов: гаплотипы **c1**, **c2** и **c3** соответствуют трем видам — *A. litvinovii*, *A. obovatum*, *A. tortuosum*. Особое внимание нужно уделить уральскому эндемику *A. litvinovii*. Наличие у него варианта гаплотипа из группы **c**, объединяющей все три вида, свидетельствует о недавнем происхождении и близком родстве с двумя другими видами. Однако на данном этапе невозможно сделать заключение, действительно ли этот вид обладает сниженной изменчивостью или это объясняется малым количеством исследован-

ных образцов (всего 17). Интересная особенность *A. litvinovii* заключается в его повышенной ploидности [А.Ю. Тептина, неопубл.], что позволяет предполагать гибридную природу происхождения этого вида — обычное явление для рода *Alyssum* [33].

В целом, выявленная в настоящей работе картина распределения изменчивости согласуется с данными, полученными ранее для европейских видов *Alyssum*. В ряде работ [29, 34–36] использование различных типов маркеров (хлоропластной ДНК, ядерной — ITS-маркеры, или мультилокусный анализ) не дает филогении, которая бы согласовалась с классическим таксономическим видовым делением. Часто виды с небольшими ареалами или эндемики оказываются внутри клад широкоареальных видов на уровне межпопуляционной внутривидовой дифференциации.

Представители семейства Крестоцветные часто входят в состав флор, сформировавшихся на почвах с высоким содержанием тяжелых металлов. При этом у растений, произрастающих на таких почвах, наблюдается повышенное генетическое разнообразие [6, 37, 38]. Непосредственно связь между генетическим разнообразием растений и содержанием тяжелых металлов в почве или способностью их накопления в частях растений была изучена только для нескольких видов секции *Odontarrhena* — итальянского *A. bertolonii* и двух видов с северного Кавказа — *A. murale* и *A. daghestanicum* [5, 6]. Так, для *A. bertolonii* показана положительная корреляция между варьированием содержания Ni в почве и величиной показателя генетического разнообразия популяции по маркерам микросателлитов хДНК [38]. Популяционный полиморфизм *A. murale* по ITS-маркеру разрешил изученные образцы соответственно их аккумулялирующей способности к Ni. Авторы показали, что гипераккумулярующая и негипераккумулярующая популяции вида *A. murale* генетически различаются (пятью мутациями и 16 полиморфными сайтами), в то время как другой вид, *A. daghestanicum*, не гипераккумулятор, оказался генетически мономорфным [6]. В описанные закономерности укладывается и выявленная в данном исследовании изменчивость уральских видов: способные к облигатной или факультативной аккумуляции виды *A. obovatum* и *A. tortuosum* оказались более изменчивыми, чем гемиаккумулятор *A. litvinovii*. Однако данные по изменчивости маркеров хлоропластной ДНК могут лишь косвенно отражать адаптационные возможности видов. Для выявления подобных закономерностей более подходящим будет использование мультилокусных ядерных маркеров. Например, на видах секции *Odontarrhena* в Албании [36] было показано различие между видами, облигатно произрастающими на серпентинитах и на других типах почв по количеству “outlier”-локусов, т.е. локусов выходящих за рамки распределения изменчивости при условии их

нейтральности, а следовательно потенциально сцепленных с адаптационными признаками.

В ходе работы отобраны маркеры хпДНК, перспективные для выявления общей пространственно-генетической структуры исследуемых видов. Установлено близкое родство всех трех видов, генетическое разнообразие и наличие специфичных для видов *A. obovatum* и *A. tortuosum* гаплотипов, отсутствие генетического разнообразия у *A. litvinovii*. Увеличение выборки растений, больший территориальный охват их сбора и привлечение новых маркеров поможет составить более полное представление о филогении исследуемых видов. Относительно применения маркеров хпДНК можно говорить об эффективности их использования только при анализе методом секвенирования, выявляющим весь диапазон изменчивости. Несмотря на то, что ПДРФ-метод имеет преимущество за счет более низкой стоимости, в большинстве случаев он подходит для популяционных исследований только в качестве предварительной оценки генетической изменчивости и ее структуры.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН № 122021000090-5, проведение молекулярно-генетического анализа поддержано грантом РФФИ № 16-04-01346.

Благодарим лабораторию молекулярной генетики ИЕИМ за помощь в проведении си-квенсного анализа.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Van der Ent A., Baker A.J.M., Reeves R.D. et al. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction // *Plant and Soil*. 2013. V. 362. № 1. P. 319–334. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1287-3>
2. Krämer U. Metal hyperaccumulation in plants // *Annual Review of Plant Biol.* 2010. V. 61. P. 517–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112156>
3. Reeves R.D. Hyperaccumulation of trace elements by plants // *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*. 2005. V. 68. P. 25–52.
4. Warwick S.I., Francis A., Gugel R.K. Guide to wild germplasm: *Brassica* and allied crops (tribe Brassiceae, Brassicaceae) Ottawa: Agriculture Agri-Food Research Canada, 2009. 19 p. <http://www.brassica.info/info/publications/guide-wild-germplasm.php>
5. Galardi F., Mengoni A., Pucci S. et al. Intra-specific differences in mineral element composition in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii*: A survey of populations in nature // *Environmental and Exp. Botany*. 2007b. V. 60. № 1. P. 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.06.010>
6. Drozdova I.V., Machs E., Kalimova I. et al. Accumulation of potentially toxic elements by plants of North Caucasian *Alyssum* species and their molecular phylogenetic analysis // *Environ Geochem. Health*. 2021. V. 43. № 4. P. 1617–1628. <https://doi.org/10.1007/s10653-020-00674-4>
7. Španiel S., Marhold K., Filová B., Zozomová-Lihová J. Genetic and morphological variation in the diploid-polyploid *Alyssum montanum* in Central Europe: taxonomic and evolutionary considerations // *Plant Syst. and Evol.* 2011. V. 294. № 1. P. 24–27. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0438-y>
8. Španiel S., Kempa M., Salmerón-Sánchez E. et al. Aly-Base: Database of names, chromosome numbers, and ploidy levels of Alyseae (Brassicaceae), with a new generic concept of the tribe // *Plant Systematics and Evolution*. 2015. V. 301. № 10. P. 2463–2491. <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1257-3>
9. Zozomová-Lihová J., Melichárková A., Svitok M., Španiel S. Pleistocene range disruption and postglacial expansion with secondary contacts explain the genetic and cytotype structure in the western Balkan endemic *Alyssum austrodalmaticum* (Brassicaceae) // *Plant Syst. and Evol.* 2020. V. 306. № 2. P. 1–25. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01677-5>
10. German D.A. (2058) Proposal to conserve *Odontarrhena obovatum* (*Alyssum obovatum*), nom. cons. prop., against *Alyssum fischerianum* (Cruciferae) // *Taxon*. 2012a. V. 61. № 2. P. 470. <https://doi.org/10.1002/tax.612023>
11. Буш Н.А. Cruciferae // Флора Сибири и Дальнего Востока. 1913. Т. 1. № 34. С. 491–714.
12. Толмачёв А.И. Сем. Cruciferae Juss. — Крестоцветные // Флора Забайкалья. 1949. № 5. С. 419–471.
13. Nyárády E.J. Synopsis specierum, variatorum et formarum sectionis *Odontarrhenae* generis *Alyssum* // *Anal. Acad. Rep. Pop. Române*. 1949. Ser. A. V. 1. Mem. 3. P. 67–199.
14. German D.A. Taxonomical confusions in the Cruciferae of North and Central Asia. I. *Alyssum fischerianum* and *Alyssum canescens* // *Turczaninowia*. 2011b. V. 14. № 4. P. 18–28.
15. Teptina A.Y., Paukov A.G. Nickel accumulation by species of *Alyssum* and *Noccaea* (Brassicaceae) from ultra-traffic soils in the Urals, Russia // *Austr. J. Botany*. 2015. V. 63. № 2. P. 78–84. <https://doi.org/10.1071/bt14265>
16. Князев М.С. Заметки о некоторых видах крестоцветных (Brassicaceae) на Урале и сопредельных территориях // *Новости сист. высш. растений*. 2011. Т. 42. С. 136–146.
17. Горчаковский П.Л., Шурова Е.А., Князев М.С. и др. Определитель сосудистых растений Среднего Урала. М.: Наука, 1994. 525 с.
18. Рябинина З.Н., Князев М.С. Определитель сосудистых растений Оренбургской области. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 758 с.
19. Devey M.E., Bell J.C., Smith D.N. et al. A genetic linkage map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD and microsatellite markers // *Theor. Appl. Genet.* 1996. V. 92. P. 673–679. <https://doi.org/10.1007/BF00226088>
20. Demesure B., Sodji N., Petit R.J. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants // *Mol. Ecol.* 1995. V. 4. № 1. P. 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1995.tb00201.x>

21. Dumolin-Lapegue S., Pemonge M.H., Petit R.J. An enlarged set of consensus primers for the study of organellar DNA in plants // *Mol. Ecol.* 1997. V. 6. № 4. P. 393–397.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1997.00193.x>
22. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // *Plant Mol. Biol.* 1991. V. 17. № 5. P. 1105–1109.
<https://doi.org/10.1007/BF00037152>
23. Shaw J., Lickey E.B., Beck J.T. et al. The tortoise and the hare II: Relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis // *Am. J. Botany.* 2005. V. 92. № 1. P. 142–166.
<https://doi.org/10.3732/ajb.92.1.142>
24. Rozen S., Skaletsky H.J. Primer 3 on the WWW for general users and for biologist programmers // *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology.* N.J.: Humana Press, 2000. P. 365–386.
25. Hall T.A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids Symp. Ser.* 1999. V. 41. P. 95–98.
<https://doi.org/10.1111/jbi.12867>
26. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MrBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics.* 2003. V. 19. № 12. P. 1572–1574.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
27. Rambaut A. FigTree v1.3.1: Tree figure drawing tool // *Mol. Evol., Phylogen. and Epidem.* 2009. <http://tree.bio.ed.ac.uk>
28. Bandelt H.J., Forster P., Rohlf A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
29. Mengoni A., Baker A.J.M., Bazzicalupo M. et al. Evolutionary dynamics of nickel hyperaccumulation in *Alyssum* revealed by ITS nrDNA analysis // *New Phytologist.* 2003. V. 159. № 3. P. 691–699.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00837.x>
30. Maddison W.P. Gene trees in species trees // *Systematic Biology.* 1997. V. 46. № 3. P. 523–536.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/46.3.523>
31. Flagel L., Udall J., Nettleton D., Wendel J. Duplicate gene expression in allopolyploid *Gossypium* reveals two temporally distinct phases of expression evolution // *BMC Biology.* 2008. V. 6. № 1. P. 16–19.
<https://doi.org/10.1186/1741-7007-6-16>
32. Gurushidze M., Fritsch R.M., Blattner F.R. Species-level phylogeny of *Allium* subgenus *Melanocrommyum*: Incomplete lineage sorting, hybridization and *trnF* gene duplication // *Taxon.* 2010. V. 59. № 3. P. 829–840.
<https://doi.org/10.1002/tax.593012>
33. Warwick S.I., Al-Shehbaz I.A. Brassicaceae: chromosome number index and database on CD-Rom // *Plant Syst. and Evol.* 2006. V. 259. № 2. P. 237–248.
<https://doi.org/10.1007/s00606-006-0421-1>
34. Li Y., Kong Y., Zhang Z. et al. Phylogeny and biogeography of *Alyssum* (Brassicaceae) based on nuclear ribosomal ITS DNA sequences // *J. Genet.* 2014. V. 93. № 2. P. 313–323.
<https://doi.org/10.1007/s12041-014-0362-3>
35. Zozomová-Lihová J., Marhold K., Španiel S. Taxonomy and evolutionary history of *Alyssum montanum* (Brassicaceae) and related taxa in southwestern Europe and Morocco: Diversification driven by polyploidy, geographic and ecological isolation // *Taxon.* 2014. V. 63. № 3. P. 562–591.
<https://doi.org/10.12705/633.18>
36. Coppi A., Baker A.J., Bettarini I. et al. Population genetics of *Odontarrhena* (Brassicaceae) from Albania: The effects of anthropic habitat disturbance, soil, and altitude on a Ni-Hyperaccumulator plant group from a major serpentine hotspot // *Plants.* 2020. V. 9. № 12. P. 1686.
<https://doi.org/10.3390/plants9121686>
37. Федоренко О.М., Зарецкая М.В., Лебедева О.Н., Туттов А.Ф. Генетическое разнообразие природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.), расположенных на северной периферии ареала вида // Тр. Карельского науч. центра РАН. 2014. № 2. С. 36–42.
38. Galardi F., Corrales I., Mengoni A. et al. Intra-specific differences in nickel tolerance and accumulation in the Ni-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii* // *Envir. and Exp. Botany.* 2007a. V. 60. № 3. P. 377–384.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.12.011>

Genetic Structure of the Ni-Accumulating *Alyssum* L. Species (*Odontarrhena*) in the Urals

D. R. Iunusova^{a, *}, A. Yu. Teptina^b, V. L. Semerikov^a, and M. A. Polezhaeva^a

^a*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia*

^b*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, 620002 Russia*

*e-mail: dianaiunusova@mail.ru

A species-level phylogeny of the *Odontarrhena* section in the Urals was estimated for the first time. *Alyssum obovatum* (C.A. Mey.) Turcz., *A. tortuosum* Willd. and *A. litvinovii* Knjaz. are known for their heavy metal hemi- and hyperaccumulating ability. A total of 15 haplotypes were found based on the genetic diversity of the two chloroplast DNA markers. There are only a few species-specific haplotypes observed in the *A. obovatum* and *A. tortuosum* populations, while geographically close populations of both species share the most part of closely related haplotypes. Thus, the species form a geographically structured pattern of haplotype distribution. The Ural endemic *A. litvinovii* turned out to be monomorphic and genetically close to the other species.

Keywords: genetic diversity, cDNA, Urals, hyperaccumulation, *Alyssum*, *trnS-trnG*, *trnH-psbA*.

УДК 635.15:575.21:575.2.084:631.52

ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕДИСА (*Raphanus sativus* L.) В УСЛОВИЯХ ИНТЕНСИВНОЙ СВЕТОКУЛЬТУРЫ

© 2022 г. Н. Г. Синявина¹*, А. А. Кочетов¹, К. В. Егорова¹, Н. В. Кочерина¹, Ю. В. Чесноков¹¹Агрофизический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург, 195220 Россия

*e-mail: sinad@inbox.ru

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 27.12.2021 г.

Принята к публикации 13.01.2022 г.

При использовании методологии ускоренной трансгрессивной селекции, разработанной в ФГБНУ АФИ, получены новые высокопродуктивные формы редиса (*Raphanus sativus* L.), адаптированные к выращиванию в интенсивной светокультуре. Проведена их генетическая, морфобиологическая и биохимическая оценка, а также оценка родительских форм в контролируемых и естественных условиях среды обитания. Показано, что новые трансгрессивные по размерам и массе корнеплода образцы редиса характеризуются комплексом хозяйственно ценных признаков: компактной розеткой, салатным типом листа, интенсивным ростом корнеплода, устойчивостью к стеблеванию, улучшенным биохимическим составом. Выявлено, что признаки длина и диаметр корнеплода, компактность листовой розетки, устойчивость к стеблеванию и степень опушенности листа слабо зависят от условий выращивания, а масса корнеплода и урожай новых образцов превосходят таковые для родительских сортов как в светокультуре, так и в открытом грунте. Результаты работы позволяют сделать выводы о высокой эффективности использования интенсивной светокультуры для проведения генетико-селекционных исследований и ускорения селекционного процесса за счет установления эффектов взаимодействия “генотип-среда”. Оценка и отбор гибридных растений возможно вести в светокультуре для различных условий выращивания, включая традиционный защищенный и открытый грунт, моделируя типичные особенности условий выращивания в регулируемой агроэкосистеме.

Ключевые слова: редис (*Raphanus sativus* L.), интенсивная светокультура, генетико-селекционные исследования, морфобиологические и биохимические селекционно ценные признаки.

DOI: 10.31857/S0016675822060108

Редис ($2n = 18$), наряду с другими представителями ботанического вида *Raphanus sativus* L. (лоба, дайкон, редька европейская) является одной из важнейших культур, используемых для промышленного выращивания, а также для генетических и морфобиологических исследований. В странах Азии восточные подвиды редьки, лоба и дайкон, занимают одно из ведущих мест в пищевом рационе населения, а посевные площади достигают 30–40% среди овощных растений [1, 2]. В Российской Федерации редис является одной из важных овощных культур, опережая по популярности европейскую редьку и дайкон. Его производство сосредоточено главным образом в открытом грунте (фермерские хозяйства, личные приусадебные хозяйства). Объем собственного производства редиса в РФ недостаточен для обеспечения потребности населения в свежей овощной продукции, особенно в зимне-весенний период [3], при этом мало что известно о генетико-био-

химических особенностях этой культуры, а также о влиянии на них условий выращивания.

Редис представляет собой мутантную карликовую форму редьки. Искусственный отбор редиса исторически велся по признаку карликовости растений; в генеративном периоде он мало отличается от других редек [2]. Более короткий период вегетации по сравнению с редькой позволяет получать несколько урожаев культуры в год, а в условиях светокультуры – до 12 [2, 4, 5].

Редька и редис обладают ценным биохимическим составом. Корнеплоды содержат до 8.5% сахаров, ряд незаменимых и заменимых аминокислот, значительное количество белков (1.1–2.1%), крахмала (около 0.3%), клетчатки (0.9–1.5%), а также комплекс биологически активных веществ (витамины В1, В2, В6, РР, С) и минеральных элементов (кальция, магния и калия). Острый специфический аромат и вкус корнеплодов редьки (в меньшей степени дайкона и редиса) обусловлен

высоким содержанием серосодержащих летучих алкалоидов изотиоцианатов (4-метилтио-3-бутенилизотиоцианат, МТВ-ИТС). Также в них присутствуют глюкозинолаты, предшественники изотиоцианатов. Молодые листья содержат большое количество макронутриентов, клетчатки, жирных кислот, аскорбиновой кислоты, полифенолов, кальция, магния, калия [6–9]. Кроме них, в листьях присутствует большое количество соединений с антиоксидантными свойствами: фенольные кислоты, флавоноиды и изофлавоны, полифенолы, флавононы, антоцианы, глюкозинолаты, фитостеролы, которые обладают гепатопротекторными, противоопухолевыми и гипогликемическими свойствами [8]. Исследования показали, что антиоксидантная активность листьев редьки была в три раза выше по сравнению с таковой у корнеплодов [9]. Многие авторы отмечают, что благодаря ценному биохимическому составу молодые листья редьки и редиса могут служить компонентами здорового питания как при употреблении в сыром виде в составе салатов, так и в качестве сырья для производства продуктов сбалансированного питания [7, 8, 10].

Высокая потребность в растительной продукции, относящейся к виду *Raphanus sativus* L., определяет необходимость дальнейшего изучения генетических особенностей редиса с целью создания современных высокопродуктивных и конкурентоспособных сортов. В настоящее время приоритетными направлениями в генетике редиса и редек, помимо исследований их скороспелости, холодо-, жаро- и солеустойчивости, устойчивости к преждевременному стеблеванию, болезням и вредителям, являются генетико-биохимические исследования признаков, влияющих на их вкусовые качества, а также на интенсивность окраски коры и мякоти корнеплодов [11].

Так, например, в последние десятилетия разработан ряд молекулярных маркеров и карт групп сцепления для редиса [12–15]. Были идентифицированы локусы количественных признаков (QTL), отвечающие за устойчивость к болезням [16, 17], стеблеванию и цветению [18], синтез глюкозинолатов [19] и морфологию корнеплодов [13, 20]. В 2017 г. японские ученые провели обзор и сравнение опубликованных за последние 15 лет данных в области секвенирования и картирования генома *Raphanus sativus* L.: в их работе [21] приводится генетическая карта редьки (Rs-RAD map), построенная на основании ddRAD-секвенирования генома. Однако значительная часть генов, отвечающих за проявление основных хозяйственно ценных признаков качества у редиса и редьки, к настоящему времени не идентифицирована.

Актуальными на сегодня являются и генетические исследования, направленные на создание

новых образцов *Raphanus sativus* L., адаптированных к условиям интенсивной светокультуры, с комплексом хозяйственно ценных признаков, определяющих рентабельность выращивания и преимущество перед уже существующими сортами. В Агрофизическом научно-исследовательском институте (ФГБНУ АФИ), с начала 2000-х годов разработана и апробирована на разных культурах (пшеница, дайкон, редис) методология прогнозирования трансгрессий по хозяйственно ценным признакам растений при использовании регулируемой агроэкосистемы (РАЭС), получен сорт редиса для светокультуры Петербургский фиолетовый [4, 22, 23]. Разработки в данной области ведутся также в других научно-исследовательских институтах Российской Федерации и за рубежом [24–28]. Однако исследования в области проявления генетико-биохимических и морфобиологических признаков качества у редиса при его выращивании в условиях интенсивной светокультуры недостаточны.

Цель настоящей работы – изучение влияния взаимодействия “генотип–среда” на проявление хозяйственно ценных признаков и биохимический состав у родительских сортов и новых образцов редиса в контролируемых и естественных условиях выращивания при создании новых линий, адаптированных для интенсивной светокультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили редис сортов Виола (Агрофирма “Семко”) и Pernot (коллекция ФГБНУ ФИЦ ВИР им. Н.И. Вавилова, к-2466). Кроме того в работе использовали созданные нами сорт Петербургский фиолетовый и линию Петербургский розовый (F₈) от скрещивания Виола × Pernot, полученные на основе усовершенствованной методологии ускоренной селекции [29], а также редис сорта Октава (Агрохолдинг “Поиск”).

Исследования проводились в 2020–2021 гг. в регулируемых условиях агробиополигона ФГБНУ АФИ (г. Санкт-Петербург) и открытого грунта (тестовая площадка, Волосовский р-он Ленинградской обл., координаты: 59.426780, 29.149765). В условиях светокультуры агробиополигона ФГБНУ АФИ растения выращивали на оригинальном вегетационно-облучательном оборудовании [30] при освещенности 20–25 клк и продолжительности светового периода 12 ч. Температуру поддерживали на уровне 24 ± 2°C днем и 18 ± 2°C ночью.

Сухие семена высевали в субстрат – верховой торф с минеральными добавками с толщиной корнеобитаемого слоя 3–4 см [31]. Полив осуществляли ежедневно: водой, чередуя с подкормкой раствором Кнопа (три раза в неделю). Схема посева – 5 × 10 см. Уборку растений редиса про-

водили на 25 сутки от посева. В открытом грунте семена были посеяны в первой декаде мая, по аналогичной схеме. Повторность опыта четырехкратная. Размер оцениваемой выборки составлял десять растений. При уборке учитывали основные биометрические показатели растений [32]. Анализ биохимических показателей (содержание сухого вещества, нитратов, витамина С, фотосинтетических пигментов и антоцианов) проводили с использованием общепринятых методик [33].

Для выявления различий средних между генотипами по каждому признаку использовался апостериорный критерий Тьюки (достоверная значимая разница). Величину $p < 0.05$ (вероятность ошибки 5%) считали приемлемой границей статистической значимости. Для комплексной оценки сравниваемых средних значений признаков применялся двухфакторный дисперсионный анализ с расчетом показателей варьирования, в частности, средних квадратов отклонений, их дисперсионного отношения $F = S_A^2 / S_e^2$, значимости результатов p [34]. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2019 и Statistica v. 13.3 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительно была проведена оценка коллекции образцов редиса по степени фенотипического проявления селекционно ценных свойств, имеющих важное значение для выращивания в условиях интенсивной светокультуры [4, 35]. Выделены образцы, в максимальной степени реализующие в этих условиях отдельные компоненты признака “размер корнеплода”. Редис сорта Октава был выбран эталоном устойчивости к стеблеванию, так как долго не зацветал при выращивании как в светокультуре, так и в открытом грунте. При получении сорта редиса Петербургский фиолетовый и линии Петербургский розовый использовали усовершенствованную методологию ускоренной трансгрессивной селекции новых линий и сортов растений с прогнозируемым комплексом хозяйственно ценных признаков [29].

Полученные ранее результаты по QTL-анализу и установлению генетических компонент, определяющих проявление признаков размера и формы корнеплода редиса [13, 36], позволили предположить, что вероятность независимого наследования компонентом, определяющих форму корнеплода *R. sativus*, достаточно высока. Это определяет перспективность создания новых сортов редиса трансгрессивной по форме и массе корнеплода за счет взаимодополнения при скрещивании лучших по проявлению отдельных компонентом (длина и диаметр) контрастных по данному признаку родительских сортов.

Проведенные нами предварительные исследования показали, что при скрещивании сортов редиса с круглой и цилиндрической формой корнеплода гибриды F_1 во всех комбинациях скрещивания имели промежуточную форму корнеплода, близкую к эллиптической, и диаметр, близкий к диаметру круглокорнеплодного сорта. При этом у гибридов F_1 во всех изучаемых комбинациях скрещивания наблюдался гетерозис по массе растения и массе корнеплода, а превышение над лучшим родительским сортом составляло 20.10–132.46 и 7.35–137.01% соответственно [35].

В настоящем исследовании материнский сорт Виола имел округлую форму, фиолетовый цвет коры корнеплода (индекс формы корнеплода 1.12) и средний диаметр 3.40 см; отцовский сорт Pernot – цилиндрический корнеплод (индекс формы корнеплода 3.73) со средней длиной 7.52 см (табл. 1), цвет корнеплода – розовый с белым кончиком. Сорт Виола был высоко устойчив к стеблеванию в условиях светокультуры, сорт Pernot – относительно устойчив. Кроме этого, для сорта Виола характерна низкая степень опушенности листа. В F_1 все растения имели эллиптическую форму и фиолетовый цвет коры корнеплода и были высоко устойчивы к стеблеванию, превышение по массе корнеплода над лучшим из родителей составило 129.53%. В F_2 наблюдали значительное расщепление по основным изучаемым параметрам. Частота положительных трансгрессий по массе растения, массе корнеплода и массе листьев составляла 9.02, 9.84 и 14.75% соответственно, также выявлены положительные трансгрессии по диаметру корнеплода (2.46%). В качестве родоначальников новых линий были отобраны трансгрессивные по массе корнеплода растения с корнеплодами розового и фиолетового цвета, с малоопушенными и неопушенными листьями, с высокой устойчивостью к стеблеванию. В дальнейшем в популяциях F_3 – F_6 отбирали растения, обладающие данными характеристиками, а также признаком компактности листовой розетки, имеющим важное значение для выращивания культуры по малообъемным технологиям в плотной посадке.

Результаты морфобиологической оценки образцов редиса в различных условиях выращивания показали, что созданные нами редис сорта Петербургский фиолетовый и линия Петербургский розовый характеризовались эллиптической формой корнеплода и массой, превышающей массу корнеплода родительских сортов, как в условиях светокультуры, так и в открытом грунте. Процент товарных корнеплодов у этих образцов составлял более 90% в обоих условиях выращивания, при урожае товарных корнеплодов – 3.5–3.8 кг/м² в светокультуре и более 4 кг/м² в открытом грунте (табл. 1, 2).

Таблица 1. Биометрические показатели образцов редиса в условиях светокультуры (РАЭС)

Образец	Масса			Масса корнеплода/ масса общая	Число листьев, шт.	Высота розетки, см	Диаметр листа, см	Длина, см	Диаметр, см	Индекс формы	
	общая, г	корнеплод, г	листья, г								Длина листа, см
Виола	22.40 ± 5.04*	12.19 ± 3.51	10.21 ± 2.18	0.54 ± 0.06 ^a	5.40 ± 0.58 ^a	15.60 ± 2.88	21.00 ± 1.58 ^a	3.64 ± 0.31 ^a	3.40 ± 0.74 ^a	1.12 ± 0.28 ^a	
	14.79–28.30	7.76–16.65	7.03–12.43	0.44–0.59	5.00–6.00	12.00–20.00	19.00–23.00	18.00–24.00	2.50–4.50	0.78–1.40	
Ренот	20.87 ± 4.47 ^a	13.60 ± 3.42 ^a	7.27 ± 1.53 ^a	0.65 ± 0.06 ^b	5.20 ± 0.41 ^b	18.07 ± 1.28 ^a	17.87 ± 1.41 ^{ab}	7.5 ± 1.41 ^{ab}	2.01 ± 0.19 ^{ab}	3.73 ± 0.63 ^{ab}	
	15.09–30.14	8.11–20.02	5.10–10.23	0.53–0.74	5.00–6.00	15.02–20.98	14.87–20.13	18.40–21.61	1.80–2.60	2.50–4.44	
Октава	20.70	24.28	20.39	8.81	7.96	6.84	7.61	6.18	9.04	16.52	
	16.61 ± 6.12	7.14 ± 4.27 ^b	9.47 ± 2.21	0.41 ± 0.10 ^c	5.40 ± 0.89 ^c	17.00 ± 2.55	20.40 ± 1.14 ^{bc}	2.76 ± 0.49 ^{bc}	2.50 ± 0.50 ^a	1.12 ± 0.16 ^b	
Питербургский фиолетовый	11.03–27.12	3.49–14.28	7.54–12.84	0.29–0.53	4.00–6.00	15.00–21.00	19.00–22.00	17.00–25.00	2.00–3.00	0.83–1.25	
	36.86	59.83	23.36	24.99	16.56	15.00	5.59	17.68	20.00	14.71	
Питербургский розовый	36.80 ± 16.39 ^a	22.77 ± 11.49 ^{ab}	14.04 ± 5.65 ^a	0.60 ± 0.07 ^{abc}	7.13 ± 0.63 ^{abc}	16.74 ± 0.69 ^b	16.00 ± 1.38 ^{abc}	4.80 ± 1.08 ^{bc}	3.27 ± 0.54 ^b	1.46 ± 0.20 ^b	
	13.80–65.10	7.50–43.80	5.80–27.80	0.49–0.70	6.00–8.00	16.00–18.00	12.00–18.00	14.00–24.00	2.20–4.20	1.10–1.94	
Питербургский розовый	44.52	50.46	40.25	11.47	8.77	4.11	8.64	22.42	16.69	13.80	
	38.56 ± 14.12 ^a	24.27 ± 9.32 ^{ab}	14.29 ± 5.26 ^a	0.62 ± 0.05 ^{abc}	7.14 ± 0.65 ^{abc}	15.00 ± 1.45 ^{ab}	15.43 ± 1.43 ^{abc}	4.9 ± 0.62 ^{bc}	3.13 ± 0.40 ^b	1.61 ± 0.34 ^b	
Питербургский розовый	17.80–65.30	11.80–42.30	6.00–24.90	0.52–0.70	6.00–8.00	13.00–19.00	13.00–18.00	4.00–6.00	2.40–3.80	1.25–2.50	
	36.61	38.39	36.85	7.27	9.17	9.66	9.30	12.49	12.87	21.06	

* – данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, значения min–max, коэффициент вариации (%). ^{a-c} – значения с разными надстрочными индексами в столбце были достоверно различны (p < 0.05).

Доля товарных корнеплодов у редиса Виола, Pernot и Октава в светокультуре составляла 64.0, 65.0 и 50.0% соответственно, в открытом грунте — 80.0, 0.0 и 80.0% соответственно, урожай — до 1.5 кг/м² в светокультуре и 2.5–2.7 кг/м² в открытом грунте. Низкая урожайность редиса Виола и Октава в светокультуре по сравнению с образцами Петербургский фиолетовый и Петербургский розовый объясняется меньшим процентом и более низкой массой товарных корнеплодов. Новые образцы обладали более интенсивным ростом по сравнению с родительскими сортами, что, возможно, обеспечивалось за счет комплементации генов, отвечающих за рост корнеплода в длину и ширину. Ускоренные темпы роста корнеплода (ранний срок созревания) являлись одним из основных критериев проводимого нами отбора в популяциях F₂–F₄. Редис сорта Pernot не образовал товарных корнеплодов в условиях открытого грунта Ленинградской обл. при посадке в мае, что свидетельствует о неустойчивости его к действию длинного дня и яровизирующих температур — факторов, вызывающих стеблевание у чувствительных к ним образцов *Raphanus sativus* L.

Признак “компактность листовой розетки” также относится к числу селекционно ценных, так как может способствовать увеличению урожайности при более плотной посадке [2]. Этот признак особенно важен при выращивании растений в светокультуре на ограниченных площадях по малообъемной технологии. Созданные нами образцы редиса имеют компактную розетку листьев; этот признак проявляется как в светокультуре, так и в открытом грунте (табл. 1, 2). Они характеризуются большой долей корнеплода в общей массе растения: 0.60–0.65, что косвенно свидетельствует о высокой активности работы фотосинтетического аппарата и эффективном перераспределении ассимилятов из листьев в корнеплоды. Расчеты показали, что наибольший коэффициент вариации (C_v) в обоих условиях выращивания имели показатели массы растений (масса общая, масса корнеплода, масса листа), наименьший — число листьев, высота и диаметр розетки, длина листа и отношение массы корнеплода к массе целого растения. Сходные результаты получены А.Б. Куриной с соавт. [2] при исследовании образцов редиса и редьки из коллекции ВИР, где также наблюдали высокий C_v по массе растения и корнеплода (до 63.6%) по сравнению с другими морфологическими характеристиками растений.

Результаты проведенного двухфакторного дисперсионного анализа показали, что фактор “генотип” оказывал достоверное влияние ($p < 0.05$) на все изучаемые биометрические показатели редиса. Фактор “условия выращивания” достоверно влиял на большинство показателей, за исключе-

нием признаков диаметр розетки, длина листа, длина и диаметр корнеплода, а взаимодействие факторов — только на отношение масса корнеплода/масса общая, число листьев, высота розетки и длина листа.

При проведении исследований редиса в светокультуре важным являлось наличие у отбираемых форм признака “устойчивость к стеблеванию”, играющего одну из ключевых ролей в формировании товарных корнеплодов. Механизмы перехода к цветению, также как и устойчивости к стеблеванию, у редиса и редьки еще полностью не выяснены. Основными факторами, вызывающими преждевременное стеблевание, являются длинный день и яровизирующие температуры, а также интенсивность освещения [18, 37, 38]. Показано, что у отличающихся по устойчивости к стеблеванию образцов редьки выявлены различия в уровнях экспрессии большого числа генов, как структурных, так и регуляторных, так или иначе вовлеченных в процесс перехода к цветению [38]. Однако для понимания механизмов наследования устойчивости к преждевременному цветению необходимы дополнительные исследования.

Другим важным признаком, наследование которого мы изучали, являлся малоопушенный салатный тип листа. Показатели “общий урожай” и “рентабельность возделывания” *Raphanus sativus* L. значительно повышаются при анализе пищевой ценности интактного растения. В наших исследованиях малоопушенный тип листа доминировал над среднеопушенным, расщепление по данному признаку в популяции F₂ было близким к 3 : 1: всего анализировалось 128 растений, из них 94 было с малоопушенным листом, 34 — со среднеопушенным, $\chi^2 = 0.167$ (при $\alpha = 0.05$, $\chi^2_{0.05;1} = 3.84$). М. Khalid с соавт. [39] также сообщают о монобридном наследовании признака опушенности листьев у представителей рода *Brassica*. При этом в части изученных комбинаций скрещивания доминировал признак “отсутствие опушения”, а в других комбинациях, напротив, “опушенный тип листа”. Авторы предполагают, что в некоторых случаях признак “наличие–отсутствие опушения” может контролироваться двумя генами с эффектом эпистаза. В наших экспериментах редис Виола имел малоопушенный лист, Pernot — среднюю опушенность листовой пластинки. В их гибридном потомстве были отобраны растения с листьями салатного типа. Этот признак был закреплен путем стабилизирующего отбора у сорта Петербургский фиолетовый и линии Петербургский розовый и проявлялся как в условиях светокультуры, так и в открытом грунте.

Важными признаками редиса являются компоненты биохимического состава, которые обуславливают качество получаемой продукции. В ряде публикаций показано, что длительность фотопериода, интенсивность и спектральный состав

Таблица 2. Биометрические показатели образцов редиса в условиях открытого грунта Ленинградской области

Образец	Масса			Масса корнеплода/ масса общая	Число листьев, шт.	Высота	Диаметр	Длина листа, см	Длина, см	Диаметр, см	Индекс формы		
	общая, г	корнеплод, г	листья, г									розетки, см	
												Длина	Диаметр
Виола	21.67 ± 5.47 ^{жа}	15.67 ± 3.01 ^а	12.00 ± 2.90	20.67 ± 2.34 ^а	19.33 ± 1.51 ^а	23.17 ± 2.14 ^а	3.10 ± 0.27 ^а	3.00 ± 0.33	1.04 ± 0.10 ^а				
	20.00–34.00	12.00–19.00	8.00–16.00	18.00–23.00	18.00–22.00	19.00–25.00	2.70–3.50	2.60–3.40	0.88–1.15				
Октава	32.60 ± 10.38	17.00 ± 5.83	15.60 ± 4.83	18.20 ± 1.48	19.00 ± 2.65 ^б	21.00 ± 0.71 ^б	3.10 ± 0.38 ^б	3.00 ± 0.48	1.05 ± 0.15 ^б				
	18.00–43.00	10.00–24.00	8.00–20.00	16.00–20.00	15.00–22.00	20.00–22.00	2.50–3.50	2.30–3.40	0.93–1.30				
Петербургский фиолетовый	47.10 ± 11.01 ^а	31.52 ± 8.52 ^а	15.57 ± 3.61	18.76 ± 2.34 ^б	16.62 ± 1.63 ^а	20.38 ± 2.85 ^с	5.36 ± 0.77 ^{аb}	3.24 ± 0.50 ^а	1.70 ± 0.43 ^а				
	25.00–76.00	15.00–54.00	10.00–22.00	14.00–23.00	14.00–20.00	16.00–26.00	4.50–7.00	2.20–4.00	1.18–2.80				
Петербургский розовый	46.67 ± 14.41 ^а	30.13 ± 11.29	16.53 ± 3.85	15.07 ± 1.39 ^{аb}	15.20 ± 1.47 ^{аb}	15.13 ± 1.41 ^{аbс}	5.21 ± 0.83 ^{аb}	2.71 ± 0.38 ^а	1.97 ± 0.49 ^{аb}				
	29.00–75.00	16.00–54.00	12.00–26.00	13.00–19.00	13.00–18.00	13.00–17.00	4.00–6.80	2.30–3.60	1.32–2.72				
	30.88	37.47	23.29	9.14	9.67	9.32	16.21	14.02	24.87				

* – данные в таблице представлены как среднее ± стандартное отклонение, значения min–max, коэффициент вариации (%). ^{а-с} – значения с разными надстрочными индексами в столбце были достоверно различны (p < 0.05).

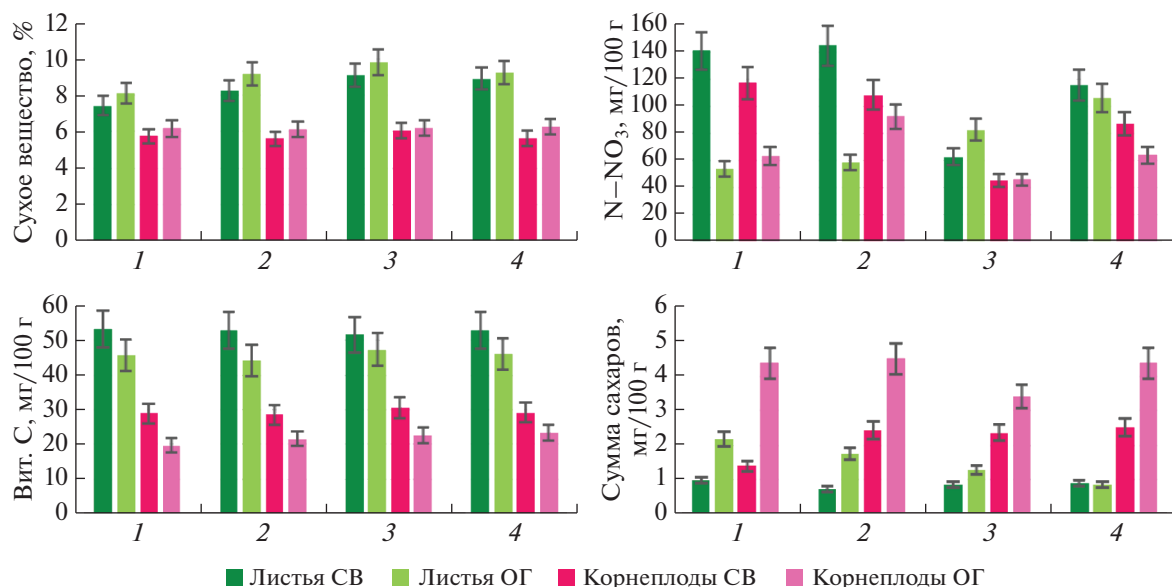


Рис. 1. Основные показатели биохимического состава листьев и корнеплодов редиса в светокультуре и открытом грунте Ленинградской области. 1 – Виола; 2 – Октава; 3 – Петербургский фиолетовый; 4 – Петербургский розовый. СВ – светокультура, ОГ – открытый грунт.

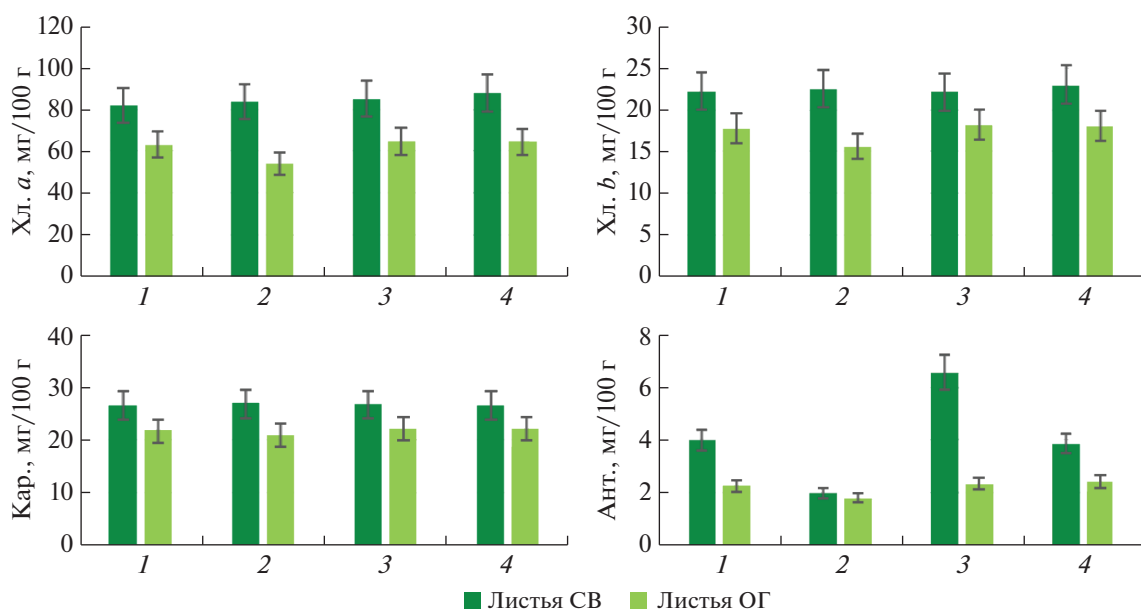


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов и антоцианов у образцов редиса в светокультуре и открытом грунте Ленинградской области. Хл. а – хлорофилл а, Хл. б – хлорофилл б, Кар. – каротиноиды, Ант. – антоцианы. 1 – Виола; 2 – Октава; 3 – Петербургский фиолетовый; 4 – Петербургский розовый. СВ – светокультура, ОГ – открытый грунт.

света влияют как на рост и развитие растений, так и на их биохимический состав, содержание первичных и вторичных метаболитов [40–42]. Результаты проведенных нами исследований биохимического состава листьев и корнеплодов разных образцов редиса, выращенных в светокультуре и открытом грунте, представлены на рис. 1 и 2.

Результаты биохимического анализа показали, что содержание сухого вещества, нитратов и витамина С в листьях было достоверно ($p < 0.05$) выше, чем в корнеплодах, а для сахаров наблюдалась обратная зависимость. Полученные данные в целом согласуются с данными других исследователей [2, 7–9].

В настоящем исследовании условия выращивания влияли на содержание всех изучаемых показателей биохимического состава (рис. 1, 2). Так, в условиях светокультуры содержание витамина С в листьях образцов было выше на 9–20%, в корнеплодах – на 25–47% по сравнению с открытым грунтом, содержание нитратов – на 9–106% в листьях и 17–85% в корнеплодах (за исключением сорта Петербургский фиолетовый). В то же время, содержание сухого вещества у растений редиса в открытом грунте было выше, чем в светокультуре: в листьях на 4–11%, в корнеплодах – на 2–12%. Также показано, что содержание пигментов в листьях растений в светокультуре было выше, чем в открытом грунте (рис. 3): хлорофилла *a* – на 32–55%, хлорофилла *b* – на 22–44%, каротиноидов – на 20–28%, антоцианов – на 10–182%. Анализ дисперсий биохимических показателей выявил существенную волатильность влияния факторов “генотип”, “среда” и их взаимодействия на показатели “содержание сухого вещества” и “содержание нитратов” и в листьях, и в корнеплодах. Содержание витамина С в корнеплодах редиса значимо различалось по эффекту взаимодействия “генотип–среда”, а в листьях редиса – только по фактору “среда”. В листьях редиса показатели содержания хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, их суммарного значения, а также количество антоцианов существенно отличались по обоим факторам и эффекту взаимодействия между ними. Признак “каротиноиды” показал значимую изменчивость только по варианту “среда” по результатам проведенного дисперсионного анализа.

Вероятно причиной более высокого содержания витамина С и фотосинтетических пигментов, и, следовательно, более высокой питательной ценности растений, выращенных в светокультуре, по сравнению с открытым грунтом являются различия в свето-температурных условиях и режимах минерального питания.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о высокой эффективности использования светокультуры при проведении генетико-биохимических и морфобиологических исследований. Значительная генотипическая изменчивость трансгрессивных форм позволяет проводить отбор различных генотипов редиса на сочетание высокой потенциальной продуктивности и качества с учетом взаимодействия “генотип–среда”. В то же время, особенности проявления изучаемых признаков качества у редиса по-видимому определяются сбалансированностью реализации потенциала генотипической изменчивости, а также спецификой взаимосвязи генетических систем онтогенетической и филогенетической адаптации у данного вида. При этом отбор генотипов в светокультуре можно вести для любых конкретных условий выращивания, включая традиционный защищенный и открытый грунт, моделируя основные

параметры среды обитания в РАЭС. Именно указанной особенностью взаимосвязи генетических систем онтогенетической и филогенетической адаптации можно объяснить наблюдавшуюся изменчивость по признакам качества и особенностям функционирования системы “генотип–среда–фенотип”, что имеет очевидное теоретическое и практическое значение для генетики и селекции сельскохозяйственных растений, а светокультура может выступать в качестве модельной экосистемы для установления механизмов указанного взаимодействия.

Финансирование работы осуществляется в рамках Госзадания ФГБНУ АФИ на 2022 г. “Разработка фундаментальных основ управления продукционным процессом растений и регулирования потоков биогенных элементов в агроэкосистемах посредством установления механизмов взаимодействия “генотип–среда” в контролируемых условиях и получения новых форм растений с высокоценными признаками продуктивности и качества при использовании оригинальной генетико-селекционной методологии, био-, нано-, агротехнологий нового поколения и прикладной цифровизации (FGEG-2-022-0005)”.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singh B.K. Radish (*Raphanus sativus* L.): Breeding for higher yield, better quality and wider adaptability // Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops / Eds Al-Khayri J.M., Jain S.M., Johnson D.V. Cham: Springer. 2021. P. 279–304. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2_7
2. Kurina A.B., Korniyukhin D.L., Solovyeva A.E., Artemyeva A.M. Genetic diversity of phenotypic and biochemical traits in VIR radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm collection // Plants. 2021. V. 10. P. 1799. <https://doi.org/10.3390/plants10091799>
3. Косенко М.А. Новый раннеспелый сорт редиса // Междунар. научно-исслед. журн. 2020. № 2–1(92). С. 79–83. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2020.92.2.015>
4. Кочетов А.А., Синявина Н.Г. Стратегия создания высокопродуктивных форм редиса, адаптированных для выращивания в светокультуре // Росс. с.-хоз. наука. 2019. № 1. С. 29–33. <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019129-33>
5. Синявина Н.Г., Кочетов А.А., Хомяков Ю.В. и др. Редис для светокультуры: задачи и перспективы селекции // Овощи России. 2019. № 3. С. 35–39. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-3-35-39>

6. Курина А.Б., Хмелинская Т.В., Артемьева А.М. Генетическое разнообразие корнеплодных растений *Raphanus sativus* L. (редис и редька) коллекции ВИР // Овощи России. 2018. № 5. С. 9–13. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-9-13>
7. Gamba M., Asllanaj E., Raguindin P. F. et al. Nutritional and phytochemical characterization of radish (*Raphanus sativus*): A systematic review // Trends Food Sci. Technol. 2021. V. 113. P. 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.045>
8. Manivannan A., Kim J.H., Kim D.S. et al. Deciphering the nutraceutical potential of *Raphanus sativus* – A comprehensive overview // Nutrients. 2019. V. 11(2). P. 402. <https://doi.org/10.3390/nu11020402>
9. Goyeneche R., Roura S., Ponce A. et al. Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots // J. Funct. Foods. 2015. V. 16. P. 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.049>
10. Jahangir M., Abdel-Farid I.B., de Vos C.H.R. et al. Metabolomic variation of *Brassica rapa* var. *rapa* (var. *raapstelen*) and *Raphanus sativus* L. at different developmental stages // Pak. J. Bot. 2014. V. 46. № 4. P. 1445–1452.
11. Kumar A., Kaushik P. Advances and milestones of radish breeding: An update. // Preprints. 2021. P. 2021080514. <https://doi.org/10.20944/preprints202108.0514.v1>
12. Bett K.E., Lydiate D.J. Genetic analysis and genome mapping in *Raphanus* // Genome. 2003. V. 46. P. 423–430. <https://doi.org/10.1139/g03-026>
13. Tsuro M., Suwabe K., Kubo N. Mapping of QTLs controlling root shape and red pigmentation in radish, *Raphanus sativus* L. // Breed. Sci. 2008. V. 58. P. 55–61. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.58.55>
14. Budahn H., Peterka H., Mousa M.A. et al. Molecular mapping in oil radish (*Raphanus sativus* L.) and QTL analysis of resistance against beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) // Theor. Appl. Genet. 2009. V. 118. P. 775–782. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0937-6>
15. Shirasawa K., Oyama M., Hirakawa H. et al. An EST-SSR linkage map of *Raphanus sativus* and comparative genomics of the Brassicaceae // DNA Res. 2011. V. 18. P. 221–232. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsr013>
16. Kamei A., Tsuro M., Kubo N. et al. QTL mapping of clubroot resistance in radish (*Raphanus sativus* L.) // Theor. Appl. Genet. 2010. V. 120. P. 1021–1027. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1230-z>
17. Yu X., Choi S.R., Ramchiary N. et al. Comparative mapping of *Raphanus sativus* genome using *Brassica* markers and quantitative trait loci analysis for the *Fusarium* wilt resistance trait // Theor. Appl. Genet. 2013. V. 126. P. 2553–2562. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2154-1>
18. Nie S., Li C., Xu L. et al. De novo transcriptome analysis in radish (*Raphanus sativus* L.) and identification of critical genes involved in bolting and flowering // BMC Genomics. 2016. V. 17. № 1. P. 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2633-2>
19. Zou Z., Ishida M., Li F. et al. QTL analysis using SNP markers developed by next-generation sequencing for identification of candidate genes controlling 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate contents in roots of radish, *Raphanus sativus* L. // PLoS One. 2013. V. 8. P. e53541. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053541>
20. Hashida T., Nakatsuji R., Budahn H. et al. Construction of a chromosome-assigned, sequence-tagged linkage map for the radish, *Raphanus sativus* L. and QTL analysis of morphological traits // Breed. Sci. 2013. V. 63. P. 218–226. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.218>
21. Shirasawa K., Kitashiba H. Genetic maps and whole genome sequences of radish // The Radish Genome. Compendium of Plant Genomes / Eds Nishio T., Kitashiba H. Cham: Springer, 2017. P. 31–42. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59253-4_3
22. Кочетов А.А., Сияявина Н.Г. Создание новых форм редиса и редьки (*Raphanus sativus* L.) с прогнозируемым комплексом хозяйственно ценных признаков при использовании методологии ускоренной селекции // Картофель и овощи. 2019. № 10. С. 29–34. <https://doi.org/10.25630/PAV.2019.70.54.003>
23. Кочетов А.А., Сияявина Н.Г. Патент на селекционное достижение 11518 РФ редис *Raphanus sativus* var. *sativus* Петербургский фиолетовый / Заявитель и патентообладатель: ФГБНУ Агрофизический НИИ. 2021. № 8058521. Заявл. 28.11.2019. Выдан 25.03.2021.
24. Балашова И.Т., Сирота С.М., Пинчук Е.В. Крупноплодность у томата *Solanum lycopersicum* L.: генетические детерминанты, органогенез и развитие плода (обзор) // С.-хоз. биология. 2020. Т. 55. № 5. С. 876–889. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.5.876rus>
25. Балашова И.Т., Беспалько Л.В., Молчанова А.В. и др. Эфиромасличные культуры семейства Lamiaceae для вертикального овощеводства // Овощи России. 2020. № 4. С. 72–75. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-72-75>
26. Fiyaz R.A., Ajay B.C., Ramya K.T. et al. Speed breeding: Methods and applications // Accelerated Plant Breeding / Eds Gosal S., Wani S. Cham: Springer, 2020. V. 1. P. 31–49. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41866-3_2
27. Ghosh S., Watson A., Gonzalez-Navarro O.E. et al. Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research // Nat. Protoc. 2018. V. 13. № 12. P. 2944–2963. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0072-z>
28. Hickey L.T., Hafeez A.N., Robinson H. et al. Breeding crops to feed 10 billion // Nat. Biotechnol. 2019. V. 37. № 7. P. 744–754. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0152-9>
29. Кочетов А.А., Мирская Г.В., Сияявина Н.Г., Егорова К.В. Трансгрессивная селекция: методология ускоренного получения новых форм растений с прогнозируемым комплексом хозяйственно ценных признаков // Росс. с.-хоз. наука. 2021. № 6. С. 29–37. <https://doi.org/10.31857/S2500262721060065>

30. Панова Г.Г., Черноусов И.Н., Удалова О.Р. и др. Научно-технические основы круглогодичного получения высоких урожаев качественной растительной продукции при искусственном освещении // Докл. РАСХН. 2015. № 4. С. 17–21.
31. Ермаков Е.И., Желтов Ю.И., Мильто Н.Е., Кучеров В.И. Почвогрунт для выращивания растений “Агрофит”. Патент на изобретение РФ 2081555 (РФ) МПК А 01 G 9/10. Заявл. 13.07.1993. Опубл. 20.06.1997. Бюл. № 17.1997.
32. Изучение и поддержание мировой коллекции корнеплодов: (свекла, репа, турнепс, брюква): Метод. указания // ВАСХНИЛ, ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. Сост. Буренин В.И., Пивоварова Н.С., Власова Э.А. Л.: ВИР. 1989. 165 с.
33. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений / Под ред. Ермакова А.И. 3-е изд., перераб. и дополн. Л.: Агропромиздат, 1987. 429 с.
34. Фишер Р.Э. Статистические методы для исследователей. М.: Госстатиздат, 1958. 267 с.
35. Синявина Н.Г., Кочетов А.А., Мирская Г.В. и др. Изучение биоразнообразия редиса в условиях интенсивной светокультуры и выявление доноров хозяйственно ценных признаков для селекции // Овощи России. 2018. № 3(41). С. 56–59. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2018-3-56-59>
36. Yu X., Choi S.R., Dhandapani V. et al. Quantitative trait loci for morphological traits and their association with functional genes in *Raphanus sativus* // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. P. 255. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00255>
37. Kaymak H.Ç., Güvenç İ. The influence of vernalization time and day length on flower induction of radish (*Raphanus sativus* L.) under controlled and field conditions // Turk. J. Agric. For. 2010. V. 34. № 5. P. 401–413. <https://doi.org/10.3906/tar-0901-14>
38. Hu T., Wei Q., Wang W. et al. Genome-wide identification and characterization of CONSTANS-like gene family in radish (*Raphanus sativus*) // PLoS One. 2018. V. 13. № 9. P. e0204137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204137>
39. Khalid M., Khan N.U., Din A. et al. Linkage of morphological markers in *Brassica* // Pak. J. Bot. 2010. V. 42. № 5. P. 2995–3000.
40. Cui J., Song S., Yu J., Liu H. Effect of daily light integral on cucumber plug seedlings in artificial light plant factory // Horticulturae. 2021. V. 7. № 6. P. 139. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7060139>
41. Gao M., He R., Shi R. et al. Differential effects of low light intensity on broccoli microgreens growth and phytochemicals // Agronomy. 2021. V. 11. № 3. P. 537. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030537>
42. Camejo D., Frutos A., Mestre T.C. et al. Artificial light impacts the physical and nutritional quality of lettuce plants // Hort. Environ. Biotechnol. 2020. V. 61. № 1. P. 69–82. <https://doi.org/10.1007/s13580-019-00191-z>

Genetic-Biochemical Studies and Morphobiological Assessment of Redish (*Raphanus sativus* L.) under Artificial Light Culture Condition

N. G. Sinyavina^{a,*}, A. A. Kochetov^a, K. V. Egorova^a, N. V. Kocherina^a, and Yu. V. Chesnokov^a

^aAgrophysical Research Institute, St. Petersburg, 195220 Russia

*e-mail: sinad@inbox.ru

New highly productive forms of small radish (*Raphanus sativus* L.), adapted for growing under conditions of intensive light culture, were obtained on the base of the methodology of accelerated transgressive breeding, developed at the FGBNU AFI. Their genetic, morphobiological and biochemical assessment was carried out, as well as the assessment of parental forms, in controlled and natural conditions of the environment. It has been shown that new radish forms, transgressive in terms of size and weight of root, are characterized by a complex of economically valuable traits: compact rosette, glabrous leaf, intensive root growth, resistance to bolting and improved biochemical composition. It was revealed that the characteristics of the length and diameter of the root, the compactness of the rosette, the resistance to bolting and the degree of leaf pubescence are weakly dependent on the growing conditions, and the weight of the root and the yield of new forms exceed those for the parent varieties both in light culture and in open ground. The research results allow us to conclude that the use of intensive light culture is highly efficient for carrying out genetic selection studies and accelerating the breeding process by establishing the effects of the “genotype–environment” interaction. Evaluation and selection of hybrid plants can be carried out in a light culture for various growing conditions, including traditional protected and open ground by simulating the typical characteristics of growing conditions.

Keywords: small radish (*Raphanus sativus* L.), intensive light culture, genetic selection studies, morphological and biochemical selection-valuable traits.

ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ИНВЕРСИОННОГО
ПОЛИМОРФИЗМА МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА *Anopheles messeae* Fall.
(Diptera: Culicidae) В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ© 2022 г. А. К. Сибатаев¹, И. Э. Вассерлауф¹, К. Е. Усов¹, С. С. Алексеева¹,
Г. М. Абылкасымова², В. Н. Стегний¹, *¹Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия²Институт генетики и физиологии, Алматы, 050060 Казахстан

*e-mail: stegniy@res.tsu.ru

Поступила в редакцию 25.11.2021 г.

После доработки 11.01.2022 г.

Принята к публикации 03.02.2022 г.

Исследовали хромосомную изменчивость комаров *Anopheles messeae* Fall. в шести населенных пунктах Томской обл. (Западная Сибирь). Определены частоты хромосомных инверсий в локальных выборках *An. messeae*. Установлено преобладание инверсионных вариантов аутосом: 2R₀, 3R₀, 3L₀ в гомозиготном состоянии. В исследованных нами выборках по половой хромосоме XL отмечен избыток гетерозигот по инверсии XL₀₁. По-видимому, направление отбора в сторону хромосомных вариантов XL₀₁, 2R₀₀, 3R₀₀ и 3L₀₀ в выборках Томской области *An. messeae* можно объяснить климатическими изменениями последних десятилетий, создающих оптимальные условия для роста и развития комаров.

Ключевые слова: *Anopheles messeae*, хромосомный полиморфизм, инверсии, малярийные комары, популяционная генетика.

DOI: 10.31857/S0016675822060091

Важным механизмом видообразования в отряде Diptera являются хромосомные перестройки, инверсии. Именно поэтому виды отличаются по фиксированным инверсиям [1, 2]. В то же время большинство видов, адаптируясь к определенным климатическим условиям, имеют флуктуирующие инверсии, приводящие к инверсионному полиморфизму хромосом [3–7]. Роль хромосомных инверсий в адаптации и эволюции различных видов двукрылых изучается в течение нескольких десятилетий [8–10]. Многолетний мониторинг сезонной цикличности и клинального распределения частот инверсий по ареалам полиморфных видов двукрылых дают полную картину динамики инверсионного полиморфизма в популяциях определенных групп Diptera в ответ на климатические изменения в природе [10–13]. За последнее время произошли климатические изменения во многих областях земного шара. В связи с этим расширились ареалы многих видов насекомых, особенно эпидемически опасных, среди которых переносчики малярии — комары рода *Anopheles* [14, 15]. Согласно последним оценкам экспертов, потенциальный ареал малярии в XXI в. при потеплении климата расширяется в основном к северу. На территориях, где малярия человека эндемична,

увеличивается длительность сезона передачи. Значительно возрастает число людей, проживающих в зонах с большим риском заражения малярией. В последние 15–20 лет существенно изменилась структура завоза малярии в Россию. Изменения климата, произошедшие в XX в. на территории стран СНГ и Балтии, сказались на ареалах распространения переносчиков и условиях развития возбудителей в организме переносчиков. Северные границы ареалов малярийных комаров имеют тенденцию к продвижению на север, предполагают возможность замещения северных популяций южными. Для отдельных территорий страны влияние потепления климата может сказаться на частоте заболеваний малярией [16–18]. В связи с этим мониторинг популяций малярийных комаров является актуальным в настоящее время. Малярийные комары рода *Anopheles* представляют собой удобные модельные объекты для популяционно-генетического анализа. В клетках некоторых тканей комаров содержатся политенные хромосомы, на которых хорошо идентифицируются фиксированные и флуктуирующие перестройки [4, 10–12].

В Западной Сибири обитает два вида малярийных комаров из комплекса “maculipennis” — *Anoph-*

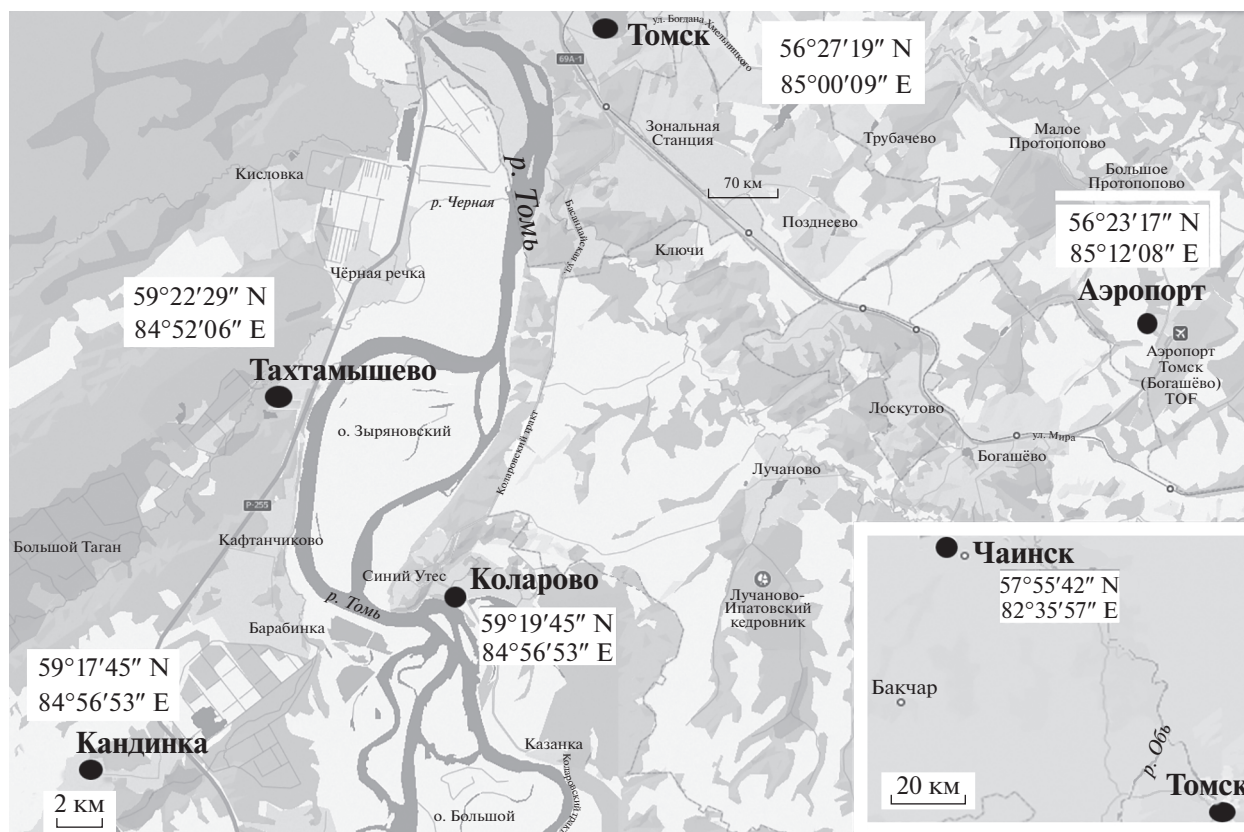


Рис. 1. Места сбора личинок малярийных комаров в Томской обл.

eles messeae Fall. и *An. beklemishevi* Stegny and Kabanova, для которых установлен внутривидовой полиморфизм по хромосомным инверсиям [10–13]. *An. messeae* является самым распространенным видом в Голарктическом комплексе видов “*maculipennis*” и населяет всю бореальную область Палеоарктики. Этот вид детально изучается в плане анализа инверсионного полиморфизма на всем протяжении своего огромного ареала в течение 50 лет [4, 5, 10–12, 19]. Выявлены пространственно-временные закономерности распределения инверсионного полиморфизма и его адаптивное значение. Помимо географического анализа генетической структуры *An. messeae* изучена и локальная изменчивость инверсионного полиморфизма в системах смежных или близких популяций [10, 13, 19]. Обнаружение межпопуляционных отличий по инверсионным генотипам *An. messeae* в локальных областях ставит вопрос о механизмах генотипической дифференциации. Продолжение наблюдений за географической динамикой инверсионного полиморфизма малярийного комара *An. messeae* интересно с точки зрения оценки его адаптивного характера в связи с потеплением климата.

Настоящая работа содержит описание географической изменчивости инверсионного поли-

морфизма малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. в Томской обл. (Западная Сибирь).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2020 г. было собрано 470 личинок малярийных комаров в шести населенных пунктах Томской обл. (Россия): Ботанический сад г. Томск (17.05.2020), п. Коларово (29.05.2020; 21.06.2020; 29.07.2020; 8.08.2020), п. Тахтамышево (15.05.2020), п. Кандинка (21.05.2020; 20.06.2020), п. Аэропорт (12.06.2020), п. Чайнск (26.05.2020; 15.06.2020). Расположение мест выплода малярийных комаров показано на карте (рис. 1). Отлавливали личинок четвертого возраста и фиксировали этанол-уксусной смесью Карнуа в соотношении 3 : 1.

Из личинок выделяли слюнные железы, содержащие политенные хромосомы. Хромосомные препараты готовили стандартным лактоацетоорсеиновым методом [11]. Политенные хромосомы визуализировали с помощью светового микроскопа Zeiss Primo Star и получали микрофотографии политенных хромосом с помощью микроскопа Zeiss Imager A1. Анализ хромосомных инверсий проводили с помощью цитогенетической карты политенных хромосом слюнных желез *An. messeae* [12, 20]. Частоты хромосомных инверсий подсчитывали

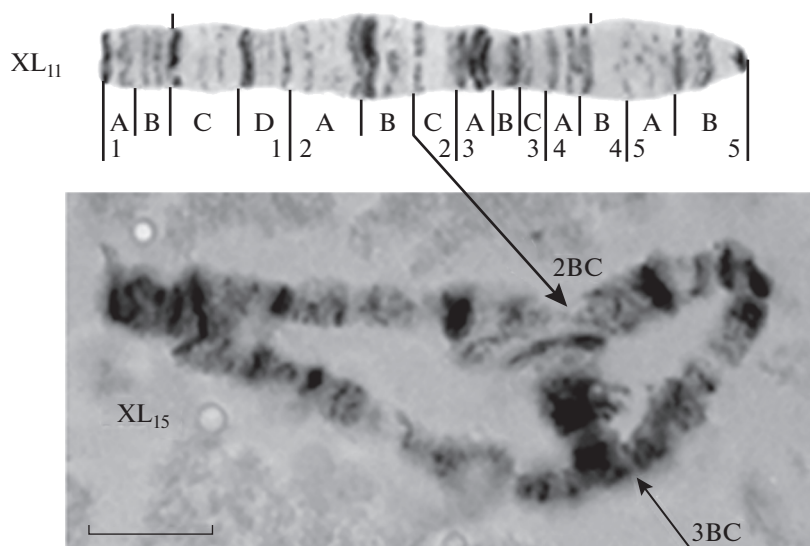


Рис. 2. Гетерозигота по инверсии XL_{15} половой хромосомы *An. messeae*. Стрелками отмечен район инверсии 2BC–3BC согласно карте [12].

вали в процентном соотношении с помощью формулы закона Харди–Вайнберга, сравнивали частоты инверсий в выборках методом χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Со второй половины 80-х до начала 90-х гг. XX в. было отмечено направленное изменение концентрации хромосомных вариантов на всем изученном ареале в пользу тех, которые доминировали на юге и юго-западе ареала *An. messeae* [13, 15, 21]. Известно, что для комаров одним из основных абиотических лимитирующих факторов на всех стадиях развития является температурный режим. Это экспериментально показано в 1981 г. на личиночных популяциях п. Коларово, где была определена адаптивная ценность гетерозигот XL_{01} и $3R_{01}$ в результате повышения их частот при экстремально низких и высоких температурах развития личинок. При оптимальных же температурах отбор шел в пользу гомозиготного варианта $3R_{00}$ [12]. Поэтому направление отбора в сторону хромосом XL_{01} , $2R_{00}$, $3R_{00}$ и $3L_{00}$ в Коларовской популяции можно объяснить климатическими изменениями последних десятилетий, создающими оптимальные условия для роста и развития комаров.

Проведенный в настоящей работе цитогенетический анализ личинок комаров *An. messeae* выявил инверсионный полиморфизм по половой хромосоме XL и аутосомам (обозначения инверсий согласно карте хромосом *An. messeae*) [4].

Во всех изученных выборках Томской обл. в кариотипах преобладали хромосомные варианты $2R_0$, $3R_0$, $3L_0$ аутосом в гомозиготном состоянии (табл. 1). В исследованных нами выборках инвер-

сионный полиморфизм проявлялся по половой хромосоме XL. Были выявлены следующие хромосомные варианты: XL_{00} , XL_{11} , XL_{01} , XL_{12} . Также хотелось бы отметить, что в выборке п. Коларово была обнаружена у одной особи новая инверсия XL_{15} в гетерозиготном состоянии, захватывающая район 2BC–3BC (рис. 2).

По аутосомам *An. messeae* во всех шести изученных выборках Томской обл. частотно преобладали “юго-западные” варианты $2R_{00}$, $3R_{00}$, $3L_{00}$. Можно отметить пониженную гетерозиготность по хромосомам $3R_{01}$ и $3L_{01}$ в выборке п. Аэропорт. В большинстве выборок (п. Коларово, п. Тахтамышшево, Ботанический сад г. Томск, п. Кандинка, п. Чаинск) наблюдали низкий процент частот гомозигот XL_{00} за счет доминирования инверсий XL_{11} или гетерозигот по инверсии XL_{01} . В выборках Ботанический сад г. Томск и п. Кандинка доминируют хромосомные варианты гомозигот XL_{11} над гетерозиготами XL_{01} . В выборке п. Чаинск выявлен довольно низкий процент частот гомозигот XL_{00} . Гетерозиготность по XL хромосоме высокая в местах сбора п. Аэропорт и особенно в п. Коларово, где XL_{01} показывает эффект сверхдоминирования. В то же время в выборке п. Кандинка частота хромосомного варианта XL_{01} значительно меньше ожидаемой за счет увеличения адаптивной ценности гомозигот XL_{11} (табл. 1).

Оценивая возможную адаптивность инверсионных вариантов по хромосомам XL, 2R, 3R и 3L, следует отметить, что расстояние между всеми выборками (кроме п. Чаинск) составляет около 15–20 км, что предполагает активную миграцию между ними и сходство в частотах инверсионных

Таблица 1. Инверсионный полиморфизм в изученных выборках *An. messeae* Томской обл.

Вариант хромосом	Частоты хромосомных вариантов в выборках ($f \pm s_f$), %					
	Коларово	Тахтамышево	Томск	Кандинка	Чаинск	Аэропорт
Самцы (гоносомы)						
XL ₀	22.7 ± 4.8	50.0 ± 17.7	35.7 ± 12.8	21.4 ± 6.3	30.4 ± 9.6	6.9 ± 4.6
XL ₁	77.3 ± 4.8	50.0 ± 17.7	64.3 ± 12.8	78.6 ± 6.3	69.6 ± 9.6	93.1 ± 4.6
<i>n</i>	75	8	14	28	23	29
Самки (гоносомы)						
XL ₀₀	11.9 ± 2.4 (12)	15.8 ± 8.4 (16)	16.7 ± 8.8 (17)*	18.8 ± 4.7 (19)*	6.7 ± 3.2 (7)	14.8 ± 4.8 (14)
XL ₀₁	58.9 ± 3.6 (46)	42.1 ± 11.3 (48)	27.7 ± 10.6 (48)*	26.1 ± 5.3 (49)*	45.0 ± 6.4 (38)	51.9 ± 6.8 (48)
XL ₁₁	27.6 ± 3.3 (42)	42.1 ± 11.3 (36)	55.6 ± 11.7 (35)*	55.1 ± 6.0 (32)*	46.6 ± 6.4 (55)	33.3 ± 6.4 (38)
XL ₁₂	1.1 ± 0.8	0	0	0	1.7 ± 1.7	0
XL ₁₅	0.5 ± 0.5	0	0	0	0	0
<i>n</i>	185	19	18	69	60	54
Самцы и самки (аутосомы)						
2R ₀₀	99.2 ± 0.5 (98)	100.0	100.0	97.9 ± 1.4 (98)	95.2 ± 2.4 (94)	98.8 ± 1.2 (98)
2R ₀₁	0.8 ± 0.5 (2)	0	0	2.1 ± 1.4 (2)	3.6 ± 2.0 (6)	1.2 ± 1.2 (2)
2R ₁₁	0 (0.01)	0	0	0 (0.01)	1.2 ± 1.2 (0)	0 (0.01)
3R ₀₀	75.8 ± 2.7 (74)	74.1 ± 8.4 (74)*	62.5 ± 8.6 (61)*	76.3 ± 4.3 (76)	66.2 ± 5.2 (66)*	80.7 ± 4.3 (81)*
3R ₀₁	18.1 ± 2.4 (24)	18.5 ± 7.5 (24)*	15.6 ± 6.4 (34)*	19.6 ± 4.0 (23)	20.5 ± 4.4 (31)*	8.4 ± 3.1 (18)*
3R ₁₁	6.2 ± 1.5 (2)	7.4 ± 5.0 (2)*	21.9 ± 7.3 (5)*	4.1 ± 2.0 (1)	13.3 ± 3.7 (3)*	10.8 ± 3.4 (1)*
3L ₀₀	95.0 ± 1.4 (94)	92.6 ± 5.0 (92)	78.1 ± 7.3 (77)*	91.8 ± 2.8 (92)*	85.5 ± 3.9 (84)	96.4 ± 2.0 (96)
3L ₀₁	5.0 ± 1.4 (6)	3.7 ± 3.6 (7)	12.5 ± 5.8 (21)*	6.1 ± 2.4 (7)*	12.1 ± 3.6 (15)	3.6 ± 2.0 (4)
3L ₁₁	0 (0.09)	3.7 ± 3.6 (1)	9.4 ± 5.2 (2)*	2.1 ± 1.4 (2)*	2.4 ± 1.7 (1)	0 (0.04)
<i>n</i>	260	27	32	97	83	83

Примечание. В скобках приведено теоретическое значение, вычисленное по закону Харди–Вайнберга; * – указаны достоверные различия между теоретическими и наблюдаемыми частотами, рассчитанные с помощью критерия χ^2 ($p < 0.05$).

вариантов. Однако мы видим достаточно сильные различия между выборками, особенно по частотам генотипов хромосомы XL. Учитывая эти данные, можно сделать вывод, что миграция не является фактором, нивелирующим генетические различия как смежных, так и любых близких выборок. Различия определяются, очевидно, действием локальных экологических факторов естественного отбора. Проведенные нами ранее эксперименты по температурным режимам развития личинок комаров *An. messeae* подтверждают значение отбора в частотных колебаниях этих инверсионных вариантов [11]. Полное доминирование гомозигот 2R₀₀ во всех изученных выборках, видимо, обусловлено потеплением климата, что было показано в ранних работах [12].

Существенная изменчивость частот хромосомных генотипов между исследованными выборками в регионе Томской обл. не выявляется на диаграммах частот хромосомных вариантов, но проявляются различия между некоторыми выборками кома-

ров при сравнении отдельно по каждой хромосоме (рис. 3).

Для выявления различий по частотам хромосомных вариантов *An. messeae* был проведен анализ между всеми выборками с использованием критерия χ^2 для таблиц сопряженности, а также было проведено попарное сравнение между собой исследуемых выборок (табл. 2). В данном методе сравнивалось значение критерия $\chi^2_{\text{эмп}}$ с критическими значениями $\chi^2_{\text{кр}}$. На основании применения критерия χ^2 Пирсона нулевая гипотеза может быть отвергнута, при условии $\chi^2_{\text{эмп}} > \chi^2_{\text{кр}}$ [22].

X-хромосома – XL. По XL хромосоме выявлены различия распределения частот хромосомных вариантов XL₀ и XL₁ между выборками п. Коларово и п. Кандинка, а также между выборками п. Коларово и п. Чаинск. Наименьшая частота хромосомного варианта XL₀ отмечена в выборках п. Ча-

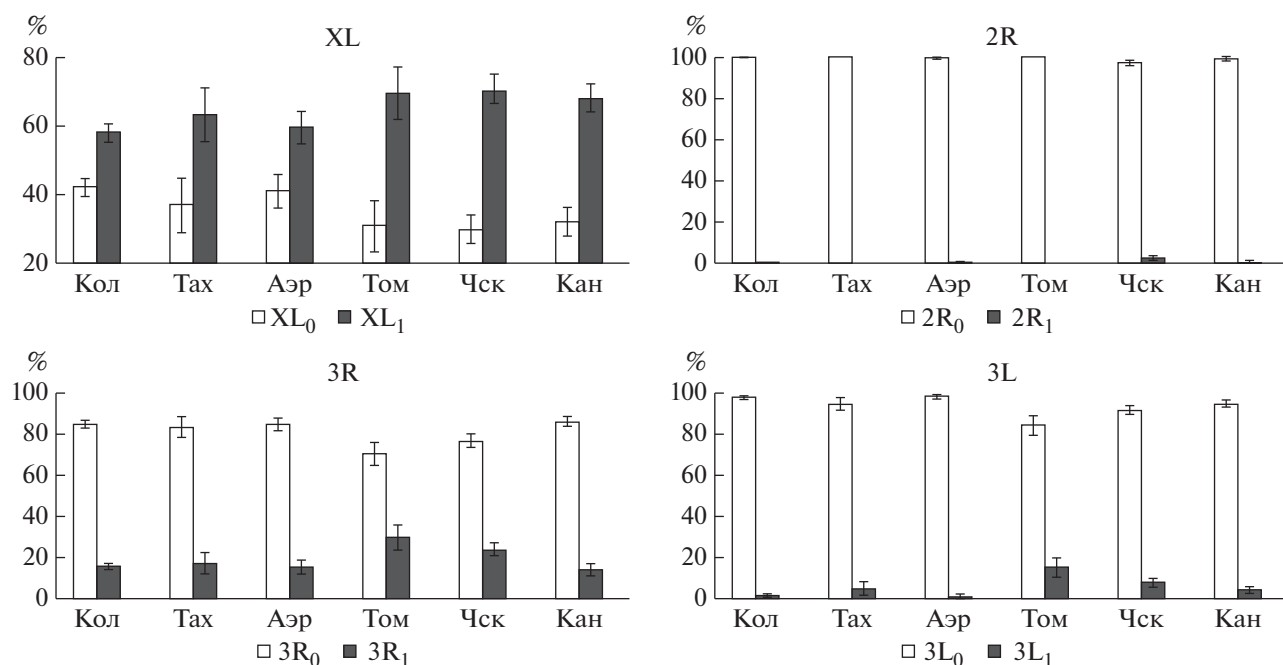


Рис. 3. Частоты хромосомных вариантов в выборках *An. messeae*. Вертикальными линиями указан 95% доверительный интервал. Кол — п. Коларово, Тах — п. Тахтамышево, Аэр — п. Аэропорт, Том — Ботанический сад г. Томск, Чск — п. Чаинск, Кан — п. Кандинка.

инск и п. Кандинка. По этим параметрам данные выборки отличаются от выборки п. Коларово (рис. 3, табл. 2).

Хромосома 2 — 2R-плечо. Между выборками п. Коларово и п. Чаинск по хромосоме 2R выявлены различия по распределению частот хромосомных вариантов 2R₀ и 2R₁ (табл. 2, рис. 3). Эти выборки находятся далеко друг от друга, на расстоянии 213 км, а также п. Чаинск находится намного севернее п. Коларово (табл. 2, рис. 3).

Хромосома 3. По 3R-хромосоме выявлены достоверные различия по распределению частот хромосомных вариантов 3R₀ и 3R₁ между выборками п. Коларово и п. Чаинск, п. Коларово и п. Кандинка, а также между выборками населенных пунктов п. Тахтамышево и п. Чаинск, п. Тахтамышево и п. Кандинка (табл. 2, рис. 3). По 3L-хромосоме выявлены достоверные различия по распределению частот хромосомных вариантов 3L₀ и 3L₁ между выборками п. Коларово и п. Чаинск, п. Коларово и п. Кандинка, а также между выборками п. Тахтамышево и п. Чаинск, п. Тахтамышево и п. Кандинка (табл. 2, рис. 3).

На примере популяции *An. messeae* п. Коларово изучена сезонная изменчивость инверсионной структуры в течение 2020 г. В данной популяции нами проводился мониторинг динамики инверсионной структуры популяции на протяжении более 40 лет. Для выявления изменения в течение сезона частот хромосомных вариантов *An. messeae*

был проведен внутривидовой анализ, используя критерий χ^2 для таблиц сопряженности (табл. 3). Расчет критерия χ^2 для таблиц сопряженности не выявил различий сезонной изменчивости инверсионной структуры политенных

Таблица 2. Значения χ^2 для таблиц сопряженности распределения частот хромосомных вариантов в выборках *An. messeae* Томской обл. ($\alpha = 0.05$, $df = 1$)

Места сбора комаров		$\chi^2_{кр}$	$\chi^2_{эмп}$
XL ₀ , XL ₁			
Коларово	Кандинка	3.84	4.32
Коларово	Чаинск	3.84	5.73
2R ₀ , 2R ₁			
Коларово	Чаинск	3.84	8.6
3R ₀ , 3R ₁			
Коларово	Кандинка	3.84	4.32
Коларово	Чаинск	3.84	5.73
Тахтамышево	Чаинск	0.69	3.84
Тахтамышево	Кандинка	0.33	3.84
3L ₀ , 3L ₁			
Томск	Кандинка	3.84	25.94
Аэропорт	Томск	3.84	16.53
Аэропорт	Чаинск	3.84	7.50
Коларово	Чаинск	3.84	11.72

Таблица 3. Изменение частот хромосомных вариантов в популяции *An. messeae* п. Коларово в течение сезона

Хромосомный вариант	Частоты хромосомных вариантов, %			
	05/2020	06/2020	07/2020	08/2020
Самцы				
XL ₀	30.0 ± 14.5	33.3 ± 12.6	7.1 ± 6.8	20.0 ± 10.3
XL ₁	70.0 ± 14.5	66.7 ± 12.6	92.9 ± 6.8	80.0 ± 10.3
<i>n</i>	10	21	14	15
Самки				
XL ₀₀	10.3 ± 4.8	12.3 ± 4.7	6.5 ± 5.9	15.1 ± 6.2
XL ₀₁	56.4 ± 7.9	77.5 ± 5.9	38.7 ± 11.8	48.6 ± 8.7
XL ₁₁	33.3 ± 7.5	8.2 ± 3.9	54.8 ± 12.0	33.3 ± 8.2
XL ₁₂	0	0	0	3.0 ± 3.0
XL ₁₄	0	2.0 ± 2.0	0	0
<i>n</i>	39	49	31	33
Самцы и самки				
2R ₀₀	100.0	100.0	100.0	97.9 ± 2.0
2R ₀₁	0	0	0	2.1 ± 2.0
2R ₁₁		0	0	0
3R ₀₀	75.5 ± 6.1	74.3 ± 5.2	75.6 ± 6.4	77.1 ± 6.0
3R ₀₁	18.4 ± 5.5	17.1 ± 4.5	22.2 ± 6.2	16.7 ± 5.4
3R ₁₁	6.1 ± 3.4	8.6 ± 3.3	2.2 ± 2.2	6.2 ± 3.5
3L ₀₀	98.0 ± 2.0	100	91.1 ± 4.2	91.7 ± 4.0
3L ₀₁	2.0 ± 2.0	0	8.9 ± 4.2	8.3 ± 4.0
3L ₁₁	0	0		0
<i>n</i>	49	70	45	48

Примечание. В скобках приведено ожидаемое значение, вычисленное по закону Харди–Вайнберга; * – указаны достоверные различия между ожидаемыми и наблюдаемыми частотами, рассчитанные с помощью критерия χ^2 ($p < 0.05$).

хромосом комаров в течение 2020 г. Выявлено доминирование гетерозиготы хромосомного варианта XL₀₁ в течение сезона 2020 г. (табл. 3).

Таким образом, наши исследования выявили географическую изменчивость инверсионных генотипов, которая обусловлена действием локального отбора. Также следует отметить, что структура всех изученных выборок по инверсионному варианту аутосом 2R₀, 3R₀, 3L₀ стала сходной с европейскими популяциями, но отличается от них по изменению инверсионных частот по половой хромосоме в сторону увеличения гомозигот XL₁ и гетерозигот по инверсии XL₀₁.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSWM-2020-0019), а также при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стегний В.Н. Эволюционное значение хромосомных инверсий // Журн. общей биологии. 1984. Т. 45. № 1. С. 3–15.
2. Баклушинская И.Ю. Хромосомные перестройки, реорганизация генома и видообразование // Зоол. журн. 2016. Т. 95. № 4. С. 376–393. <https://doi.org/10.7868/S0044513416040036>
3. Чубарева Л.А. Хромосомный полиморфизм в природных популяциях кровососущих мошек и некоторых других двукрылых насекомых // Цитология. 1974. Т. 6. № 3. С. 267–280.
4. Стегний В.Н., Новиков Ю.М., Плешкова Г.Н., Кабанова В.М. Инверсионный полиморфизм малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. Сообщение II.

- Межпопуляционная вариабельность инверсионных частот // Генетика. 1978. Т. 14. № 6. С. 1016–1023.
5. Русакова А.М., Артемов Г.Н., Стегний В.Н. Инверсионный полиморфизм природных популяций малярийного комара (*Anopheles messeae* Fall.) восточной части ареала // Вестник Томского гос. ун-та. Биология. 2011. № 2(14). С. 117–121.
 6. Krimbas C., Powell J. *Drosophila* Inversion Polymorphism. Boca Raton: CRC Press, 1992. 576 p.
 7. Hoffmann A.A., Sgro C.M., Weeks A.R. Chromosomal inversion polymorphisms and adaptation // Trends in Ecol. & Evol. 2004. V. 19. P. 482–488.
 8. Dobzhansky Th. Genetics of Evolutionary Process. N.Y., London: Columbia Univ. Press, 1971. 520 p.
 9. Кикнадзе И.И. Роль хромосомного полиморфизма в дивергенции популяций и видов в роде *Chironomus* (Diptera) // Зоолог. журн. 2008. Т. 87. № 6. С. 686–701.
 10. Стегний В.Н. Популяционная генетика и эволюция малярийных комаров. Томск: Изд-во Томского ун-та, 1991. 136 с.
 11. Кабанова В.М., Карташова Н.Н., Стегний В.Н. Карриологическое исследование природных популяций малярийного комара в Среднем Приобье I. Характеристика кариотипа *Anopheles maculipennis messeae* // Цитология. 1972. Т. 14. № 5. С. 613–636.
 12. Стегний В.Н., Кабанова В.М., Новиков Ю.М. Карриотипическое исследование малярийного комара // Цитология. 1976. Т. 18. № 6. С. 760–766.
 13. Артемов Г.Н., Русакова А.М., Стегний В.Н. Инверсионный полиморфизм малярийного комара *Anopheles messeae* в природных популяциях // Вестник Томского гос. ун-та. Бюлл. оперативной научной информации. 2004. № 30. С. 3–7.
 14. Tolle M.A. Mosquito-borne Diseases // Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care. 2009. V. 39. I. 4. P. 97–140.
<https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2009.01.001>
 15. Новиков Ю.М. Эффекты глобального потепления: направленная динамика пропорции видов *Anopheles* и цитогенетической структуры таксона *Anopheles messeae* Fall. в Западной Сибири // Пробл. эвол. цитогенетики, селекции и интродукции. Матер. научных чтений, посвященных 100-летию профессора В.П. Чехова. 2–5 декабря 1997 г. Томск: 1997. С. 73–86.
 16. Всемирная Организация Здравоохранения. Европейское региональное бюро г. Копенгаген. Региональная стратегия: от борьбы к элиминации малярии в Европейском регионе. ВОЗ 2006–2015 гг. Копенгаген: ВОЗ, 2006. 44 с.
 17. Ревич Б.А. Изменение здоровья населения России в условиях меняющегося климата // Демография. 2008. С. 140–150.
 18. Юрченко Ю.А., Белевич О.Э. Малярия и малярийные комары (*Anopheles*, Culicidae) Новосибирской области // Сибирский экол. журн. 2010. Т. 17. № 5. С. 733–737.
 19. Стегний В.Н., Пищелко А.О., Сибатаев А.К., Абылкасымова Г. Пространственно-временные изменения частот хромосомных инверсий по ареалу малярийного комара *Anopheles messeae* Fall. (Culicidae) за 40-летний период мониторинга // Генетика. 2016. Т. 52. № 6. С. 664–671.
 20. Стегний В.Н. Генетические механизмы адаптации и видообразования двукрылых насекомых (на примере малярийных комаров): Дис. ... докт. биол. наук. Томск: Томский гос. ун-т, 1983. 323 с.
 21. Гордеев М.И., Сибатаев А.К. Цитогенетическое и фенотипическое изменение в центральных и периферических популяциях малярийных комаров *Anopheles messeae* Fall. (Diptera, Culicidae) // Генетика. 1996. Т. 32. № 9. С. 1199–1205.
 22. Бондарчук С.С., Бондарчук И.С. Статобработка экспериментальных данных в MS Excel. Томск: Изд-во Томского гос. пед. ун-та, 2018. 433 с.

Geographic Variability of Inversion Polymorphism of the Malaria Mosquito *Anopheles messeae* Fall. (Diptera: Culicidae) in the Tomsk Region

A. K. Sibataev^a, I. E. Wasserlauf^a, K. E. Usov^a, S. S. Alekseeva^a,
G. M. Abylkassymova^b, and V. N. Stegny^{a,*}

^aTomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

^bInstitute of Genetics and Physiology, Almaty, 050060 Kazakhstan

*e-mail: stegny@res.tsu.ru

The chromosomal variability of *Anopheles messeae* Fall. mosquitoes were studied in six settlements of the Tomsk region (Western Siberia). The frequencies of chromosomal inversions in local samples of *An. messeae* were determined. The prevalence of inversion variants of autosomes was established: 2R₀, 3R₀, 3L₀ in a homozygous state. An excess of heterozygotes for XL₀₁ was noted in studied samples on the sex chromosomes XL. Apparently, selection towards chromosomal variants XL₀₁, 2R₀₀, 3R₀₀, and 3L₀₀ in Tomsk region *An. messeae* can be explained by climatic changes in recent decades, creating optimal conditions for the growth and development of mosquitoes.

Keywords: *Anopheles messeae*, chromosomal polymorphism, inversions, malaria mosquitoes, population genetics.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ РОДСТВЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ СОДЕРЖАЩИХСЯ В НЕВОЛЕ СОКОЛОВ

© 2022 г. М. М. Белоконов¹, *, Ю. С. Белоконов¹, А. В. Нечаева¹,
Н. А. Сильвестров², Е. И. Сарычев³, И. Р. Бёме²

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

³ООО «Питомник редких видов птиц ВИТАСФЕРА», Московская область, д. Слободино, 140170 Россия

*e-mail: belokon@vigg.ru

Поступила в редакцию 02.12.2021 г.

После доработки 14.01.2022 г.

Принята к публикации 18.01.2022 г.

Для трех видов содержащихся в неволе соколов – кречета *Falco rusticolus*, балобана *F. cherrug* и сапсана *F. peregrinus* апробирована универсальная система генетической идентификации на основании многолокусных микросателлитных генотипов. Проанализированы коэффициенты родства в видовых группах птиц из питомников. Набор из 13 ядерных микросателлитных локусов позволяет надежно идентифицировать отдельных особей, устанавливать принадлежность особей к родственным группам, в отдельных случаях дает возможность распознавать межвидовые гибриды. Результаты данного исследования могут использоваться в племенной работе, а также быть внедрены в практику судебной молекулярно-генетической экспертизы.

Ключевые слова: кречет *Falco rusticolus*, балобан *Falco cherrug*, сапсан *Falco peregrinus*, микросателлиты, идентификация, паспортизация, родственные отношения.

DOI: 10.31857/S0016675822060029

История содержания пернатых хищников в неволе и использования их для охоты насчитывает, согласно археологическим данным, по меньшей мере 5000 лет [1]. В 2016 г. соколиная охота была занесена в список всемирного нематериального культурного наследия ЮНЕСКО [2]. Во многих странах Ближнего Востока, Северной Африки и степных регионах Азии соколиная охота практикуется по сегодняшний день как вид спорта и хобби. Сохраняется высокий коммерческий спрос на ловчих птиц. Три вида крупных соколов – кречет (*Falco rusticolus* L., 1758), балобан (*F. cherrug* Gray, 1834) и сапсан (*F. peregrinus* Tunstall, 1771) – пользуются большой популярностью у современных сокольников. Потребность в птицах для охотничьих целей удовлетворяется как за счет разведения в питомниках, так и за счет незаконного изъятия из природы. Основные регионы отлова соколов – Сибирь, Дальний Восток, Казахстан, Монголия, Афганистан и ряд других стран Центральной Азии. Незаконный отлов птиц остается на стабильно высоком уровне, о чем свидетельствует многолетняя статистика задержаний браконьеров и контрабандистов [3]. В то же время естественные популяции соколов находятся в уязвимом положении из-за сокращения площади

пригодной для их обитания среды, химического загрязнения хлорорганическими соединениями и оскудения кормовой базы. В целях охраны балобан был внесен в Красный список угрожаемых видов МСОП, все три вида занесены в Приложение 1 Конвенции о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения (СИТЕС) [4–6]. Торговля этими видами требует наличия документов, подтверждающих происхождение птиц из питомников. Нелегальные попытки вывоза птиц нередко сопровождаются подделкой сертификатов о происхождении и маркировочных колец. Это обстоятельство делает особенно актуальным разработку и внедрение системы генетической идентификации и паспортизации соколов.

Разведение соколов в питомниках преследует две основные цели – удовлетворение спроса любителей соколиной охоты и восстановление численности природных популяций [7–9]. При разведении птиц в питомниках с целью восполнения природных популяций очень важно иметь генетически довольно разнообразную выборку производителей высокой численности с учетом места их происхождения и последующего выпуска птенцов. Также следует избегать скрещиваний между близкород-

ственными особями, которые ведут к появлению инбредного потомства. С другой стороны, разведение птиц для приручения и охоты преследует другие цели – красивый внешний вид, выдающиеся ловчие качества, необычные цветовые морфы. Для этих целей допустимо скрещивать родственных птиц, а также вывести гибридов разных видовых сочетаний. В каждом из этих случаев необходимо осуществлять контроль разведения не только путем маркировки птиц кольцами и записями родословных в племенных книгах, но и ведением генетической паспортизации. Генетический паспорт птицы, наряду с выпиской из племенной книги, мог бы служить доказательством ее происхождения при продаже или смене владельца.

В Российской Федерации успешно осуществляются программы генетической паспортизации редких и исчезающих видов журавлей [10–12]. Недавно стали разрабатываться подходы к оценке генетического разнообразия выпускаемых в природу хищных птиц [13, 14].

Наиболее удобными маркерами для генетической паспортизации являются ядерные микросателлитные локусы. По сравнению с другими маркерами они обладают рядом положительных свойств, таких как нейтральность и высокая скорость мутирования, что обеспечивает наличие полиморфизма в популяциях; кодоминантное наследование, позволяющее выявлять оба аллеля в генотипе и определять генетический вклад обоих родителей; небольшой размер амплифицируемых фрагментов и, следовательно, возможность использования в качестве источника ДНК неинвазивных или даже деградированных образцов; относительная дешевизна и простота в использовании [15, 16].

Целью нашей работы был подбор и тестирование универсального набора ядерных микросателлитных локусов для возможностей генетической идентификации особей и оценки степени родства среди соколов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы для исследования были предоставлены ООО “Питомник редких видов птиц ВИТАСФЕРА” (Московская обл.), Зоопарком “Роев Ручей” (г. Красноярск), а также Следственным отделом по г. Раменское ГСУ СК РФ по Московской области (46 образцов были предоставлены для проведения судебной молекулярно-генетической экспертизы в рамках расследования по уголовному делу о незаконном отлове и содержании птиц). Всего в нашем распоряжении оказался 161 образец: 80 кречетов, 72 балобана и девять сапсанов.

Выборка кречетов из питомника “Витасфера” состояла из 49 особей, часть из которых представлена изъятыми в природе птенцами по разрешению Росприроднадзора в рамках формирования

искусственной резервной популяции, а другая часть, преимущественно состоящая из молодых самок, – птицами, переданными в питомник Таможенной службой РФ после препятствия незаконному вывозу из страны. Следственным отделом предоставлены образцы от девяти кречетов, как неродственных, так и находящихся в разной степени родства согласно документам. Образцы подскорлуповых оболочек 22 птенцов кречета от восьми пар родителей предоставлены питомником “Витасфера”.

Выборка балобанов состояла из предоставленных Следственным отделом 35 птиц, неродственных и находящихся в разной степени родства согласно документам, и 37 птенцов балобана от 10 пар родителей из питомника “Витасфера”.

Сапсаны в нашем исследовании представлены пятью птенцами от одной пары родителей из питомника “Витасфера”, двумя не родственными друг другу взрослыми птицами из зоопарка “Роев Ручей” и двумя предположительно родственными птицами, предоставленными Следственным отделом.

В качестве источников ДНК использовали кровь, собранную у птиц прижизненно (фиксированную в спирте или высушенную на фильтровальной бумаге), фиксированные в спирте фрагменты мышц от погибших птиц и сосуды аллантоиса из подскорлуповых оболочек после вылупления птенцов. Для выделения ДНК из крови и мышц использовали наборы Diatom™ DNA Prep 100 (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия) согласно приложенной инструкции. Выделение проводили из 3–5 мкл цельной крови, или эквивалентного количества крови из высушенного образца. Образцы мышц массой 15–20 мг предварительно измельчали путем растирания в лизирующем буфере. Время инкубации при лизисе мышечной ткани было увеличено до 3 ч. Экстракцию ДНК из кровеносных сосудов аллантоиса проводили с помощью ионообменной смолы Chelex 100 (20%-ная суспензия в бидистиллированной воде) [17]. Образцы инкубировали при 99°C в течение 1–3 ч, периодически встряхивая, затем центрифугировали, жидкую фракцию переносили в чистые пробирки и в дальнейшем использовали для ПЦР. Полученные образцы ДНК хранили при температуре –20°C.

Пол птиц определяли путем ПЦР со специфическими праймерами P2/P8 для участка интрона гена хромохеликазы (CHD), локализованного на половых хромосомах [18, 19]. Для сбора реакции использовали наборы для ПЦР-амплификации фрагментов ДНК GenePak® PCR Core (ООО “Лаборатория Изоген”). ПЦР включала: начальную денатурацию – 3 мин при 94°C; 35 циклов: 30 с при 94°C, 30 с при 50°C, 45 с при 72°C; финальную элонгацию – 3 мин при 72°C; по окончании

реакции смесь охлаждалась до 4°C. Амплифицированные фрагменты разделяли электрофоретически в 2.5%-ном агарозном геле с использованием ТАЕ-буфера.

Для установления многолокусных генотипов птиц использовали 15 ядерных микросателлитных локусов, разработанных для сапсана и кречета: *NVH fp5*, *NVH fp13*, *NVH fp31*, *NVH fp46-1*, *NVH fp54*, *NVH fp79-1*, *NVH fp79-4*, *NVH fp82-2*, *NVH fp86-2*, *NVH fp89*, *NVH fp92-1* (GenBank Accession no. AF118420–AF118423; AF118425–AF118431) [20]; *NVH fp347* (GenBank Accession no. AF448412) [21]; *NVH fr34*, *NVH fr142*, *NVH fr164-1* (GenBank Accession no. AF200200, AF200201, AF200204) [22]. ПЦР-амплификацию фрагментов ДНК проводили с использованием наборов GenePak® PCR Core (ООО “Лаборатория Изоген”). Программа амплификации для группы локусов *fp5*, *fp31*, *fp46-1*, *fp54*, *fp79-1*, *fp82-2*, *fp86-2*, *fp89*, *fp347*, *fr34*, *fr142* включала начальную денатурацию при температуре 94°C – 4 мин, затем 30 циклов: 94°C – 40 с, 55°C – 40 с, 72°C – 40 с и финальную элонгацию при 72°C в течение 5 мин, по окончании реакции смесь охлаждалась до 4°C. Для группы локусов *fp13*, *fp79-4*, *fp92-1*, *fr164-1*: начальная денатурация при температуре 94°C – 4 мин, затем 35 циклов: 94°C – 40 с, 52°C – 40 с, 72°C – 40 с, финальная элонгация при 72°C в течение 5 мин, по окончании реакции смесь охлаждалась до 4°C. Продукты ПЦР хранились при температуре 4°C. Амплифицированные фрагменты разделяли электрофоретически в 6%-ном полиакриламидном геле, в буферной системе ТБЕ, в течение 2–2.5 ч, в зависимости от длин исследуемых фрагментов. Гели окрашивали раствором бромистого этидия. Визуализацию и документирование электрофоретического разделения продуктов ПЦР проводили в ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм с помощью системы гель-документирования. Длину полученных фрагментов определяли в программе Photo-Capt V 12.4 (Vilber Luomat). В качестве маркера длины фрагментов использовали ДНК плазмиды rBR322 *E. coli*, обработанную эндонуклеазой рестрикции *HpaII*.

По результатам генотипирования птиц были составлены таблицы многолокусных генотипов. В программе GenAlEx [23, 24] были получены параметры популяционно-генетической изменчивости для каждого из трех видов. Рассчитаны частоты аллелей, среднее число аллелей на локус (N_A), среднее эффективное число аллелей на локус (N_E), значения наблюдаемой (H_O) и ожидаемой (H_E) гетерозиготности, индекс фиксации (F) и доля полиморфных локусов (P). Соответствие соотношения распределения генотипов равновесию Харди–Вайнберга проверяли при помощи критерия χ^2 . Также определяли значимость отклонения индекса фиксации от нулевого значения. В случае недостатка ге-

терозигот проводили проверку на наличие нуль-аллелей с помощью программы Micro-Checker по алгоритмам Oosterhout (2004) и Brookfield (1996) [25].

Для определения вероятности возникновения в выборке двух особей с идентичными генотипами и достаточного минимального набора микросателлитных локусов для точной индивидуальной идентификации при свободном скрещивании особей в программе GenAlEx рассчитывали параметры PI (Probability of Identity) и $PIsibs$ при допущении родственных отношений между особями. Также рассчитывали вероятности исключения родительства (Probability of Exclusion): $P1$ – в случае, когда известны генотипы обоих предполагаемых родителей; $P2$ – в случае, когда известен генотип одного из предполагаемых родителей; $P3$ – в случае, когда генотипы родителей неизвестны.

Для анализа родственных отношений в программе GenAlEx по полиморфным локусам для каждого вида были рассчитаны коэффициенты родства RI (Ritland, 1996) [26], LRM (Lynch & Ritland, 1999) [27], QGM (Queller & Goodnight, 1989) [28]. Значение коэффициента LRM было умножено на два, чтобы его максимальное значение равнялось единице, и значения всех трех коэффициентов находились в пределах от –1 до 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пол исследованных образцов

Выборка взрослых кречетов из питомника “Витасфера” состояла из 11 самцов и 38 самок. Среди птенцов соотношение полов было равным – 11 самцов и 11 самок. В выборке кречетов, предоставленной Следственным отделом, семь птиц оказались самцами, а две – самками.

Взрослые балобаны в нашем исследовании представлены 17 самцами и 18 самками, предоставленными Следственным отделом. Среди птенцов из питомника “Витасфера” 2015 г. рождения определены пять самцов и три самки, 2017 г. рождения – 13 самцов и 16 самок. Общая выборка балобанов представлена в равной мере самцами и самками.

Взрослые сапсаны представлены одним самцом и тремя самками. Среди птенцов 2017 г. рождения выявлены один самец и четыре самки. Ввиду того, что использованные в нашей работе микросателлитные локусы имеют аутосомную локализацию [20, 21, 29–31], соотношение полов в выборках не влияет на оценку параметров генетической изменчивости.

Анализ генетического разнообразия

На основании многолокусных генотипов были рассчитаны частоты аллелей микросателлитных локусов для тотальных выборок каждого из видов

(табл. 1). Локусы *fr142* и *fr164-1* оказались мономорфными у всех трех видов с общими аллелями, поэтому они не являются информативными ни для идентификации отдельных птиц, ни для различения видов. Локусы *fp5*, *fp31*, *fp86-2* и *fp89* за счет несовпадения аллельных спектров позволяют четко дифференцировать сапсана от кречета и балобана, остальные локусы также отличают эти виды за счет различий в частотах аллелей. Кречет и балобан мало отличаются по аллельным спектрам и частотам аллелей большинства локусов.

Для оценки информативности полученных данных мы рассчитали параметры генетической изменчивости трех видовых групп соколов (табл. 2). В выборке кречета выявлено 63 аллеля. Доля полиморфных локусов составила 66.67%. Среднее число аллелей на локус — 4.20, а среднее число аллелей на локус с частотой более 5% — 2.33. Пять из 15 локусов оказались мономорфными. В десяти полиморфных локусах число аллелей варьировало от 2 до 16. Максимальное число аллелей обнаружено в локусах *fp54*, *fp79-4*, *fp82-2*, *fp347*. Эти локусы наиболее информативны для идентификации отдельных особей. Наблюдаемая гетерозиготность по ним находилась в пределах от 0.563 до 0.700. По всем полиморфным локусам H_O — в пределах от 0.050 до 0.700; H_E — от 0.049 до 0.880. Значимый дефицит гетерозигот наблюдался в локусах *fp13* и *fp82-2*. При этом отклонения от равновесного распределения генотипов обнаружены в локусах *fp13*, *fp54*, *fp82-2*, *fp347*. Статистическая проверка частот генотипов выявила вероятное присутствие нуль-аллелей в данных локусах с частотами: *fp13* — 0.155 (по Oosterhout, 2004) и 0.111 (по Brookfield, 1996); *fp54* — 0.106 и 0.096; *fp82-2* — 0.124 и 0.102; *fp347* — 0.091 и 0.076.

В выборке балобана выявлено 67 аллельных вариантов. Доля полиморфных локусов составила 80%. Число аллелей в 12 полиморфных локусах варьировало от 2 до 12 (табл. 2). Максимальное число аллелей обнаружено в локусах *fp54*, *fp79-4*, *fp82-2*, *fp347*. Среднее число аллелей на локус составило 4.47, а среднее число аллелей на локус с частотой более 5% — 2.60. Наблюдаемая гетерозиготность по этим локусам находилась в пределах от 0.514 до 0.806. По всем полиморфным локусам H_O — от 0.083 до 0.806; H_E — от 0.080 до 0.868. Недостаток гетерозигот наблюдался в локусах *fp13*, *fp54*, *fp79-4*, *fp92-1*. При этом значимые отклонения от равновесного распределения генотипов в сторону дефицита гетерозигот выявлены в локусах *fp54*, *fp79-4* и *fp347*. Проверка на наличие нуль-аллелей показала вероятное их присутствие с частотами: *fp13* — 0.135 (по Oosterhout, 2004) и 0.093 (по Brookfield, 1996); *fp54* — 0.151 и 0.137; *fp79-4* — 0.097 и 0.076; *fp92-1* — 0.071 и 0.000. В генотипах локуса *fp54* у трех птенцов из одного выводка выявлен только аллель 110, а еще у одного птенца из

этого же выводка не обнаружено амплифицируемых фрагментов этого локуса (по результатам тройной проверки). На основании этого было сделано предположение о вероятном наличии нуль-аллеля в генотипах обоих родителей.

Довольно высокое генетическое разнообразие обнаружено в выборке сапсанов численностью в девять особей, пять из которых являются сибсами (табл. 2). Всего выявлено 47 аллелей. Доля полиморфных локусов составила 73.33%, среднее число аллелей на локус с частотой более 5% — 3.13. В 11 полиморфных локусах число аллелей составляло от двух до семи. По пять и более аллелей обнаружено в локусах *fp79-4*, *fp89*, *fp92-1*, *fp347*. Наблюдаемая гетерозиготность по этим локусам составила от 0.333 до 1.000. По всем полиморфным локусам H_O находилась в пределах от 0.111 до 1.000; H_E — от 0.105 до 0.796. Дефицит гетерозигот наблюдался в локусах *fp54*, *fp92-1*. Проверку на наличие нуль-аллелей не проводили ввиду малой численности выборки сапсанов.

Оценка вероятности случайного совпадения генотипов двух особей и исключение родительства

Среди 80 особей кречета, в том числе и сибсов, не обнаружено особей с идентичным генотипом. Зависимость вероятности случайного совпадения генотипов двух особей кречета от числа используемых микросателлитных локусов (рис. 1,а) показывает, что при использовании десяти полиморфных локусов в случае наличия родственных связей между особями вероятность случайного совпадения генотипов довольно мала $PI_{sibs} = 4.4 \times 10^{-3}$, а вероятность случайного совпадения генотипов при отсутствии родства еще ниже — $PI = 1.4 \times 10^{-6}$. Таким образом, генотипирование группы из 80 кречетов по 10 полиморфным локусам позволяет надежно отличать каждую особь. Данный набор локусов позволяет с высокой вероятностью определять отношения родитель—потомок. Вероятность исключения родительства составила: $PI = 0.99$ (известные генотипы родителей), $P2 = 0.92$ (известен генотип одного из родителей) и $P3 = 1$ (генотипы родителей неизвестны).

Для выборки балобанов, при использовании 12 полиморфных микросателлитных локусов значение вероятности совпадения генотипов неродственных особей $PI = 2.1 \times 10^{-7}$, в случае наличия родственных связей между особями $PI_{sibs} = 2.1 \times 10^{-3}$ (рис. 1,б). Однако среди 72 исследованных особей балобана были выявлены две группы с повторяющимися идентичными генотипами (по две и три особи). Первая пара — разнополые птенцы из одного выводка 2017 г. рождения (♂1749 и ♀1751), во втором случае — пара птенцов из того же выводка (♂1747, ♀1750) и птенец (♂1519) 2015 г. рождения. Поскольку все они являются потомками одной пары, данный

Таблица 1. Частоты аллелей микросателлитных локусов трех видов соколов

Локус	Аллель	<i>Falco rusticolus</i>	<i>Falco cherrug</i>	<i>Falco peregrinus</i>	Локус	Аллель	<i>Falco rusticolus</i>	<i>Falco cherrug</i>	<i>Falco peregrinus</i>
<i>fp5</i>	103	0.000	0.042	0.000	<i>fp82-2</i>	134	0.000	0.000	0.056
	105	1.000	0.958	0.000		136	0.000	0.007	0.000
	107	0.000	0.000	1.000		138	0.125	0.035	0.000
<i>fp13</i>	96	0.000	0.000	0.222	140	0.038	0.139	0.944	
	100	0.000	0.014	0.000	142	0.413	0.076	0.000	
	102	0.519	0.660	0.611	144	0.213	0.132	0.000	
	104	0.475	0.306	0.111	146	0.000	0.035	0.000	
	106	0.006	0.021	0.000	148	0.006	0.160	0.000	
	108	0.000	0.000	0.056	150	0.163	0.215	0.000	
	145	0.000	0.069	0.000	152	0.025	0.104	0.000	
<i>fp31</i>	147	1.000	0.910	0.000	154	0.000	0.056	0.000	
	149	0.000	0.021	0.000	158	0.019	0.035	0.000	
	155	0.000	0.000	0.111	166	0.000	0.007	0.000	
	157	0.000	0.000	0.222	<i>fp86-2</i>	143	1.000	1.000	0.000
	159	0.000	0.000	0.111		145	0.000	0.000	0.500
<i>fp46-1</i>	161	0.000	0.000	0.556	149	0.000	0.000	0.444	
	120	0.025	0.014	0.000	151	0.000	0.000	0.056	
	122	0.000	0.000	0.167	<i>fp89</i>	123	0.019	0.014	0.056
	124	0.013	0.021	0.833		125	0.819	0.917	0.000
	126	0.963	0.931	0.000		127	0.163	0.042	0.000
<i>fp54</i>	128	0.000	0.035	0.000	129	0.000	0.028	0.000	
	92	0.069	0.028	0.000	131	0.000	0.000	0.389	
	96	0.025	0.035	0.000	133	0.000	0.000	0.222	
	102	0.044	0.007	0.000	135	0.000	0.000	0.167	
	104	0.231	0.118	0.000	139	0.000	0.000	0.111	
	106	0.063	0.104	0.778	143	0.000	0.000	0.056	
	108	0.138	0.438	0.167	<i>fp92-1</i>	106	0.006	0.000	0.000
	110	0.106	0.181	0.000		108	0.013	0.000	0.000
	112	0.013	0.028	0.000		112	0.900	0.785	0.000
	114	0.138	0.000	0.056		114	0.000	0.007	0.000
<i>fp79-1</i>	116	0.019	0.035	0.000	116	0.000	0.063	0.000	
	120	0.063	0.000	0.000	118	0.044	0.076	0.111	
	122	0.031	0.000	0.000	120	0.038	0.035	0.333	
	124	0.025	0.000	0.000	122	0.000	0.035	0.444	
	128	0.019	0.007	0.000	134	0.000	0.000	0.056	
	130	0.013	0.000	0.000	142	0.000	0.000	0.056	
	140	0.006	0.000	0.000	<i>fp347</i>	135	0.000	0.000	0.778
	0	0.000	0.021	0.000		139	0.081	0.160	0.056
	145	0.975	0.764	1.000		141	0.100	0.368	0.056
	147	0.025	0.236	0.000		143	0.050	0.222	0.056
	<i>fp79-4</i>	147	0.006	0.069	0.000	145	0.088	0.069	0.056
		151	0.006	0.000	0.000	147	0.044	0.000	0.000
153		0.019	0.111	0.000	153	0.025	0.000	0.000	
	155	0.513	0.403	0.056	155	0.138	0.028	0.000	

Таблица 1. Окончание

Локус	Аллель	<i>Falco rusticolus</i>	<i>Falco cherrug</i>	<i>Falco peregrinus</i>	Локус	Аллель	<i>Falco rusticolus</i>	<i>Falco cherrug</i>	<i>Falco peregrinus</i>
	157	0.338	0.146	0.056		157	0.400	0.111	0.000
	159	0.100	0.076	0.056		159	0.075	0.042	0.000
	161	0.019	0.188	0.167	<i>fr34</i>	148	0.525	0.722	0.000
	165	0.000	0.007	0.000		154	0.475	0.278	0.556
	167	0.000	0.000	0.278		156	0.000	0.000	0.444
	171	0.000	0.000	0.278	<i>fr142</i>	192	1.000	1.000	1.000
	173	0.000	0.000	0.111	<i>fr164-1</i>	128	1.000	1.000	1.000

факт указывает на высокое генетическое сходство родителей, которые, по-видимому, являются близкими родственниками. Вероятность исключения родительства при использовании 12 полиморфных локусов составила: $P1 = 0.99$ (известные генотипы родителей), $P2 = 0.93$ (известен генотип одного из родителей) и $P3 = 1$ (генотипы родителей неизвестны).

Зависимость вероятности случайного совпадения генотипов двух особей сапсана от числа используемых микросателлитных локусов (рис. 1, *е*) показывает, что при использовании 11 полиморфных локусов вероятность случайного совпадения генотипов в выборке сапсанов минимальна как при отсутствии родственных связей между особями ($P1 = 4.7 \times 10^{-7}$), так и в случае наличия родственных связей между ними ($P1sibs = 1.7 \times 10^{-3}$). Вероятность исключения родительства при использовании набора из 11 локусов составила: $P1 = 0.99$ (известные генотипы родителей), $P2 = 0.89$ (известен генотип одного из родителей) и $P3 = 1$ (генотипы родителей неизвестны).

Анализ родственных отношений

Для оценки степени родства между особями мы использовали попарные коэффициенты генетического сходства, которые рассчитали как для тотальных выборок по каждому из видов, так и отдельно для групп сибсов (табл. 3). В нашем материале сибсы представлены четырьмя группами птенцов кречета 2017 г. рождения от трех до восьми особей в каждой, шестью группами птенцов балобана 2017 г. рождения от четырех до пяти особей и двумя парами сибсов 2015 г. рождения, а также одной группой из пяти птенцов сапсана 2017 г. рождения.

В анализе тотальных данных без учета родства средние значения всех коэффициентов близки к нулевому (рис. 2). Средние значения коэффициентов родства (генетического сходства) в пределах групп сибсов во всех случаях оказались выше, чем в тотальной выборке особей. Наибольшие различия показывает коэффициент QGM [28], ко-

торый не зависит от численности выборок и придает максимальный вес локусам с числом аллелей больше двух. Распределение попарных коэффициентов родства QGM в тотальных выборках кречета и балобана соответствует теоретически ожидаемому нормальному с максимумом вблизи 0 и разбросом значений от -1 до 1 (рис. 3, *а, в*). Для пар сибсов разброс значений у кречета от 0 до 0.8 (четыре группы попарных сравнений), а у балобана от 0.3 до 1 (восемь групп попарных сравнений) (рис. 3, *б, г*).

Теоретически ожидаемые значения коэффициентов родства между сибсами должны находиться в пределах от 0 до 1. Различия в этих показателях между выборками кречета и балобана хоть и незначительны, но могут свидетельствовать о различиях в степени родства между птицами в родительских парах. Кречеты более разнообразны, а родительские пары балобанов отчасти представлены родственными особями. Среди потомства одной из пар мы обнаружили очень высокие значения коэффициентов родства, от 0.6 до 1.0, и полное совпадение генотипов у двух пар птенцов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микросателлитные локусы применяются уже более 20 лет для изучения генетической изменчивости, анализа системы скрещивания и родственных отношений в популяциях разных видов соколов [20, 21, 29–43]. Однако генетическая изменчивость естественных популяций соколов, обитающих на территории Российской Федерации, остается малоизученной. Все данные об уровнях их генетической изменчивости получены на материале из питомников и поэтому могут считаться только приближенными к показателям генетического разнообразия естественных популяций. Статья А.В. Нечаевой и соавт. [43], посвященная генетической изменчивости чукотско-камчатской популяции кречета, частично заполняет пробел в данных по генетической структуре популяций кречета. Показатели генетического разнообразия

Таблица 2. Показатели генетической изменчивости трех видов соколов по микросателлитным локусам

Локус	N_A	N_E	H_O	H_E	F	χ^2	p
<i>Falco rusticolus</i> , $n = 80$							
<i>fp5</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp13</i>	3	2.021	0.338	0.505	0.332*	10.118*	0.018
<i>fp31</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp46-1</i>	3	1.079	0.075	0.073	-0.030	0.121	0.989
<i>fp54</i>	16	8.312	0.700	0.880	0.204	252.218***	0.000
<i>fp79-1</i>	2	1.051	0.050	0.049	-0.026	0.053	0.819
<i>fp79-4</i>	7	2.582	0.600	0.613	0.021	8.451	0.993
<i>fp82-2</i>	8	3.850	0.563	0.740	0.240*	70.363***	0.000
<i>fp86-2</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp89</i>	3	1.434	0.325	0.303	-0.073	1.383	0.710
<i>fp92-1</i>	5	1.229	0.175	0.186	0.062	8.164	0.613
<i>fp347</i>	9	4.677	0.650	0.786	0.173	64.007**	0.003
<i>fr34</i>	2	1.995	0.550	0.499	-0.103	0.845	0.358
<i>fr142</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fr164-1</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
Среднее	4.200 ±	2.215 ±	0.268 ±	0.309 ±	0.080 ±	—	—
Ст. ош.	± 1.092	± 0.524	± 0.071	± 0.085	± 0.038	—	—
<i>Falco cherrug</i> , $n = 72$							
<i>fp5</i>	2	1.087	0.083	0.080	-0.043	0.136	0.712
<i>fp13</i>	4	1.890	0.333	0.471	0.292*	10.157	0.118
<i>fp31</i>	3	1.201	0.167	0.167	0.003	3.586	0.310
<i>fp46-1</i>	4	1.152	0.139	0.132	-0.050	0.401	0.999
<i>fp54</i>	11	3.948	0.514	0.747	0.312*	124.185***	0.000
<i>fp79-1</i>	2	1.564	0.333	0.361	0.076	0.415	0.519
<i>fp79-4</i>	7	4.137	0.625	0.758	0.176	41.708**	0.005
<i>fp82-2</i>	12	7.573	0.792	0.868	0.088	71.840	0.291
<i>fp86-2</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp89</i>	4	1.186	0.153	0.157	0.027	10.959	0.090
<i>fp92-1</i>	6	1.592	0.306	0.372	0.179	21.695	0.116
<i>fp347</i>	7	4.347	0.806	0.770	-0.046	33.072*	0.045
<i>fr34</i>	2	1.670	0.472	0.401	-0.177	2.254	0.133
<i>fr142</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fr164-1</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
Среднее	4.467 ±	2.290 ±	0.315 ±	0.352 ±	0.070 ±	—	—
Ст. ош.	± 0.904	± 0.488	± 0.071	± 0.080	± 0.038	—	—
<i>Falco peregrinus</i> , $n = 9$							
<i>fp5</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp13</i>	4	2.282	0.556	0.562	0.011	4.965	0.548
<i>fp31</i>	4	2.613	0.889	0.617	-0.440	5.760	0.451
<i>fp46-1</i>	2	1.385	0.333	0.278	-0.200	0.360	0.549
<i>fp54</i>	3	1.573	0.222	0.364	0.390	3.327	0.344
<i>fp79-1</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fp79-4</i>	7	4.909	1.000	0.796	-0.256	21.480	0.430
<i>fp82-2</i>	2	1.117	0.111	0.105	-0.059	0.031	0.860

Таблица 2. Окончание

Локус	N_A	N_E	H_O	H_E	F	χ^2	p
<i>fp86-2</i>	3	2.219	0.667	0.549	-0.213	1.840	0.606
<i>fp89</i>	6	4.050	0.667	0.753	0.115	9.903	0.826
<i>fp92-1</i>	5	3.057	0.556	0.673	0.174	22.563*	0.012
<i>fp347</i>	5	1.620	0.333	0.383	0.129	18.184	0.052
<i>fr34</i>	2	1.976	0.444	0.494	0.100	0.090	0.764
<i>fr142</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
<i>fr164-1</i>	1	1.000	0.000	0.000	—	—	—
Среднее	3.133 ±	2.053 ±	0.385 ±	0.372 ±	-0.023 ±	—	—
Ст. ош.	± 0.506	± 0.306	± 0.086	± 0.075	± 0.061	—	—

Примечание. N_A — число аллелей; N_E — эффективное число аллелей; H_O — наблюдаемая гетерозиготность; H_E — ожидаемая гетерозиготность; F — индекс фиксации; χ^2 — значение критерия χ^2 в тесте на соответствие соотношения генотипов равновесию Харди–Вайнберга; p — уровень значимости отклонения от χ^2 . Звездочками отмечены уровни значимости отклонения индекса фиксации от нулевого значения и отклонения от генотипического равновесия Харди–Вайнберга: * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.001$.

этой популяции оказались такими же высокими, как и в естественной популяции Аляски, и выше, чем в популяциях Гренландии и Норвегии [34].

Исследования нуклеотидных последовательностей D-петли митохондриальной (мт) ДНК алтайского балобана и сравнения их с данными зарубежных исследователей позволили выявить специфические для данной формы паттерны [14]. Однако более подробные, базирующиеся на полиморфизме ядерных маркеров, сведения об изменчивости популяций вида с территории РФ по-прежнему отсутствуют. Согласно исследованиям Ф. Ниттингер и соавт. [21, 37] балобан обладает более высоким генетическим разнообразием, чем кречет.

Существующие трудности в различении кречета и балобана при помощи микросателлитных локусов обусловлены, по мнению ряда исследователей, их происхождением от единого предка, а также вероятной естественной гибридизацией восточной ветви балобана с кречетом [21, 32, 34, 37]. Последовательности мтДНК (*Cyt b*, *COI*) разделяют эти два вида и указывают на два кластера у балобана (западный и восточный) и единый кластер у кречета, который близок к восточному балобану и, вероятно, отражает общность происхождения или недавнюю гибридизацию между ними [32, 34]. Подробный биоинформатический анализ гена *Cyt b* показал, что отличие в нуклеотидных последовательностях у этих видов приводит к функционально-структурным различиям белков и носит адаптивный характер [44]. Вовлечение в анализ наследуемой по материнской линии мтДНК наряду с ядерными маркерами может помочь в выявлении гибридов между кречетом и балобаном.

Сапсан — вид-космополит, населяющий все континенты, кроме Антарктиды. Согласно современным классификациям его разделяют на 19 подвидов [45]. Генетическое разнообразие естественных популяций сапсана хорошо изучено, выявлены региональные особенности генетической изменчивости подвидов [20, 30, 33, 35, 36, 40–42, 46, 47]. Применение микросателлитных и минисателлитных локусов позволило оценить изменения в североевропейских популяциях сапсана, вызванные сокращением численности вследствие воздействия химического загрязнения ДДТ на экосистему и последующим ее восстановлением [33, 46]. Изучена гнездовая структура вида в естественных условиях на территории Финляндии, при помощи анализа коэффициентов родства птенцов на гнездовых участках выявлен довольно высокий уровень возвратов взрослых птиц к своим прошлогодним гнездам [40]. На территории России обитают три подвида сапсана — *F. p. peregrinus*, *F. p. calidus* и *F. p. japonensis*. Однако ввиду отсутствия данных о генетическом разнообразии и дифференциации подвидов с территории РФ нет возможности определять принадлежность птиц к локальным популяциям или подвидам, хотя эта информация необходима для восстановления естественных популяций за счет птиц, выращенных в питомниках.

Представленные в нашем исследовании выборки состоят из птиц, содержащихся в неволе, и поэтому не отражают всю полноту генетической изменчивости естественных популяций видов. Аутосомная локализация и независимая сегрегация использованных нами микросателлитных локусов делают их удобным инструментом для генетической паспортизации соколов. Локусы *fp5*, *fp31*, *fp86-2*, *fp89* пригодны для идентификации гибридов сап-

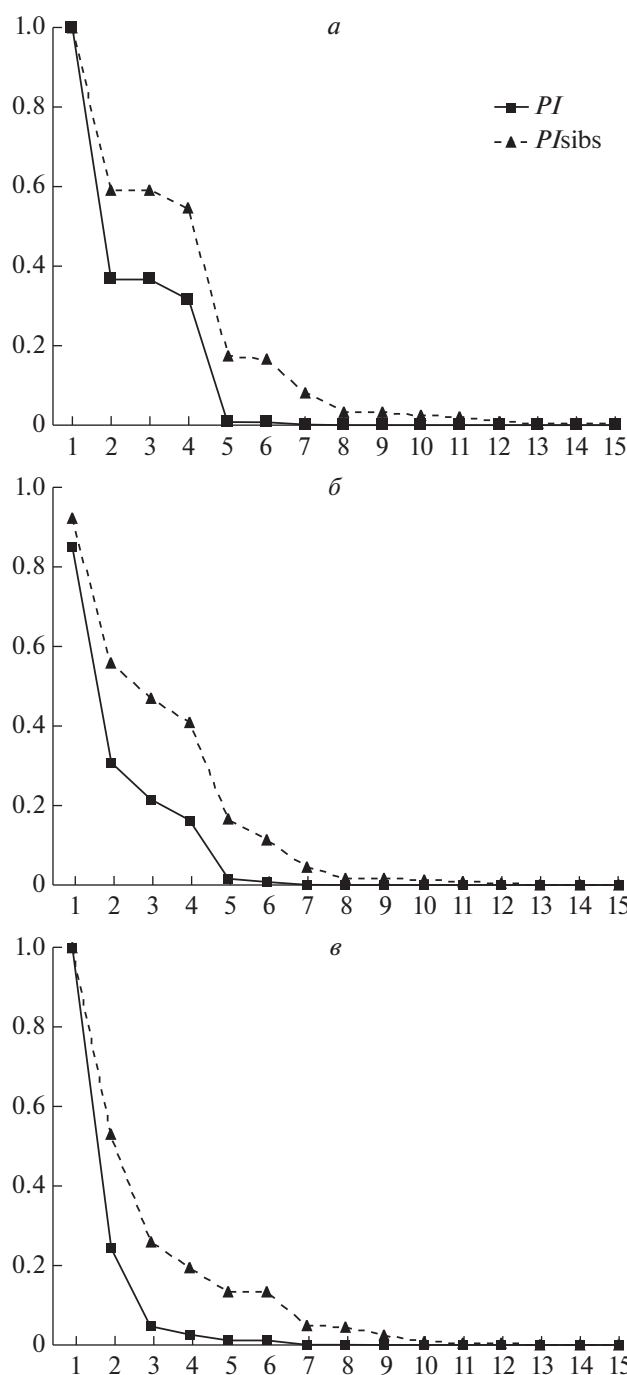


Рис. 1. Зависимость вероятности случайного совпадения генотипов от кумулятивного числа используемых микросателлитных локусов: а – кречеты, б – балобаны, в – сапсаны. *PI* – при отсутствии родства, *PIsibs* – среди родственников. Порядок локусов приведен в соответствии с табл. 1.

сана с кречетом или балобаном. За счет несовпадения аллельных спектров они позволяют четко дифференцировать сапсана от кречета с балобаном. Остальные локусы также отличают эти виды за счет различий в частотах аллелей. Кречет и балобан мало отличаются по аллельным спектрам и частотам аллелей большинства локусов. Высоко-

изменчивые локусы с большим числом аллелей (от трех и более) создают максимально информативную базу для индивидуальной идентификации соколов и определения родства между птицами. Низкие оценки вероятности возникновения идентичных генотипов по представленному в нашем исследовании набору локусов достаточны для

Таблица 3. Значения коэффициентов генетического сходства в группах особей с различной степенью родства

Статистики	Вся выборка			Группы sibсов		
	<i>RI</i>	<i>LRM</i>	<i>QGM</i>	<i>RI</i>	<i>LRM</i>	<i>QGM</i>
<i>Falco rusticolus</i>						
Число пар	3160	3160	3160	40	40	40
Среднее	-0.007	-0.013	-0.013	0.196	0.383	0.464
Медиана	-0.022	-0.052	-0.029	0.175	0.309	0.447
Ст. откл.	0.075	0.170	0.281	0.169	0.274	0.236
Ст. ош.	0.001	0.003	0.005	0.027	0.043	0.037
Минимум	-0.152	-0.376	-0.905	-0.029	-0.090	0.017
Максимум	0.756	0.895	0.915	0.756	0.851	0.798
<i>Falco cherrug</i>						
Число пар	2556	2556	2556	50	50	50
Среднее	-0.007	-0.014	-0.014	0.195	0.578	0.654
Медиана	-0.026	-0.062	-0.042	0.166	0.588	0.695
Ст. откл.	0.085	0.209	0.306	0.122	0.228	0.196
Ст. ош.	0.002	0.004	0.006	0.017	0.032	0.028
Минимум	-0.166	-0.411	-0.924	0.028	0.101	0.324
Максимум	0.658	1.000	1.000	0.599	1.000	1.000
<i>Falco peregrinus</i>						
Число пар	36	36	36	10	10	10
Среднее	-0.059	-0.125	-0.125	0.056	0.261	0.411
Медиана	-0.093	-0.231	-0.170	0.062	0.258	0.434
Ст. откл.	0.092	0.294	0.411	0.044	0.212	0.140
Ст. ош.	0.015	0.049	0.068	0.014	0.067	0.044
Минимум	-0.203	-0.516	-0.842	-0.005	-0.021	0.237
Максимум	0.122	0.612	0.608	0.122	0.612	0.608

исключения случайных совпадений при генетической идентификации птиц. В литературе приводятся подобные оценки. Например, в работе Н. Дони и соавт. [48] при использовании 12 микросателлитных локусов для сапсана $PI = 9.52 \times 10^{-7}$. Исследование гнездовой структуры сапсана в Финляндии по десяти микросателлитным локусам, девять из которых совпадают с нашим набором, показало еще более низкие оценки $PI = 6.68 \times 10^{-8}$, а $PI_{sibs} = 1.37 \times 10^{-3}$ [40]. В исследовании популяционной структуры степной пустельги, *Falco naumani*, с использованием восьми гетерологичных локусов от сапсана и кречета $PI = 6.21 \times 10^{-6}$ [29]. У дербника, *Falco columbarius*, оценки по пяти высокополиморфным локусам составили $PI = 5.69 \times 10^{-7}$ и $PI_{sibs} = 1.67 \times 10^{-4}$ [49]. Получить еще более низкие оценки вероятности совпадения генотипов и тем самым увеличить точность индивидуальной идентификации птиц, в том числе в случае близкого родства, можно с привлечением других полиморфных микросателлитных локусов, в том

числе и гетерологичных. Десять высокополиморфных микросателлитных локусов для балобана разработаны группой исследователей из Китая [50]. Из набора новых микросателлитных локусов, разработанных для дербника, по девять локусов полиморфны у сапсана и кречета [49].

В настоящем исследовании продемонстрированы возможности генетической идентификации соколов по универсальному набору микросателлитных локусов. Индивидуальные генотипы позволяют с высокой точностью отличать родственных особей от неродственных. Использование различных коэффициентов родства дает сопоставимые результаты. Средние коэффициенты родства у sibсов находятся около значения 0.5, что соответствует теоретически ожидаемым значениям. Коэффициенты родства между родителями и потомством находятся в пределах от 0.5 до 1. Прямое сопоставление генотипов предполагаемых родителей и потомков позволяет точно установить или отвергнуть факт родительства. Аналогично можно определять принадлежность конкретной птицы к пулу род-

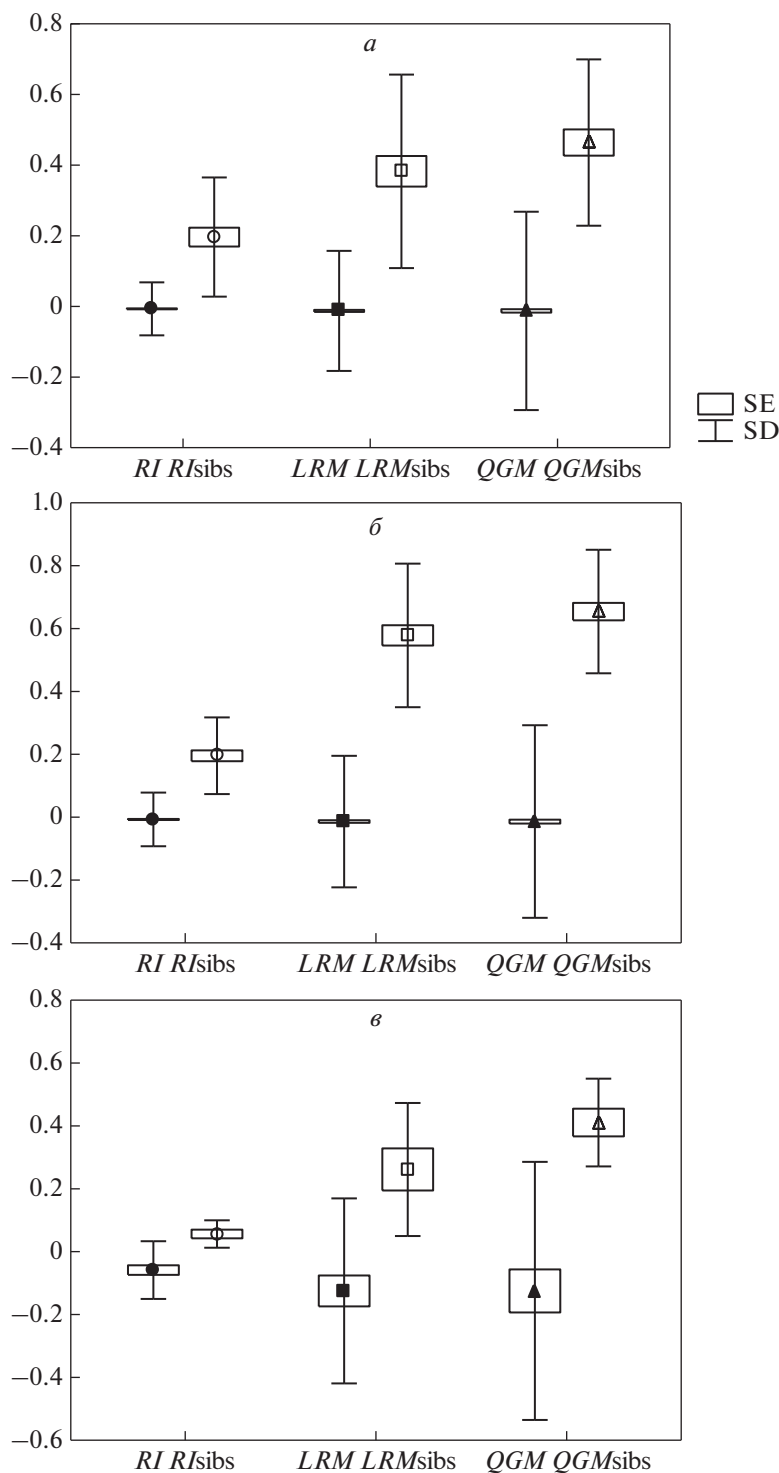


Рис. 2. Средние значения коэффициентов родства *RI*, *LRM* и *QGM* в тотальных выборках и между сибсами: *a* – крабы, *б* – балобаны, *в* – сапсаны.

ственников. Анализ сочетания генотипов следует проводить с учетом возможности наличия нуль-аллелей по отдельным локусам или вероятности их возникновения *de novo* (обычно эта вероятность не

превышает 1×10^{-3} случаев на локус на поколение).

Внедрение системы генетической паспортизации в работу питомников может помочь не только в идентификации отдельных особей, но и проверке

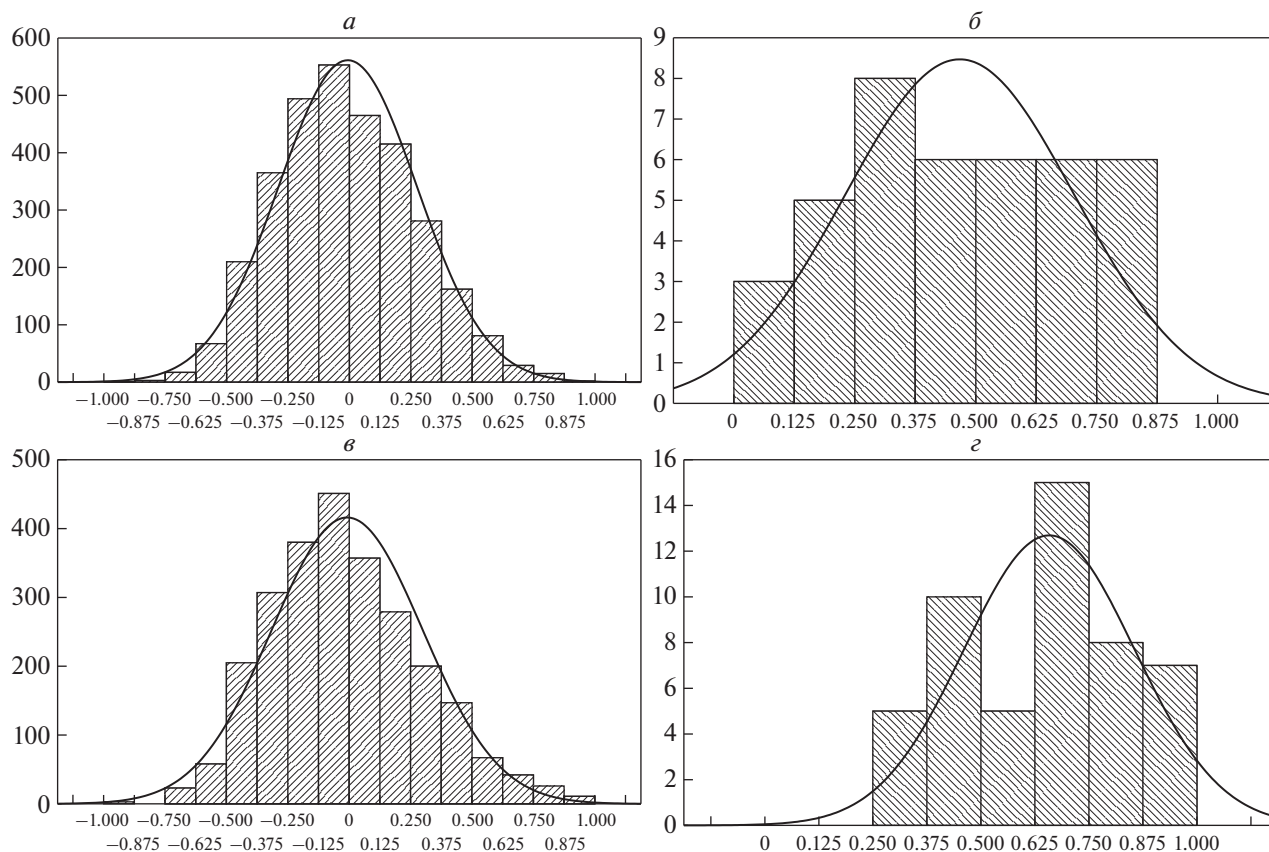


Рис. 3. Распределение попарных коэффициентов родства в тотальных видовых группах и в диадах sibсов: а, б – кречеты; в, г – балобаны.

происхождения птиц от заявленных родителей (контроль результатов скрещивания). Введение данных методик в практику криминалистической генетической экспертизы [51, 52] может быть востребованным при создании доказательной базы для принятия решений в судебной практике.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке по теме Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ для Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН № 0092-2019-0007.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Negro J.J. Raptors and people: An ancient relationship persisting today // *Birds of Prey*. Cham, Switzerland: Springer, 2018. P. 161–176. https://doi.org/10.1007/978-3-319-73745-4_7
2. UNESCO. 2016. Falconry, a living human heritage (Electronic resource) // URL: <https://ich.unesco.org/en/RL/falconry-a-living-human-heritage-01209> (accessed: 14.04.2021).
3. Николенко Э.Г. Обзор “соколиных” задержаний и уголовных дел по ним в России и странах ближнего зарубежья // *Пернатые хищники и их охрана*. 2018. Т. 36. С. 24–43.
4. BirdLife International. 2017. *Falco rusticolus* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T22696500A110639833. Downloaded on 22 November 2021. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-1.RLTS.T22696500A110639833.en>
5. BirdLife International. 2017. *Falco cherrug* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T45354964A110525916. Downloaded on 22 November 2021. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-1.RLTS.T22696495A110525916.en>
6. BirdLife International. 2019. *Falco peregrinus* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T45354964A155500538. Downloaded on 22 November 2021. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T45354964A155500538.en>

7. Михайлова Н.Н. Вольерное разведение соколов как инструмент возрождения охоты с ловчими птицами // Ежегодник: Хищные птицы и совы в зоопарках и питомниках. Вып. 20. М.: Московский зоопарк, 2011. С. 96–102.
8. Остапенко В.А., Сорокин А.Г., Беме И.П. О необходимости сохранения кречета (*Falco rusticolus*) // Ежегодник: Хищные птицы и совы в зоопарках и питомниках. Вып. 21. М.: Московский зоопарк, 2012. С. 12–19.
9. Сорокин А.Г. Материалы по деятельности питомников редких видов хищных птиц в Российской Федерации // Ежегодник: Хищные птицы и совы в зоопарках и питомниках. Вып. 20. М.: Московский зоопарк, 2011. С. 50–69.
10. Мудрик Е.А., Кашенцева Т.А., Гамбург Е.А., Политов Д.В. Генетическая паспортизация и идентификация стерхов (*Grus leucogeranus* Pallas) в искусственно созданных условиях // Изв. РАН. Серия Биол. 2014. № 3. С. 219–227.
<https://doi.org/10.7868/S0002332914030096>
11. Мудрик Е.А., Кашенцева Т.А., Политов Д.В. Интеграция молекулярных подходов в программу создания резервного генофонда редкого вида журавлей стерха (*Grus leucogeranus* Pallas) // Успехи соврем. биологии. 2015. Т. 135. С. 139–147.
12. Мудрик Е.А., Кашенцева Т.А., Постельных К.А. и др. Генетическое разнообразие и родство в разных поколениях искусственной популяции стерха (*Grus leucogeranus* Pallas) // Генетика. 2014. Т. 50. № 11. С. 1345–1353.
<https://doi.org/10.7868/S0016675814100105>
13. Зиневич Л.С., Рожкова Д.Н., Николенко Э.Г. и др. Определение пола и другие рутинные ПЦР-анализы в исследованиях хищных птиц // Пернатые хищники и их охрана. 2018. Спецвып. 1. С. 208–210.
14. Рожкова Д.Н., Зиневич Л.С., Николенко Э.Г. и др. Молекулярно-генетическое сопровождение проекта по восстановлению популяции сокола балобана в Алтае-Саянском регионе // Пернатые хищники и их охрана. 2018. Спецвып. 1. С. 225–227.
15. Selkoe K.A., Toonen R.J. Microsatellites for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers // Ecol. Letters. 2006. V. 9. № 5. P. 615–629.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
16. Martínez-Cruz B., Camarena M.M. Conservation genetics in raptors // Birds of Prey. Springer Intern. Publ. AG, part of Springer Nature, 2018. P. 339–371.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-73745-4_15
17. Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // Biotechniques. 1991. V. 10. № 4. P. 506–513.
18. Griffiths R., Daan S., Dijkstra C. Sex identification in birds using two CHD genes // Proc. R. Soc. Lond. B. 1996. V. 263. P. 1251–1256.
19. Griffiths R., Double M.C., Orr K., Dawson R.J.G. A DNA test to sex most birds // Mol. Ecology. 1998. V. 7. P. 1070–1075.
20. Nesje M., Røed K.H., Lijfeld J.T. et al. Genetic relationships in the peregrine falcon (*Falco peregrinus*) analysed by microsatellite DNA markers // Mol. Ecology. 2000. V. 9. P. 53–60.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.00834.x>
21. Nittinger F., Gamauf A., Pinsker W. et al. Phylogeography and population structure of the saker falcon (*Falco cherrug*) and the influence of hybridization: mitochondrial and microsatellite data // Mol. Ecology. 2007. V. 16. P. 1497–1517.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03245.x>
22. Nesje M., Røed K.H. Microsatellite DNA markers from the gyrfalcon (*Falco rusticolus*) and their use in other raptor species // Mol. Ecology. 2000. V. 9. P. 1433–1449.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.00999-4.x>
23. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEx V6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecology Notes. 2006. V. 6. № 1. P. 288–295.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
24. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. P. 2537–2539.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
25. Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // Mol. Ecology Notes. 2004. V. 4. P. 535–538.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
26. Ritland K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients // Genet. Research. 1996. V. 67. P. 175–185.
<https://doi.org/10.1017/S0016672300033620>
27. Lynch M., Ritland K. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers // Genetics. 1999. V. 152. P. 1753–1766.
<https://doi.org/10.1093/genetics/152.4.1753>
28. Queller D.C., Goodnight K.F. Estimating relatedness using genetic markers // Evolution. 1989. V. 43. № 2. P. 258–275.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb04226.x>
29. Alcaide M., Negro J.J., Serrano D. et al. Captive breeding and reintroduction of the lesser kestrel *Falco naumanni*: A genetic analysis using microsatellites // Conserv. Genetics. 2010. V. 11. P. 331–338.
<https://doi.org/10.1007/s10592-009-9810-7>
30. Brown J.W., Van Coeverden de Groot P.J., Birt T.P. et al. Appraisal of the consequences of the DDT-induced bottleneck on the level and geographic distribution of neutral variation in Canadian peregrine falcons, *Falco peregrinus* // Mol. Ecology. 2007. V. 16. P. 327–343.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03151.x>

31. Bryndova M., Putnova L., Bartonova P. et al. Genetic differences between wild and captive populations of the Peregrine falcon (*Falco peregrinus*) and Saker falcon (*Falco cherrug*) living in the Czech Republic // J. Agricultural Sci. and Technology B 2. 2012. P. 642–651.
32. Dawnay N., McEwing R., Thorpe R.S., Ogden R. Preliminary data suggests genetic distinctiveness of gyr and saker falcons // Conserv. Genetics. 2008. V. 9. P. 703–707.
<https://doi.org/10.1007/s10592-007-9392-1>
33. Jacobsen F., Nesje M., Bachmann L., Liffeld J.T. Significant genetic admixture after reintroduction of peregrine falcon (*Falco peregrinus*) in Southern Scandinavia // Conserv. Genetics. 2008. V. 9. P. 581–591.
<https://doi.org/10.1007/s10592-007-9373-4>
34. Johnson J.A., Burnham K.K., Burnham W.A., Mindell D.P. Genetic structure among continental and island populations of gyrfalcons // Mol. Ecology. 2007. V. 16. P. 3145–3160.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03373.x>
35. Johnson J.A., Talbot S.L., Sage G.K. et al. The use of genetics for the management of a recovering population: Temporal assessment of migratory Peregrine Falcons in North America // PLoS One. 2010. V. 5. № 11. P. 1–15. e14042.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014042>
36. Nesje M., Røed K.H., Bell D.A. et al. Microsatellite analysis of population structure and genetic variability in peregrine falcons (*Falco peregrinus*) // Animal Conservation. 2000. V. 3. № 3. P. 267–275.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2000.tb00112.x>
37. Nittinger F., Haring E., Pinsker W. et al. Out of Africa? Phylogenetic relationships between *Falco biarmicus* and the other hierofalcons (Aves: Falconidae) // JZS. 2005. V. 43. № 4. P. 321–331.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0469.2005.00326.321-331>
38. Nittinger F., Haring E., Pinsker W., Gamauf A. Are escaped hybrid falcons a threat to the Pannonian population of the Saker Falcon (*Falco cherrug*)? // Greifvögel & Eulen in Österreich. Wien. 2006. V. 1. P. 21–26.
39. Ortego J., Gonzalez E.G., Sanchez-Barbudo I. et al. Novel highly polymorphic loci and cross-amplified microsatellites for the Lesser Kestrel *Falco naumanni* // Ardeola. 2007. V. 54. № 1. P. 101–108.
40. Ponnikas S., Ollila T., Kvist L. Turnover and post-bottleneck genetic structure in a recovering population of peregrine falcons *Falco peregrinus* // Ibis. 2017. V. 159. P. 311–323.
<https://doi.org/10.1111/ibi.12460>
41. Talbot S.L., Palmer A.G., Sage G.K. et al. Lack of genetic polymorphism among peregrine falcons *Falco peregrinus* of Fiji // J. Avian Biology. 2011. V. 42. № 5. P. 415–428.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2011.05280.x>
42. Talbot S.L., Sage G.K., Sonsthagen S.A. et al. Intraspecific evolutionary relationships among peregrine falcons in western North American high latitudes // PLoS One. 2017. V. 12. № 11. e0188185.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188185>
43. Нечаева А.В., Белоконь М.М., Белоконь Ю.С. и др. Генетическая изменчивость чукотско-камчатской популяции кречета (*Falco rusticolus*, Falconiformes, Falconidae) на основании анализа ядерных микросателлитных локусов // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 3. С. 337–342.
<https://doi.org/10.7868/S0044513418030078>
44. Рожкова Д.Н., Зиневич Л.С., Карякин И.В. и др. Нейтральная изменчивость цитохрома *b* у балобана *Falco cherrug* Grey, 1834 и кречета *Falco rusticolus* L. // Генетика. 2021. Т. 57. № 4. С. 454–463.
<https://doi.org/10.31857/S0016675821040123>
45. White C.M. Peregrine falcon // Handbook of Birds of the World. V. 2 (New World Vultures to Guinea-fowl). Barcelona: Lynx Editions, 1994. P. 274–275.
46. Liffeld J.T., Bjørnstad G., Steen O.F., Nesje M. Reduced genetic variation in Norwegian peregrine falcons *Falco peregrinus* indicated by minisatellite DNA fingerprinting // Ibis. 2002. V. 144. P. E19–E26.
<https://doi.org/10.1046/j.0019-1019.2001.00029.x>
47. White C.M., Sonsthagen S.A., Sage G.K. et al. Genetic relationships among some subspecies of the peregrine falcon (*Falco peregrinus* L.), inferred from mitochondrial DNA control-region sequences // The Auk. 2013. V. 130. № 1. P. 78–87.
<https://doi.org/10.1525/auk.2012.11173>
48. Dawnay N., Ogden R., Wetton J.H. et al. Genetic data from 28 STR loci for forensic individual identification and parentage analyses in 6 bird of prey species // Forensic Sci. Intern.: Genetics. 2009. V. 3. P. e63–e69.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2008.07.001>
49. Hull J.M., Sage G.K., Sonsthagen S.A. et al. Isolation and characterization of microsatellite loci in merlins (*Falco columbarius*) and cross-species amplification in gyrfalcons (*F. rusticolus*) and peregrine falcons (*F. peregrinus*) // Mol. Biol. Reports. 2020. V. 47. P. 8377–8383.
<https://doi.org/10.1007/s11033-020-05842-4>
50. Hou X., Xu P., Lin Z. et al. Integrated tool for microsatellite isolation and validation from the reference genome and their application in the study of breeding turnover in an endangered avian population // Integrative Zool. 2018. V. 13. P. 553–568.
<https://doi.org/10.1111/1749-4877.12305>
51. Linacre A., Gusmao L., Hecht W. et al. ISFG: Recommendations regarding the use of non-human (animal) DNA in forensic genetic investigations // Forensic Sci. Intern.: Genetics. 2011. V. 5. P. 501–505.
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.10.017>
52. Смирнова С.А., Омелянюк Г.Г., Стороженко И.В. и др. Судебная молекулярно-генетическая экспертиза объектов биологического происхождения – новое направление судебно-экспертной деятельности Минюста России // Теория и практика судебной экспертизы. 2021. Т. 16. № 1. С. 6–18.
<https://doi.org/10.30764/1819-2785-2021-1-6-18>

Genetic Identification and Relationship Analysis of Captive Breeding Falcons

M. M. Belokon^{a,*}, Yu. S. Belokon^a, A. V. Nechaeva^a, N. A. Sylvestrov^b, E. I. Sarychev^c, and I. R. Beme^b

^aVavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Science, Moscow, 119991 Russia

^bLomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

^cVitasphera Co. LTD Breeding Center, Slobodino, Moscow region, 140170 Russia

*e-mail: belokon@vigg.ru

For three species of captive breeding falcons – gyrfalcon, *Falco rusticolus*, saker falcon, *F. cherrug*, and peregrine falcon, *F. peregrinus* – a universal system of genetic identification based on multilocus microsatellite genotypes has been tested. The estimates of relatedness in the species groups of birds from breeding centers are analyzed. A set of 13 nuclear microsatellite loci makes it possible to reliably identify individuals, clarify whether individuals belong to related groups, and in some cases makes it possible to recognize interspecific hybrids. The results of this study can be used in breeding and introduced into the practice of forensic molecular genetic examination.

Keywords: gyrfalcon, *Falco rusticolus*, saker falcon, *F. cherrug*, peregrine falcon, *F. peregrinus*, microsatellites, identification, certification, relationship.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ДАТИРОВАНИЕ ФИЛОГЕНИИ ОСЕТРОВЫХ
(Acipenseridae) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СОВОКУПНЫХ ДАННЫХ

© 2022 г. С. В. Шедько*

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

*e-mail: shedko@biosoil.ru

Поступила в редакцию 05.12.2021 г.

После доработки 15.12.2021 г.

Принята к публикации 24.01.2022 г.

На основе комбинированной матрицы молекулярных (митогеномы) и морфологических признаков, составленной для современных и ископаемых видов Acipenseriformes, проведено байесовское датирование филогении Acipenseridae. Установлено, что предковые линии Polyodontidae и Acipenseridae разошлись примерно 162 (195–137) млн лет назад. Дивергенция линий в кронах рецентных Polyodontidae и Acipenseridae началась практически одновременно при переходе от мела к палеогену – 72 млн лет (95–55) и 68 млн лет (93–47) назад соответственно. Основные группы линий современных Acipenseridae сформировались в олигоцене–миоцене. Медианный возраст современных видов Acipenseridae составил 5.2 млн лет. Полногеномные дубликации у Acipenseridae произошли в разные периоды времени. У общего предка тихоокеанских видов осетров это случилось примерно 65–36 млн лет назад, а у общего предка *Acipenser fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii* и *A. baerii* – примерно 29–15 млн лет назад. Переход от 4n к 6n состоянию генома в линии *A. brevirostrum* произошел во второй половине миоцена или позднее. Скорость дивергенции для всего митогенома, митогенома без D-петли, последовательностей белковых генов и D-петли составила 0.282 ± 0.071 , 0.151 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 и 2.656 ± 1.192 процента замещенных нуклеотидов на млн лет соответственно. Показана ограниченная применимость термина “живое ископаемое” к видам Acipenseridae.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, морфология, ископаемые, молекулярные часы.

DOI: 10.31857/S001667582206008X

Среди семидесяти двух отрядов современных лучеперых рыб Actinopterygii [1], обнимающих более чем 32000 видов [2], четыре отряда стоят особняком по сочетанию исключительно древнего возраста и контрастирующего с этим малого числа их ныне живущих представителей: Polypteriformes (~383 млн лет – 14 видов), Acipenseriformes (~350 млн лет – 27 видов), Amiiformes (~268 млн лет – 1 вид) и Lepisosteiformes (~268 млн лет – 7 видов) [1, 2]. Отряд Acipenseriformes, в отличие от остальных трех отрядов, слагает не одно, а два современных семейства: веслоносые Polyodontidae (два вида) и собственно осетровые Acipenseridae (25 видов).

Каждый из перечисленных отрядов представляет собой отдельную эволюционную линию с особым типом морфологической и геномной организации. Сравнительные исследования геномов представителей этих эволюционных линий могут многое дать для понимания того, как формировалось разнообразие не только лучеперых рыб, но и позвоночных в целом.

Осетрообразные интересны тем, что их эволюция сопровождалась многими раундами полногеномных дубликаций [3, 4]. В настоящее время в GenBank имеется восемь сборок полных геномов одного вида веслоносых и трех видов осетровых. Их полноценный анализ, особенно в части исследований феномена полиплоидизации, требует знания временной шкалы диверсификации современных Acipenseriformes.

Молекулярному датированию филогении Acipenseriformes были специально посвящены три исследования [5–7]. И все три работы, на наш взгляд, имеют существенные недостатки, которые не позволяют полностью довериться их результатам.

В двух работах [5, 6] отсутствовали необходимые внешние группы. Использованные в этих работах методы молекулярного датирования требуют фиксации возраста корня филогенетического дерева. Как правило, когда в расчетах задействовано несколько внешних групп, заданный заранее возраст корня дерева (он нужен для первоначальной настройки хода “молекулярных часов”)

практически не сказывается на оценках возраста в той части филологии, которая является объектом исследования. Тем более, когда в последней имеются надежные реперные датировки. Здесь же, в отсутствие внешних групп, *a priori* принятый возраст корня дерева по сути предопределил временные рамки хронограммы (т.е. составил искомый результат). В итоге в одном случае заданный максимальный возраст кроны рецентных *Acipenseriformes* в 200 млн лет превратился в оценку 184.4 млн лет (95%-ный интервал наивысшей апостериорной плотности, или HPD:150.0–199.5) (Fig. 1, Table 3 – [5]). В другом случае тот же возраст в 200 млн лет, принятый как максимальный, привел к оценке в 204.1 млн лет (HPD:180.3–233.6) (Fig. 3, Table S8 – [6]). Датировка возраста кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* в этих работах базировалась на находке ископаемого представителя *Polyodontidae* из Готеривского (Hauterivian) яруса Нижнего мела. Однако возраст этой формации ограничен пределами 129.4–132.9 млн лет [8], а не простирается до начала юры (200 млн лет). В других работах, в которых датирование филологии осетровых не было основной целью, а являлось лишь частью большого исследования и проводилось попутно на данных по единичным видам, рассчитанный возраст кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* оказался намного моложе – около 131 ([9]: Fig. 2) или 139 ([1]: Fig. 2, Supplement 2) млн лет. Представляется, что все датировки в работах [5, 6] искусственно завышенные.

Кроме датировок, вызывают вопросы и данные, положенные в основу работ. По крайней мере часть из использованных в работе [5] данных очень низкого качества. К примеру, задействованные в расчетах последовательности митохондриального гена цитохрома *b* амурского осетра *Acipenser schrenckii* (GenBank: AJ251451) и сестринского к нему белого осетра *A. transmontanus* (GenBank: AV042837) различались по 28 нуклеотидным позициям. Две трети из этих замен в последующих работах подтверждены не были – депонированная в 1999 г. последовательность AJ251451 отличается примерно по 1.5% нуклеотидных позиций (наблюдается несколько замен со сдвигом рамок считывания) от множества других “свежих” последовательностей гена цитохрома *b* амурского осетра, размещенных в депозитории GenBank. Отсюда можно понять, что время дивергенции этих видов, определенное в работе [5], многократно завышено. В этой работе, кроме дерева-хронограммы, построенного на основе последовательностей гена цитохрома *b*, была также получена хронограмма, базировавшаяся на анализе полных митогеномов. Эти две датировки в деталях довольно существенно различались. За основной результат авторами была принята первая хронограмма (ген цитохрома *b*), а вторая была размещена в приложении к статье [5].

Результаты еще одной работы, посвященной молекулярному датированию филологии *Acipenseriformes* [7], также вызывают вопросы. Так, митогеномы в парах сравнения *A. medirostris* и *A. mikadoi*, *Scaphirhynchus albus* и *S. platyrhynchus* мало отличаются друг от друга – соответственно 0.003 и 0.001 замещенных нуклеотидов на позицию (контролирующий участок мтДНК исключен; расчет произведен на последовательностях, загруженных из GenBank согласно номерам доступа, указанным в работе [7]). Однако время дивергенции этих видов в первом случае составило 3 млн лет, а во втором – 25.4 млн лет (Fig. 3 в [7]). Отличия митогеномов *A. sturio* и *A. oxyrinchus*, напротив, заметно (на порядок) выше – 0.032 замещенных нуклеотидов на позицию. Однако оценка времени дивергенции *A. sturio* и *A. oxyrinchus* оказалась неожиданно мала – 0.9 млн лет (Fig. 3 в [7]). Чем обусловлены эти странности, не ясно. Возможно, авторы что-то напутали в матрице данных. Время дивергенции предковых линий *Polyodontidae* и *Acipenseridae* авторами было фиксировано в виде интервала в 120.8–201.5 млн лет. Другие калибровки для кроны дерева рецентных *Acipenseriformes* отсутствовали, что также снижает ценность этой работы.

В последние годы успешно развивается подход к датированию филологии путем совместного анализа ископаемых (используются морфологические данные) и рецентных (используются как морфологические, так и молекулярные данные) видов [10]. Гомологичные морфологические характеристики ископаемых и рецентных таксонов объединяются в одну матрицу, которая анализируется вместе с молекулярными данными по рецентным таксонам. Это дает возможность, базируясь на известном возрасте ископаемых таксонов и моделируя процесс видообразования, вымирания, сохранения и обнаружения ископаемых окаменелостей, провести датирование ветвлений суммарного филогенетического дерева. При этом байесовский анализ позволяет учитывать как неопределенность в расположении ископаемых и рецентных видов на дереве, так и неопределенность в оценках времени их дивергенции. Показано, что данный подход оправдан даже при использовании матриц с большим количеством незаполненных позиций, что является обычным для данных, характеризующих ископаемые таксоны [11, 12].

Цель настоящей работы состояла в проведении молекулярного датирования филологии *Acipenseridae* на основе совокупного анализа морфологических и молекулярных данных, с вовлечением в него всех подробно исследованных ископаемых видов *Acipenseriformes*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили уже опубликованные генетические и морфологические данные. Первые состояли из последовательностей 23 полных и двух фрагментарных митохондриальных геномов осетрообразных, взятых из базы GenBank/NCBI (часть из них была секвенирована нами ранее [13, 14]) и представляющих все основное разнообразие современных *Acipenseriformes*: два вида веслоносных и 21 из 25 современных видов осетровых (табл. 1). Атлантический осетр был представлен двумя подвидами, а амурский осетр – митогеномами из двух его мтДНК-гаплогрупп [14, 15]. При построении филогенетического дерева по мтДНК-данным, с целью стабилизировать положение корня *Acipenseriformes* (путем перелома длинной ветви, связывающей веслоносных и осетровых) в анализ в качестве внешних групп вводились данные по митогеномам одного вида амиевых *Amiidae* (*Amiiformes*) и двух видов панцирниковых щук *Lepisosteidae* (*Lepisosteiformes*) (табл. 1).

Последовательности митогеномов были выравнены с помощью программы MAFFT v6 [16]. Затем с помощью программы RDP v3 [17] они были протестированы на предмет присутствия в них участков с признаками рекомбинации. Последняя иногда идентифицируется как артефакт, при сборке митогеномов по результатам секвенирования коротких фрагментов ДНК, амплифицированных с помощью полимеразной цепной реакции для разных видов в одно время в одной лаборатории. Такие подозрительные участки были найдены в нескольких депонированных в GenBank митогеномах: KJ402277 (район гена *COI*), KJ174513 (районы генов *ND4L*, *ND4*) и AJ585050 (районы генов *COI*, *ND4*, *ND5*, *ND6*). В этих митогеномах нуклеотидные позиции с подозрением на рекомбинацию были замещены знаком вопроса. Далее последовательности были разбиты на отдельные гены и с помощью программы MAFFT окончательно выравнены. После этого было произведено объединение индивидуальных выравниваний. Суммарная матрица генетических данных была просмотрена и участки с двусмысленным выравниванием, а также все стоп-кодоны в белоккодирующих генах были исключены. Контролирующий участок (*D*-петля) в филогенетический анализ включен не был по причине его высокой скорости эволюции у осетровых рыб, на порядок отличающейся от остальной части митохондриального генома [13, 14].

Генетическая составляющая суммарной матрицы данных была подразделена на шесть, предположительно структурно однородных, блоков нуклеотидов: (1) первая, (2) вторая и (3) третья позиции кодонов 12 белок-кодирующих генов; (4) ген *ND6*, кодируемый в отличие от других ге-

нов белков легкой цепью мтДНК и имеющий по этой причине иной частотный спектр нуклеотидов; гены (5) рибосомальной и (6) транспортной РНК. Для каждого из этих блоков с помощью программы RAUP v4a (сборка 167) [18] на основе ВИС-критерия была подобрана оптимальная модель нуклеотидных замещений: GTR + I + G₄, TrN + I, TrN + I + G₄, HKY + G₄, TrN + I + G₄, HKY + I + G₄ соответственно. Использование модели нуклеотидных замещений TrN в программе MrBayes [19] не предусмотрено. Поэтому при расчетах в этой программе модель TrN была заменена на близкую к ней модель – HKY.

Морфологическая часть суммарной матрицы данных (седьмое ее подразделение) состояла из комбинации двух матриц, характеризовавших 11 ископаемых и 12 современных видов осетрообразных (табл. 1). Эти данные были взяты из двух работ [20, 21], в которых исследовались филогенетические связи ископаемых представителей *Acipenseriformes* на разном, частью перекрывающемся, наборе видов. Некоторые из признаков присутствовали в обеих матрицах, но имели неодинаковую формулировку их состояний. Матрицы были объединены как есть, без попыток их ревизии. Таким образом, морфологические признаки, встречающиеся в обеих матрицах, получили больший вес, отражающий, как думается, большую надежность интерпретации состояний признаков у ископаемых остатков осетрообразных. После исключения из оригинальных матриц инвариантных морфологических признаков в седьмом подразделении объединенной матрицы данных оказалось 100 позиций. Филогенетический анализ морфологических признаков базировался на эволюционной модели Mk [22] с четырьмя категориями гамма-распределения скоростей их “мутирования” (Mk + G₄). При этом для признаков с состояниями более двух было наложено ограничение – переходы допускались только между смежными состояниями (“*State = ordered*”).

Байесовский филогенетический анализ итоговой суммарной матрицы данных, размерностью 39 × 15728 (39 объектов исследования, 15628 нуклеотидных позиций, подразделенных на шесть блоков, плюс 100 морфологических признаков в седьмом блоке), выполняли с помощью программы MrBayes v3.2.7a. Для каждого из семи подразделений матрицы параметры моделей эволюции оценивались по отдельности. Анализ включал в себя запуск четырех цепей Маркова с протяженностью в 80 × 10⁶ шагов с отбором каждого тысячного из генерированных деревьев. Первые 25% полученных деревьев отбрасывались, а оставшиеся использовались для построения консенсусного филогенетического дерева и получения оценок апостериорной вероятности его ветвлений. Эффективный размер выборок (Effective Sample Size,

Таблица 1. Использованный материал по Acipenseriformes и двум внешним группам – Amiiformes и Lepisosteiformes: митогеномы (номера доступа в GenBank/NCBI) и морфологические признаки (дано суммарное число признаков и число информативных признаков, характеризовавших тот или иной вид)

Вид	Митогеном	Морфология	
		<i>n</i> = 43 [20]	<i>n</i> = 57 [21]
Acipenseriformes			
†Chondrosteidae			
† <i>Chondrosteus acipenseroides</i> Agassiz, 1844		41	45
† <i>Strongylosteus hindenburgi</i> (Hennig, 1925)		36	
†Peipiaosteidae			
† <i>Peipiaosteus pani</i> Liu and Zhou, 1965		42	40
† <i>Peipiaosteus fengningensis</i> Bai, 1983		43	
† <i>Yanosteus longidorsalis</i> Jin et al., 1995		43	
† <i>Liaosteus hongii</i> Lu, 1995		32	
Polyodontidae			
† <i>Protopsephurus liui</i> Lu, 1994		41	43
† <i>Paleopsephurus wilsoni</i> MacAlpin, 1941		35	
† <i>Crossopholis magnicaudatus</i> Cope, 1883		41	
<i>Psephurus gladius</i> (Martens, 1862)	AY571339	43	
<i>Polyodon spathula</i> (Walbaum, 1792)	KU985086	42	52
Acipenseridae			
† <i>Priscosturion longipinnis</i> Grande et Hilton, 2006			40
† <i>Anchiacipenser acanthaspis</i> Sato, Murray, Vernygora et Currie, 2018			36
<i>Acipenser oxyrinchus oxyrinchus</i> Mitchill, 1814	KP997217	43	57
<i>Acipenser oxyrinchus desotoi</i> Vladykov, 1955	KP997218		
<i>Acipenser sturio</i> Linnaeus, 1758	KP997216		
<i>Acipenser dauricus</i> Georgi, 1775	KJ402277		
<i>Acipenser medirostris</i> Ayres, 1854	KM591217		
<i>Acipenser mikadoi</i> Hilgendorf, 1892	KX276658		
<i>Acipenser dabryanus</i> Duméril, 1869	KP981414		
<i>Acipenser sinensis</i> Gray, 1835	KJ174513		
<i>Acipenser schrenckii</i> Brandt, 1869	KX276659, KX276660*		
<i>Acipenser transmontanus</i> Richardson, 1836	AB042837	43	57
<i>Huso huso</i> (Linnaeus, 1758)	AY442351	43	56
<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	KF153104		56
<i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771	AJ585050		57
<i>Acipenser nudiventris</i> Lovetsky, 1828	KU321569		
<i>Acipenser fulvescens</i> Rafinesque, 1817	KU985070		57
<i>Acipenser brevirostrum</i> LeSueur, 1818	KX817311	43	57
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt et Ratzeburg, 1833	FJ392605		
<i>Acipenser baerii</i> Brandt, 1869	JQ045341		57
<i>Scaphirhynchus albus</i> (Forbes et Richardson, 1905)	AP004354		
<i>Scaphirhynchus platyrhynchus</i> (Rafinesque, 1820)	KU985071	43	57
<i>Pseudoscaphirhynchus hermanni</i> (Kessler, 1877)	EF484342**		57
<i>Pseudoscaphirhynchus kaufmanni</i> (Kessler, 1877)	EF484343, DQ202326, DQ202325***	43	57

Таблица 1. Окончание

Вид	Митогеном	Морфология	
		<i>n</i> = 43 [20]	<i>n</i> = 57 [21]
Amiiformes			
<i>Amia calva</i> Linnaeus, 1766	AB042952		
Lepisosteiformes			
<i>Lepisosteus oculatus</i> Winchell, 1864	AB042861		
<i>Atractosteus tropicus</i> Gill, 1863	KJ531198		

Примечание. † – таксон, известный только в ископаемом состоянии; * – мтДНК-гаплогруппа BG и SM соответственно [15]; ** – частичный митогеном (ген цитохрома *b*); *** – частичный митогеном (ген цитохрома *b*, фрагмент субъединицы II цитохром с оксидазы и фрагмент 12S рРНК соответственно).

ESS) для всех контролируемых параметров байесовского анализа был 1000 и более. С целью проверки воспроизводимости результатов анализ проводился в нескольких повторностях.

Байесовское датирование проводилось при следующих условиях. Филогенетическое дерево, полученное на предыдущем этапе, фиксировано не было, а строилось заново. Параметры эволюционных моделей эволюции признаков повторяли предыдущий вариант анализа. Для априорной вероятности (приор в дальнейшем) возраста дерева было взято смещенное экспоненциальное распределение: минимальный возраст – 200 млн лет, средний – 244.7 млн лет [“prset treeagepr = offset-exponential(200, 244.7)”]. Что в результате давало 5%-ный и 95%-ный квантили возраста кроны дерева Acipenseriformes в 202.3 (примерный возраст ископаемого *Chondrosteus*) и 333.9 (возраст ископаемого *Platysomus* – возможной ближайшей к осетробразным линии лучеперых [23]) млн лет соответственно. Возраст 11 ископаемых представителей Acipenseriformes был взят как фиксированный, отражающий максимальный возраст эпохи слоев с окаменелостями либо точный возраст породы, содержащей их (табл. 2). Ископаемым видам разрешалось не только находиться в виде самостоятельной ветви на дереве, но и оказываться в виде промежуточной стадии на ветви, ведущей к другим видам: “prset samplestrat = random”. Доля современных видов, представленных в анализе: “prset sampleprob = 0.84”. Включение датированных ископаемых остатков в анализ осуществлялось через выбор приора процесса рождения-гибели для ископаемых видов [10]: “prset brlenspr = clock:fossilization”. Приор для нетто-скорости диверсификации в указанной модели был принят как “prset speciationpr = exp(0.05)”, что давало 5%-ный и 95%-ный квантили видообразовательных событий на млн лет, равные 0.003 и 0.15. Приор скорости мутирования следовал логнормальному распределению: “prset clockratepr = lognorm(-6.64, 1)”. Это соответствовало средней скорости 0.00215 замен на млн лет на позицию (5%-ный и 95%-ный квантили – 0.00025 и 0.00700). Поскольку длины смеж-

ных конечных ветвей и смежных клад в байесовском филогенетическом дереве Acipenseriformes варьировали в широких пределах, что свидетельствовало о резких изменениях скорости эволюции в соседних ветвях дерева, то модель “молекулярных часов” IGR [36], где каждая ветвь имеет собственную скорость, взятую из гамма-распределения, была принята как адекватная для данной ситуации. Протяженность анализа составляла те же 80×10^6 шагов с отбором каждого тысячного. Из отобранных первая четверть шагов отбрасывалась, а оставшиеся использовались для датирования филогенетического дерева и оценки сопутствующих параметров. Для всех контролируемых параметров байесовского анализа, кроме clockrate, ESS составил 1000 и более (для clockrate – 820). Анализ проводился в нескольких повторностях с проверкой результатов на сходимость.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно проведенной филогенетической реконструкции (рис. 1) семейства Polyodontidae и Acipenseridae монофилетичны. Рецентные виды Acipenseridae сформировали три основных подразделения: две линии осетров, распространенных в бассейне Атлантического океана (первая – *A. oxyrinchus* и *A. sturio*; вторая – *H. huso*, *A. ruthenus*, *A. stellatus*, *A. nudiventris*, *A. fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii*, *A. baerii*, *S. albus*, *S. platyrinchus*, *P. hermanni* и *P. kaufmanni*), а также линия тихоокеанских видов (*A. medirostris*, *A. mikadoi*, *A. dauricus*, *A. dabryanus*, *A. sinensis*, *A. schrenckii* и *A. transmontanus*). Ископаемый *Priscosturion* занял внешнюю, относительно других линий Acipenseridae, позицию. Расположение *Anchiacipenser* внутри клады современных Acipenseridae получило слабую поддержку. Неустойчивое позиционирование ископаемых таксонов внутри клады Acipenseridae, вызванное, вероятно, малым числом доступных для анализа филогенетически значимых морфологических признаков, привело к низким (менее 0.95)

Таблица 2. Ископаемые остатки осетрообразных, использованные для датировки филогении Acipenseridae

Таксон	Стратиграфическая характеристика	Абсолютный возраст ископаемых (млн лет)
Chondrosteidae		
<i>Chondrosteus acipenseroides</i> Agassiz, 1844	Нижняя юра, нижний Лейас Дорсета, Англия [24, 25]	201.3 (максимальный возраст эпохи [8])
<i>Strongylosteus hindenburgi</i> (Hennig, 1925)	Нижняя юра, верхний Лейас юго-запада Германии [24, 26]	182.7 (максимальный возраст эпохи [8])
Peipiaosteidae		
<i>Liaosteus hongii</i> Lu, 1995	Ранняя средняя юра, формация Haifanggou запада Ляонин, Китай [20]	174.1 (максимальный возраст эпохи [8])
<i>Peipiaosteus fengningensis</i> Bai, 1983	Нижний мел, формация Dabeigou севера Хэбей, Китай [20]	133.9 (максимальный возраст пород с ископаемым [27])
<i>Peipiaosteus pani</i> Liu and Zhou, 1965	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
<i>Yanosteus longidorsalis</i> Jin et al., 1995	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
Polyodontidae		
<i>Protopsephurus liui</i> Lu, 1994	Нижний мел, формация Yixian запада Ляонин, Китай [20]	125 (возраст пород с ископаемым [27, 28])
<i>Paleopsephurus wilsoni</i> MacAlpin, 1941	Переход от верхнего мела к палеоцену, формация Hell Creek Монтаны, США [29]	66 (мел-палеогеновая граница [8])
<i>Crossopholis magnicaudatus</i> Cope, 1883	Ранний эоцен, формация Green River юго-запада Вайоминг, США [29]	52.2 (возраст пород с ископаемым [30, 31])
Acipenseridae		
<i>Priscosturion longipinnis</i> Grande et Hilton, 2006	Верхний мел, формация Judith River Монтаны, США [32, 33]	79.6 (максимальный возраст пород с ископаемым [34])
<i>Anchiacipenser acanthaspis</i> Sato, Murray, Vernygora et Currie, 2018	Верхний мел, формация Dinosaur Park Альберты, Канада [35]	75.5 (максимальный возраст пород с ископаемым [35])

оценкам поддержки ветвлений в основании клады Acipenseridae, а также порядка объединения ее трех основных подразделений. При исключении ископаемых таксонов, а также блока морфологических признаков, поддержка практически всех ветвлений внутри Acipenseridae становится равной 0.99–1.0 (рис. 1). Исключение составляет клада, объединяющая тихоокеанскую линию осетров с одной из двух линий атлантических осетров. Поддержка данного объединения осталась сравнительно низкой – 0.77. Ее величина определяется присутствием в данном варианте анализа (основанном исключительно на митохондриальных данных) внешних для Acipenseriformes групп (*Amia*, *Lepisosteus* и *Atractosteus*; на рисунке не показаны), с которыми их связывают длинные ветви. При исключении этих внешних групп поддержка указанного объединения становится существенной – 0.94.

Топология байесовской хронограммы (рис. 2) повторяла таковую байесовского дерева (рис. 1) и отличалась лишь позицией *Anchiacipenser* – внешней относительно современных видов Acipenseridae, а не в одной кладе с атлантическими осетрами *A. sturio* и *A. oxyrinchus*. Причиной тому, по всей видимости, является возраст ископаемого таксона, который “перевесил” его морфологическое сходство с *A. oxyrinchus* в состоянии единичных филогенетически значимых признаков. Расположение *Anchiacipenser* на дереве-хронограмме в целом было неустойчивое, что привело к сравнительно низкой (0.66) поддержке монофилии современных представителей Acipenseridae. Остальные ветвления в внутри клады Acipenseridae получили существенную (0.9 и выше) поддержку (рис. 2).

Согласно результатам датирования (рис. 2) предковые линии веслоносовых и осетровых разошлись примерно 161.5 (95%-ный интервал наивысшей

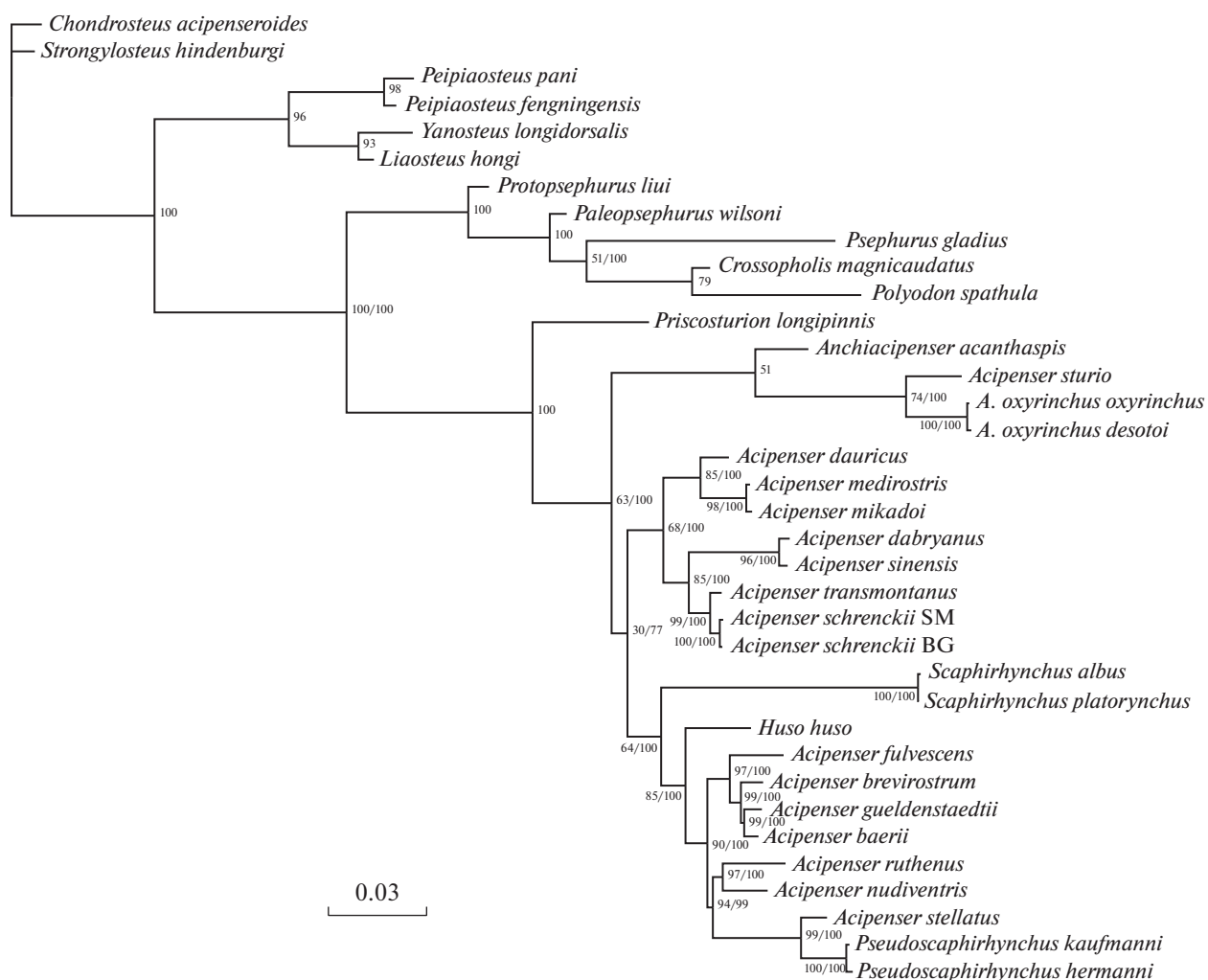


Рис. 1. Байесовская схема филогенетических взаимоотношений ископаемых и рецентных Acipenseriformes, построенная по совокупным (мтДНК, морфологические признаки – табл. 1) данным. Цифры – оценки байесовской поддержки ($\times 100$), полученные при использовании полного набора данных или (отделены косой чертой) в том случае, когда анализировались только последовательности мтДНК (ископаемые таксоны и морфологические признаки были исключены).

апостериорной плотности, HPD:195.1–136.5) млн лет назад – т.е. в юрском периоде. Дивергенция линий современных видов внутри веслоносых и осетровых началась примерно в один и тот же период при переходе от мела к палеогену – 72 млн лет (HPD:95.11–54.8) и 67.6 млн лет (HPD:92.9–47.3) назад соответственно. Основные группы линий современных Acipenseridae сформировались в олигоцене–миоцене. Возраст конечных ветвей (или листьев) дерева Acipenseridae в сравнении с его общим возрастом оказался сравнительно мал – медианный возраст современных видов составил, по нашим расчетам, 5.2 млн лет.

Чистая (нетто) скорость диверсификации [37] в кроне Acipenseridae, рассчитанная с помощью пакета geiger [38] на основе полученной хроно-

граммы, составила 0.0384 вида на млн лет без учета вымирания видов. При допущении 90%-ной доли вымерших видов – 0.0182 линий на млн лет. Для всего дерева Acipenseriformes, включая ископаемые таксоны, согласно результатам байесовского датирования она оказалась равной 0.0110 (HPD:0.0016–0.0208).

Что касается датирования событий полиплоидизации геномов осетровых, то исходя из данных хронограммы на рис. 2, можно заключить, что полногеномные дубликации в линиях Acipenseridae произошли в разные периоды времени. В линии общего предка тихоокеанских видов осетров это случилось примерно 65–36 млн лет назад (в палеогеновом периоде), а в линии общего предка *A. fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii* и

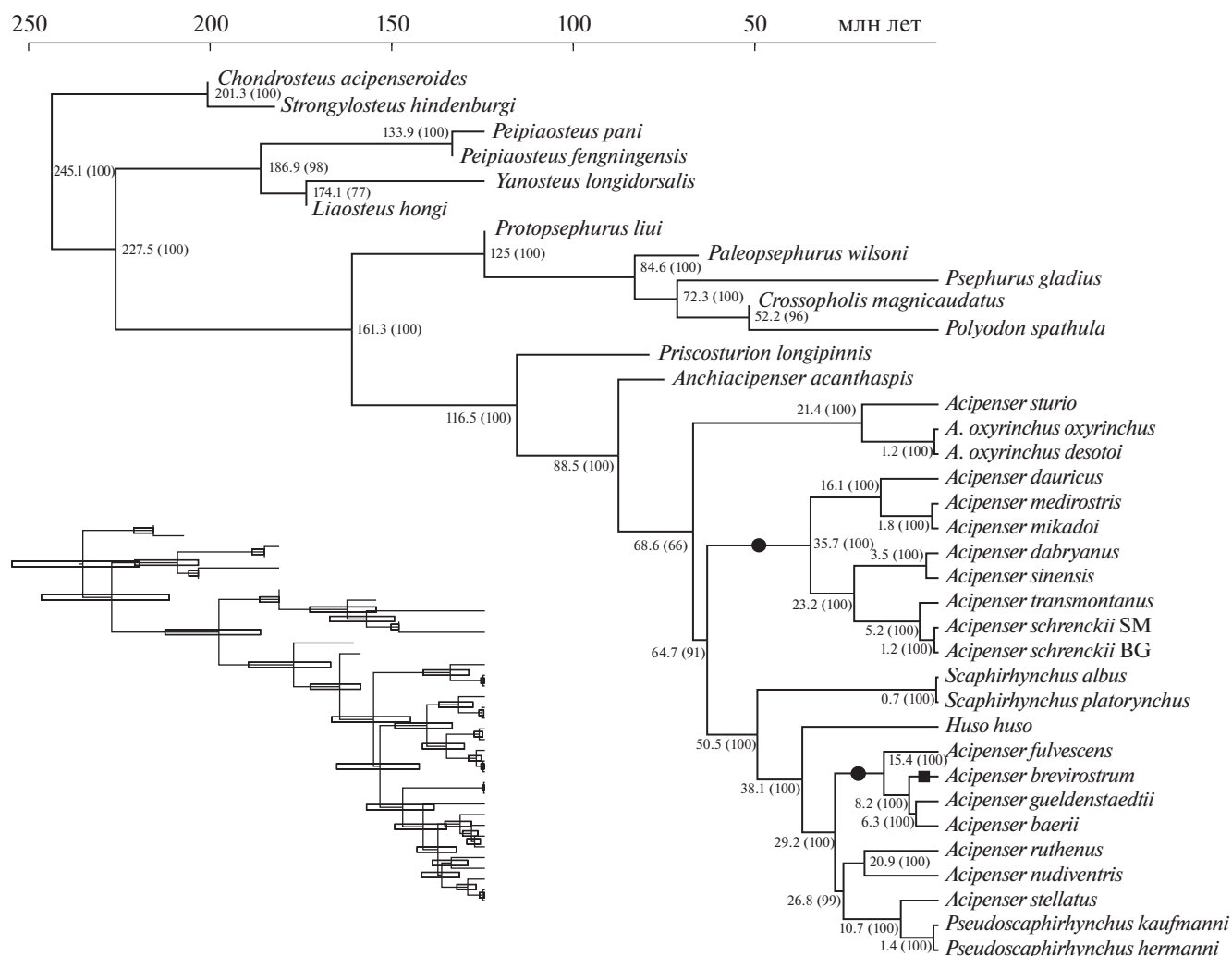


Рис. 2. Байесовская хронограмма кладогенеза ископаемых и рецентных *Acipenseriformes*, построенная по совокупным (мтДНК, морфологические признаки) данным. Цифры — эволюционный возраст в млн лет, в скобках — оценки байесовской поддержки ($\times 100$). Помечены ветви, когда у осетров произошли изменения в плоидности геномов [4]: $2n \rightarrow 4n$ (●), $4n \rightarrow 6n$ (■). В левом нижнем углу дан вариант той же хронограммы, иллюстрирующий 95%-ные интервалы наивысшей апостериорной плотности оценок возраста ее ветвей.

A. baerii — примерно 29–15 млн лет назад (в олигоцене—миоцене). Переход от $4n$ к $6n$ состоянию генома в линии *A. brevirostrum* произошел во второй половине миоцена или позднее.

Используя данные хронограммы, относящиеся к возрасту подвидов *A. oxyrinchus*, гаплогрупп *A. schrenckii*, двух пар видов *A. medirostris* — *A. mikadoi* и *S. albus* — *S. platyrhynchus*, была оценена скорость дивергенции полного митогенома, митогенома без D-петли, последовательностей белковых генов и контролирующего участка. При использовании расстояния JC (выбор обусловлен малыми различиями в выбранных парах сравнения, подобранных так, чтобы минимизировать эффект повторных мутаций) она составила 0.282 ± 0.071

(среднее \pm стандартное отклонение), 0.15 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 и 2.656 ± 1.192 процента замещенных нуклеотидов на млн лет соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты недавних исследований филогении *Acipenseridae*, проведенных при использовании митогеномных данных [7, 39, 40] или данных по последовательностям ядерных генов [6], принципиально сходны в том, что филогенетическая линия, включающая *A. oxyrinchus* и *A. sturio*, является базальной (ответвившейся от общего ствола первой) по отношению к остальным линиям *Acipenseridae*. В одной из работ, основанной на анализе

митогеномных данных, получен иной вариант филогении — базальное положение заняла линия *Scaphirhynchus* [41]. Во всех указанных случаях митогеномные данные анализировались без разбиения на функциональные блоки (по позициям в кодонах или типу кодируемых макромолекул). Результаты подразделенного анализа данных (рис. 1) свидетельствуют в пользу первого варианта филогении *Acipenseridae*. Во всех исследованиях выделяется клада тихоокеанских видов осетровых и клада остальных (без *A. oxyrinchus* и *A. sturio*) атлантических видов. Линия *Scaphirhynchus* по митогеномным данным чаще всего [7, 39, 40; настоящая работа] объединяется с последней кладой. Во всех схемах молекулярных филогений род *Acipenser* не является монофилетическим, что свидетельствует о необходимости ревизии его таксономической структуры.

Проведенное датирование кладогенеза *Acipenseridae* не противоречит палеонтологической летописи, собранной для этой группы. Присутствие осетров *Acipenser* уже в позднем Мелу следует из находок их фрагментарных¹ ископаемых остатков в виде отдельных жучек, жестких (колючих) плавниковых лучей, других фрагментов скелета и кожных покровов [32, 42]. Результаты молекулярного датирования (рис. 2), демонстрирующие разделение общего предка современных *Acipenseridae* на три эволюционные линии именно в этот период, вполне с этим согласуются. Ископаемые остатки осетровых из палеогена сравнительно редки (из Северной Америки и вовсе не известны), появляясь в заметно большем количестве и разнообразии (но все в таком же фрагментарном виде, делающем невозможным их определение до вида) в неогене по всему ареалу современных *Acipenseridae* [32, 42]. Сравнительно малый медианный возраст современных видов осетровых (около 5 млн лет), вычисленный в настоящей работе, находится в полном согласии с распределением ископаемых находок *Acipenseridae* во времени. Интересно, что по этой характеристике осетровые сходны с представителями двух других древнейших линий лучеперых: медианный возраст терминальных ветвей (листьев) на древе-хронограмме для *Polypteridae* составил около 3 млн лет ([9]: Fig. 1), а для *Lepisosteidae* — около 5 млн лет ([1]: Fig. 2, Supplement 2).

¹ Из-за особенностей строения (хрящевой скелет со слабым окостенением) и реофильного образа жизни (что обуславливает малую вероятность захоронения в отложениях) нахождение более или менее крупных частей тела ископаемых представителей *Acipenser* или близких к нему родов является крайне редким событием.

Полученные нами данные позволяют высветить также другие стороны эволюции *Acipenseridae*.

Осетровых нередко (см., к примеру, [5–7]) относят к так называемым живым ископаемым — группам, характеризующимся архаичными чертами, низким разнообразием, низкими темпами диверсификации, морфологической и молекулярной эволюции [43]. Действительно, рассчитанные нами темпы видообразования современных осетровых (0.038) примерно в 2 раза ниже таковых, наблюдающихся в семействах других лучеперых рыб — обычно в промежутке от 0.078 до 0.14 линий на млн лет с модой в районе 0.07 [44]. Но это различие вряд ли можно признать критичным, поскольку согласно результатам другого варианта анализа диверсификации [9] по скорости видообразования *Acipenseridae* оказываются все равно ближе к большинству линий лучеперых рыб, чем к представителям двух других древних линий — *Polypteriformes* или *Lepisosteiformes* плюс *Amiiformes*.

Сходство во внешнем облике осетров, объединяемых в один род *Acipenser*, чьи предки разошлись в позднем мелу, демонстрирует консервацию их морфологической организации (архетипа). Однако, с другой стороны, скорость морфологической эволюции, оцениваемая по разнообразию предельных размеров тела, у осетровых оказывается в 5 раз выше, чем в среднем по семействам лучеперых рыб [44].

Ранее с помощью теста на относительную скорость было показано, что осетровые имеют низкие, в сравнении с другими группами лучеперых рыб (*Salmonidae*, *Supriniformes*, *Percomorpha* и *Elopomorpha*), скорости молекулярной эволюции как митохондриальных, так и ядерных генов, а также последовательностей повторяющейся ДНК [45, 46].

Однако если внимательно рассмотреть темпы нуклеотидных замещений, к примеру в мтДНК, то можно увидеть, что они различны для различных частей митогенома. Митогеном осетровых в целом, действительно, эволюционирует с низкой скоростью, которая в 3 раза меньше, чем, к примеру, полученная для митогенома лососевых рыб (0.28 против 0.88 процента замещенных нуклеотидов на млн лет [47]). Но это вызвано, в первую очередь, крайне низкой скоростью эволюции кодирующей части митогенома. В контролирующем же участке мтДНК осетровых скорость нуклеотидных замещений примерно в 20 раз выше скорости нуклеотидных замещений в кодирующей части митогенома. Это следует как из сравнительного анализа нуклеотидного разнообразия

на популяционном уровне [14], так и расчетов, основанных на оценках филогенетической скорости, приведенных выше.

Скорость мутирования в контролирующем участке мтДНК осетровых сравнима или даже выше таковой, к примеру, у лососевых рыб. Косвенно об этом можно судить по числу гаплотипов, выявляемых внутри популяций. Так, при популяционном анализе кеты *Oncorhynchus keta* у 2154 образцов было идентифицировано 30 различных гаплотипов в наиболее вариабельном фрагменте D-петли длиной около 500 пн [48]. Аналогичное исследование кижуча *O. kisutch* выявило 18 гаплотипов у 769 особей [49, 50]. Примерно такое же или большее число уникальных гаплотипов, но при значительно меньших размерах проанализированных выборок, было найдено у китайского осетра *A. sinensis* из р. Янцзы (у 106 образцов – 35 гаплотипов для фрагмента D-петли длиной 419 пн) [51] или калуги *A. dauricus* (у 120 образцов – 27 гаплотипов для 819 пн D-петли) [52]. У амурского осетра *A. schrenckii* разнообразие гаплотипов оказалось еще выше – выявлено 74 гаплотипа у 112 проанализированных особей (длина секвенированного участка составил 796–812 пн) [15]. Соответственно заключение о низкой скорости эволюции мтДНК осетровых [46] справедливо лишь в части, относящейся к кодирующей области митогенома.

Причина низкой скорости эволюции области митогенома вне пределов D-петли у осетров не ясна. Возможно, что она диктуется необходимостью выравнивания скоростей эволюции митохондриальных генов и ядерных генов, кодирующих основную порцию белков, необходимых для функционирования митохондрий. Низкая скорость эволюции ядерных генов здесь может быть определяющим фактором. Сыграли ли в этом какую-либо роль неоднократные акты полиплоидизации, происходившие в ходе эволюции Acipenseridae и Polyodontidae [3, 4], также не ясно.

Следует добавить, что скорость мутирования микросателлитных последовательностей в ядерной ДНК у осетров оказывается сходной с таковой в других группах рыб [53]. То есть можно полагать, что некодирующая часть ядерного генома осетровых, в отличие от кодирующей [46], эволюционирует с обычной для лучеперых рыб скоростью.

Таким образом, по сумме изложенных фактов можно утверждать, что так же, как и в случае с Polypteridae [9], осетровых нельзя безоговорочно относить к разряду “живых ископаемых”. Применение этого термина к осетровым требует конкретизации свойств, которые имеются в виду.

В заключение стоит указать на то, что разновременность событий полиплоидизаций, произошедших у осетровых в разных ветвях их филогенетического дерева (рис. 2), представляет собой уникальную модель для изучения механизмов процесса диплоидизации и его динамики.

Результаты получены с использованием оборудования ЦКП “Дальневосточный вычислительный ресурс” ИАПУ ДВО РАН, <https://www.cc.dvo.ru>.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Betancur-R R., Wiley E.O., Arratia G. et al.* Phylogenetic classification of bony fishes // *BMC Evol. Biol.* 2017. V. 17. № 162. P. 1–40. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0958-3>
2. *Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V.H.* Fishes of the World. 5th ed. Hoboken: John Wiley and Sons, 2016. 752 p.
3. *Vasil'ev V.P.* Mechanisms of polyploid evolution in Fish: Polyploidy in sturgeons // *Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons / Eds Carmona R., Domezain A., García-Gallego M., et al.* Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. P. 97–117. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8437-9_6
4. *Vasil'ev V.P., Vasil'eva E.D., Shedko S.V., Novomodny G.V.* How many times has polyploidization occurred during acipenserid evolution? New data on the karyotypes of sturgeons (Acipenseridae, Actinopterygii) from the Russian Far East // *J. Ichthyol.* 2010. V. 50. № 10. P. 950–959. <https://doi.org/10.1134/S0032945210100048>
5. *Peng Z., Ludwig A., Wang D. et al.* Age and biogeography of major clades in sturgeons and paddlefishes (Pisces: Acipenseriformes) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2007. V. 42. № 3. P. 854–862. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.09.008>
6. *Luo D., Li Y., Zhao Q. et al.* Highly resolved phylogenetic relationships within order Acipenseriformes according to novel nuclear markers // *Genes (Basel).* 2019. V. 10. № 38. P. 1–15. <https://doi.org/10.3390/genes10010038>
7. *Shen Y., Yang N., Liu Z. et al.* Genomics phylogenetic perspective on the relationships and evolutionary history of the Acipenseriformes // *Genomics.* 2020. V. 112. № 5. P. 3511–3517. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.02.017>
8. *Cohen K.M., Finney S.C., Gibbard P.L., Fan J.-X.* The ICS international Chronostratigraphic chart // *Episodes.* 2013. V. 36. № 3. P. 199–204. <https://doi.org/10.18814/epiiugs/2013/v36i3/002>
9. *Near T.J., Dornburg A., Tokita M. et al.* Boom and bust: Ancient and recent diversification in bichirs (Polypteridae):

- Actinopterygii), a relictual lineage of ray-finned fishes // *Evolution* (N. Y). 2014. V. 68. № 4. P. 1014–1026. <https://doi.org/10.1111/evo.12323>
10. Zhang C., Stadler T., Klopffstein S. et al. Total-evidence dating under the fossilized birth–death process // *Syst. Biol.* 2016. V. 65. № 2. P. 228–249. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syv080>
 11. Arcila D., Alexander Pyron R., Tyler J.C. et al. An evaluation of fossil tip-dating versus node-age calibrations in tetraodontiform fishes (Teleostei: Percomorphaceae) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2015. V. 82. P. 131–145. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.10.011>
 12. Arcila D., Tyler J.C. Mass extinction in tetraodontiform fishes linked to the Palaeocene-Eocene thermal maximum // *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 2017. V. 284. № 1866. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1771>
 13. Шедько С.В. Низкий уровень различий митогеномов сахалинского осетра *Acipenser mikadoi* Hilgendorf, 1892 и зеленого осетра *A. medirostris* Ayeres, 1854 (Acipenseridae) свидетельствует об их недавней дивергенции // *Биология моря*. 2017. Т. 43. № 2. С. 144–147.
 14. Шедько С.В. Причины эксцесса частоты митотипа SCH34 в популяции амурского осетра, *Acipenser schrenckii* (Acipenseridae), согласно анализу полных митохондриальных геномов // *Генетика*. 2019. Т. 55. № 7. С. 854–858. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060171>
 15. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. и др. Изменчивость митохондриальной ДНК, историческая демография и популяционная структура амурского осетра, *Acipenser schrenckii* Brandt, 1869 // *Генетика*. 2015. Т. 51. № 2. С. 200–216. <https://doi.org/10.7868/S0016675815020125>
 16. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 14. P. 3059–3066. <https://doi.org/10.1093/nar/gkf436>
 17. Martin D.P., Lemey P., Lott M. et al. RDP3: A flexible and fast computer program for analyzing recombination // *Bioinformatics*. 2010. V. 26. № 19. P. 2462–2463. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq467>
 18. Swofford D.L. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Version 4.0. Sunderland, Mass.: Sinauer Assoc., 2002.
 19. Ronquist F., Huelsenbeck J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. № 12. P. 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
 20. Jin F. Middle and Late Mesozoic Acipenseriformes from northern Hebei and western Liaoning, China // *Palaeoworld* No. 11. Jehol Biota / Eds Chen P.-J., Jin F. Hefei: Press Univ. Sci. and Technology of China, 1999. P. 188–260.
 21. Hilton E.J., Grande L., Bemis W.E. Skeletal anatomy of the Shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum* Lesueur, 1818, and the systematics of sturgeons (Acipenseriformes, Acipenseridae) // *Fieldiana Life Earth Sci.* 2011. V. 3. P. 1–168. <https://doi.org/10.3158/2158-5520-3.1.1>
 22. Lewis P.O. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data // *Syst. Biol.* 2001. V. 50. № 6. P. 913–925. <https://doi.org/10.1080/106351501753462876>
 23. Giles S., Xu G.H., Near T.J., Friedman M. Early members of “living fossil” lineage imply later origin of modern ray-finned fishes // *Nature*. 2017. V. 549. № 7671. P. 265–268. <https://doi.org/10.1038/nature23654>
 24. Обручев Д.В., Казанцева А.А. Надотряд Chondrostei. Хрящевые ганоиды // *Основы палеонтологии. Том 11. Бесчелюстные, рыбы*. М.: Наука, 1964. С. 371–375.
 25. Hilton E.J., Forey P.L. Redescription of *Chondrosteus acipenseroides* Egerton, 1858 (Acipenseriformes, Chondrosteidae) from the Lower Lias of Lyme Regis (Dorset, England), with comments on the early evolution of sturgeons and paddlefishes // *J. Syst. Palaeontol.* 2009. V. 7. № 4. P. 427–453. <https://doi.org/10.1017/S147201909002740>
 26. Hennig E. *Chondrosteus Hindenburgi* Pomp., ein “Stör” des württember. Oelschiefers (Lias) // *Palaeontographica*. 1925. V. 67. P. 115–133.
 27. Chang S., Zhang H., Renne P.R., Fang Y. High-precision Ar/39Ar age for the Jehol Biota // *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 2009. V. 280. № 1–2. P. 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2009.06.021>
 28. Wang X., Zhou Z. Mesozoic Pompeii // *The Jehol Fossils* / Ed. Chang M. San Diego: Acad. Press, 2008. P. 18–35. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012374173-8.50003-X>
 29. Grande L., Bemis W.E. Osteology and phylogenetic relationships of fossil and recent paddlefishes (Polyodontidae) with comments on the interrelationships of Acipenseriformes // *Mem. Society Vertebr. Paleontol.* 1991. V. 1. P. 1–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/3889328>
 30. Grande L., Jin F., Yabumoto Y., Bemis W.E. *Protopsephurus liui*, a well-preserved primitive paddlefish (Acipenseriformes: Polyodontidae) from the lower cretaceous of China // *J. Vertebr. Paleontol.* 2002. V. 22. № 2. P. 209–237. [https://doi.org/10.1671/0272-4634\(2002\)022\[0209:PL-AWPP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1671/0272-4634(2002)022[0209:PL-AWPP]2.0.CO;2)
 31. Buchheim H.P., Biaggi R.E., Cushman R.A. Stratigraphy and interbasinal correlations between fossil and the Green River Basin, Wyoming // *Stratigraphy and Paleolimnology of the Green River Formation, Western USA* / Eds Smith M.E., Carroll A.R. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. P. 127–151. https://doi.org/10.1007/978-94-017-9906-5_6
 32. Grande L., Hilton E.J. An exquisitely preserved skeleton representing a primitive sturgeon from the Upper Cretaceous Judith River formation of Montana (Acipens-

- eriformes: Acipenseridae: n. gen. and sp.) // J. Paleontol. 2006. V. 80. № S65. P. 1–39.
<https://doi.org/10.1666/05032.1>
33. Grande L., Hilton E.J. A replacement name for †*Psam-morhynchus* Grande & Hilton, 2006 (Actinopterygii, Acipenseriformes, Acipenseridae) // J. Paleontol. 2009. V. 83. № 2. P. 317–318.
<https://doi.org/10.1666/08-137.1>
34. Rogers R.R., Swisher C.C., Horner J.R. 40Ar/39Ar age and correlation of the nonmarine Two Medicine formation (Upper Cretaceous), northwestern Montana, USA // Can. J. Earth Sci. 1993. V. 30. № 5. P. 1066–1075.
<https://doi.org/10.1139/e93-090>
35. Sato H., Murray A.M., Vernygora O., Currie P.J. A rare, articulated sturgeon (Chondrostei: Acipenseriformes) from the Upper Cretaceous of Dinosaur Provincial Park, Alberta, Canada // J. Vertebr. Paleontol. 2018. V. 38. № e1488137. P. 1–15.
<https://doi.org/10.1080/02724634.2018.1488137>
36. Lepage T., Bryant D., Philippe H., Lartillot N. A general comparison of relaxed molecular clock models // Mol. Biol. Evol. 2007. V. 24. № 12. P. 2669–2680.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msm193>
37. Magallon S., Sanderson M.J. Absolute diversification rates in Angiosperm clade // Evolution (N. Y). 2001. V. 55. № 9. P. 1762–1780.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00826.x>
38. Pennell M.W., Eastman J.M., Slater G.J. et al. Geiger v2.0: an expanded suite of methods for fitting macro-evolutionary models to phylogenetic trees // Bioinformatics. 2014. V. 30. P. 2216–2218.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu181>
39. Popović D., Baca M., Panagiotopoulou H. Complete mitochondrial genome sequences of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*, Gulf sturgeon, *A. o. desotoi* and European sturgeon *A. sturio* (Acipenseriformes: Acipenseridae) obtained through next generation sequencing // Mitochondrial DNA. 2015. V. 27. № 4. P. 2549–2551.
<https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1038799>
40. Sheraliev B., Peng Z. Complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic position of the Amu Darya sturgeon, *Pseudoscaphirhynchus kaufmanni* (Acipenseriformes: Acipenseridae) // J. Appl. Ichthyol. 2020. V. 36. № 4. P. 389–392.
<https://doi.org/10.1111/jai.14043>
41. Mugue N., Barmintseva A., Schepetov D. et al. Complete mitochondrial genomes of the critically endangered Ship sturgeon *Acipenser nudiventris* from two seas // Mitochondrial DNA Part B. 2016. V. 1. № 1. P. 195–197.
<https://doi.org/10.1080/23802359.2016.1144103>
42. Hilton E.J., Grande L. Review of the fossil record of sturgeons, family Acipenseridae (Actinopterygii: Acipenseriformes), from North America // J. Paleontol. 2006. V. 80. № 4. P. 672–683.
[https://doi.org/10.1666/0022-3360\(2006\)80\[672:RO-TFRO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1666/0022-3360(2006)80[672:RO-TFRO]2.0.CO;2)
43. Lidgard S., Love A.C. Rethinking living fossils // Bioscience. 2018. V. 68. № 10. P. 760–770.
<https://doi.org/10.1093/biosci/biy084>
44. Rabosky D.L., Santini F., Eastman J. et al. Rates of speciation and morphological evolution are correlated across the largest vertebrate radiation // Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1038/ncomms2958>
45. Herrán de la R., Fontana F., Lanfredi M. et al. Slow rates of evolution and sequence homogenization in an ancient satellite DNA family of sturgeons // Mol. Biol. Evol. 2001. V. 18. № 3. P. 432–436.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003820>
46. Krieger J., Fuerst P.A. Evidence for a slowed rate of molecular evolution in the order Acipenseriformes // Mol. Biol. Evol. 2002. V. 19. № 6. P. 891–897.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004146>
47. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. Филогения лососевых рыб (Salmoniformes: Salmonidae) и ее молекулярная датировка: анализ мтДНК-данных // Генетика. 2013. Т. 49. № 6. С. 718–734.
<https://doi.org/10.7868/S0016675813060118>
48. Sato S., Kojima H., Ando J. et al. Genetic population structure of Chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation // Environ. Biol. Fishes. 2004. V. 69. № 1. P. 37–50.
<https://doi.org/10.1023/B:EBFI.0000022881.90237.aa>
49. Smith C.T., Nelson R.J., Wood C.C., Koop B.F. Glacial biogeography of North American Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) // Mol. Ecol. 2001. V. 10. № 12. P. 2775–2785.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2001.t01-1-01405.x>
50. Zelenina D.A., Soshnina V.A., Sergeev A.A. Phylogeography and mitochondrial polymorphism of Asian Coho salmon // Mol. Biol. (Mosk). 2020. V. 54. № 6. P. 997–1005.
<https://doi.org/10.31857/S0026898420060166>
51. Zhang S.M., Wang D.Q., Zhang Y.P. Mitochondrial DNA variation, effective female population size and population history of the endangered Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis* // Conserv. Genet. 2003. V. 4. № 6. P. 673–683.
<https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000006107.46111.bc>
52. Шедько С.В., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А., Шедько М.Б. К популяционно-генетическому портрету калуги, *Acipenser dauricus* Georgi, 1775: анализ изменчивости контролирующего региона митохондриальной ДНК // Генетика. 2015. Т. 51. № 9. С. 1025–1034.
<https://doi.org/10.7868/S0016675815080093>
53. Panagiotopoulou H., Austin J.D., Zalewska K. et al. Microsatellite mutation rate in Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) // J. Hered. 2017. V. 108. № 6. P. 686–692.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esx057>

Molecular Dating of Sturgeons (Acipenseridae) Phylogeny Based on Total Evidence Analysis

S. V. Shedko*

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch
of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia*

**e-mail: shedko@biosoil.ru*

Bayesian dating of the phylogeny of Acipenseridae was carried out on the basis of a combined matrix of molecular (mitogenome) and morphological characters compiled for modern and fossil Acipenseriformes species. It has been estimated that the ancestral lineages of Polyodontidae and Acipenseridae diverged approximately 162 (195–137) Mya. The divergence of lineages in the crowns of recent Polyodontidae and Acipenseridae began almost simultaneously during the transition from Cretaceous to Paleogene – 72 Mya (95–55) and 68 Mya (93–47), respectively. The main groups of lineages of recent Acipenseridae were formed in the Oligocene–Miocene. The median age of extant Acipenseridae species was 5.2 Mya. Genome-wide duplications in Acipenseridae occurred at different time periods. In the common ancestor of the Pacific sturgeon species, this happened about 65–36 million years ago, and in the common ancestor *Acipenser fulvescens*, *A. brevirostrum*, *A. gueldenstaedtii*, and *A. baerii* – about 29–15 million years ago. The transition from the $4n$ to $6n$ genome state in the *A. brevirostrum* lineage occurred in the second half of the Miocene or later. The rate of divergence for the entire mitogenome, a mitogenome without a D-loop, sequences of protein genes and a D-loop was 0.282 ± 0.071 , 0.151 ± 0.004 , 0.186 ± 0.014 , and 2.656 ± 1.192 percent nucleotide substitutions per million years, respectively. The limited applicability of the term “living fossil” to the Acipenseridae species is shown.

Keywords: mitochondrial DNA, morphology, fossils, molecular clock.

ОПИСАНИЕ ДИВЕРГЕНЦИИ СУБПОПУЛЯЦИЙ В ИЕРАРХИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ПРИ АНАЛИЗЕ ИЗОНИМИИ. I. ДИСПЕРСИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ДИВЕРГЕНЦИИ

© 2022 г. В. П. Пасеков*

*Вычислительный центр им. А.А. Дородницына Федерального исследовательского центра
“Информатика и управление” Российской академии наук, Москва, 119991 Россия*

**e-mail: pass40@mail.ru*

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 27.12.2021 г.

Принята к публикации 28.12.2021 г.

Рассматриваются типичные для популяций человека метапопуляции с иерархической подразделенностью на части (субпопуляции), соответствующие классификации субпопуляций на основе административно-территориального деления (скажем, село, сельсовет, район, область и так далее); на основе генеалогического подхода, базирующегося на этногенезе; а также на других принципах биологической классификации. Каждый уровень иерархии представляет собой разбиение метапопуляции на непересекающиеся субпопуляции, суммарно составляющие всю ее и обладающие, в свою очередь, иерархической структурой подразделенности. Изучаются свойства изменчивости количественного признака субпопуляций при иерархической структуре на примере такого признака, как концентрация отдельной фамилии. Анализируется распределение концентрации фамилии по субпопуляциям, характеризуемое на каждом уровне своими средним значением и дисперсией, которая отражает фамильную дивергенцию субпопуляций на соответствующем уровне. Изучение фамильной дивергенции важно, так как она отражает при соответствующих предположениях генетическую дивергенцию и генетическую структуру метапопуляции. Показано, что каждому отдельному уровню иерархии соответствует неотрицательный вклад в полную (общую) дисперсию, равный среднему значению внутригрупповой дисперсии распределения концентрации фамилии по его субпопуляциям. Получено разложение общей дисперсии концентрации фамилии в метапопуляции по вкладам отдельных уровней, обобщающее правило сложения дисперсий. Найдена величина занижения общей дисперсии, когда вместо неподразделенных субпопуляций первого уровня иерархии (допустим, сел) в качестве единиц наблюдения служат субпопуляции более высокого уровня (скажем, районов). Это позволяет судить о степени занижения оценки генетической дивергенции в метапопуляции в результате игнорирования фамильной изменчивости на каком-либо из уровней иерархии. Все население разбивается на два компонента с иерархической структурой подразделенности: сельские и городские жители. Результаты данной работы в равной степени приложимы к каждому из них.

Ключевые слова: иерархическая структура популяций, метапопуляции, концентрации фамилии в субпопуляциях человека, разложение дисперсии концентрации по уровням иерархии.

DOI: 10.31857/S0016675822060054

Существование популяционной структуры (отличий от предположений модели элементарной идеальной популяции без каких-либо подразделений при панмиксии) накладывает свой отпечаток на фамильную структуру популяций. Группировка реальных данных с целью максимального приближения к идеальным конструкциям или из других соображений довольно условна, так как обычно не существует четких естественных границ у групп. Популяционная структура многообразна и не ограничивается случаем подразделения популяции на элементарные непересекающиеся группы. Например, в свою очередь, последние могут со-

стоять из субпопуляций и т.д., образуя иерархическую структуру подразделенности.

Анализ межгрупповой и внутригрупповой изменчивости является интересной биологической проблемой и может пролить свет на особенности микроэволюционного процесса дивергенции популяций. Полное описание метапопуляции с иерархической структурой подразделенности включает данные по каждому уровню иерархии, скажем, средние значения признаков в субпопуляциях и дисперсии, отражая детально характер межгрупповой и внутригрупповой изменчивости с учетом

всех уровней. Чтобы выделить особенности дивергенции субпопуляций необходимо хорошо представлять себе базовые черты, свойственные самой по себе подразделенности метапопуляций, отвлекаясь от воздействия на формирование популяционной структуры прочих факторов. Начать такой анализ можно с изучения свойств произвольного разбиения абстрактной совокупности на части и свойств характерных разбиений природных популяций. Для последних типична иерархическая группировка данных на основе территориального расположения, генеалогической классификации и пр. в соответствии с правилами принятой биологической или иной иерархической классификации популяций.

В случае изучения популяций человека классификация и объединение данных часто производятся на основе административно-территориального деления, имеющего иерархический характер (скажем, село, сельсовет, район, область и др.), генеалогического подхода на основе этногенеза и пр. Получаемая группировка субпопуляций приближенно будет иерархической. Иерархическая структура метапопуляции отражается на ее свойствах, в частности на распределении фамилий в популяциях человека, где типична опора на официальные данные иерархического характера, их сбор и обработку. Настоящая статья мотивирована анализом фамильных данных с ориентацией на популяционную генетику. Использование фамилий для получения выводов о генетической структуре популяций основывается на существующих параллелях в передаче потомкам фамилий и аутомных аллелей (см., например, [1, 2]). Плодотворность такого использования продемонстрирована в ряде работ [3] (изонимные браки), [4] (фундаментальная монография), в том числе в исследованиях популяций России [5, 6] (медико-генетические аспекты), [7, 8] (антропогенетическое изучение Центральной России), [9] (обширная библиография), см. также критические замечания в [10].

Очевидно, что отдельные или даже все достаточно крупные группы состоят из элементарных популяций, динамические и генетические процессы в которых исследованы теоретически более глубоко, и на полученных для них выводах базируется стандартная обработка материалов. Под элементарной популяцией мы понимаем такую, где более всего удовлетворяются предпосылки, закладываемые в классическую популяционно-генетическую модель Райта–Фишера (см., например, на русском [11]). Среди них основными являются требования панмиксии и равноценности потенциального вклада индивидуумов в следующее поколение. Скорее всего модели элементарной популяции приближенно соответствует субпопуляция самого нижнего первого уровня — село. Выбор элементарной популяции в качестве

единицы наблюдения является крайне желательным, и выяснение роли отклонений от него представляет собой важную задачу.

Обоснование выбора единицы наблюдения может основываться на соображениях относительно уровня эндогамии [8]. Такой подход не лишен дискуссионных моментов. Попытаемся обсудить эту проблему. При иерархической структуре подразделенности популяции степень эндогамии может зависеть от уровня иерархии. Чем выше этот уровень, тем более может быть эндогамна популяция при прочих равных условиях. Такая картина увеличения степени эндогамии при движении от уровня сельсовета к району и области наблюдается в Центральной России [7]. Приведем абстрактную модельную иллюстрацию, когда такой характер зависимости имеет место.

Рассмотрим гипотетическую популяцию, равномерно и непрерывно распределенную на плоскости, и некоторый ограниченный ареал внутри данной области. Известно, что вероятность брака уменьшается при увеличении расстояния между местами рождения супругов (изоляция расстоянием). Для анализа того, как влияет на эндогамию этот фактор, предположим, что вероятностью брака при превышении некоторого расстояния между местами рождения можно пренебречь. Понятно, что при таком требовании относительно ограниченности расстояния между местами рождения супругов экзогамные браки могут быть лишь у лиц, родившихся достаточно близко к границе. В результате количество таких браков пропорционально длине границы. Соответственно эндогамные браки заключаются лицами внутри оставшейся части ареала и при достаточной его величине их количество примерно пропорционально площади ареала.

Увеличение ареала при его росте вдоль каждой из осей координат в k раз приводит к такому же удлинению границы в k раз, а площадь увеличится в k^2 раз. Это очевидно в случае прямоугольного и кругового ареалов, но верно и в общем случае. Тем самым отношение количества экзогамных браков к эндогамным приближенно пропорционально отношению $k/k^2 = 1/k$ и уменьшается с увеличением ареала. Таким образом уровень эндогамии при этом растет. При иерархической подразделенности популяции (например, территориальной) у субпопуляции более высокого уровня иерархии размер будет крупнее, чем у более низких по уровню, так как она включает в себя их численности и территории. Следовательно, уровень эндогамии должен повышаться с уровнем иерархии субпопуляций. Хотя предположения данного вывода далеки от реальности, повторим, что качественный характер связи эндогамности с уровнем иерархии подтверждается фактическими наблюдениями [7].

В результате увеличения ареала обитания наступает момент, когда найдутся пары, места рождения членов которых отделены таким расстоянием, что браки между ними практически невозможны. Тем самым кроме роста эндогамии происходит нарушение панмиксии с ее равноценностью образования любых родительских пар. Такая популяция не удовлетворяет предпосылкам модели элементарной популяции. Итак, повышение уровня иерархии ведет не только к увеличению уровня эндогамии, но и к нарушению панмиксии (в конце концов, все население земного шара эндогамно и панмиксия отсутствует).

Цель настоящей работы — анализ общих свойств распределения концентрации фамилии по субпопуляциям при их иерархической организации. Такие свойства являются чисто статистическими характеристиками иерархической структуры, а не особенностью конкретной популяционной системы. Анализируемые свойства относятся к любой иерархически подразделенной популяции и не выводятся из закономерностей той или иной модели микроэволюции популяций. Теоретически это может позволить выделить специфические свойства исследуемого материала.

Применительно к фамильным данным роль единицы наблюдения в иерархической структуре может играть популяция села или субпопуляции более высокого уровня иерархии. Каждая субпопуляция независимо от уровня иерархии характеризуется своими значениями признаков, одним из которых является концентрация фамилии (x). Отдельной субпопуляции соответствует единственность (среднее) значение признака, а его изменчивость (скажем, дисперсия) между субпопуляциями, отражающая их дивергенцию, изучается с разной степенью детализации в зависимости от выбора единицы наблюдения. Так, если такой единицей является индивидум, а вместо индивидуальных данных используются села, характеризуемые средним весом жителей, то индивидуальная изменчивость остается как бы “за кадром”, и изучение изменчивости веса детализируется до дисперсии среднего веса. Когда структура подразделенности иерархическая, то чем меньше единица наблюдения и ее уровень иерархии, тем полнее охват изменчивости.

Тут возникает вопрос о том, насколько выводы теоретического анализа элементарных популяций приложимы к материалам, представленным в сгруппированном виде. Например, в данных о концентрациях фамилий в районах остается скрытой изменчивость фамильной структуры сел и малых городов, входящих в районы. Использование для анализа изонимии списков избирателей и данных телефонных справочников часто дают сведения о фамилиях в сгруппированном виде. Например, единицей наблюдения может быть район. Иссле-

дование того, в каком направлении и в какой степени скрытая изменчивость качественно и количественно сказывается на стандартных оценках коэффициента инбридинга и пр. (см., например, [1, 2]) по фамильным данным, представляет интерес.

Получаемые далее результаты относятся к свойствам иерархически подразделенных совокупностей, они не зависят от их природы и не основываются на предположениях о выборочном характере рассматриваемой иерархической совокупности с требованиями об идентичном и независимом распределении каких-либо данных или на использовании модели процесса формирования иерархической структуры.

Настоящая статья построена следующим образом. Сначала описывается система идентификации субпопуляций в метапопуляции с иерархической структурой подразделенности на субпопуляции. Затем в рамках этой системы рассматриваются соотношения между уровнями иерархии и математическими ожиданиями (средними значениями) и дисперсиями распределения концентрации фамилии как показателями дивергенции субпопуляций. Далее подробно рассматривается изменчивость субпопуляций в случае многоуровневой иерархической структуры метапопуляции и получено разложение общей (полной) дисперсии концентрации фамилий в субпопуляциях, выбранных в качестве единиц наблюдения, на соответствующие отдельным уровням компоненты. В результате получены выражения для степени занижения оценки дивергенции субпопуляций, когда не учитывается неоднородность (подразделенность) субпопуляций, служащих единицами наблюдения. В последнем разделе обсуждаются полученные результаты и указано, что в совместных данных по городскому и сельскому населению нарушается иерархическая структура подразделенности. Это вызвано тем, что город не является объединением непересекающихся сельских субпопуляций. В то же время подразделенность субпопуляций как сельского, так и городского компонентов разбиения всего населения имеет иерархический характер. Каждый из компонентов обладает найденными свойствами иерархических систем. В дальнейшей публикации предполагается проанализировать не дисперсию концентрации фамилии, а вероятность случайной встречи однофамильцев (ср. соответствующие подходы в [1, 2]) и ее связь с коэффициентом инбридинга в популяционной генетике.

Кратко коснемся обозначений и терминологии. Под концентрациями фамилий в популяции подразумеваются концентрации однофамильцев. Векторы набраны полужирным шрифтом, к обозначениям фамильных аналогов популяционно-генетических характеристик добавлено окончание *s*. Символ ◀ обозначает конец доказательства.

НУМЕРАЦИЯ СУБПОПУЛЯЦИЙ В ИЕРАРХИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

Как уже говорилось, при исследовании популяций человека часто собирают данные, которые организуют в соответствии с соподчинением субпопуляций. У человека иерархическая структура присуща, напомним, территориальной, этнической (генеалогической) и лингвистической классификациям популяций. Чтобы легче ориентироваться в получаемой при этом картине, рассмотрим абстрактную совокупность любых объектов одной природы с иерархической группировкой по нескольким уровням. При иерархической классификации все исходное множество объектов составляет высший уровень иерархии и разбивается в зависимости от выбранного классификационного принципа на классы (группы), которые образуют предыдущий уровень; каждый класс этого уровня делится на подклассы, которые образуют более низкий уровень, у которого каждый подкласс аналогично разбивается на группы, соответствующие нижеследующему уровню и т.д. *Любой уровень иерархии состоит из групп, представляющих собой разбиение всего множества объектов, т.е. группы одного уровня составляют все исходное множество.* Будем называть объекты самого низкого уровня иерархии в используемом материале *единицами наблюдения*. Когда информация о реально существующих объектах низшего уровня отсутствует (или игнорируется), в их качестве можно выбрать объекты на одном и том же из более высоких уровней иерархии, “забывая” о существовании подразделенности таких “единиц”.

Каждой из полученных подобным образом групп объектов присвоим цифровой идентификатор, соответствующий ее положению в иерархии. Он может быть построен, например, следующим образом. Идентификатор отдельной группы начинается с ее номера внутри множества групп данного уровня и продолжается последовательностью номеров вышестоящих групп, которым “подчиняются” предыдущие. В результате любая из групп однозначно определяется *мультиномером (идентификатором)* в виде последовательности из номеров групп все более высокого уровня, подчиняющих все предшествующие. Логика построения этой последовательности напоминает написание почтового адреса (указывающего населенный пункт, район и область), а также принцип генеалогической систематики биологических видов и нумерацию в библиотечном систематическом каталоге. Графически иерархическая классификация отображается древовидной структурой.

У нас объектами являются субпопуляции, скажем, села, группирующиеся в сельсоветы, районы и т.д. с соответствующими уровнями иерархии 1, 2, 3 ... и составляющие всю метапопуляцию. Подчинение одной субпопуляции другой означает вхождение первой в качестве составной части во вторую с более высоким уровнем иерархии. Обозначим номер конкретного села (первый уро-

вень) как s_1 ; номер сельсовета (второй уровень), куда входит село, как s_2 ; номер района (третий уровень), включающего указанные сельсовет и село, как s_3 ; и т.д. Тогда мультиномер $s_1.s_2.s_3. \dots$ однозначно определяет рассматриваемое село среди прочих сел первого уровня, $s_2.s_3.s_4. \dots$ идентификатор сельсовета, $s_i \equiv s_i.s_{i+1}. \dots$ идентифицирует субпопуляцию i -го уровня среди прочих таких же субпопуляций внутри соответствующей группы следующего уровня $i + 1$. *Таким образом, индекс i у $s_i (s_i)$ дает уровень иерархии данной субпопуляции.*

В результате субпопуляция s_1 входит в s_2, \dots, s_i входит в s_{i+1} и т.д., т.е. *субпопуляция некоторого уровня иерархии включает в себя в качестве составной части соответствующие субпопуляции более низкого уровня.* Между объектами и их идентификаторами имеется взаимно однозначное соответствие, и мы иногда будем писать идентификатор вместо названия объекта (села, сельсовета и т.д.). Кроме того, повторим, что множество субпопуляций на каждом отдельно выбранном уровне иерархии представляют собой разбиение всей метапопуляции, т.е. составляют ее целиком.

Данный способ нумерации, например, приложим к концентрации x интересующей фамилии в селе, которую будем обозначать как $x(s_1.s_2.s_3. \dots) \equiv x(s_1)$, а концентрацию фамилии в группе i -го уровня как $x(s_i.s_{i+1}. \dots) \equiv x(s_i)$, где мультиномер $s_i \equiv s_i.s_{i+1}. \dots$ содержит последовательность номеров групп объектов, каждая из которых будет на единицу более высокого уровня и содержит предыдущую. Например, $x(s_3) = x(s_3.s_4.s_5. \dots)$ дает концентрацию фамилии в районе с номером s_3 , входящем в область (следующий уровень) с номером s_4 , и т.д.

При этом на практике реальную подразделенную метапопуляцию можно рассматривать как теоретическую совокупность, а случайный выбор из нее субпопуляций позволяет использовать вероятностный подход, в частности говорить о математических ожиданиях (проще говоря, о средних значениях), дисперсиях и пр. В соответствующем контексте некоторые из номеров $\{s_i\}$ будут рассматриваться как случайные величины, а некоторые как фиксированные. Для наглядности будем писать в мультиномере фиксированные величины после вертикальной черты. Тогда s_1 в $x(s_1|s_2.s_3. \dots)$ является случайной величиной, значениями которой будут номера сел при условии их выбора из фиксированного сельсовета с номером s_2 (который находится внутри своего района с номером s_3 и т.д.); $x(s_i - 1|s_i)$ будет случайной величиной, значениями которой являются концентрации фамилии в субпопуляциях $(i - 1)$ -го уровня внутри фиксированной группы s_i .

Первый аргумент $s_i - 1$ у $x(s_i - 1|s_i)$ указывает на случайно выбираемую субпопуляцию, а второй s_i на содержащую ее фиксированную группу следующего уровня. Таким образом, $x(s_i)$ — концентрация фамилии в фиксированной субпопуляции s_i , а $x(s_i - 1|s_i)$ — слу-

чайная величина, принимающая значения концентраций фамилии в субпопуляциях уровня $i - 1$, входящих в s_i . Иногда удобнее использовать запись, принятую для условных математических ожиданий, и рассматривать фиксированные номера как условие, которое будем отделять вертикальной чертой после обозначения случайной величины, т.е. $x(s_{i-1}|s_i)$ и $x(s_{i-1})|s_i$ обозначают одну и ту же случайную величину.

СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ФАМИЛИИ И ДРУГИХ ХАРАКТЕРИСТИК НА ОТДЕЛЬНЫХ УРОВНЯХ ИЕРАРХИИ

Субпопуляцию каждого уровня характеризует концентрация рассматриваемой фамилии в ней. Так, $x(s_2)$ обозначает концентрацию фамилии в сельсовете s_2 . Она является математическим ожиданием (средним значением) концентрации фамилии в совокупности сел (со случайными номерами $\{s_1\}$) при условии принадлежности каждого из них этому сельсовету с фиксированным номером s_2 . Термины “математическое ожидание” и “среднее значение” являются взаимозаменяемыми.

Определение 1. Математическим ожиданием $E\{x\}$ распределения случайной величины x , которая может принимать конечное число значений $\{x_i\}$ с вероятностями $\{Pr(x_i)\}$, называется константа, определяемая как среднее взвешенное значение для $\{x_i\}$ вида

$$E\{x\} \equiv x_1Pr(x_1) + x_2Pr(x_2) + \dots = \sum x_iPr(x_i). \quad (1)$$

Напомним следующие свойства математического ожидания

$$E\{x - E\{x\}\} = 0,$$

$$E\{c\} = c \text{ (откуда } E\{E\{x\}\} = E\{x\}),$$

$$E\{cx\} = cE\{x\},$$

$$E\{x + y\} = E\{x\} + E\{y\}, \quad E\{xy\} = E\{x\}E\{y\}$$

для любой константы c и любых случайных величин x и y (для произведения xy требуется независимость сомножителей).

Далее для вычисления математических ожиданий мы будем широко использовать следующую формулу полного математического ожидания случайной величины x :

$$E\{x\} = E\{E_x\{x|A\}\} = \sum_i E_x\{x|A_i\}Pr(A_i). \quad (2)$$

Здесь A обозначает событие в $\{A_i\}$, в полной системе несовместимых случайных событий, реализующихся с вероятностями $\{Pr(A_i)\}$ и таких, что обязательно происходит одно из них; $E_x\{x|A_i\}$ означает условное (условие пишем после вертикальной черты) математическое ожидание для случайной величины x (нижний индекс у E указывает на переменную, которая является случайной и по которой производится усреднение) при условии реализации соответствующего случайного события A_i .

Например, в искусственной ситуации, когда полная система состоит из городских и сельских жителей, средний вес жителя $E\{вес\}$ равен $E\{вес|житель города\} \cdot Pr(житель города) + E\{вес|житель села\} \cdot Pr(житель села)$. У нас при случайном выборе субпопуляций (групп) в качестве полной системы обычно рассматриваются (непересекающиеся) субпопуляции $\{s_i\}$ с одним и тем же уровнем иерархии, вместе составляющие всю метапопуляцию s .

Разбиением какого-либо множества называется его представление в виде объединения произвольного количества попарно непересекающихся непустых подмножеств. Ясно, что все части разбиения совокупности s на любом уровне иерархии i образуют полную систему случайных событий, реализующихся при выборе наугад s_i из s . Каждую из таких систем можно использовать в формуле полного математического ожидания (2) для случайной величины.

Очевидно, что в любой совокупности, состоящей из объектов с числовой характеристикой x , среднее значение x в произвольной части совокупности выражается как среднее значение x для объектов, входящих в эту часть. В подразделенной популяции s концентрация фамилии $x(s_i)$ в группе s_i выражается через концентрации входящих в s_i субпопуляций $\{s_1\}$, единиц наблюдения, по формуле математического ожидания как

$$x(s_i) \equiv E_{s_1}\{x(s_1)|s_i\} = \sum_{s_1} x(s_1)Pr(s_1|s_i),$$

где $E_{s_1}\{x(s_1)|s_i\}$ обозначает математическое ожидание случайной величины $x(s_1|s_i)$, принимающей значения концентраций фамилии в субпопуляциях $\{s_1\}$ при выборе наугад s_1 из s_i ; нижний индекс у E_{s_1} служит для облегчения ориентации в уровне иерархии субпопуляций, выбор которых случаен и по которым происходит усреднение; $Pr(s_1|s_i)$ – вероятность случайного выбора субпопуляции s_1 при условии, что выбор производится из группы s_i ; суммирование осуществляется по всем таким субпопуляциям $\{s_1\}$ в группе s_i . Для фамильных данных $x(s_i)$ – это математическое ожидание концентрации фамилии в случайно выбранном селе s_1 внутри s_i (это среднее взвешенное значение $x(s_1)$ с весами $\{Pr(s_1|s_i)\}$ для концентраций $\{x(s_1|s_i)\}$ в селах $\{s_1\}$).

Аналогично можно определить значение произвольной функции от концентрации фамилии $g(x(s_2))$ в субпопуляции второго уровня s_2 как математическое ожидание значений g в составляющих s_2 субпопуляциях первого уровня $\{s_1\}$. Для уровня i функция $g(x(s_i))$ также определяется значениями g в $\{s_{i-1}\}$, составляющих s_i , и $g(x(s_i))$ дает среднее значение как для набора $\{g(x(s_{i-1}))\}$, так и для соответствующего набора $\{g(x(s_1))\}$ из $\{s_1\}$, содержащихся в s_i . Например, когда роль g играет x ,

то получим приведенную ранее формулу для $x(s_j)$. Выше мы применили одно и то же обозначение s_1 к разным субпопуляциям $\{s_1\}$ первого уровня, случайно выбираемым из s_j , так как $x(s_1|s_j)$ — случайная переменная величина, принимающая значения $\{x(s_1)\}$ с вероятностями $\{Pr(s_1|s_j)\}$. Один из способов фиксировать конкретную субпопуляцию состоит в присваивании ей номера. Тогда $\{s_1\}$ представимо как $\{s_{k1}\}$, где k нумерует субпопуляции данного первого уровня.

Замечание 1. Пусть рассматривается совокупность s объектов $\{s_1\}$, разбитая на произвольные (непересекающиеся) части $\{s_2\}$, и для каждого из объектов $\{s_1\}$ определена числовая характеристика $x = x(s_1)$.

Тогда математическое ожидание $E\{x(s_1)\}$ для значений x во всей совокупности s равно среднему значению для математических ожиданий $E_{s_1}\{x(s_1)|s_2\} \equiv x(s_2)$ значений x в отдельных ее частях:

$$E\{x(s_1)\} = E_{j_2}\{x(s_{j_2})|s\} = \sum_j x(s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s), \quad (3)$$

где j нумерует части $\{s_2\} = \{s_{j_2}\}$ рассматриваемого разбиения, $Pr(s_{j_2}|s)$ обозначает вероятность случайного выбора s_{j_2} из s .

Доказательство. Напомним, что если дана совокупность s объектов $\{s_1\}$ с числовым признаком $x(s_1)$, то средним значением x в ней по определению (1) будет $E\{x(s_1)\} \equiv E_{s_{k1}}\{x(s_{k1})|s\}$. Покажем, что

$$E\{x(s_1)\} \equiv E_{s_{k1}}\{x(s_{k1})|s\} = E_{j_2}\{x(s_{j_2})|s\},$$

т.е. $\sum_{s_1} x(s_1)Pr(s_1|s) = \sum_j x(s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s)$.

Например, когда объектами являются индивидуумы, характеризуемые своим весом $x(s_1)$, то эта формула для $E\{x\}$ дает средний вес индивидуума. В рамках фамильных исследований объектами (единицами наблюдения) в совокупности (метапопуляции) являются субпопуляции $\{s_1\}$, а числовым признаком объекта (субпопуляции) s_1 служит концентрация $x(s_1)$ рассматриваемой фамилии в s_1 . При выборе наугад субпопуляции s_1 из s значение $x(s_1)$ будет случайной величиной со значениями $\{x(s_{k1})\}$, наблюдаемыми в субпопуляциях первого уровня, занумерованными индексом k .

Так как математическое ожидание $E\{x(s_1)\}$ является взвешенной суммой значений $\{x(s_1)\}$, то оно не зависит от порядка слагаемых. Поэтому можно расположить составляющие математическое ожидание $E\{x(s_1)\}$ слагаемые блоками, соответствующими частям разбиения совокупности s на $\{s_2\}$. Здесь s_{j_2} обозначает j -ю часть совокупности s , состоящую из надлежащих $\{s_1\} = \{s_{k1}\}$, где k нумерует объекты внутри $\{s_{j_2}\}$. Другими словами, в соответствующем контексте s_1 (s_2) является случайной переменной со значениями $\{s_{k1}\}$ ($\{s_{j_2}\}$).

При суммировании по переменной s_1 в случае упорядочивания по j расположения блоков сначала получим взвешенную сумму слагаемых, соответствующих первой части s_{12} разбиения, потом сумму для второй части s_{22} и т.д. В итоге математическое ожидание x для всей подразделенной совокупности, разбитой на части $\{s_2\}$, находится суммированием внутри очередного блока (по s_1 в соответствующей части) и по самим блокам (т.е. по частям совокупности, пока они не будут исчерпаны). В результате получаем сумму по всем s_1 из s , иначе говоря, по всем k :

$$x(s) \equiv E_{s_1}\{x(s_1)|s\} \equiv \sum_{s_1} x(s_1)Pr(s_1|s) = \sum_k x(s_{k1})Pr(s_{k1}|s).$$

Здесь $Pr(s_{k1}|s)$ обозначает вероятность случайного выбора s_{k1} из s , т.е. выбора соответствующего объекта s_1 . Учтем, что согласно очевидному варианту формулы (2) вероятность выбора наугад s_{k1} из s выражается через вероятности выборов s_{k1} из s_{j_2} и s_{j_2} из s как

$$Pr(s_{k1}|s) = \sum_j Pr(s_{k1}|s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s).$$

В результате подстановки $\sum_j Pr(s_{k1}|s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s)$ вместо $Pr(s_{k1}|s)$ в $x(s)$ и изменения порядка суммирования получаем

$$\begin{aligned} x(s) &= \sum_k x(s_{k1})Pr(s_{k1}|s) = \\ &= \sum_k x(s_{k1}) \sum_j Pr(s_{k1}|s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s) = \\ &= \sum_j \left(\sum_k x(s_{k1})Pr(s_{k1}|s_{j_2}) \right) Pr(s_{j_2}|s) = \\ &= \sum_j x(s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s) = E_{j_2}\{x(s_{j_2})|s\}. \end{aligned}$$

Здесь при каждом j суммирование по k (суммирование по s_{k1}) идет не по всей совокупности, а внутри ее j -й части (внутри блока j). Согласно определению (1) внутреннее суммирование дает среднее значение x в субпопуляции s_{j_2} ($\sum_k x(s_{k1})Pr(s_{k1}|s_{j_2}) \equiv x(s_{j_2})$), а внешнее суммирование по j (по s_{j_2}) дает сумму по блокам ($\sum_j x(s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s)$). Таким образом получаем сумму по всем $\{s_1\}$ в s . Тем самым среднее значение $x(s_1)$ во всей подразделенной совокупности выражается через средние величины $\{x(s_{j_2})\}$ в составляющих ее частях $\{s_2\}$ как $x(s) \equiv E\{x\} = \sum_j x(s_{j_2})Pr(s_{j_2}|s)$. ◀

Теперь обратимся к иерархически подразделенным совокупностям. У нас иерархическая структура разбиений означает, что любая часть s_{ji} разбиения состоит, в свою очередь, из частей следующего более низкого уровня иерархии, разби-

тых иерархически вплоть до неподразделенных единиц наблюдения $\{s_1\}$.

Следствие 2. Пусть разбиение совокупности s на части $\{s_{ji}, j = 1, 2, \dots\}$ является иерархическим, индекс $i = 1, 2, \dots$ у s_{ji} обозначает уровень иерархии, а j — номер части разбиения на этом уровне. Положим, что каждая часть s_{ji} характеризуется соответствующим средним значением $x(s_{ji})$ числового признака x .

Тогда $x(s_{ji})$ выражается через $\{x(s_{km}), k = 1, 2, \dots\}$, т.е. через средние значения x в содержащихся в s_{ji} частях $\{s_{km}\}$ одного и того же (более низкого) уровня $m < i$, как

$$x(s_{ji}) \equiv E_{s_1} \{x(s_1) | s_{ji}\} = \sum_k x(s_{km}) Pr(s_{km} | s_{ji}) = E_{km} \{x(s_{km}) | s_{ji}\}, \quad m < i,$$

и при $m = 2, 3, \dots$

$$\begin{aligned} x(s_{ji}) &\equiv E_x \{x(s_1) | s_{ji}\} = E_{k1} \{x(s_{k1}) | s_{ji}\} = \\ &= E_{k2} \{x(s_{k2}) | s_{ji}\} = \dots = E_{ki-1} \{x(s_{ki-1}) | s_{ji}\}, \\ x(s_{ji}) &\equiv E_{ki-1} \{x(s_{ki-1}) | s_{ji}\} = \\ &= E_{ki-1} \{E_{ni-2} \{x(s_{ni-2}) | s_{ki-1}\} | s_{ji}\}, \end{aligned} \quad (4)$$

где индекс типа km у $E_{km} \{x(s_{km}) | s_{ji}\}$ указывает на операцию усреднения $\{x(s_{km})\}$ по k , когда уровень иерархии m фиксирован и на нем случайно выбирается субпопуляция s_{km} , входящая в состав s_{ji} , $k = 1, 2, 3, \dots$.

Доказательство. Напомним, что в доказанном выше замечании разбиение совокупности на блоки произвольно. Например, при ее иерархической подразделенности такое разбиение s_{ji} может состоять из частей на $(i-1)$ -м уровне и среднее значение x для s_{ji} является средним для средних значений x (обозначаемых $x(s_{ki-1})$) для частей $\{s_{ki-1}\}$, входящих в s_{ji} на уровне иерархии $i-1$. В частном случае, когда выбран уровень $m = i-1$, имеем

$$\begin{aligned} x(s_{ji}) &\equiv E_{ki-1} \{x(s_{ki-1}) | s_{ji}\} = \\ &= \sum_k x(s_{ki-1}) Pr(s_{ki-1} | s_{ji}), \quad i = 2, 3, \dots \end{aligned}$$

Точно так же можно выразить среднее значение $x(s_{ki-1})$ для x в части совокупности s_{ki-1} как $E_{ni-2} \{x(s_{ni-2}) | s_{ki-1}\}$, где n нумерует части разбиения s_{ki-1} , откуда

$$\begin{aligned} x(s_{ji}) &\equiv E_{ki-1} \{x(s_{ki-1}) | s_{ji}\} = \\ &= E_{ki-1} \{E_{ni-2} \{x(s_{ni-2}) | s_{ki-1}\} | s_{ji}\}, \text{ т.е.} \\ &E_{ki-1} \{E_{ni-2} \{x(s_{ni-2}) | s_{ki-1}\} | s_{ji}\} = \\ &= E_{ki-1} \{x(s_{ki-1}) | s_{ji}\}. \blacktriangleleft \end{aligned}$$

Если продолжить эту процедуру, то далее получим, что

$$\begin{aligned} x(s_{ji}) &\equiv E_{s_1} \{x(s_1) | s_{ji}\} = \\ &= E_{ki-1} \{E_{mi-2} \{ \dots \{E_{s_1} \{x(s_1) | s_2\} \dots | s_{mi-2}\} | s_{ki-1}\} | s_{ji}\}, \\ &\quad i = 2, 3, \dots, \end{aligned}$$

т.е.

$$E_{ki-1} \{E_{mi-2} \{ \dots \{E_{s_1} \{x(s_1) | s_2\} \dots | s_{mi-2}\} | s_{ki-1}\} | s_{ji}\} = E_{s_1} \{x(s_1) | s_{ji}\}.$$

Формула полного математического ожидания (2) верна для любой случайной величины, и выше она использовалась на примере иерархически подразделенной совокупности, где фигурировала случайная величина x . В контексте изучения фамильной структуры мы интерпретируем x как концентрацию фамилии в соответствующей субпопуляции. В дальнейшем будет рассматриваться функции от x , например x^2 или вероятность $Hs(x(s))$ случайной встречи индивидуумов с разными фамилиями, и случайной величиной может быть произвольная функция $g(x(s))$.

Очевидно, когда g равняется x , x^2 или Hs , то в субпопуляции уровня иерархии i концентрация $x(s_i)$ фамилии, ее (средний) квадрат или вероятность Hs случайной встречи двух индивидуумов с разными фамилиями согласно (4) находятся как

$$\begin{aligned} x(s_i) &\equiv E_{s_1} \{x(s_1) | s_i\} = \sum_{s_1} x(s_1) Pr(s_1 | s_i), \\ x^2(s_i) &\equiv E_{s_1} \{x^2(s_1) | s_i\} = \sum_{s_1} x^2(s_1) Pr(s_1 | s_i). \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Hs(x(s_i)) &= E_{s_1} \{Hs(x(s_1)) | s_i\} = \\ &= \sum_{s_1} Hs(x(s_1)) Pr(s_1 | s_i) \end{aligned}$$

при $g(x(s_i)) = Hs(x(s_i))$. Здесь $Pr(s_1 | s_i)$ — вероятность случайного выбора субпопуляции s_1 из субпопуляции s_i ; суммирование осуществляется по всем s_1 из s_i .

ДИСПЕРСИЯ В ИЕРАРХИЧЕСКИ ПОДРАЗДЕЛЕННОЙ МЕТАПОПУЛЯЦИИ

В метапопуляции с иерархической структурой подразделенности на каждом из уровней существует в общем случае своя фамильная дивергенция субпопуляций. По аналогии с анализом неподразделенной популяции [1, 2] в качестве характеристик дивергенции в совокупности субпопуляций можно использовать дисперсии концентраций фамилий и вероятности случайных встреч индивидуумов с одинаковыми и с разными фамилиями.

Повторим, что когда рассматривается реальная группа субпопуляций с фиксированными состояниями, то при случайном выборе одной из них будем использовать вероятностную технику для вычисления интересующих нас (скажем, средних значений, дисперсий) характеристик. При этом средние значения используются как математические ожидания для описания status quo метапопуляции без

предположения о ее состоянии как случайной выборки из некоторой теоретической совокупности.

Напомним определение дисперсии.

Определение 2. Дисперсией $V(x)$ случайной величины x называется константа, определяемая формулой

$$V(x) \equiv E\{(x - E\{x\})^2\} = \sum_x (x - E\{x\})^2 Pr(x), \text{ или } E\{x^2\} - (E\{x\})^2. \quad (5)$$

Таким образом, дисперсия является средним квадратом расстояния между случайным значением x и математическим ожиданием $E\{x\}$ и, как хорошо известно, равна разности между средним квадратом $E\{x^2\}$ и квадратом среднего $(E\{x\})^2$. У нас дисперсия концентрации фамилии характеризует фамильную дивергенцию субпопуляций и важна также из-за ее связи с генетической дивергенцией и с коэффициентом инбридинга (см., например, [1, 2]). Напомним, что дисперсия случайной величины $x(s_i|s_{i+1})$ это у нас дисперсия концентрации x , наблюдаемой в субпопуляции s_i при выборе наугад s_i из s_{i+1} .

Мультиномер в качестве идентификатора можно использовать не только вместе с концентрациями фамилий, но и с другими характеристиками состояния популяций, например с дисперсиями. В соответствии с принятыми нами обозначениями $x(s_i|s_{i+1})$ является случайной величиной, принимающей значения $\{x(s_i)\}$, где $x(s_i)$ — концентрация рассматриваемой фамилии в субпопуляции s_i внутри s_{i+1} . Обозначим через $Vs(x(s_i|s_{j+1}))$ дисперсию случайной величины $x(s_i|s_{j+1})$, которая является аргументом у Vs . Согласно определениям математического ожидания $E_{s_i}\{x(s_i)|s_{j+1}\}$ и дисперсии $Vs(x(s_i|s_{j+1}))$ для распределения концентрации фамилии по субпопуляциям i -го уровня $\{s_i\}$, входящим в s_{j+1} , т.е. для случайной величины $x(s_i|s_{j+1})$, имеем с учетом (5)

$$E_{s_i}\{x(s_i)|s_{j+1}\} \equiv \sum_{s_i} x(s_i) Pr(s_i|s_{j+1}) = \sum_k x(s_{ki}) Pr(s_{ki}|s_{j+1}) = x(s_{j+1}),$$

$$\begin{aligned} Vs(x(s_i|s_{j+1})) &\equiv E_{s_i}\{(x(s_i) - E_{s_i}\{x(s_i)\})^2|s_{j+1}\} = \\ &= E_{s_i}\{(x(s_i) - x(s_{i+1}))^2|s_{j+1}\} = \\ &= E_{s_i}\{x^2(s_i)|s_{j+1}\} - x^2(s_{j+1}), \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Vs(x(s_i|s_{jm})) &\equiv E_{s_i}\{(x(s_i) - E_{s_i}\{x(s_i)\})^2|s_{jm}\} = \\ &= E_{s_i}\{x^2(s_i)|s_{jm}\} - x^2(s_{jm}), \quad m > i. \end{aligned} \quad (6)$$

Здесь к символу дисперсии V (и далее к стандартным в биометрии обозначениям других статистических характеристик) добавляется буква s для напоминания, что речь идет о фамилиях, а не об аллелях в субпопуляциях.

ПОЛНАЯ, МЕЖГРУППОВАЯ И ВНУТРИГРУППОВАЯ ДИСПЕРСИИ

В подразделенной на группы популяции выделяют несколько типов дисперсии: полную (общую) во всей метапопуляции, межгрупповую (дисперсию распределения средних значений признака по группам) и внутригрупповую дисперсии числового признака. Поясним это следующим искусственным примером. Рассмотрим простейшую иерархическую систему из изучаемых в отношении веса жителей сельсовета, состоящего из сел (единицей наблюдения является отдельный житель, характеризуемый значением своего веса). Тогда имеются три типа совокупностей: полная (общая) совокупность значений веса у всех жителей сельсовета, совокупность средних значений веса жителей в отдельных селах сельсовета и совокупности значений веса у жителей внутри отдельных сел сельсовета.

Соответственно будет три типа дисперсий: полная (общая) дисперсия значений веса для всех жителей сельсовета (дисперсия веса у единиц наблюдения при отсутствии у них какой-либо группировки), межгрупповая дисперсия средних значений веса жителей его сел и внутригрупповая дисперсия веса жителей отдельного села (сельсовет в целом характеризует средняя внутригрупповая дисперсия для его сел).

В нашем случае анализа фамилий на популяционном уровне единицей наблюдения является отдельное село s_1 , характеризуемое теперь не весом, а концентрацией рассматриваемой фамилии $x(s_1)$ для жителей села s_1 в целом; села группируются в сельсоветы $\{s_2\}$ с концентрациями фамилии в них $\{x(s_2)\}$, а сельсоветы образуют некоторый район s_3 с концентрацией фамилии (общим средним значением концентрации) в нем $x(s_3)$. Очевидно, вместе села (субпопуляции первого уровня) дают район, точно так же как его дают и все сельсоветы (субпопуляции второго уровня), вообще все субпопуляции любого отдельного уровня образуют метапопуляцию целиком. Для наугад выбранной субпопуляции s_1 из s_2 концентрация фамилии в s_1 будет случайной величиной $x(s_1|s_2)$ с математическим ожиданием $x(s_2)$, равным среднему значению концентрации фамилии в селах $\{x(s_1)\}$.

Рассмотрим общее математическое ожидание концентрации рассматриваемой фамилии в распределенной по району s_3 иерархически подразделенной метапопуляции. Она состоит из субпопуляций сельсоветов и сел с мультиномерами $\{s_2\}$, $\{s_1\}$, соответствующими уровням иерархии 1 и 2. Концентрации интересующей фамилии в них обозначены как $\{x(s_2)\}$ и $\{x(s_1)\}$. Согласно ранее изложенному $x(s_2) \equiv E_{s_1}\{x(s_1)|s_2\}$, а $x(s_3) \equiv E_{s_2}\{x(s_2)|s_3\}$. Полная дисперсия (по несгруппированным единицам наблюдения (селам)) — это дисперсия распре-

деления значений концентрации фамилии $\{x(s_1)|s_3\}$ по селам всего района.

Распределение концентрации фамилии $\{x(s_2|s_3)\}$ по субпопуляциям второго уровня (сельсоветам) характеризуется не только средней концентрацией $x(s_3)$ (математическим ожиданием), но и межгрупповой дисперсией $V_{s_{betw}}(x(s_2|s_3))$, отражающей фамильную дивергенцию субпопуляций $\{s_2\}$ друг от друга (по сельсоветам). Эту межгрупповую дисперсию можно представить согласно (6) как разность среднего квадрата и квадрата среднего:

$$V_{s_{betw}}(x(s_2|s_3)) \equiv E_{s_2} \{x^2(s_2|s_3)\} - (E_{s_2} \{x(s_2|s_3)\})^2 = \\ = E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\} - x^2(s_3).$$

Дивергенция обычно существует между субпопуляциями $\{s_2\}$ как на данном втором уровне, так и между входящими в отдельные группы $\{s_2\}$ субпопуляциями $\{s_1\}$ на единицу меньшего уровня (между селами $\{s_1\}$ внутри каждого сельсовета). Она характеризуется внутригрупповыми дисперсиями $\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))\}$. Для отдельной субпопуляции s_{j2} внутригрупповая дисперсия концентрации имеет вид

$$V_{s_{in}}(x(s_1|s_{j2})) = E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_{j2}\} - x^2(s_{j2}) = \\ = \sum_{s_1} x^2(s_1) Pr(s_1|s_{j2}) - x^2(s_{j2}).$$

Средней внутригрупповой дисперсией (средней дивергенцией концентрации фамилии по селам $\{s_1\}$ внутри сельсовета s_2 из района s_3) будет

$$E_{s_2} \{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\} = \sum_{s_2} V_{s_{in}}(x(s_1|s_2)) Pr(s_2|s_3) = \\ = E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\} - x^2(s_2)|s_3\} = \\ = E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\}|s_3\} - E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\} = \\ = E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_3\} - E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\},$$

так как $E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\}|s_3\} = E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_3\}$ согласно (4).

Данные типы дисперсий для трех уровней иерархии обобщаются на случай метапопуляции s_m с m уровнями иерархии. На каждом уровне k находятся субпопуляции $\{s_k\}$, вместе составляющие метапопуляцию s_m и объединяемые в группы, представляющие субпопуляции $\{s_{jk+1}, j = 1, 2, \dots\}$ следующего $(k+1)$ -го уровня иерархии, где j нумерует субпопуляции с уровнем иерархии $k+1$. Распределение концентрации $x(s_k)$ рассматриваемой фамилии внутри этих групп характеризуется средним значением $E_{s_k} \{x(s_k)|s_{jk+1}\} = x(s_{jk+1})$ и дисперсией $V_{s_k}(x(s_k|s_{jk+1}))$, т.е. обозначение $V_{s_m}(x(s_k|s_{jk+1}))$ относим к дисперсии распределения концентрации $x(s_k)$ фамилии по субпопуляциям уровня $k < m$ внутри s_{jk+1} . При этом можно использовать те

же самые типы дисперсии, что и ранее в простейшем случае.

Под *полной (общей) дисперсией* распределения концентрации фамилии по всей метапопуляции s_m понимается дисперсия распределения концентрации по несгруппированным субпопуляциям $\{s_1\}$ уровня единицы наблюдения (обычно относимым к первому уровню $\{s_1\}$), т.е. для всей метапопуляции s_m при отсутствии в ней группировок. Эта дисперсия обозначается как $V_{s_{tot}}(x(s_1|s_m))$. В качестве условно неподразделенной единицы наблюдения может быть выбрана популяция и более высокого уровня иерархии $k, 1 < k < m$ (скажем, при отсутствии данных об уровнях ниже k , либо из научных интересов).

Дисперсия распределения концентрации фамилии по субпопуляциям (группам) $\{s_k\}$ из s_m

$$V_{s_{betw}}(x(s_k|s_m)) \equiv V_{s_k}(x(s_k|s_m))$$

называется *межгрупповой дисперсией на уровне $k < m$* . Она характеризует фамильную дивергенцию на данном уровне.

При подразделенности субпопуляций $\{s_k\}$ j -я из них характеризуется своей *внутригрупповой дисперсией* $V_{s_k}(x(s_{k-1}|s_{jk})) = V_{s_{in}}(x(s_{k-1}|s_{jk}))$ распределения концентрации фамилии $\{x(s_{k-1})\}$ по субпопуляциям $\{s_{k-1}\}$ внутри s_{jk} . Уровень k в целом характеризуется *средней внутригрупповой дисперсией* $W_{s_k}(x(s_{k-1}|s_{jk}))$:

$$W_{s_k}(x(s_{k-1}|s_{jk})) \equiv E_{s_{jk}} \{V_{s_{in}}(x(s_{k-1}|s_{jk}))\} = \\ = E_j \{V_{s_{in}}(x(s_{k-1}|s_{jk}))\}, \quad (7)$$

т.е. средним значением для внутригрупповых дисперсий у субпопуляций уровня k . Можно также рассматривать разные уровни внутригрупповой дисперсии, соответствующие дисперсиям распределения концентраций по соответствующим субпопуляциям на уровне, меньшем k , вплоть до дисперсии концентраций по субпопуляциям первого уровня $\{s_1\}$.

Отметим неоднозначность при многоуровневой иерархии таких понятий как межгрупповая и внутригрупповая изменчивость без указания уровня, с которым они соотносятся. Одна и та же дисперсия распределения концентрации фамилии, скажем, по сельсоветам является межгрупповой при анализе на уровне района и внутригрупповой на уровне области. В то же время рассматриваемая дисперсия определяется однозначно по случайному аргументу у V_s (стоящему перед вертикальной чертой). Таким образом, индексы *betw*, *in* у дисперсий условны и служат для облегчения ориентации в каком аспекте рассматривается соответствующая дисперсия в данном контексте, а аргумент у V_s универсален. Он указывает на случайную величину, дисперсией которой будет V_s . Статистический смысл дисперсии V_s не зависит от ин-

декса *betw* или *in* и определяется аргументом V_s , (напомним, что в обозначении $s_i|s_{jk}$ символ s_i перед вертикальной чертой рассматривается как случайная величина со значениями $\{s_i\}$ из s_{jk} , $i < k$).

В единицах наблюдения (обычно субпопуляциях первого уровня) по определению отсутствует или игнорируется подразделенность, поэтому у них невозможно определение внутригрупповой дисперсии. Наименьший уровень иерархии субпопуляции, в которой внутригрупповая дисперсия реально существует, равен двум. Субпопуляциями наименьшего уровня иерархии, в которых возможна *средняя* внутригрупповая дисперсия $E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\}$, будут трехуровневые метапопуляции $\{s_3\}$. Повторим, что выражение средней внутригрупповой дисперсии $E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\}$ для s_3 интерпретируется следующим образом. Аргумент $x(s_1|s_2)$ является случайной величиной, принимающей значения, равные концентрации фамилии в субпопуляции s_1 , наугад выбранной из s_2 . Эта субпопуляция s_2 сама случайно выбирается из субпопуляции s_3 . Математическое ожидание дисперсии данной случайной величины $x(s_1|s_2)$ для распределения x по s_2 по определению является средней внутригрупповой дисперсией $E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\}$.

Выражение средней внутригрупповой дисперсии $E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_{jk}\}$ для субпопуляции более высокого уровня $k > 3$ интерпретируется сходно. Аргумент $x(s_1|s_2)$ является случайной величиной, принимающей значения, равные концентрации фамилии в s_1 , наугад выбранной из s_2 , а субпопуляция s_2 сама случайно выбирается из субпопуляции s_{jk} . Математическое ожидание дисперсии данной случайной величины $x(s_1|s_2)$ по определению называется средней внутригрупповой дисперсией субпопуляции s_2 в s_{jk} .

В более общем случае многоуровневой иерархии вместо s_2 можно взять s_i и определить среднюю внутригрупповую дисперсию для s_i , на уровне i для субпопуляций внутри s_{jk} , $i < k$. Средняя внутригрупповая дисперсия на уровне i определяется как $E_{s_j}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_i))|s_{jk}\}$, $1 < i < k$ для j -ой субпопуляции k -го уровня. Таким образом получаем среднее значение дисперсии распределения концентрации по неподделенным и несгруппированным субпопуляциям первого уровня внутри субпопуляции s_i уровня i при случайном выборе s_i из s_{jk} . Такую дисперсию $E_{s_j}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_i))|s_{jk}\} \equiv Ws(x(s_1|s_i)|s_{jk})$ можно интерпретировать как ожидаемое значение дисперсии случайной величины $x(s_1|s_i)$, когда s_i наугад выбирается из s_{jk} .

РАЗЛОЖЕНИЕ ДИСПЕРСИИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ФАМИЛИИ ПО УРОВНЯМ ИЕРАРХИИ

Как известно из дисперсионного анализа (см., например, [12]), *сумма квадратов отклонений* значений признака от общепопуляционного среднего значения в популяции, подразделенной на группы, равна сумме межгрупповых и внутригрупповых сумм квадратов отклонений (называемых в [12] вариациями). Соответствующие *дисперсии* практически удовлетворяют тому же соотношению, но при замене “сумма квадратов отклонений” на “дисперсия”, а вместо “внутригрупповая дисперсия” будет “*средняя* внутригрупповая дисперсия”, т.е. добавляется термин “*средняя*”. В биометрии это соотношение известно как *правило сложения дисперсий*. Мне не удалось найти распространенный учебник биометрии, где оно приведено, но по поисковому запросу в Интернете появляется множество ссылок. Согласно этому правилу

в совокупности из нескольких групп произвольных объектов с каким-либо числовым признаком x общая (полная) дисперсия x во всей совокупности равна сумме межгрупповой дисперсии (дисперсии распределения средних значений x в группах) и средней внутригрупповой дисперсии (средней дисперсии x внутри групп).

Понятно, что согласно приведенной формулировке данное статистическое правило не зависит от природы объектов и принципов их объединения в группы, которые могут быть произвольными. Правило выполняется не только для дисперсий, но и при совместном изучении нескольких признаков для их матриц ковариаций. В любом случае это правило может использоваться для проверки безошибочности вычислений.

В случае анализа фамильной структуры данное правило принимает следующий вид.

Замечание 3 (правило сложения дисперсий). Пусть подразделенная метапопуляция s_3 разбита на субпопуляции $\{s_2\}$, каждая из которых включает непересекающиеся неподделенные группы $\{s_1\}$, являющиеся единицами наблюдения с концентрациями рассматриваемой фамилии в них $\{x(s_1|s_2)\}$.

Тогда полная (общая) дисперсия $V_{s_{tot}}(x(s_1|s_3))$ распределения концентрации фамилии по несгруппированным единицам наблюдения $\{s_1\}$ во всей метапопуляции s_3 равна сумме межгрупповой дисперсии $V_{s_{berw}}(x(s_2|s_3))$, характеризующей фамильную дивергенцию средних значений концентраций $\{x(s_2)\}$ у субпопуляций $\{s_2\}$, и средней внутригрупповой дисперсии $W(x(s_1|s_2)|s_3) \equiv E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\}$, характеризующей среднюю фамильную дивергенцию (s_1) внутри субпопуляций $\{s_2\}$:

$$V_{s_{tot}}(x(s_1|s_3)) = V_{s_{berw}}(x(s_2|s_3)) + W(x(s_1|s_2)|s_3), \quad (8)$$

$$W(x(s_1|s_2)|s_3) \equiv E_{s_2}\{V_{s_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\}.$$

Доказательство. Рассмотрим сумму указанных дисперсий:

$$\begin{aligned} & V_{S_{berw}}(x(s_2|s_3)) + E_{s_2} \{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2))|s_3\} = \\ & = V_{S_{berw}}(x(s_2|s_3)) + E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\} - x^2(s_2)|s_3\} = \\ & = (E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\} - x^2(s_3)) + \\ & + E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\} - x^2(s_2)|s_3\} = \\ & = E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\} - \\ & - x^2(s_3) + E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_3\} - E_{s_2} \{x^2(s_2)|s_3\} = \\ & E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_3\} - x^2(s_3) = V_S(x(s_1|s_3)), \end{aligned}$$

так как $E_{s_2} \{E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_2\}|s_3\} = E_{s_1} \{x^2(s_1)|s_3\}$ согласно (4), и после сокращения получаем общую дисперсию $V_{S_{tot}}(x(s_1|s_3)) = V_S(x(s_1|s_3))$. ◀

Данное правило также справедливо по отношению к соответствующим матрицам ковариаций.

Рассмотрим правило сложения дисперсий применительно к свойствам многоуровневых иерархически подразделенных метапопуляций. Пусть дана метапопуляция с t уровнями иерархии, в которой в качестве единицы наблюдения выбрана субпопуляция уровня n и выбран уровень иерархии k : $t > k > n$ (в рассмотренном выше случае $t = 3$, $k = 2$, $n = 1$). Очевидно, все множество субпопуляций $\{s_k\}$ данного уровня (или любого другого) составляют метапопуляцию целиком. Условно считаем, что единицы наблюдения характеризуются только соответствующими концентрациями фамилии, внутригрупповая дисперсия в них либо отсутствует, либо сведений о ней не имеется, наконец, она может игнорироваться. Таким образом, мы допускаем произвольное количество уровней иерархии и *не требуем, чтобы выбранные уровни k , n и t были соседними*. Рассмотрим, как выглядит правило сложения дисперсий в этом случае.

Следствие 4. Пусть в иерархически подразделенной метапопуляции s_m с t уровнями иерархии выбраны в качестве единицы наблюдения субпопуляции $\{s_n\}$ уровня n и выбран уровень иерархии k , $t > k > n$ с непересекающимися субпопуляциями $\{s_k\}$, вместе образующими s_m . Тогда в s_m выполняется следующий вариант правила сложения дисперсий.

Общая (полная) дисперсия $V_{S_{tot}}(x(s_n|s_m))$, понимаемая как дисперсия распределения по всей метапопуляции s_m концентрации x интересующей фамилии в субпопуляциях $\{s_n\}$, рассматриваемых (условно) как единицы наблюдения, разлагается в сумму

1) межгрупповой дисперсии $V_{S_{berw}}(x(s_k|s_m))$ распределения концентрации по составляющим s_m субпопуляциям $\{s_k\}$ на произвольном уровне $k < t$ и

2) среднего значения $E_{s_k} \{V_{S_{in}}(x(s_n|s_k))\}$ внутригрупповой дисперсии $V_{S_{in}}(x(s_n|s_k))$ распределения концентрации фамилии $\{x(s_n|s_k)\}$ по субпопуляциям-

единицам наблюдения $\{s_n\}$ внутри субпопуляций $\{s_k\}$ уровня k ($n < k$):

$$\begin{aligned} V_{S_{tot}}(x(s_n|s_m)) & = V_{S_{berw}}(x(s_k|s_m)) + \\ & + E_{s_k} \{V_{S_{in}}(x(s_n|s_k))|s_m\}. \end{aligned} \quad (9)$$

Согласно данному правилу эти дисперсии зависят, и по значениям любой пары дисперсий определяется значение третьей.

Доказательство. Распишем межгрупповую и внутригрупповую дисперсии по формуле (6) как разности среднего квадрата и квадрата среднего. Например, для случайной величины $x(s_n|s_k)$ среднее значение будет равно $x(s_k)$ для соответствующей субпопуляции s_k согласно (3), а (внутригрупповой) дисперсией будет

$$\begin{aligned} V_{S_{in}}(x(s_n|s_k)) & = E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_k\} - \\ & - (E_{s_n} \{x(s_n)|s_k\})^2 = E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_k\} - x^2(s_k). \end{aligned}$$

Здесь под s_k подразумевается какая-либо конкретная субпопуляция уровня k (скажем, s_{jk} с номером j).

Межгрупповая дисперсия имеет вид $V_{S_{berw}}(x(s_k|s_m)) = E_{s_k} \{x^2(s_k)|s_m\} - x^2(s_m)$.

Найдем сумму межгрупповой и средней внутригрупповой дисперсий:

$$\begin{aligned} V_{S_{berw}}(x(s_k|s_m)) + E_{s_k} \{V_{S_{in}}(x(s_n|s_k))|s_m\} & = \\ & = (E_{s_k} \{x^2(s_k)|s_m\} - x^2(s_m)) + \\ & + E_{s_k} \{E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_k\} - x^2(s_k)|s_m\} = \\ & = E_{s_k} \{x^2(s_k)|s_m\} - x^2(s_m) + \\ & + E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_m\} - E_{s_k} \{x^2(s_k)|s_m\} = \\ & = E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_m\} - x^2(s_m) = V_S(x(s_n|s_m)), \end{aligned}$$

поскольку $E_{s_k} \{E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_k\}|s_m\} = E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_m\}$ в соответствии с (4), а после сокращения получаем $E_{s_n} \{x^2(s_n)|s_m\} - x^2(s_m)$, т.е. полную дисперсию $V_{S_{tot}}(x(s_n|s_m))$. ◀

Понятно, что значение полной дисперсии зависит от выбора единицы наблюдения, и дисперсия будет наибольшей при неподразделенной единице (не содержащей субпопуляций). Например, когда единицей наблюдения является сельсовет и соответственно имеется информация только по концентрации фамилии в сельсоветах $\{s_2\}$, то общая дисперсия концентрации фамилии в s_3 совпадает с межгрупповой дисперсией распределения концентрации по сельсоветам. При этом выпадает неотрицательный вклад фамильной дивергенции сел внутри сельсоветов, т.е. средней внутригрупповой компонент $E_{s_2} \{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2))\}$. Это может привести к существенному уменьшению полной дисперсии, следовательно к занижению показателя дивергенции субпопуляций внутри района и вытекающему отсюда уменьшению

оценки (см., например, [1, 2]) коэффициента инбридинга популяции по фамильным данным, максимальной при единице наблюдения минимального уровня. Когда субпопуляции $\{s_{m-1}\}$ являются единицами наблюдения, то межгрупповая дисперсия совпадает с полной.

Теперь обобщим рассмотренное правило. Покажем, что в случае иерархической подразделенности метапопуляции с произвольным количеством уровней иерархии полная дисперсия распределения концентрации фамилии разлагается не только на межгрупповую и внутригрупповую дисперсии, но последняя еще разлагается на компоненты, соответствующие отдельным уровням.

Результат 5 (разложение полной дисперсии). В иерархически подразделенной метапопуляции s_m с уровнями иерархии $i = 1, 2, \dots, t$ полная (общая) дисперсия $V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m))$, т.е. дисперсия распределения во всей подразделенной метапопуляции s_m концентрации рассматриваемой фамилии (по несгруппированным и неподделенным субпопуляциям $\{s_i\}$ уровня единицы наблюдения), разлагается в сумму

1) межгрупповой дисперсии $V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m))$ распределения концентрации по субпопуляциям $\{s_{m-1}\}$ в s_m и

2) средней внутригрупповой дисперсии $E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1)|s_{m-1})\}$ распределения концентрации по единицам наблюдения $\{s_1\}$ внутри отдельных субпопуляций s_{m-1} ;

3) эта средняя внутригрупповая дисперсия $E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1)|s_{m-1})\}$, в свою очередь, разлагается на сумму средних внутригрупповых дисперсий $E_{s_{i+1}}\{V_{S_{in}}(x(s_i)|s_{i+1})|s_m\}$, соответствующих отдельным уровням иерархии $\{i\}$, т.е.

$$\begin{aligned} V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + \\ &+ E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1})|s_m)\} = \\ &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\} + \\ &+ E_{s_3}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_3)|s_m)\} + \dots + E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_{m-2}|s_{m-1})|s_m)\} = \\ &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + \sum_{i=1}^{m-2} E_{s_{i+1}}\{V_{S_{in}}(x(s_i|s_{i+1})|s_m)\}. \end{aligned} \quad (10)$$

Доказательство. Рассмотрим иерархически подразделенную метапопуляцию s_m с t уровнями иерархии. Непересекающиеся субпопуляции каждого отдельного уровня i образуют всю метапопуляцию s_m (дают ее разбиение на группы). Положим, что в качестве единицы наблюдения выбраны субпопуляции первого уровня $\{s_1\}$, а затем второго $\{s_2\}$, и рассмотрим субпопуляции $\{s_{m-1}\}$ уровня $m-1 > 2$. Полные (общие) дисперсии $V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m))$ и $V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m))$ концентрации фамилии в s_m , когда единицей наблюдения выбраны субпопуляции s_1 и s_2 соответственно, выражаются согласно правилу

сложения дисперсий в виде (9) при $n = 1, i = m-1$ как

$$\begin{aligned} V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + \\ &+ E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1})|s_m)\}, \\ V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m)) &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + \\ &+ E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})|s_m)\}. \end{aligned}$$

Проанализируем как изменилась полная дисперсия концентрации в s_m в результате изменения единицы наблюдения. Для этого найдем разность Δ_{12} приведенных дисперсий, где сократим члены $V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m))$, распишем $V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1}))$ согласно (9) при $n = 1, i = 2$ и произведем дальнейшие сокращения:

$$\begin{aligned} \Delta_{12} &\equiv V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) - V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m)) = \\ &= V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1})|s_m)\} - \\ &- (V_{S_{betw}}(x(s_{m-1}|s_m)) + E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})|s_m)\}) = \\ &= E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1})|s_m)\} - \\ &- E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})|s_m)\}. \end{aligned}$$

Подставим сюда $V_{S_{in}}(x(s_1|s_{m-1})) = V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})) + E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\}$ согласно (9) при $n = 1, i = 2$ и учтем, что по (4) $E_{s_{m-1}}\{E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\}\} = E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\}$:

$$\begin{aligned} \Delta_{12} &= E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})|s_m)\} + \\ &+ E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\} - \\ &- E_{s_{m-1}}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_{m-1})|s_m)\} = \\ &= E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\} \geq 0. \end{aligned}$$

Точно так же находим, что изменением дисперсии концентрации фамилии в s_m при переходе от уровня единицы наблюдения s_2 к s_3 будет

$$\begin{aligned} \Delta_{23} &\equiv V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m)) - \\ &- V_{S_{tot}}(x(s_3|s_m)) = E_{s_3}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_3)|s_m)\} \geq 0. \end{aligned}$$

Отсюда

$$\begin{aligned} \Delta_{12} + \Delta_{23} &= (V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) - V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m))) + \\ &+ (V_{S_{tot}}(x(s_2|s_m)) - V_{S_{tot}}(x(s_3|s_m))) = \\ &= V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) - V_{S_{tot}}(x(s_3|s_m)). \end{aligned}$$

Следовательно,

$$\begin{aligned} V_{S_{tot}}(x(s_1|s_m)) &= V_{S_{tot}}(x(s_3|s_m)) + \Delta_{12} + \Delta_{23} = \\ &= V_{S_{tot}}(x(s_3|s_m)) + E_{s_2}\{V_{S_{in}}(x(s_1|s_2)|s_m)\} + \\ &+ E_{s_3}\{V_{S_{in}}(x(s_2|s_3)|s_m)\}. \end{aligned}$$

Аналогично при переходе от единицы наблюдения уровня s_i к уровню $i+1$ изменение дисперсии будет равно $E_{s_{i+1}}\{V_{S_{in}}(x(s_i|s_{i+1})|s_m)\}$. В результате последовательности $j-1$ таких шагов общая дисперсия при единице наблюдения s_1 выражается через общую дисперсию при единице наблюдения s_j как

$$V_{S_{tot}}(x(s_i | s_m)) = V_{S_{tot}}(x(s_j | s_m)) + \sum_{i=1}^{j-1} E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1})) | s_m\}.$$

Когда на последнем шагу j равно $m - 1$, получаем полную дисперсию в виде следующего разложения:

$$V_{S_{tot}}(x(s_1 | s_m)) = V_{S_{betw}}(x(s_{m-1} | s_m)) + \sum_{i=1}^{m-2} E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1}))\},$$

где $V_{S_{betw}}(x(s_{m-1} | s_m)) = V_{S_{tot}}(x(s_{m-1} | s_m)) = V_S(x(s_{m-1} | s_m))$, так как значение дисперсии не зависит от индексов *betw* или *tot*. ◀

Таким образом, разложение полной дисперсии концентрации фамилии в случае иерархически подразделенной трехуровневой метапопуляции равно сумме межгрупповой и внутригрупповой дисперсий и совпадает с правилом сложения дисперсий (8). В случае метапопуляции с четырьмя уровнями иерархии разложение полной дисперсии имеет вид

$$V_{S_{tot}}(x(s_1 | s_4)) = V_{S_{betw}}(x(s_3 | s_4)) + E_{s_2} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_2)) | s_4\} + E_{s_3} \{V_{S_{in}}(x(s_2 | s_3)) | s_4\},$$

а при пяти уровнях

$$V_{S_{tot}}(x(s_1 | s_5)) = V_{S_{betw}}(x(s_4 | s_5)) + E_{s_2} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_2)) | s_5\} + E_{s_3} \{V_{S_{in}}(x(s_2 | s_3)) | s_5\} + E_{s_4} \{V_{S_{in}}(x(s_3 | s_4)) | s_5\}.$$

Здесь видно, что каждому уровню иерархии i соответствует вклад в общую дисперсию, равный $E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1}))\}$.

Напомним об условности термина межгрупповая дисперсия. Так, например, межгрупповая дисперсия $V(x(s_{m-1} | s_m))$ является внутригрупповой для всей метапопуляции s_m . Поэтому можно сформулировать доказанный результат следующим образом. *Дисперсия распределения во всей подразделенной метапопуляции s_m концентрации рассматриваемого аллеля по несгруппированным и неподразделенным субпопуляциям $\{s_i\}$ уровня единицы наблюдения, разлагается в сумму средних внутригрупповых дисперсий $E_{s_{i+1}} \{V_{in}(x(s_i)) | s_{i+1}\}$, соответствующих отдельным уровням иерархии.*

Ремарка 6. Доказанный результат остается верным, если заменить $m - 1$ на любой другой уровень иерархии i ($1 < i < m - 1$).

Следствие 7. Если в иерархически подразделенной метапопуляции s_m с t уровнями иерархии в качестве единицы наблюдения выбраны субпопуляции уровня $1 < n < t - 1$, то

1) из полной (общей) дисперсии $V_{S_{tot}}(x(s_1 | s_m))$ распределения концентрации фамилии (10) по неподразделенным субпопуляциям уровня единицы наблюдения

$\{s_i\}$ выпадают неотрицательные вклады в дивергенцию субпопуляций, соответствующие уровням ниже n (внутригрупповые дисперсии $E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1})) | s_m\}$), суммарно равные $\sum_{i=1}^{n-1} E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1}))\}$. В итоге роль общей дисперсии при единице наблюдения $\{s_n\}$ играет

$$V_{S_{tot}}(x(s_n | s_m)) = V_{S_{betw}}(x(s_{m-1} | s_m)) + \sum_{i=n}^{m-2} E_{s_{i+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_i | s_{i+1})) | s_m\}.$$

При увеличении уровня иерархии у единицы измерения от n до $n + 1 < i$ полная дисперсия уменьшается на $E_{s_{n+1}} \{V_{S_{in}}(x(s_n | s_{n+1})) | s_m\}$;

2) полная дисперсия $V_{S_{tot}}(x(s_n | s_m))$, межгрупповая $V_S(x(s_i | s_{i+1}))$ и внутригрупповая $E_{s_i} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_i)) | s_m\}$ дисперсии концентрации рассматриваемой фамилии, соответствующие уровню $i < t$, связаны соотношением

$$V_S(x(s_i | s_{i+1})) = V_{S_{tot}}(x(s_1 | s_m)) - E_{s_i} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_i)) | s_m\},$$

откуда по значениям любых двух дисперсий можно найти величину третьей;

3) при случайном формировании субпопуляций следующего уровня $i + 1$ из групп на предыдущем i межгрупповая дисперсия не возрастает (уменьшается):

$$V_S(x(s_{i-1} | s_i)) \geq V_S(x(s_i | s_{i+1})).$$

Доказательство опирается на полученные ранее результаты.

1. Обоснование п. 1 совпадает с приведенным выше, просто уровнем единицы наблюдения будет не первый, а n -й. Изменение полной дисперсии при увеличении уровня иерархии у единицы измерения следует из формулы (10) разложения $V_{S_{tot}}$.

2. Напомним, что множество субпопуляций на каждом отдельном уровне i дает всю иерархически подразделенную метапопуляцию s_m , и каждая из этих субпопуляций состоит из единиц наблюдения $\{s_i\}$. Полная дисперсия согласно (9) представима при $n = 1$, $k = i$ как

$$V_S(x(s_1 | s_m)) = V_S(x(s_i | s_m)) + E_{s_i} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_i))\},$$

т.е. равна сумме межгрупповой и средней внутригрупповой дисперсий. Отсюда по величине любых двух дисперсий можно найти значение третьей.

При заданной полной дисперсии увеличение (уменьшение) межгрупповой $V_S(x(s_i | s_m))$ или внутригрупповой $E_{s_i} \{V_{S_{in}}(x(s_1 | s_i)) | s_m\}$ дисперсий концентрации рассматриваемой фамилии, соответствующие уровню $i < t$, связаны соотношением

$$V_{S_{tot}}(x(s_i|s_m)) = V_{S_{tot}}(x(s_i|s_m)) - E_{s_i} \{V_{S_{in}}(x(s_i|s_i))|s_m\},$$

где $V_{S_{tot}}(x(s_i|s_m))$ – полная дисперсия распределения концентрации фамилии по неподразделенным субпопуляциям уровня единицы наблюдения $\{s_i\}$. Поэтому увеличение одной из них связано с уменьшением в той же степени величины другой.

3. При переходе к более высокому уровню иерархии межгрупповая дисперсия не возрастает (уменьшается) при случайном формировании групп. Чтобы избежать доказательства с громоздкими выкладками при гипергеометрическом распределении в выборках без возвращения, просто укажем на интуитивное ожидание данного свойства. Оно опирается на очевидное уменьшение размаха изменчивости при усреднении в группе, что приводит к устранению крайних вариантов. ◀

Правило сложения дисперсий верно не только для совокупности субпопуляций, но и для совокупности s произвольных объектов (единиц наблюдения) при ее разбиении на любые непересекающиеся группы $\{s_{ji}\}$. Пусть каждый объект характеризуется значением x некоторого числового признака. В частности, объектом может быть индивидуум, а признаком его вес, разные группы, скажем, состоят из индивидуумов с разными типами питания. Напомним, что когда единицей наблюдения является индивидуум, а вместо индивидуальных данных используются села, характеризующиеся средним весом жителей, то изучение изменчивости веса детализируется до дисперсии среднего веса, а индивидуальная изменчивость остается как бы “за кадром”. Чем мельче единица наблюдения и ее уровень иерархии, тем полнее охват изменчивости. При фамильных исследованиях выбор в качестве единицы наблюдения административного района означает уменьшение общей фамильной дивергенции на дивергенцию на уровнях сел и сельсоветов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для (мета)популяций человека типична иерархическая подразделенность на части (субпопуляции), соответствующие классификации на базе административно-территориального деления, скажем, село, сельсовет, район, область и т.д.; на основе генеалогического подхода, базирующегося на этногенезе; или на использовании других принципов биологической классификации. Каждый уровень иерархии представляет собой разбиение метапопуляции на непересекающиеся субпопуляции, суммарно составляющие всю ее и обладающие, в свою очередь, иерархической структурой подразделенности. Данной структуре как таковой присущи специфические свойства изменчивости количественных признаков ее частей, независимые от природы иерархической системы (например, эти свойства будут и у системы из неживых объек-

тов) и от факторов ее формирования (скажем, от миграций).

Здесь важно исследование роли единицы наблюдения на дивергенцию количественных признаков частей произвольной иерархической системы не обязательно биологической природы. Сама единица допускается любой, лишь бы была на одном из уровней иерархии рассматриваемой системы. В частности, системой может быть метапопуляция из субпопуляций село, сельсовет и так далее, а полученные результаты приложимы к такому признаку, как концентрация фамилии в популяциях человека, когда предметом изучения служит распределение концентрации фамилии по субпопуляциям системы.

Особый интерес представляет собой дисперсия распределения концентрации фамилии внутри и между субпопуляциями как характеристика фамильной дивергенции в метапопуляции. При иерархической подразделенности на каждом уровне иерархии будут в общем случае свои среднее значение и дисперсия концентрации, которая отражает фамильную дивергенцию субпопуляций на соответствующем уровне. Изучение фамильной дивергенции важно, так как при соответствующих предположениях она отражает генетическую дивергенцию и генетическую структуру метапопуляции.

Проведенное исследование показывает, что каждому отдельному уровню иерархии соответствует неотрицательный вклад в полную (общую) дисперсию концентрации в системе, равный среднему значению внутригрупповой дисперсии распределения концентрации фамилии по его субпопуляциям. Получено разложение общей дисперсии концентрации фамилии в метапопуляции по вкладам отдельных уровней, обобщающее правило сложения дисперсий. Отсюда находится величина занижения общей дисперсии, когда вместо неподразделенных субпопуляций первого уровня иерархии (допустим, сел) в качестве единиц наблюдения служат субпопуляции более высокого уровня (скажем, районов). Это позволяет судить о степени занижения оценки генетической дивергенции в метапопуляции в результате игнорирования фамильной изменчивости на низких уровнях иерархии.

Приложение найденных результатов к реальным данным наталкивается на определенные трудности. Опишем одну из них и соответствующее направление дальнейших исследований. Например, рассмотрим проблемы, связанные с нарушением иерархической структуры. Так, город не является объединением непересекающихся сельских субпопуляций, скажем, уровня сел или сельсоветов, т.е. использование объединенных данных по городам и сельским субпопуляциям нарушает иерархический характер подразделенности метапопуляции. Однако при отдельном изучении фамильной структуры городов (сел) наблюдается их иерархическая группировка согласно административным образованиям. В настоящее время городское на-

селение России составляет порядка 74.56%, а сельское только 25.44%. Требуется дополнительное исследование в отношении способов объединения получаемых таким образом фамильных данных с учетом разного вклада указанных компонентов. Соответственно необходим обоснованный метод использования получаемых в итоге результатов для выводов относительно генетической структуры метапопуляции.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пасеков В.П. К анализу случайных процессов изонимии. I. Структура изонимии // Генетика. 2021. Т. 57. № 10. С. 1194–1204. <https://doi.org/10.31857/S001667582110009X>
2. Пасеков В.П. К анализу случайных процессов изонимии. II. Динамика дивергенции популяций // Генетика. 2021. Т. 57. № 11. С. 1318–1329. <https://doi.org/10.31857/S001667582110114>
3. Crow J.F., Mange A.P. Measurement of inbreeding from the frequency of marriages between persons of the same surname // *Social Biology*. 1982. V. 29. № 1/2. P. 101–105.
4. Lasker W.G. Surnames and Genetic Structure. Cambridge: Cambr. Univ. Press, 1985. 2005. 148 p.
5. Ревазов А.А., Парадеева Г.М., Русакова Г.И. Пригодность русских фамилий в качестве квазигенетического маркера // *Генетика*. 1986. Т. 22. № 4. С. 699–703.
6. Гинтер Е.К., Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И. и др. Роль факторов популяционной динамики в распространении наследственной патологии в российских популяциях // *Мед. генетика*. 2004. Т. 3. № 12. С. 548–555.
7. Балановская Е.В., Сорокина И.Н., Чурносоев М.И. Описание “генетического ландшафта” районных популяций Центральной России // *Вестник новых медицинских технологий*. 2007. Т. 10. № 1.
8. Сорокина И.Н., Чурносоев М.И., Балтуцкая И.В. и др. Антропогенетическое изучение населения Центральной России. М.: Изд-во РАМН, 2014. 336 с.
9. Сорокина И.Н., Рудых Н.А., Крикун Е.Н., Соколов С.Н. Применение фамилий в популяционно-генетических исследованиях (на примере зарубежных популяций) // *Науч. ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация*. 2016. № 19(240). Вып. 35. С. 5–10.
10. Rogers A.R. Doubts about isonymy // *Human Biology*. 1991. V. 63. № 5. P. 663–668.
11. Свирижев Ю.М., Пасеков В.П. Основы математической генетики. М.: Наука, 1982. 511 с.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.

Description of Divergence of Subpopulations in the Hierarchical System under the Analysis of Isonymy. I. Variance as an Indicator of Divergence

V. P. Passekov*

*Dorodnitsyn Computing Centre, Federal Research Center “Computer Science and Control”
of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

*e-mail: pass40@mail.ru

We consider (typical for human) metapopulations with a hierarchical subdivision into parts (subpopulations) corresponding to the classification of subpopulations on the basis of administrative-territorial division (for example, a village, a village council, a district, a region, and so on); on the basis of genealogical approach grounded in ethnogenesis; and also on other principles of biological classification. Each level of the hierarchy is a partition of the metapopulation into nonintersecting subpopulations, which in total make up all of it and, in turn, have a hierarchical structure of partition. The properties of variability of the quantitative trait of subpopulations under a hierarchical structure are studied using the example of such a trait as the concentration of some surname. The distribution of the concentration of the surname over subpopulations is analyzed, it is characterized at each level by its mean value and variance, which reflects the surname divergence of subpopulations at the corresponding level. The study of surname divergence is important, since, under appropriate assumptions, it reflects the genetic divergence and the genetic structure of the metapopulation. It is shown that each separate level of the hierarchy corresponds to a non-negative contribution to the total variance, equal to the average value of the intragroup variance of the distribution of the concentration of the surname by its subpopulations. The decomposition of the total variance of the concentration of the surname in the metapopulation by the contributions of individual levels is obtained, generalizing the rule for addition of variances. The value of the underestimation of the total variance is found, when, instead of unsubdivided subpopulations of the first level of the hierarchy (say, villages), subpopulations of a higher level (say, districts) serve as observation units. This makes it possible to judge the degree of underestimation of the assessment of genetic divergence in the metapopulation as a result of ignoring the surname variability at the low levels of the hierarchy. The entire population is divided into two components with a hierarchical structure of subdivision: rural and urban residents. The results of this work are equally applicable to each of them.

Keywords: hierarchical structure of populations, metapopulations, concentration of surname in human subpopulations, decomposition of surname concentration variance by hierarchy levels.

УДК 575.1

ГЕНЫ *CEP* КАРТОФЕЛЯ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ¹

© 2022 г. Е. А. Рутковская¹, М. С. Ганчева¹, *, М. А. Лебедева¹, Л. А. Лутова¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: ganchovai@gmail.com

Поступила в редакцию 25.11.2021 г.

После доработки 29.12.2021 г.

Принята к публикации 10.01.2022 г.

CEP (C-Terminally Encoded Peptides) – посттрансляционно-модифицируемые пептидные гормоны, играющие важную роль в развитии растений. Пептиды *CEP* известны прежде всего как регуляторы развития корневой системы, активирующиеся в ответ на действие абиотических стрессовых факторов, в частности, на недостаток азота. У картофеля представители семейства *CEP* к настоящему времени не были охарактеризованы. В нашей работе мы идентифицировали 17 генов *CEP* в геноме картофеля (*Solanum tuberosum* L.). С помощью общедоступных данных транскриптомных исследований мы оценили уровни экспрессии генов *CEP* в различных органах картофеля, а также показали, что экспрессия некоторых генов *CEP* зависит от уровня азота в среде. Дальнейшее изучение генов *CEP* у картофеля позволит расширить наше понимание роли сигнальных пептидов в развитии картофеля.

Ключевые слова: картофель, гены *CEP*, пептиды *CEP*, азотный сигналинг, азот.

DOI: 10.31857/S0016675822060078

Значительную роль в развитии растений играют регуляторные пептиды: передавая информацию от клетки к клетке, они координируют процессы пролиферации и дифференцировки клеток, а также ответы на внешние стимулы. Некоторые регуляторные пептиды растений способны к дальнему транспорту по проводящим тканям и таким образом, задействованы в коммуникации между разными органами растения [1]. К таким пептидам, в частности, относятся пептиды *CEP* (C-Terminally Encoded Peptides); для некоторых представителей этого семейства показана способность транспортироваться по силеме из корня в побег и таким образом опосредовать системный ответ на недостаток азота в почве [2]. Гены семейства *CEP* найдены как среди цветковых, так и голосеменных растений, а также обнаружены у галловых нематод, вызывающих мелойдогиноз [3, 4]. Продуктами генов *CEP* являются белки-предшественники, содержащие сигнальный домен на N-конце, один или несколько консервативных доменов *CEP* и переменный домен между ними [3–5]. В процессе посттрансляционных модификаций белки гидроксилируются по нескольким остаткам пролина и подвергаются протеолизу до образования зрелого пептида, последовательность которого включает лишь консервативный домен *CEP* дли-

ной 15 аминокислот. Пептиды *CEP* регулируют рост корней и побегов растений, а также оказывают влияние на развитие боковых корней и симбиотических клубеньков у бобовых растений [5–7]. Также было показано влияние пептидов *CEP* на процессы поглощения азота растением за счет системной регуляции экспрессии генов, кодирующих нитратные транспортеры [2].

Данные транскриптомных исследований и анализ регуляторных областей генов *CEP* у ряда растений позволили предположить, что роль генов *CEP* в развитии растений не ограничивается их участием в ответе на дефицит азота, и пептиды *CEP*, вероятно, являются важными регуляторами ответа на различные абиотические стрессовые факторы [8]. Однако роль генов *CEP* была изучена лишь у отдельных представителей цветковых растений. В частности, у картофеля к настоящему моменту не были охарактеризованы представители этого семейства генов. В связи с этим, целью нашего исследования стала идентификация и анализ экспрессии генов *CEP* у вида *Solanum tuberosum* L. (*StCEP*). Картофель является важной сельскохозяйственной культурой благодаря его способности образовывать клубни. Известно, что наличие азота в среде является одним из ключевых факторов, регулирующих развитие клубней у картофеля, в частности, высокая концентрация азота в среде задерживает клубнеобразование [9]. Поскольку пептиды *CEP* известны как важные участники ответа на недостаток азота в среде,

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675822060078 для авторизованных пользователей.

представляется целесообразным изучение возможной роли этих регуляторов в развитии клубней у картофеля.

Для идентификации генов *СЕР* у картофеля мы провели поиск их последовательностей в геноме картофеля SolTub 3.0 (Ensembl:GCA_000226075.1) с использованием всех известных генов *СЕР*, выявленных ранее в работе [3], с помощью алгоритма tblastx. Также был произведен поиск доменов *СЕР* в последовательностях картофеля с помощью программ Multiple Expectation Maximization for Motif Elicitation (MEME) (v. 5.4.1), Find Individual Motif Occurrences (FIMO) (v. 5.4.1) и Motif Alignment & Search Tool (MAST) (v. 5.4.1) [10] с использованием доменов *СЕР*, обнаруженных в исследовании [3]. Полученные последовательности были проанализированы на наличие сигнального домена на N-конце с помощью программы SignalP (v. 5.0) [11]. Результатом проделанной работы стало обнаружение 17 последовательностей St*СЕР* (Прилож., табл. 1). Локализация генов *StСЕР* на хромосомах была визуализирована с помощью программы MapInspect (<http://www.softsea.com/download/MapInspect.html>). При этом оказалось, что девять генов *StСЕР* располагаются на одной хромосоме (рис. 1,а). Среди них: гены *StСЕР3* и *StСЕР9* располагаются в непосредственной близости друг от друга, а гены *StСЕР1*, 6, 7, 13 образуют большой кластер из tandemно расположенных генов.

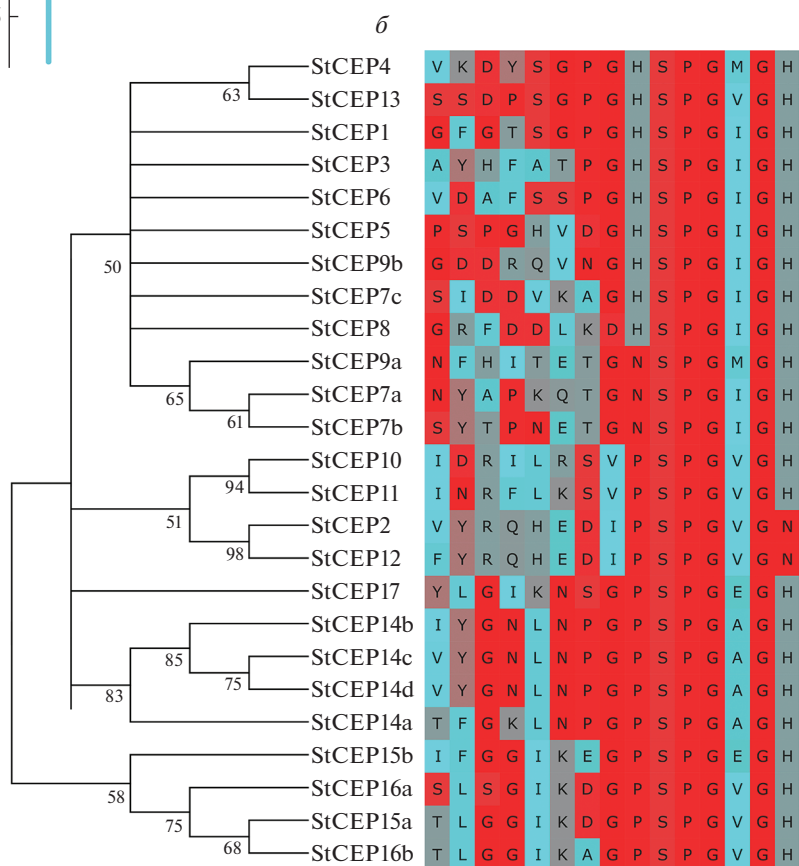
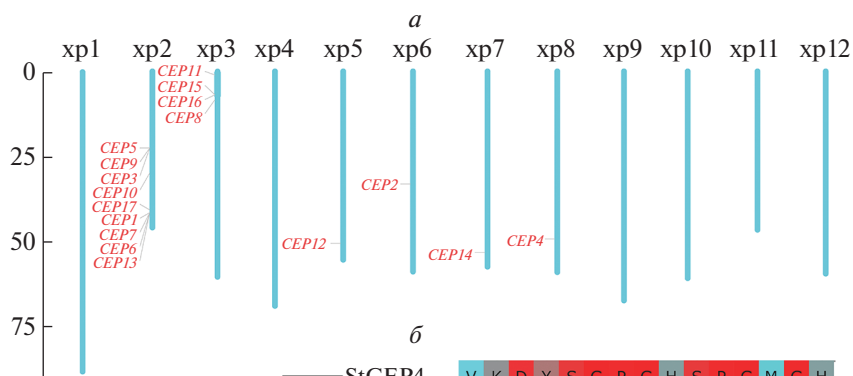
На основании нуклеотидных последовательностей были определены аминокислотные последовательности белков St*СЕР*. Аминокислотные последовательности *СЕР* выравнивали в программе Ugene [12], и на основании выравнивания было построено филогенетическое дерево методом максимального правдоподобия в программе MEGA11 с bootstrap-поддержкой в 1000 реплик. Среди белков St*СЕР* оказались как белки, содержащие только один домен *СЕР* (St*СЕР1*–13), так и мультидоменные белки, содержащие два (в случае St*СЕР15*, 16) или четыре (в случае St*СЕР14*) консервативных домена *СЕР*. Так оказалось, что белок St*СЕР14* содержит четыре практически идентичных по последовательности доменов *СЕР* (рис. 1,б). Последовательности доменов *СЕР* в пределах мультидоменных белков St*СЕР15* и St*СЕР16* характеризуются более выраженными различиями по аминокислотной последовательности, при этом отдельные домены из разных мультидоменных белков St*СЕР*, обозначенные нами как St-

СЕР15a и St*СЕР16b*, демонстрируют высокое сходство по последовательности и различаются только по одной аминокислоте (рис. 1,б). Ранее в работе Н.А. Ogilvie с соавт. было отмечено, что консенсусная аминокислотная последовательность пептидов *СЕР* у представителей семейства пасленовые отличается от последовательностей *СЕР*, характерных для других семейств растений [3]. В связи с этим можно предположить, что конкретные функции выявленных нами пептидов *СЕР* у картофеля могут отличаться от описанных ранее для других видов растений.

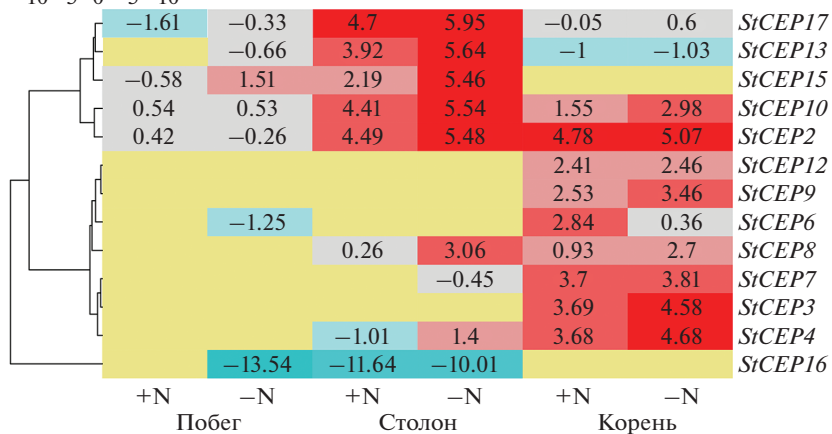
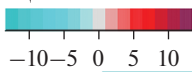
Мы проанализировали транскриптомы листьев и корней трех сортов картофеля, выращенных в почве с азотом (3.3 кг/100 м² мочевины) и без него, доступные в базе данных NCBI (проект номер PRJNA511561), данные представлены в трех повторностях. Исследователями в работу были взяты сорта картофеля, различающиеся по эффективности поглощения и использования азота. Эффективность поглощения азота соответствует доле доступного азота в почве, которая была поглощена растением. Эффективность использования рассчитывается как урожай клубней, деленный на накопленный азот во всем растении. Так, картофель сорта “Yanshu 4” эффективно поглощает азот, но имеет низкую эффективность его использования, сорт “Xiabodi” (cv. Sheredy) характеризуется средними показателями эффективности поглощения и использования, а сорт “Chunshu 4” имеет малую эффективность поглощения и высокую – использования [13].

Так как выявленные нами гены *StСЕР* не аннотированы в геномах картофеля, мы заново проводили анализ данных секвенирования. Качество прочтений проверяли с помощью программы FastQC (v. 0.11.9) [14] и визуализировали отчеты программы FastQC с помощью программы MultiQC [15]. Из сырых данных секвенирования удаляли адаптеры с помощью программы Trimmomatic-0.39 [16]. Подсчет количества прочтений на транскриптом картофеля, в который нами были включены транскрипты генов *StСЕР*, проводили с помощью программы kallisto (v. 0.46.2) [17]. Дифференциально экспрессирующиеся гены ($p_value < 0.01$, $\log_2\text{FoldChange} > |1|$), минимальное количество прочтений – десять) находили с помощью пакета DeSeq2 (v. 1.34.0) [18] в программе R 4.1.1 [19] (Прилож., табл. 2). Среди генов *StСЕР* дифференциально экспрессировались всего два гена – *StСЕР15* и *StСЕР17*. У сорта “Yanshu 4”, который эффективно поглощает азот, но имеет низкую эффективность использования азота, значимое снижение количества транскриптов гена *StСЕР17*

Рис. 1. Характеристика генов и пептидов *СЕР* картофеля. а – локализация на хромосомах генов *СЕР* картофеля, б – филогенетическое дерево и выравнивание аминокислотных последовательностей пептидов *СЕР* картофеля *Solanum tuberosum* (St*СЕР*). Латинские буквы (а–д) рядом с названиями пептидов обозначают различные домены *СЕР*, выявленные в пределах одного белка-предшественника. в – Log₂ значения TPM (TranscriptsPerMillion) для генов *СЕР* картофеля, растущих в условиях большого (4 мМ, +N) и малого (0.2 мМ, –N) содержания азота в среде. Желтым цветом обозначены TPM равные 0.



Цветовая шкала



наблюдали в корнях в условиях наличия азота ($\log_2\text{FoldChange} = -1.19$, $\text{padj} < 0.025$), и, соответственно, при недостатке азота уровень экспрессии этого гена в корнях был выше.

Известно, что у резуховидки экспрессия ряда генов *CEP* активируется в корнях при недостатке азота, и пептиды *CEP* увеличивают эффективность поглощения азота корнями за счет их участия в активации экспрессии генов нитратных транспортеров. Более высокий уровень экспрессии гена *StCEP17* в корнях сорта “Yanshu 4” в условиях нехватки азота может свидетельствовать о том, что пептид *StCEP17* также может регулировать поглощение нитрата при недостатке азота. При этом у сорта “Chunshu 4”, который характеризуется малой эффективностью поглощения и высокой эффективностью использования азота, выявлено значимое увеличение количества транскриптов гена *StCEP15* ($\log_2\text{FoldChange} = 2.77$, $\text{padj} < 0.003$) в листьях в условиях наличия азота. Тот факт, что экспрессия *StCEP15* возрастает в листьях, но не в корнях (при наличии азота в среде) позволяет предположить, что соответствующий пептид вероятно не задействован в передаче сигнала об изменении уровня азота в среде от корней в побег; и он может выполнять иные функции в ответе на изменение содержания азота в среде.

В работе [20] были также секвенированы транскриптомы картофеля, растущего на среде с высоким (4 мМ) и низким (0.2 мМ) содержанием азота. Азот был представлен в двух формах NO_3^- и NH_4^+ . В анализ были взяты разные органы картофеля: побеги, столоны и корни картофеля сорта “Kufri Jyoti”, который выращивали в условиях аэропоники [20]. В ходе данного исследования были секвенированы транскриптомы для образцов из одной повторности (проект номер PRJNA529319). Мы проанализировали данные, полученные в работе [20], по алгоритму, описанному выше. В результате этого получили значения уровней экспрессии генов, выраженные в виде единиц TPM (Transcripts Per Million) (доп. табл. 3), сгенерированные программой kallisto (v. 0.46.2) [17]. Гены *StCEP1*, *StCEP5*, *StCEP11* и *StCEP14* мы исключили из анализа в связи с отсутствием транскриптов этих генов во всех анализируемых органах. Для остальных генов была построена тепловая карта уровней экспрессии генов, выраженных в единицах \log_2 от значения TPM, что было сделано с помощью функции heatmap.2 [21] из пакета gplots (<https://github.com/talgalili/gplots>) в программе R 4.1.1 [19] (рис. 1, в).

Гены были кластеризованы в соответствии с характером их экспрессии. Интересно отметить, что пять генов *StCEP* (*StCEP2*, *10*, *13*, *15*, *17*) продемонстрировали высокий уровень экспрессии в столоне картофеля, однако большая часть генов *StCEP* все же экспрессировалась в корнях, при этом ген *StCEP2* экспрессировался на относительно высоких уровнях как в столонах, так и в корнях. Было обнаружено изменение экспрессии не-

которых генов *StCEP* при выращивании растений при разных условиях среды – с высоким и низким содержанием азота. Так, в побеге увеличивается количество транскриптов генов *StCEP15* и *StCEP17* и уменьшается экспрессия *StCEP2* при сравнении транскриптомов растений, растущих с малым содержанием азота, и транскриптомов растений, растущих с высоким содержанием азота. При этом результаты двух проанализированных транскриптомов схожи. Так, экспрессия гена *StCEP17* повышается в корнях растений сорта “Yanshu 4” и “Kufri Jyoti” в условиях нехватки азота. В то же время экспрессия гена *StCEP17* значимо не изменялась у сортов “Xiabodi” и “Chunshu 4”. Эти сорта отличаются по эффективности поглощения и использования азота, и пептиды *CEP*, как сигналы о содержании азота в среде, могут быть задействованы в процессах, связанных с определением азотного статуса растений.

Таким образом, наша работа является вкладом в исследование еще малоизученного семейства пептидов *CEP*. Мы идентифицировали 17 генов *StCEP* у картофеля и проанализировали их экспрессию в транскриптомах четырех сортов картофеля, различающихся по эффективности использования поступающего из среды азота, выращенных как в богатых азотом почвах, так и при его недостатке. Нами были выявлены гены *StCEP*, экспрессия которых изменялась в зависимости от наличия азота в среде. Можно предположить, что кодируемые этими генами пептиды выступают в роли сигнальных молекул, задействованных в ответных реакциях на содержания азота в почве. Также мы обнаружили экспрессию ряда генов *StCEP* в столонах картофеля, что позволяет предположить их возможное участие в процессах клубнеобразования.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-016-00177.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lebedeva M.A., Yashenkova Y.S., Dodueva I.E., Lutova L.A. Molecular dialog between root and shoot via regulatory peptides and its role in systemic control of plant development // Russ. J. Plant Physiology. 2020. V. 67. № 6. P. 985–1002. <https://doi.org/10.1134/S1021443720060114>
2. Tabata R., Sumida K., Yoshii T. et al. Perception of root-derived peptides by shoot LRR-RKs mediates systemic N-demand signaling // Science. 2014. V. 17. № 346. P. 343–346. <https://doi.org/10.1126/science.1257800>
3. Ogilvie H.A., Imin N., Djordjevic M.A. Diversification of the C-Terminally Encoded Peptide (CEP) gene fam-

- ily in angiosperms, and evolution of plant-family specific CEP genes // *BMC Genomics*. 2014. V. 15. № 870. P. 1–15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-870>
4. Roberts I., Smith S., De Rybel B. et al. The CEP family in land plants: evolutionary analyses, expression studies, and role in Arabidopsis shoot development // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. № 17. P. 5371–5381. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert331>
 5. Delay C., Imin N., Djordjevic M.A. Regulation of Arabidopsis root development by small signaling peptides // *Front. Plant Sci.* 2013. V. 4. № 352. P. 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00352>
 6. Ohyama K., Ogawa M., Matsubayashi Y. Identification of a biologically active, small, secreted peptide in Arabidopsis by *in silico* gene screening, followed by LC-MS-based structure analysis // *Plant J.* 2008. V. 55. № 1. P. 152–160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03464.x>
 7. Imin N., Mohd-Radzman N.A., Ogilvie H.A., Djordjevic M.A. The peptide-encoding *CEP1* gene modulates lateral root and nodule numbers in *Medicago truncatula* // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. № 17. P. 5395–5409. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert369>
 8. Aggarwal S., Kumar A., Jain M. et al. C-terminally encoded peptides (CEPs) are potential mediators of abiotic stress response in plants // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2020. V. 26. № 10. P. 2019–2033. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00881-4>
 9. Ewing E.E., Struik P.C. Tuber formation in potato: Induction, initiation, and growth // *Hortic. Rev.* 1992. V. 14. P. 89–198. <https://doi.org/10.1002/9780470650523.ch3>
 10. Bailey T.L., Johnson J., Grant C.E., Noble W.S. The MEME Suite // *Nucl. Ac. Res.* 2015. V. 43(W1). P. 39–49. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv416>
 11. Almagro Armenteros J.J., Tsirigos K.D., Sønderby C.K. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks // *Nat. Biotechnol.* 2019. V. 37. № 4. P. 420–423. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0036-z>
 12. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. UGENE team. Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics*. 2012. V. 28. P. 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
 13. Zhang J., Wang Y., Zhao Y. et al. Transcriptome analysis reveals Nitrogen deficiency induced alterations in leaf and root of three cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.) // *PLoS One*. 2020. V. 15. № 10. P. 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240662>
 14. Andrews S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. 2010. <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
 15. Ewels P., Magnusson M., Lundin S., Käller M. MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report // *Bioinformatics*. 2016. V. 32(19). P. 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>
 16. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data // *Bioinformatics*. 2014. V. 30. № 15. P. 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
 17. Bray N.L., Pimentel H., Melsted P., Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification // *Nat. Biotechnol.* 2016. V. 34. № 5. P. 525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>
 18. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 // *Genome Biol.* 2014. V. 15. № 550. P. 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
 19. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing // R Foundation for Stat. Computing. Vienna, Austria: 2021. <https://www.R-project.org>
 20. Tiwari J.K., Buckseth T., Zinta R. et al. Transcriptome analysis of potato shoots, roots and stolons under nitrogen stress // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1152. P. 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58167-4>
 21. Warnes G.R., Bolker B., Bonebakker L. et al. Gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data // R package version 3.1.1. 2020. <https://CRAN.R-project.org/package=gplots>

Identification and Expression Analysis of CEP Genes in Potato

E. A. Rutkovskaya^a, M. S. Gancheva^a, *, M. A. Lebedeva^a, and L. A. Lutova^a

^aSaint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: ganchovai@gmail.com

C-terminally encoded peptide (CEP), post-translationally modified peptide hormones, play important roles in plant development. CEP peptides are known as regulators of root system in response to abiotic stress factors, in particular, to a nitrogen deficiency. However, the members of the CEP family in potato have not yet been characterized. In our work, we identified 17 CEP genes in the potato (*Solanum tuberosum*) genome. Using available transcriptomic data, we estimated the expression levels of the CEP genes in different organs, and found that the expression levels of some of the CEP genes depend on the nitrogen amount in the media. Further study of the CEP genes in potato will expand our understanding of the role of these signal peptides in potato development.

Keywords: potato, CEP peptides, peptide hormones, nitrogen.