

ТИПЫ СПАРИВАНИЯ У ИНФУЗОРИИ *DILEPTUS ANSER*. НАСЛЕДОВАНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ

© А. Л. Юдин, З. И. Успенская

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: alyudin@mail.ru

Впервые проведен гибридологический анализ признака «тип спаривания» (ТС) у низшей инфузории *Dileptus anser*. Для скрещиваний использованы выделенные из природных водоемов клоны (исходно неизвестного генотипа) трех типов спаривания (ТС I, ТС II и ТС III), обнаруженных у этого вида (Тавровская, 1974). Все проведенные скрещивания в зависимости от их результатов можно разделить на две основные группы. При скрещивании одних клонов наблюдали синклональное наследование (т. е. оба эксконьюгантных клона, происходящих от одной пары коньюгантов, имели одинаковый ТС) и типичное менделирование ТС в половых поколениях, что позволяет высказать следующее предположение о генетическом контроле ТС у *D. anser*: этот признак контролируется одним локусом *mat*; выявленные в нем три аллеля обнаруживают серийное доминирование ($mat^1 > mat^2 > mat^3$). Таким образом, клетки генотипа mat^1/mat^1 , mat^1/mat^2 и mat^1/mat^3 имеют ТС I, клетки mat^2/mat^2 и mat^2/mat^3 — ТС II, а клетки mat^3/mat^3 — ТС III. После полового созревания эксконьюгантных клонов соответствующий генотипу ТС стабильно наследуется при вегетативном размножении. В других скрещиваниях наблюдали большие или меньшие отклонения от типичного менделирования признака в половых поколениях. Они выражались как в аномальном расщеплении, так и в нестабильности дифференцировки признака в период созревания эксконьюгантных клонов: вскоре после созревания в большинства клонов наблюдали смену ТС, часто неоднократную, и лишь в дальнейшем установившийся ТС стабильно наследовался при вегетативном размножении. В период нестабильности эксконьюгантные клоны могли последовательно экспрессировать два и даже все три возможных у этого вида ТС, в том числе ТС, которые не должны были проявляться в данном скрещивании, если исходить из генотипа «родительских» клонов. Создается впечатление, что локус *mat* имеет сложную, комплексную природу, наследуется как целое и может обуславливать проявление любого из возможных ТС (подобно тому, что имеет место у *Tetrahymena thermophila*). Какой именно ТС будет экспрессироваться данным эксконьюгантным клоном, определяется другими механизмами, в том числе предположительно и эпигенетическими. Стабильная работа этих механизмов обуславливает стабильную дифференцировку ТС и менделирование этого признака в половых поколениях. Нарушение контроля дифференцировки приводит к нестабильности ТС у созревающих эксконьюгантных клонов и нарушениям регулярного менделирования.

Ключевые слова: инфузории, *Dileptus anser*, типы спаривания, наследование, гибридологический анализ, эпигенетическая наследственность.

Принятые сокращения: ТС — тип спаривания.

Со времени открытия Соннеборном (Sonneborn, 1937) типов спаривания (ТС) у *Paramecium aurelia* в исследования этого признака вовлекались все новые и новые виды инфузорий. В результате накоплено большое количество данных о физиологии, биохимии и молекулярной биологии половых процессов и типов спаривания у инфузорий (см. обзор: Miyake, 1996; здесь же указаны более ранние обзоры по типам спаривания у инфузорий), а также о большом разнообразии типов наследования и генетического контроля типов спаривания у них (см. обзор: Bleymann, 1996). Эти сведения не только дают богатейший материал для сравнительных и эволюционных построений по вопросу о сексуальности у низших эукариот, но и служат основой для проведения разнообразных исследований на инфузориях, так как позволяют ставить контролируемые скрещивания и проводить гибридологический анализ у этих простейших.

Низшая инфузория *Dileptus anser* (= *D. margaritifer*; Wirnsberger et al., 1984) все чаще становится объектом лабораторных экспериментов. Например, на этом организме исследовали движение инфузорий (литературу см.: Doroszewski, Dryl, 1976) и их пищевое поведение (литературу см.: Орловская, 1984), клеточный морфогенез (литературу см.: Drzewinska, Golinska, 1987; Golinska, 1987, 1988), инцистирование и эксцистирование (Афонькин, Сквородкин, 1986), системы внутриклеточного проведения сигналов (Афонькин, Парфенова, 1989; Деркач, 2003) и многое другое. Были выполнены циклы работ по биологии и цитологии коньюгации (Винникова, Тавровская, 1973; Винникова, 1975; Vinnikova, 1976, и др.), феромонам спаривания (Юдин и др., 1990), серотинам (Успенская, 2002) и ряд других.

В связи с этим назрела необходимость исследовать характер наследования и генетический контроль типов

спаривания у дилептусов. Специальных публикаций на эту тему до сих пор не было (имеется лишь краткое сообщение: Юдин, Афонькин, 1987), несмотря на то что типы спаривания у дилептусов были обнаружены довольно давно (Николаева, 1968), установлено их число в природных популяциях вида (Тавровская, 1976, 1989) и в дальнейшем с разными целями эпизодически проводились контролируемые скрещивания разных клонов (см., например: Юдин, Афонькин, 1987; Afon'kin, Yudin, 1987; Успенская, 2002), в результате которых накапливались сведения о наследовании типов спаривания.

В настоящей работе представлены результаты проведенного нами гибридологического анализа признака «тип спаривания» у *D. anser* и высказываются предположения о его генетическом контроле.

Материал и методика

Дилептусов культивировали как массовые клональные культуры по методике, описанной ранее (Николаева, 1968; Успенская, Юдин, 2000): в пластиковой посуде, в солевой среде Прескотта, при 25 °C, корм — *Tetrahymena pyriformis*. При таких условиях инфузории обычно делятся 1 раз в 1 сут (в индивидуальных культурах — полтора-два деления в 1 сут; Успенская, Юдин, 1996).

Для скрещиваний, как правило, использовали клоны, которые были выращены в лаборатории от особей, найденных в разное время в пробах воды из природных водоемов, в основном Санкт-Петербурга и Ленинградской обл. Клоны 153 и 155 выделены М. С. Раутиан в 2002 г. в Якутии.

Принадлежность клона к тому или иному ТС (из трех обнаруженных у этого вида; Тавровская, 1974, 1989, и др.) определяли, скрещивая этот клон с тремя зрелыми клонами-тестерами (I, II и III ТС), поддерживающими в лаборатории.

В ходе агамного (вегетативного) размножения ТС клонов оставался неизменным. Например, клон № 7С (см. ниже) при ежемесячном тестировании на протяжении 24 мес всегда проявлял ТС I; клон № 14 при тех же условиях — ТС II; клон № 155 на протяжении 19 мес — ТС III; эксконьюгантный клон № 31-3 (см. ниже, табл. 7) — ТС II на протяжении 16 мес, тоже при ежемесячном тестировании; эксконьюгантный клон № 32-10 (табл. 7) — ТС III в ходе 15-месячного наблюдения за ним. Это же отметила и Тавровская (1976), наблюдавшая за группой изолированных из природы клонов на протяжении 7 лет.

Скрещивания (всего 20), которые ниже для удобства ссылок будут пронумерованы, производили следующим образом.

Часть скрещиваний проводили в 60-луночных пластиковых микрокамерах для иммунологических реакций (Афонькин, Юдин, 1985). В каждую лунку помещали по одной инфузории того и другого из скрещиваемых штаммов. При действии гетеротипических феромонов дилептусы, даже объединившиеся в пары, обычно делятся 1—2 раза (так называемые коньюгационные деления), и все продукты этих делений способны вступать в коньюгацию. Поэтому далее периодически просматривали лунки и там, где уже образовалась первая пара коньюгантов, систематически удаляли все одиночные клетки, образующиеся в результате коньюгационных делений. После завершения коньюгации в парах, отобранных та-

ким образом, разошедшихся эксконьюгантов рассаживали в разные лунки, через 24 ч после рассадки добавляли корм и затем выращивали от них клоны. Старались получить от каждой пары оба эксконьюгантных клона (синклон). Эти клоны спустя всего несколько делений после коньюгации тестировали на способность коньюгировать со стандартными зрелыми клонами всех трех типов спаривания. Тем самым проверяли, наступил ли у эксконьюгантных клонов период половой незрелости, возникающий у инфузорий после нормально прошедшей коньюгации. Клоны, оставшиеся зрелыми, выбраковывали, считая, что в этих парах нормальная коньюгация не прошла. Незрелые клоны культивировали в течение 2—4 мес как индивидуальные линии: каждые 3—4 сут одну-две клетки из каждой лунки пересаживали в лунку новой микрокамеры. Каждые 2—3 нед часть клеток из каждой лунки отсаживали, разбивали на три группы и добавляли к каждой из них несколько клеток одного из трех клонов-тестеров. Если при очередном тестировании в тех или иных комбинациях образовывались пары коньюгантов, это свидетельствовало об окончании периода незрелости у данного эксконьюгантного клона и показывало, к какому ТС относится сам тестируемый созревший клон. После этого тестирование прекращали и повторно ТС у созревшего клона не определяли.

В ряде случаев применяли маркирование клеток одного из двух «родительских» клонов. Для этого тетрахимен выдерживали в супензии китайской туши на протяжении 1.5—2.0 ч. Затем их отмывали от среды с тушью и скармливали дилептусам. Черные пищеварительные вакуоли тетрахимен отчетливо просматривались в цитоплазме дилептусов. Перед смешиванием двух комплементарных клонов, один из которых был маркирован, клетки последнего отмывали от незахваченных тетрахимен.

Итак, первая группа скрещиваний — это индивидуальные скрещивания, иногда с маркированием одного из «родителей», получение преимущественно синклонов, культивирование эксконьюгантных клонов методом индивидуальных линий, однократное определение ТС у созревших клонов. Таким образом были выполнены скрещивания 1—9 и 15—17 с использованием клонов № 8, 11, 12, 20, 28 и 52 (см. раздел «Результаты»).

В других случаях (скрещивания 10—14 и 18—20 при использовании клонов № 2, 7С, 14, 21,¹ 153, 155, Б и Д) клетки одного из «родительских» клонов маркировали тушью так же, как описано выше. Затем группу маркированных клеток смешивали с немаркированными клетками второго «родительского» клона (по 50—100 особей каждого клона в одном микроаквариуме-«солонке»), спустя 16—18 ч из смеси изолировали образовавшиеся гетеротипические пары (пары клеток комплементарных ТС); от них после их расхождения получали эксконьюгантов, которых изолировали и выращивали отдельно. Последующее тестирование молодых эксконьюгантных клонов на половую зрелость и отбраковку клонов, оставшихся зрелыми, проводили, как описано выше. Незрелые клоны (истинные эксконьюганты) далее культивировали как массовые культуры, периодически тестируя их со стандартными клонами-тестерами. Повторные тестирования проводили на протяжении не только всего пе-

¹ Клон № 21 ранее (Успенская, Юдин, 2004) обозначался как клон № 20.

риода созревания, но и некоторого начального периода зрелости. Последнее оказалось важным, так как позволило обнаружить случаи нестабильной дифференцировки клонов по ТС (Успенская, Юдин, 2003). Как правило, в скрещиваниях этой группы для ускорения процесса созревания использовали микрургическую фрагментацию особей молодых, еще незрелых эксконьюгантных клонов. Специальный анализ показал, что этот технический прием, существенно сокращая период незрелости, не влияет на последующую дифференцировку клонов по ТС (Успенская, Юдин, 2004).

Клоны, используемые для скрещиваний, далеко не всегда удавалось сохранить на протяжении всего многолетнего периода работы; поэтому мы не смогли провести гибридологический анализ по полной стандартной схеме, используя один и тот же исходный материал. Часто низкой была жизнеспособность и эксконьюгантных клонов. Поэтому лишь в части скрещиваний смогли получить оба эксконьюгантных клона от каждой пары коньюгантов (синклон). В большинстве же случаев удавалось вырастить клон только от одного из двух эксконьюгантов. Поскольку первые полученные нами данные указывали на синклональный характер наследования признака при коньюгации (т. е. оба эксконьюгантных клона, образующих синклон, имели одинаковый ТС) и в полученных эксконьюгантных клонах никогда не наблюдался селфинг (внутриклональная коньюгация), кариониды не изолировали и эксконьюгантные клоны не реклонировали.

Результаты

Ниже представлены результаты 20 скрещиваний, начиная с тех из них, которые поддаются трактовке в терминах менделевской генетики, и кончая теми, в которых наблюдаются те или иные отклонения от стандартного менделирования признака.

Скрещивание 1: клон № 11 (ТС I) с клоном № 20 (ТС II). Удалось вырастить 38 синклонов и 16 одиночных клонов. За исключением 8 синклонов, все они оказались I типа спаривания. В 8 синклонах один клон был I типа спаривания, а другой — II. Поскольку в ранний период своего существования эти клоны были незрелыми, появление таких синклонов может быть результатом, например, цитогамии (другие вероятные причины их появления см. ниже).

Скрещивания 2—4: клон № 20 (ТС II) с клонами № 8 (ТС III), 12 (ТС III) и 28 (ТС III) (табл. 1). В общей сложности были получены 71 синклон и 31 одиночный клон. Все они без исключения оказались II типа спаривания.

Итак, скрещивания 1—4 показали: 1) тип спаривания (ТС) наследуется, как правило, синклонально; 2) никаких новых ТС, кроме родительских, в потомстве не появляется; 3) наблюдается доминирование ТС I над ТС II и ТС II над ТС III; 4) отсутствует какое-либо расщепление по анализируемому признаку, что позволяет предположить гомозиготность клонов 11 и 20. Это последнее предположение подтвердилось при индукции селфинга (внутриклональный коньюгации) в клонах 11 и 20.

Скрещивания 5, 6: индуцированный селфинг в клонах № 11 (ТС I) и 20 (ТС II) (табл. 2). При культивировании этих клонов в обычных условиях мы никогда не наблюдали пар коньюгантов. Но такие гомотипические пары образуются, если инфузорий поместить в бесклеточную

Таблица 1

Тип спаривания в потомстве от скрещивания
клона *Dileptus anser* № 20 (ТС II)
с клонами № 8, 12 и 28 (ТС III)

Скрещивание	ТС в синклонах и одиночных клонах					
	всего синклонов	в том числе с ТС		всего одиночных клонов	в том числе с ТС	
		II : II	II : III		II	III
20(II)×8(III)	39	39	0	7	7	0
20(II)×12(III)	15	15	0	14	14	0
20(II)×28(III)	17	17	0	10	10	0

культуральную среду, в которой ранее находились клетки комплементарного ТС (т. е. в среду с гетеротипическим феромоном). Обычно гомотипические пары оказываются «непрочными», и клетки расходятся без запуска в них процессов ядерной реорганизации (Афонькин, 1991). Но иногда возможен селфинг. По крайней мере, в клонах № 11 и 20 от таких гомопар удалось получить незрелые эксконьюгантные клоны, что свидетельствовало о нормальном прохождении коньюгации.

В эксконьюгантном потомстве при селфинге как в клоне № 11, так и в клоне № 20 не было никакого расщепления по ТС, что подтверждало гомозиготность этих клонов по этому признаку. Кстати говоря, этот опыт показывает, что гомозиготные клоны с самым доминантным ТС, подобные клону № 11, могут возникать в результате редкого селфинга. В потомстве от следующих скрещиваний наблюдали расщепление по ТС.

Скрещивания 7, 8: клон № 52 (ТС I) с клонами № 20 (ТС II) и (ТС III) (табл. 3). При скрещивании клона 52 (еще одного клона ТС I) с клоном ТС III (№ 8) получены преимущественно клоны-потомки I и II ТС, причем в соотношении 1 : 1, характерном для монофакториального расщепления. Два случая несинклонального наследования, как и получение 9 клонов ТС III, формально опять-таки можно было объяснить, например, цитогамией (другие возможные объяснения см. ниже). За этими исключениями, клон № 52 вел себя как гетерозигота по I и II типам спаривания, которые доминировали над ТС III.

Но уже скрещивание этого клона с клоном ТС II (№ 20), предположительно гомозиготным (см. скрещивание 6), дало соотношение синклонов ТС I и ТС II, существенно отклоняющееся от ожидаемого 1 : 1. Мало

Таблица 2

Тип спаривания в потомстве, полученном
в результате селфинга в клонах *Dileptus anser* № 11 (ТС I)
и 20 (ТС II)

Скрещивание	ТС в синклонах и одиночных клонах					
	всего синклонов	в том числе с ТС		всего одиночных клонов	в том числе с ТС	
		I : I	II : II		I	II
11(I)×11(I)	31	31	0	5	5	0
20(II)×20(II)	27	0	27	3	0	5

Таблица 3

Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 52 (TC I) с клонами № 20 (TC II) и 8 (TC III)

Скрещивание	TC в синклонах и одиночных клонах						
	всего синклонов	в том числе с TC			всего одиночных клонов	в том числе с TC	
		I : I	II : II	I : III		I	III
52(I)×8(III)	26	11	12	2	17	8	9
52(I)×20(II)	24	2	22	0	6	2	4

того, среди одиночных клонов-потомков были 4 клона ТС III, появление которых нельзя объяснить явлениями типа цитогамии, потому что у родительских клонов этот тип спаривания вроде бы ни в явном, ни в скрытом виде не содержался.

Скрещивание 9: клон F1(11 × 20) (TC I) с клоном № 20 (TC II). Клон ТС I, полученный от скрещивания 1 (см. выше) предположительно гомозиготных клонов № 11 (TC I) и № 20 (TC II), скрешили с одним из родителей (№ 20). В этом возвратном скрещивании получено 10 синклонов: 6 с ТС I и 4 с ТС II, т. е. равное количество тех и других. Однако среди 30 одиночных клонов, полученных в этом скрещивании, наблюдали абсолютное преобладание потомства ТС II (29), причины чего на том этапе работы были непонятны.

Скрещивания 10, 11: клон № 7C (TC I) с клоном № 2 (TC II) и клон № 21 (TC I) с клоном № 14 (TC II) (табл. 4). В этих и последующих скрещиваниях (кроме скрещиваний 15—17) удавалось вырастить лишь по одному эксконьюгантному клону от каждой пары коньюгантов; тем не менее мы использовали для анализа и такой материал, поскольку результаты всех предшествующих скрещиваний свидетельствовали о синклональном наследовании признака.

Результаты скрещиваний 10, 11 хорошо согласуются с приведенными выше: они тоже свидетельствуют о монофакториальном расщеплении и о доминировании ТС I над ТС II. Клоны № 7C (TC I) и 21 (TC I) ведут себя как гетерозиготы по локусу типа спаривания, а клоны № 2 и 14 (TC II) — как гомозиготы. Вместе с тем уже в этих скрещиваниях благодаря повторному тестированию клонов на протяжении всего периода созревания и начального периода зрелости удалось наблюдать случаи нестабильной дифференцировки некоторых созревающих эксконьюгантных клонов по ТС (детали см.: Успенская, Юдин, 2004).

Таблица 4

Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 7C (TC I) с клоном № 2 (TC II) и клона № 21 (TC I) с клоном № 14 (TC II)

Скрещивание	TC в одиночных клонах		
	всего клонов	в том числе с TC	
		I	II
7C(I)×2(II)	24 ^a	10	12
21(I)×14(II)	27	15	12

^a Два клона оставались незрелыми до конца эксперимента.

Скрещивание 12: клон № 7C (TC I) с клоном № 153 (TC III) (табл. 5). Нормальное монофакториальное расщепление имело место и в этом скрещивании, если судить по итоговому соотношению клонов ТС I и ТС III в конце опыта. Более того, из него следует, что клон № 7C, гетерозиготный по данным скрещивания 11, содержит детерминанты ТС I и ТС III, а клон № 153 — только рецессивные детерминанты ТС III, т. е. скрещивание было анализирующими.

В совокупности результаты описанных выше скрещиваний 1—12 позволяют высказать следующую гипотезу: признак «тип спаривания» у инфузории *Dileptus anser* в половых поколениях наследуется синклонально и контролируется одним локусом (обозначим его *mat*) с тремя аллелями, обнаруживающими по отношению друг к другу серийное доминирование: *mat*¹ > *mat*² > *mat*³. Этот вывод был впервые представлен нами в кратком сообщении (Юдин, Афонькин, 1987).

Однако уже в скрещиваниях 10, 11 мы наблюдали отклонения от этой схемы, связанные с нестабильной дифференцировкой ряда созревающих эксконьюгантных клонов по ТС. Эта нестабильность проявлялась во временном возврате уже созревших клонов к состоянию незрелости или частичной зрелости (*adolescence*), а главное, в смене, казалось бы, уже установленного ТС на другой. И в скрещивании 12 мы наблюдали такие же явления. Так, клон № 38-7 при тестировании через 8—10 нед после коньюгации оказался зрелым и имел ТС I. Но при повторном тестировании, через 14—16 нед после коньюгации, его ТС оказался ТС III! При следующем тестировании (через 17—19 нед) он опять был ТС I, но в конце концов (на 23—25-й нед) он все-таки стал ТС III. Сходным образом вели себя клоны № 40-3, 40-19, 41-9 и 41-14, тоже вначале имевшие ТС I, но к концу тестирования проявлявшие ТС III. Клоны же № 39-6, 41-2 и 41-4, к концу опыта имевшие ТС III, и вовсе «начинали» как ТС II, хотя в рамках предлагаемой схемы детерминации ТС аллель *mat*² в генотипах «родительских» клонов вообще отсутствовала! Можно отметить также явно более позднее созревание клонов ТС III по сравнению с клонами ТС I.

Существенно, что, несмотря на смену ТС, мы никогда не наблюдали селфинга (внутриклонального спаривания) в таких клонах. Создается впечатление, что смена ТС, как и чередование периодов зрелости, частичной зрелости и незрелости, происходят синхронно у всех особей данной культуры. Остается также неясным, всегда ли изменение ТС происходит через возврат в состояние незрелости (частичной зрелости). Эти моменты заслуживают специального анализа на уровне отдельных клеток (ср., например: Dini, Nyberg, 1994), как и факто-

Таблица 5

**Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 7С (ТС I)
с клоном № 153 (ТС III)**

Клон	ТС клона при определении через разные сроки тестирования после коньюгации (нед) ^a						
	5-7	8-10	11-13	14-16	17-19	20-22	23-25
38-2	— ^b	I	I	—	I	I	I
38-3	—	I	I	I	I	I	I
38-7	—	I	—	III	I	—	III
38-8	—	I	I	I	I	I	I
38-12	—	—	—	I	I	I	I
38-13	I	I	I	I	I	I	I
39-1	—	I	I	—	I	I	I
39-2	—	—	I	I	I	I	I
39-6	—	II	II	—	III	III	III
39-13	—	I	I	I	I	I	I
40-3	I	I	I	—	—	III	III
40-4	—	—	—	—	—	III	III
40-7	—	—	—	—	—	—	—
40-11	—	I	I	I	I	I	I
40-12	—	I	I	I	I	I	I
40-17	—	I	I	I	I	I	I
40-19	I	I	I	—	—	III	III
41-2	—	II	II	—	III	III	III
41-4	—	II	II	—	III	III	III
41-7	—	I	I	I	I	I	I
41-9	—	—	I	—	—	III	III
41-14	—	—	I	I	I	III	III
41-20	—	—	—	—	—	III	III
Всего 23	3 зрелых (3 I)	16 зрелых (13 I : 3 II)	18 зрелых (15 I : 3 II)	12 зрелых (11 I : 1 III)	17 зрелых (14 I : 3 III)	21 зрелый (12 I : 9 III)	22 зрелых (12 I : 10 III)

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюгантов. ^b Прочерк — состояние незрелости.

ры, возможно, синхронизирующие изменения клеток в культуре и способные влиять на их дифференцировку по ТС.

Похожее поведение созревающих эксконьюгантных клонов наблюдали еще в двух скрещиваниях.

Скрещивания 13, 14: клоны № 14 и 2 (ТС II) с клоном № 155 (ТС III) (табл. 6, 7). В том и другом скрещивании получены потомки как ТС II, так и ТС III, что соответствует схеме, если предположить, что клоны № 14 и 2 гетерозиготны и имеют генотип *mat²/mat³*. Однако соотношение клонов этих двух типов изменяется во времени, при повторном тестировании эксконьюгантов на протяжении первых 23—25 нед после коньюгации: оно закономерно смещается в пользу ТС III. Смещение это обусловлено по крайней мере двумя причинами: большей задержкой созревания клонов с ТС III и — у некоторых клонов — сменой ТС II на ТС III. В итоге ко времени созревания всех клонов соотношение оказывается 10 ТС II : 17 ТС III в скрещивании № 14×155 (табл. 6) и 3 ТС II : 23 ТС III в скрещивании № 2 × 155 (табл. 7).

Явные отклонения от предложенной схемы генетического контроля ТС наблюдались и в других скрещива-

ниях. Так, при скрещивании трех разных клонов ТС III (№ 8, 12 и 28) с клоном № 11 (ТС I), который фигурировал в скрещиваниях № 1 и 5 и вел себя как гомозигота по *mat¹*, были получены следующие результаты.

Скрещивание 15—17: клон № 11 (ТС I) с клонами № 8, 12 и 28 (ТС III) (табл. 8). Хотя, по данным скрещиваний 1 и 5, клон № 11 может считаться гомозиготным по аллели *mat¹* и, следовательно, в потомстве от скрещиваний этого клона с клонами ТС III, казалось бы, должны быть только клоны ТС I, в действительности здесь появляются потомки рецессивных по отношению к ТС I типов III и, что совсем удивительно, II. Напомним, что эти скрещивания проводились с клонами, использованными и в скрещиваниях 1—9, с выращиванием синклонов. И отклонения от синклональности здесь наблюдались в 14 из 65 пар. Как мы теперь знаем, причиной этих отклонений могут быть не только явления типа цитогамии, но и изменение ТС в ходе созревания.

Еще в одной серии скрещиваний, результаты которых опубликованы ранее, мы тоже наблюдали «нерегулярное» наследование типов спаривания (Успенская, Юдин, 2003).

Скрещивание 18: клон Б (ТС I) с клоном Д (ТС III) (табл. 9). Всего было получено 24 одиночных эксконью-

Таблица 6

Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 14 (ТС II) с клоном № 155 (ТС III)

Клон	ТС клона при определении через разные сроки тестирования после коньюгации (нед) ^a						
	5-7	8-10	11-13	14-16	17-19	20-22	23-25
33-2	— ^б	III	III	III	III	III	III
33-7	—	II	II	II	—	III	III
33-8	—	—	—	II	II	II	II
33-12	—	—	—	—	III	III	III
33-17	III	III	III	III	—	III	III
34-1	—	III	III	III	III	III	III
34-4	—	III	III	III	III	III	III
34-5	—	II	II	II	II	II	II
34-9	—	III	III	III	—	III	III
35-3	II	II	II	II	II	II	II
35-7	—	—	II	II	II	II	II
35-8	—	—	III	III	III	III	III
35-9	—	—	II	II	II	II	II
35-11	II	II	II	II	II	II	II
35-13	—	—	III	III	III	III	III
36-14	—	—	II	—	III	III	III
36-15	III	III	III	—	III	III	III
36-16	—	—	II	II	II	II	II
37-1	—	II	II	II	II	II	II
37-3	II	—	III	—	II	II	II
37-5	II	—	III	III	III	III	III
37-7	III	—	III	III	III	III	III
37-9	—	—	—	II	II	II	II
37-10	—	—	—	III	III	III	III
37-11	II	II	—	III	III	III	III
37-16	—	—	—	III	III	III	III
37-19	—	—	—	III	III	III	III
Всего 27	8 зрелых (5 II : 3 III)	12 зрелых (6 II : 6 III)	20 зрелых (9 II : 11 III)	23 зрелых (10 II : 13 III)	24 зрелых (10 II : 14 III)	27 зрелых (10 II : 17 III)	27 зрелых (10 II : 17 III)

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюгантов. ^б Прочерк — состояние незрелости.

гантных клона F1. Из них 17 клонов при тестировании через 3—4 мес после их получения оказались уже зрелыми и все имели ТС II. Такими они оставались и при последующих тестированиях (последнее — через 19—20 мес после коньюгации). Результат объясним на качественном уровне, если клон Б был гетерозиготен по локусу *mat* (генотип *mat¹/mat²*). Соответственно клоны F1 с ТС II должны были иметь генотип *mat²/mat³*; отсутствие клонов с ТС I, т. е. генотипа *mat¹/mat³*, уже требует дополнительных допущений.

На фоне этих, так сказать «нормальных» по срокам своего созревания и по стабильности экспрессии своего типа спаривания, клонов F1 7 остальных клонов обнаружили задержку созревания и при дальнейшем тестировании вели себя необычным образом (табл. 9). Можно отметить по крайней мере следующие особенности этих «аномальных» клонов: а) задержка созревания; б) наступление у 6 созревших клонов вновь состояния незрелости, которое у 5 клонов сменилось вновь состоянием

зрелости; в) появление типов спаривания I и III, не обнаруженных у клонов, созревших в нормальные сроки; г) смена у 4 клонов одного ТС на другой; д) наличие в F1 всех трех ТС и в том числе ТС III, появление которого в данном скрещивании представляется невозможным, если принимать предлагаемую схему генетического контроля ТС. Другими словами, «аномальные» клоны F1 в этом скрещивании вели себя в многом так же, как и «аномальные» клоны в скрещивании № 12.

Для получения F2 были проведены возвратные скрещивания: пять «нормальных» клонов F1 (ТС II с предполагаемым генотипом *mat²/mat³* — см. выше) были скрещены с одним и с другим «родительскими» клонами — Б (ТС I), предполагаемый генотип *mat¹/mat²*, и Д (ТС III), предполагаемый генотип *mat³/mat³*. В этих скрещиваниях от каждого из 5 клонов F1 получили по 4—6 клонов-потомков.

Скрещивание 19: клоны F1 (Б × Д) (ТС II) с клоном Б (ТС I) (табл. 10). Удалось вырастить и протестировать

Таблица 7

Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 2 (ТС II) с клоном № 155 (ТС III)

Клон	ТС клона при определении через разные сроки тестирования после конъюгации (нед) ^a						
	5-7	8-10	11-13	14-16	17-19	20-22	23-25
30-5	— ^b	III	III	III	III	III	III
30-7	II	II	II	II	II	II	II
30-8	II	II	II	II	III	III	III
31-1	—	II	II	II	III	III	III
31-3	II	II	II	II	II	II	II
31-4	—	—	III	III	III	III	III
31-8	—	—	—	—	III	III	III
31-9	—	—	—	—	III	III	III
31-12	II	II	III	III	III	III	III
31-13	—	—	III	III	—	III	III
31-14	—	—	III	III	III	III	III
32-6	II	II	II	II	II	II	II
32-8	—	—	II	II	III	III	III
32-9	—	III	III	III	III	III	III
32-10	—	III	III	III	III	III	III
32-12	—	—	—	—	III	III	III
32-13	II	II	II	—	III	III	III
32-14	—	II	II	—	III	III	III
32-16	—	II	II	—	III	III	III
32-17	—	—	III	III	III	III	III
32-19	—	—	III	—	III	III	III
32-22	—	—	—	—	III	III	III
32-25	—	II	III	III	III	III	III
32-29	II	II	II	II	III	III	III
32-30	—	II	II	III	III	III	III
32-32	—	—	—	—	III	III	III
Всего 26	7 зрелых (7 II)	15 зрелых (12 II : 3 III)	21 зрелый (11 II : 10 III)	17 зрелых (7 II : 10 III)	25 зрелых (3 II : 22 III)	26 зрелых (3 II : 23 III)	26 зрелых (3 II : 23 III)

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюогантов. ^b Прочерк — состояние незрелости.

25 эксконьюогантных клонов от 25 пар коньюогантов. 24 клона при первом тестировании (через 3—4 мес после коньюогации) оказались уже созревшими. 20 из них имели ТС II и в дальнейшем стойко сохраняли его; таким образом, они были такими же «нормальными», как «нормальные» клоны F1 (см. скрещивание 18).

У еще 4 зрелых клонов был обнаружен ТС I (по предлагаемой схеме таких клонов должно было быть 50 %!), а 1 клон был к этому времени еще незрелым. При последующих тестированиях эти последние 5 клонов вели себя (табл. 10) во многом так же, как «аномальные» клоны F1.

Таблица 8

Тип спаривания в потомстве от скрещивания клона *Dileptus anser* № 11 (ТС I) с клонами № 8, 12 и 28 (ТС III)

Скрещивание	ТС в синклонах и одиночных клонах						
	всего синклонов	в том числе с ТС			всего одиночных клонов	в том числе с ТС	
		I : I	II : II	I : III		I	III
11(I)×8(III)	42	23	7	12	16	12	4
11(I)×12(III)	7	5	2	0	16	12	4
11(I)×28(III)	16	16	1	2	10	9	1

Таблица 9

Фенотип по ТС аномальных клонов F1 от скрещивания клона Б (ТС I) с клоном Д (ТС III) при последовательных тестированиях (по: Успенская, Юдин, 2003, табл. 1 на с. 511)

Клон	Зрелость и ТС при тестировании через разные сроки (мес) после коньюгации ^a				
	3—4	5—6	9—10	14—15	19—20
5-8	Спаривался только со стандартом ТС III ^b	II	Спаривался только со стандартом ТС III ^b	— ⁶	Клон утерян
5-14	То же	II	—	I	I
7-3	» »	I	—	II	II
8-7	» »	I	—	I	I
9-7	—	Спаривался только со стандартом ТС I ^b	III	III	II
10-21	Спаривался только со стандартом ТС III ^b	II	—	III	III
10-23	То же	—	I	I	I

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюгантов. ⁶ Прочерк — состояние незрелости. ^b Т. е. находился на «юношеской» стадии зрелости.

Таблица 10

Фенотип по ТС аномальных клонов F2 от скрещиваний F1 (Б×Д) (ТС II) с клоном Б (ТС I) при последовательных тестированиях (по: Успенская, Юдин, 2003, табл. 2 на с. 512)

Клон	Зрелость и ТС при тестировании через разные сроки (мес) после коньюгации ^a				
	3—4	5—6	9—10	14—15	19—20
11-5	I	Спаривался только со стандартом ТС II ^b	— ⁶	I	I
13-10	I	—	—	Спаривался только со стандартом ТС I ^b	II
17-4	—	Спаривался только со стандартом ТС I ^b	—	II	II
19-1	I	—	—	Спаривался только со стандартом ТС II ^b	I
19-6	I	—	Спаривался только со стандартом ТС II ^b	I	I

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюгантов. ⁶ Прочерк — состояние незрелости. ^b Т. е. находился на «юношеской» стадии зрелости.

Таблица 11

Фенотип по ТС аномальных клонов F2 от скрещиваний F1 (Б×Д) (ТС II) с клоном Д (ТС III) при последовательных тестированиях (по: Успенская, Юдин, 2003, табл. 3 на с. 512)

Клон	Зрелость и ТС при тестировании через разные сроки (мес) после коньюгации ^a				
	3—4	5—6	9—10	14—15	19—20
14-1	— ⁶	—	Спаривался только со стандартом ТС III ^b	I	I
14-2	II	—	Спаривался только со стандартом ТС I ^b	III	II
14-10	II	—	—	II	II
18-3	—	Спаривался только со стандартом ТС I ^b	III	II	I
20-2	—	То же	II	Спаривался только со стандартом ТС III ^b	I

^a Для ускорения созревания производили однократную фрагментацию эксконьюгантов. ⁶ Прочерк — состояние незрелости. ^b Т. е. находился на «юношеской» стадии зрелости.

Скрещивание 20: клоны F1 (Б × Д) (ТСII) с клоном Д (ТС III) (табл. 11). Было выращено 26 эксконьюогантных клонов. При первом их тестировании спустя 3—4 мес после получения эксконьюогантов 23 клона оказались уже зрелыми и имели ТС II (по схеме их должно было быть не более 50%). Из них 21 клон в дальнейшем стабильно сохранял этот ТС и мог в этом отношении считаться «нормальным». 2 других клона ТС II и еще 3, которые к этому времени оставались незрелыми, при последующих тестированиях обнаружили в том или ином отношении «аномальное» поведение (табл. 11). В частности, у одного из этих клонов (№ 18-3) был зафиксирован сначала ТС III, затем ТС II и в конце концов — ТС I.

Данные по «нормальному» потомству от этих трех последних скрещиваний в принципе можно объяснить исходя из предлагаемой схемы генного контроля. Но неизвестно отсутствие «нормальных» клонов с ТС I в F1 и в потомстве от F1 × Б, а также клонов с ТС III от F1 × Д. Появление во всех трех вариантах скрещиваний «аномальных» клонов со сходным фенотипом также заставляет предположить, что в этих скрещиваниях действовал какой-то дополнительный генетический фактор, который и ответствен за аномалии в поведении гибридного потомства. В связи с этим нельзя не отметить, что ранее, скрещивая те же клоны Б и Д, мы наблюдали в потомстве немендельевское наследование и другого признака — серотипов (Успенская, Юдин, 2000).

Обсуждение

Итак, с целью гибридологического анализа признака «тип спаривания» (ТС) у низшей инфузории *Dileptus anser* на протяжении ряда лет проведены скрещивания выделенных из природы клонов всех трех ТС, обнаруженных у этого вида. Получены результаты двойкого рода.

В части скрещиваний (1—12 — см. раздел «Результаты») наблюдали: 1) синклональное наследование признака в половых поколениях (в скрещиваниях 1—9); 2) доминирование ТС I над ТС II и ТС III, а ТС II — над ТС III; 3) расщепление по ТС, не отличающееся существенно от расщепления 1 : 1. Другими словами, имело место более или менее очевидное «менделирование» монофакториального признака. На этом основании была предложена уже упоминавшаяся выше гипотеза о механизме генетического контроля признака ТС у *D. anser* (Юдин, Афонькин, 1987). Согласно этой гипотезе, признак «тип спаривания» у инфузории *D. anser* в половых поколениях контролируется одним локусом (обозначим его *mat*) с тремя аллелями, обнаруживающими по отношению друг к другу серийное доминирование: *mat¹* > > *mat²* > *mat³*. Синклональное наследование и менделирование в скрещиваниях свидетельствуют о так называемом прямом генном контроле признака (Сигел, 1970).

Ближайшую аналогию этим результатам представляют, на наш взгляд, наследование и генетическая детерминация типов спаривания у инфузории *Tetrahymena pigmentosa*. По данным проведенного гибридологического анализа (Orrias, 1963; см. также: Gruchy, 1955), три ТС, описанных у этого вида (в то время — синген 8 *Tetrahymena pyriformis*), определяются тремя различными аллелями одного локуса. Эти три аллели можно расположить в линейный ряд по возрастающей доминантности. Саймон (Simon, 1980), продолжив гибридологический анализ ТС с двумя «подвидами» *T. pigmentosa* (прежними

сингенами 6 и 8 *T. pyriformis*), подтвердила выводы Ориаса о механизме детерминации ТС и о наследовании этого признака в половых поколениях и, кроме того, привела ряд данных в пользу того, что вегетативная распортировка, характерная для почти всех признаков *T. thermophila*, в том числе и ТС (Allen, Gibson, 1973; Sonneborn, 1975), у *T. pigmentosa* либо не происходит, либо происходит иначе, чем у *T. thermophila*.

Таким образом, оказывается, что системы генетической детерминации и наследования ТС для «нормальных» эксконьюогантных клонов у *T. pigmentosa* и для «нормальных» клонов *D. anser* весьма сходны. В обоих случаях у вида имеются три ТС, наследующихся при конъюгации синклонально и таким образом, как если бы они контролировались одним локусом с тремя аллелями, обнаруживающими серийное доминирование. Вместе с тем в данных Ориаса по тетрахименам имелись оставшиеся без объяснения отклонения от этой трактовки, которые выражались, в частности, в избытке сегрегантов типа II в скрещиваниях и в наличии небольшой фракции (5 %) клонов-селферов (Orrias, 1963).

Мы тоже наблюдали в ряде проведенных скрещиваний дилептусов, обычно с другими клонами, более или менее существенные отклонения от этой схемы — прежде всего отклонения от ожидаемых по схеме соотношений разных ТС в эксконьюогантном потомстве, вплоть до полного отсутствия некоторых из ожидаемых классов сегрегантов. Частично причины таких отклонений удалось вскрыть, когда стали прослеживать процесс созревания эксконьюогантных клонов во времени: было обнаружено явление нестабильности ТС у созревающих клонов (Успенская, Юдин, 2003). При повторных тестированиях эксконьюогантного потомства от данного скрещивания на протяжении более или менее продолжительного времени, в ходе его вегетативного размножения, у некоторых вроде бы уже созревших клонов наблюдали переход всего клона вновь в состояние незрелости (или частичной зрелости), а через некоторое время — возврат к состоянию зрелости, и такие переходы иногда повторялись неоднократно. Параллельно отмечали смену, иногда неоднократную, ТС у одного и того же недавно созревшего клона, причем в результате у него мог появиться ТС, вообще не ожидавшийся в потомстве от данного скрещивания, а у отдельных клонов поочередно проявлялись даже все три ТС (например, у клона № 18-3 — табл. 11).

Причины, обуславливающие нестабильность дифференцировки ТС у *D. anser*, пока неизвестны. В принципе они могут иметь очень разную природу. Нельзя исключить и эпигенетическую компоненту наследственного контроля ТС (в смысле, указанном Нэнни — Nanney, 1958, 1980; см. также: Jablonka, Lamb, 1999). Каковы бы ни были в нашем случае конкретные молекулярные механизмы эпигенетических изменений и их наследования, можно представить себе, что типы спаривания у дилептусов находятся под контролем сложного локуса, кодирующего потенции для всех трех ТС, встречающихся у этого вида. Этот локус наследуется как целое и сохраняет свою сложность в макронуклеусе. Однако он способен претерпевать эпигенетическую дифференцировку по принципу взаимного исключения (Nanney, 1958), в результате которой активируется только одна из трех закодированных в нем генетических потенций, а две другие остаются неактивными. В результате такой дифференцировки возникают три эпигаллели этого сложного локуса, определя-

ющие ТС I, ТС II или ТС III. Степень стабильности такой дифференцировки может по не понятным пока причинам варьировать. Если дифференцировка стабильна, эпигенетические аллели функционально ведут себя как обычные аллели генетического локуса (возникающие мутационным путем) — имеет место обычное менделевское признаком с серийным доминированием, монофакториальным расщеплением и др. Если же эпигенетическая дифференцировка локуса более или менее нестабильна, то возможно переключение активности сложного локуса с одной потенции на другую (своего рода эпимутации). При этом может нарушаться картина обычного менделевского расщепления и т. п.

Похоже, что у дилептусов такая нестабильность эпигенетической дифференцировки проявляется в основном или даже исключительно в период полового созревания и в начальный период зрелости; возможно, она индуцируется процессами, сопровождающими скрещивание. У *T. pigmentosa* состояние нестабильности по ТС, проявляющееся в селфинге, сохраняется, по-видимому, значительно дольше. «Анализ селлеров показывает, что в редких клонах макронуклеусы на протяжении вегетативной жизни сохраняют способность регенерировать альтернативные ТС-специфичности. Результаты скрещиваний приводят к мнению, что такое скрытое сохранение всех неэкспрессирующихся ТС-специфичностей возможно и в макронуклеусе. Все три *mat*-аллели могут появляться в скрещиваниях между родителями, чьи предполагаемые генотипы не допускают этого» (Simon, Orias, 1987, p. 446).

Роль эпигенетических факторов в генетическом контроле ТС у инфузорий хорошо известна (см. обзоры: Bleymann, 1996, и др.). В качестве одного из наиболее ярких примеров и прямой (генетической), и непрямой (эпигенетической) детерминации ТС нередко приводят *T. thermophila*. Здесь, как пишет Блейман, «генетическая детерминация контролируется локусом типа спаривания, *mat*, который содержит информацию для семи возможных типов спаривания (Nanney, 1956). Наследуются потенции (Nanney, 1964), но действительная окончательная (т. е. эпигенетическая) детерминация является функцией процессинга ДНК в макронуклеусе, как предположил Ориас (Orias, 1981)» (Bleymann, 1996, p. 305). Сложную, комплексную природу локуса *mat* мы предполагаем и у дилептусов на основании результатов проведенных скрещиваний.

С этим, очевидно, тесно связан и вопрос о природе локуса *mat* у *D. anser*. Дилептусы относятся к тем относительно немногочисленным известным видам инфузорий, которые экскретируют в окружающую среду специфические сигнальные пептиды — феромоны спаривания (Юдин и др., 1990). Соответственно тип спаривания особи у таких видов определяется тем, какие феромоны спаривания эта особь синтезирует и выделяет во внеклеточную среду и какие способна рецептировать. Однако отсюда не следует, что локус *mat*, выявляемый в результате гибридологического анализа, является локусом, кодирующим феромоны спаривания; он может быть локусом, регулирующим экспрессию локуса, кодирующего молекулу феромона.

В целом картина генетического контроля типов спаривания у низшей инфузории *D. anser* оказалась достаточно сложной и нуждается в дальнейшей разработке.

В сборе материала, проведении и анализе скрещиваний принимал участие С. Ю. Афонькин.

Авторы благодарят Е. Е. Махлина, прочитавшего рукопись и давшего полезные советы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российской фонда фундаментальных исследований (проект 02-04-49675).

Список литературы

- Афонькин С. Ю., Парфенова Е. В. 1989. цАМФ — возможный вторичный посредник в системе трансдукции межклеточных коммуникационных сигналов — феромонов спаривания у инфузории *Dileptus anser*. ДАН СССР. 306 (4) : 1008—1011.
- Афонькин С. Ю., Сквородкин И. Н. 1986. Тип спаривания клонов *Dileptus anser* не изменяется после процесса инцистирования—эксцистирования. Цитология. 29 (3) : 372—375.
- Афонькин С. Ю., Юдин А. Л. 1985. Использование микрокамер для иммунологических реакций с целью клонирования свободноживущих простейших. Цитология. 27 (10) : 1207—1209.
- Винникова Н. В. 1975. Ядерный аппарат инфузории *Dileptus anser* (*Gymnostomatida*) и его реорганизация при делении и конъюгации: Автореф. канд. дис. Л. 20 с.
- Винникова Н. В., Тавровская М. В. 1973. Некоторые данные по конъюгации инфузории *Dileptus anser*. В кн.: Структура, функция и реактивность клеток. Л.; Наука. 43—46.
- Деркач К. В. 2003. Структурно-функциональная организация аденилатциклазной сигнальной системы инфузорий *Dileptus anser* и *Tetrahymena pyriformis*: Автореф. канд. дис. СПб. 22 с.
- Николаева Г. В. 1968. Методика культивирования *Dileptus*. Цитология. 10 (12) : 1603—1605.
- Орловская Э. Э. 1984. Влияние температуры на пищевую хемочувствительность хищной инфузории *Dileptus anser*. Журн. эволюц. биохим. физiol. 20 (3) : 272—275.
- Сигел Р. У. 1970. Генетическая обусловленность типов спаривания у инфузорий. Онтогенез. 1 (2) : 157—165.
- Тавровская М. В. 1976. Внутривидовая физиологическая дифференцировка у инфузории *Dileptus anser* (отр. *Gymnostomatida*, сем. *Trachelidae*). В кн.: Матер. II Всесоюз. съезда протозоологов. Ч. I. Киев: Наук. думка. 133—134.
- Тавровская М. В. 1989. Внутрипопуляционная физиологическая дифференцировка у инфузории *Dileptus anser*. В кн.: Экология морских и пресноводных простейших. Ярославль. 68.
- Успенская З. И. 2002. Серотипы у низшей инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 44 (3) : 305—313.
- Успенская З. И., Юдин А. Л. 1996. Влияние актиномицина D на процесс трансформации серотипа у инфузории *Dileptus anser*. Генетика. 32 (3) : 379—385.
- Успенская З. И., Юдин А. Л. 2000. Наследование серотипов в эксконьюгантном потомстве инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 42 (11) : 1103—1110.
- Успенская З. И., Юдин А. Л. 2003. Типы спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Генетическая нестабильность в системе типов спаривания. Цитология. 45 (5) : 510—514.
- Успенская З. И., Юдин А. Л. 2004. Типы спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Ускорение полового созревания после микрургической фрагментации эксконьюгантных клеток. Цитология. 46 (7) : 659—665.
- Юдин А. Л., Афонькин С. Ю. 1987. Генетическая детерминация и наследование типов спаривания у инфузории *Dileptus anser* (*Gymnostomatida*, *Holotrichia*). В кн.: Современные проблемы протозоологии. Л.: Наука. 32.
- Юдин А. Л., Афонькин С. Ю., Парфенова Е. В. 1990. Феромоны спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 32 (2) : 107—116.
- Afon'kin S. Yu. 1991. Cell-cell recognition in *Dileptus*. The dynamics of homo- and heterotypic pair formation during conjugation. Acta protozool. 30 : 93—98.

- Afon'kin S. Yu., Yudin A. L. 1987. Distribution of *Dileptus anser* (Ciliata, Holotrichia, Gymnostomatida) of various genotype for *mat* locus in the concentration gradients of their gamones. *Acta protozool.* 26 : 91—100.
- Allen S. L., Gibson I. 1973. Genetics of *Tetrahymena*. In: Biology of Tetrahymena. Stroudsburg; Pennsylvania; Dowden, Hutchinson and Ross. 307—373.
- Bleyman L. K. 1996. Ciliate genetics. In: Ciliates: cells as organisms. Stuttgart etc.: Gustav Fischer Verlag. 291—324.
- Dini F., Nyberg D. 1994. Adolescence and reversibility of maturity in *Euplotes crassus*. *J. Euk. Microbiol.* 41 : 373—380.
- Doroszewski M., Dryl S. 1976. Motor response of *Dileptus anser* and *Dileptus anatinus* to cell bisection. *Acta protozool.* 15 : 249—253.
- Drzewinska J., Golinska K. 1987. Relationship between the size of cell and the number of its ciliary rows in the ciliate *Dileptus*. *Acta protozool.* 26 : 19—30.
- Gruchy D. F. 1955. The breeding system and distribution of *Tetrahymena pyriformis*. *J. Protozool.* 2 : 178—185.
- Jablonka E., Lamb M. J. 1999. Epigenetic inheritance and evolution. The Lamarckian dimension. New York: Oxford Univ. Press. 346 p.
- Miyake A. 1996. Fertilization and sexuality in ciliates. In: Ciliates: cells as organisms. Stuttgart etc.: Gustav Fischer Verlag. 243—290.
- Nanney D. L. 1956. Caryonidal inheritance and nuclear differentiation. *Amer. Naturalist.* 90 : 291—307.
- Nanney D. L. 1958. Epigenetic control systems. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 44 : 712—717.
- Nanney D. L. 1964. Macronuclear differentiation and subnuclear assortment in ciliates. In: Locke M. (Ed.). Role of chromosomes in development. New York: Acad. Press. 253—273.
- Nanney D. L. 1980. Experimental ciliatology. An introduction to genetic and developmental analysis in Ciliates. New York etc.: John Wiley and Sons. 304 p.
- Orias E. 1963. Mating type determination in variety 8, *Tetrahymena pyriformis*. *Genetics.* 48 : 1509—1518.
- Orias E. 1981. Probable somatic DNA rearrangements in mating type determination in *Tetrahymena thermophila*: a review and a model. *Develop. Genet.* 2 : 185—202.
- Simon E. M. 1980. Mating-type inheritance and maturity times in crosses between subspecies of *Tetrahymena pigmentosa*. *Genetics.* 94 : 93—113.
- Simon E. M., Orias E. 1987. Genetic instability in the mating type system of *Tetrahymena pigmentosa*. *Genetics.* 117 : 437—449.
- Sonneborn T. M. 1937. Sex, sex inheritance and sex determination in *Paramecium aurelia*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 23 : 378—385.
- Sonneborn T. M. 1975. *Tetrahymena pyriformis*. In: Handbook of genetics. New York: Plenum Press. 2 : 433—467.
- Vinnikova N. V. 1976. Conjugation in the ciliate *Dileptus anser*. I. Ultrastructure of micronuclei during mitosis and meiosis. *Protozoologica.* 12 : 7—24.
- Wirnsberger E., Foissner W., Adam H. 1984. Morphologie und Infraciatur von *Perispira pyriformis* nov. spec., *Cranotheridium foliosus* (Foissner, 1983) nov. comb. und *Dileptus anser* (O. F. Müller, 1786) (Protozoa, Ciliophora). *Arch. Protistenk.* 128 : 305—317.

Поступила 17 XI 2005

MATING TYPES IN THE CILIATE *DILEPTUS ANSER*. INHERITANCE AND GENETIC DETERMINATION

A. L. Yudin, Z. I. Uspenskaya

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: alyudin@mail.ru

Hybridological analysis of mating types (MTs) has been first made for the lower ciliate *Dileptus anser*. Clones of an initially unknown genotype belonging to three MTs (MT I, MT II and MT III), characteristic of *D. anser*, were isolated from natural reservoirs and further used for crosses. In one group crosses, synclonal inheritance and typical Mendelian behaviour of the character were observed over sexual generations of ciliates. The results suggest that MTs in *D. anser* may be directly controlled by a single *mat* locus with three alleles showing peck-order dominance ($mat^1 > mat^2 > mat^3$). In other words, cells with mat^1/mat^1 , mat^1/mat^2 and mat^1/mat^3 genotypes belong to MT I, those with mat^2/mat^2 and mat^2/mat^3 , and the mat^3/mat^3 belong to MT II and MT III, respectively. Sexually mature exconjugant clones stably retain their MTs corresponding to their genotypes on vegetative reproduction. The progeny of other group crosses showed various deviations from typical Mendelian behaviour of the character. In some cases, standard Mendelian ratios were more or less violated. Most typical was instability of differentiation for MT in maturing exconjugant clones. Shortly after their maturation, the majority of clones change their MT, rather frequently more than once, although the finally established MT is stably inherited afterwards, during vegetative reproduction. When unstable, exconjugant clones can successively express two or even three MTs characteristic of this species, including MTs that should not have been expected on the basis of parental genotypes available in a given cross. It looks likely that the *mat* locus in *D. anser* is complex and multipotential; it is inherited as a whole providing for expression of any MT characteristic of the species (in this respect bearing similarity with *Tetrahymena thermophila*). Other mechanisms, epigenetic in particular (Nanney, 1958), determine the final expression of one of the three MT potentialities by a given exconjugant clone. Stable, persistent functioning of these mechanisms ensures a stable differentiation for MT and Mendelian behaviour of the character in sexual generations and in crosses. Any disturbances in differentiation control may trigger MT instability in maturing exconjugant clones and violation of regular Mendelian behaviour.