

ДЛИНА ТЕЛОМЕРНОЙ ДНК И ФИЛОГЕНИЯ БАЙКАЛЬСКИХ И СИБИРСКИХ ПЛАНАРИЙ (TURBELLARIA, TRICLADIDA)

© А. Г. Королева,^{1,*} Е. В. Евтушенко,² О. А. Тимошкин,¹
А. В. Вершинин,² С. В. Кирильчик¹

¹Лимнологический институт СО РАН, Иркутск,
и ²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск;
*электронный адрес: takonedo.bb@mail.ru

Исследованы динамика длины теломерной ДНК (тДНК) у байкальских и сибирских планарий и филогения этой группы организмов на основе анализа фрагментов генов 18S рДНК и бета-актина. Установлена связь между длиной тДНК и размерами тела планарий. Гигантские планарии, за небольшим исключением, имеют в среднем более длинную тДНК, чем планарии небольшого размера. Прослеживается филогенетическое родство между видами, имеющими большие размеры, протяженные треки тДНК и схожую среду обитания, что может указывать на возможную роль тДНК в проявлении высокой регенерационной способности планарий.

Ключевые слова: планарии, Байкал, длина теломерной ДНК, филогенетический анализ, актин, 18S рРНК.

Принятые сокращения: п. н. — пары нуклеотидов, т. п. н. — тысяча пар нуклеотидов, тДНК — теломерная ДНК, TRF — терминальные фрагменты рестрикции.

Плоские черви — это тип беспозвоночных животных, большинство представителей которого являются паразитами. К свободноживущим плоским червям относится класс Turbellaria, или ресничные черви, которые довольно широко распространены как в пресных, так и в соленых водоемах мира. Самая многочисленная и своеобразная фауна ресничных червей обнаружена в озере Байкал, в котором к настоящему времени описано 164 вида, 98,8 % из них являются эндемиками озера (Тимошкин, 2005). Для сравнения в озере Бива, самом большом пресноводном оз. Японии, обнаружено 36 видов турбеллярий, и всего 3 из них являются эндемиками (Nakajima, Nakai, 1994; Timoshkin et al., 2011). Наиболее известными среди турбеллярий являются представители отряда Tricladida, или планарии, которые уже долгое время используются как модельные объекты при исследовании онтогенеза, регенерации, клеточной памяти и процессов эволюции. В этом отряде по экологическому принципу выделяют три группы — наземные, морские и пресноводные черви. Пресноводные включают в себя три семейства — Dugesiidae, Planariidae и Dendrocoelidae, последние два имеют более близкие родственные связи между собой (Baguna, Riutort, 2004).

Из 164 видов байкальских турбеллярий около 40 принадлежат к отряду Tricladida. По морфологии глотки их относят к семейству Dendrocoelidae. Это, как правило, хищные бентосные животные, которые обитают на разных глубинах (от нескольких десятков сантиметров до 1500 м). На больших глубинах обитает 17 видов, и практически все они являются червями — гигантами со средним размером 12—14 см в длину, а *Baikaloplana valida* может достигать 40 см (Порфириева, 1977; Тимошкин,

2005). Филогенетические исследования некоторых представителей этой группы организмов, основанные на анализе фрагмента гена 18S pРНК (Кузнеделов и др., 1996), выявили некоторые несоответствия с филогенией, основанной на морфологических данных (Порфириева, 1977). Например, виды рода *Sorocelis* не образовали единого кластера, хотя морфология их половых аппаратов очень близка, а внутри рода *Baikalobia* изменились представления о родстве между близкими видами.

Планарии, обладающие уникальным свойством, а именно высокой регенерационной способностью, представляют большой интерес в качестве объектов для исследования молекулярных процессов и структур, участвующих в проявлении этого свойства. Планарии способны размножаться как половым, так и бесполым путем, что предполагает существование различных механизмов поддержания постоянства числа и структуры хромосом. В связи с этим большое значение приобретает знание молекулярной организации теломер — районов хромосом, непосредственно участвующих в процессах сохранения постоянного размера и числа хромосом в процессах индивидуального развития и регенерации. С помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) было показано, что ДНК планарий на концах хромосом содержит короткий повтор TTAGGG (Hirai, LoVerde, 1996; Joffe et al., 1996), который, по-видимому, является базовым повтором для всех Metazoa (Traut et al., 2007). В пределах одного вида — европейской планарии *Schmidtea mediterranea* (Dugesiidae) — у двух линий с половым и бесполым размножением были выявлены различия как в длине теломерной ДНК (тДНК), так и в способности ее поддержания в процессе регенерации (Tan et al., 2012).

Структура, размеры и организация тДНК у планарий оз. Байкал до сих пор практически не изучена. В статье Королевой и соавторов (2010) сообщается о длине тДНК у некоторых видов байкальских планарий. В настоящей работе мы расширили набор видов с целью выявления возможной связи длины тДНК с размерами тела у исследуемых организмов. Кроме того, мы использовали данные о размерах тДНК и последовательностей фрагментов генов 18S рДНК (*18S rPHK*) и актина (*ACT*) для анализа филогенетических отношений у видов байкальских планарий сем. *Dendrocoelidae* и одного сибирского вида сем. *Planariidae*.

Материал и методика

Были проанализированы представители 11 видов планарий, принадлежащих двум семействам: *Dendrocoelidae* (*Baikalobia guttata*, *B. copulatrix*, *B. variegata*, *Rimacephalus arecepta*, *R. pulvinar*, *Sorocelis hepatizon*, *S. nigrofasciata*, *Protocotylus* sp., *Baikaloplana valida*, *Bdellocephala baikalensis*) и *Planariidae* (*Phagocata sibirica*). Все исследуемые виды первого семейства являются эндемиками оз. Байкал, исключение составляет род *Bdellocephala*. Вид *P. sibirica* тоже не эндемичен, он обитает в небольших речках с проточной водой в различных районах Сибири, поэтому мы его обозначаем как сибирский. Особи были собраны в разных районах оз. Байкал (залив Большие Коты, Лиственничный залив, Чивыркуйский залив, Селенгинское мелководье) и в прибрежных реках и ручьях (р. Большие Коты, ручей Жилище) на разных глубинах (от 10 см до 1500 м).

Геномная ДНК из тканей планарий была выделена стандартным методом фенол-хлороформной экстракции с использованием протеиназы K (Sambrook et al., 1989) с некоторыми модификациями. Для измерения средней длины теломер использовали анализ терминалных фрагментов рестрикции (TRF). Тотальную ДНК (1 мкг) подвергали рестрикции с помощью смеси мелкощепящих рестриктаз *HinfI* и *RsaI* и разделяли посредством пульс-электрофореза в аппарате CHEF-DR III (Bio-Rad, США) в 1%-ном агарозном геле и 0.5-кратном ТВЕ при 14 °С: начальный импульс 0.5, конечный — 4 с, при напряжении 6 В/см² в течение 16 ч. Фрагменты ДНК переносили на нейлоновую мембрану и гибридизовали по Саузерну с радиоактивно меченным зондом в стандартных условиях согласно протоколу фирмы-производителя. Фрагмент тДНК (*TTAGGG*)₁₅ для блот-гибридизации метили [α -³²P]-дАТФ (~ 2.22 · 10¹⁴ Бк/ммоль, ФГУП «ИРМ», Россия) методом статистической затравки (Feinberg, Vogelstein, 1983). Анализ длины тДНК осуществляли по маркерам молекулярной массы в программе Image Quant TL v.2005.

Амплификацию *18S rPHK* и *ACT* проводили методом ПЦР в 10 мкл реакционной смеси, содержащей в конечной концентрации 2.5 ММ хлористого магния, 0.2 ММ каждого dNTP, 1 пмоль каждого праймера, 10—50 нг тотальной ДНК и 0.1—0.2 ед. активной Таq-полимеразы (ООО Лаборатория Медиген) для гена *18S rPHK* и 0.1—0.2 ед. активной HS Таq-полимеразы (ЗАО Евроген) для гена *ACT*. Амплификацию осуществляли 40-кратным повторением стадий в следующей последовательности: 94 °С — 20 с, 53 °С — 20 с и 72 °С — 60 с для *18S rPHK* и 94 °С — 15 с, 60 °С — 15 с и 72 °С — 60 с для *ACT*. Для амплификации гена *18S rPHK* использовали праймеры 5'-TACCTGGTTGATCCTGCCAGTA-3' (прямой) и 5'-ATTACCGCGCTGGCAC-3' (обратный) (Кузнеделов и др., 1996). Праймеры на *ACT* байкальских планарий были

подобраны по консервативным участкам выровненных последовательностей разных организмов, взятых из базы данных NCBI, в числе которых была последовательность фрагмента гена бета-актина планарии *Dugesia ryukyuensis* (AB292462). Структура праймеров следующая: 5'-CATGGAGAAGATCTGGCATCA-3' (прямой) и 5'-TTAGAAAGATTACGGTGAAC-3' (обратный). ПЦР-продукты очищали с использованием колонок (компании GE Healthcare и ООО Цитокин) и секвенировали с этими же праймерами.

Выравнивание нуклеотидных последовательностей обоих генов осуществляли в программе ClustalW1.6 (Thompson et al., 1994) и корректировали вручную. Подходящая модель эволюции нуклеотидных последовательностей была выбрана при помощи программы jModelTest (0.1.1) (Posada, 2008) на основании информационного критерия Акаике (AICc). Реконструкции филогенетических деревьев по каждому гену отдельно и их комбинации производили в программе MrBayes (3.1.2) (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) с использованием модели GTR + I + G с гамма-распределением скорости замен (G) и учетом инвариантных сайтов (I) на основе критерия Байеса и метода максимального правдоподобия. Цепи Маркова (MCMC) рассчитывали в течение 10 000 000 поколений (4 цепи параллельно) с частотой записи параметров каждые 100 поколений. Первые 2 500 000 поколений использовали для стабилизации метода правдоподобия, а остальные — для оценки апостериорной вероятности. Критерием достоверности служила апостериорная вероятность, превышающая 95 %. Кроме того, реконструкцию деревьев проводили в пакете программ MEGA (4.0.2), где использовали метод ближайших соседей (Neighbor-Joining) и модель Кимура-2-параметра с дополнительным бутстреп-анализом (1000 репликаций). С помощью обоих методов (максимального правдоподобия и ближайших соседей) были получены деревья схожей топологии. Все деревья графически редактировали в MEGA (4.0.2).

Использовали следующие реагенты: агарозу LE2, нейлоновую мембрану Hybond XL (GE Healthcare, Amersham, США), протеиназу K (Sigma, США), маркеры размеров ДНК 1kb Plus DNA Ladder (Fermentas, Литва), 8—48 (Bio-Rad, США).

Результаты

На рис. 1 представлены результаты TRF-анализа представителей сем. *Dendrocoelidae* — *B. guttata*, *B. copulatrix*, *B. variegata*, *R. arecepta*, *R. pulvinar*, *S. hepatizon*, *S. nigrofasciata*, *Protocotylus* sp., *B. valida*, *B. baikalensis* и одного сибирского вида сем. *Planariidae* — *P. sibirica*. Длина тДНК варьирует между видами разных родов, а также внутри одного рода (роды *Baikalobia*, *Sorocelis*, *Rimacephalus*). Максимальный размер длины колеблется от 9.5 до 34 т. п. н. Вследствие существенной межхромосомной гетерогенности учитывали как максимальную, так и среднюю длину тДНК, которой соответствовал участок наибольшей плотности при радиоавтографии. В таблице представлены эти значения, а также размер тела исследованных образцов планарий.

Анализ соотношения размера тела планарий и максимальной длины их тДНК (рис. 2) позволил выявить определенную закономерность: виды-гиганты в среднем характеризуются более длинной тДНК. Эта закономерность подтверждается высокими значениями коэффициентов корреляции ($R = 0.73$) и детерминации ($R^2 = 0.53$).

Полученные нуклеотидные последовательности фрагментов генов 18S рPHK (по одному образцу для каждого

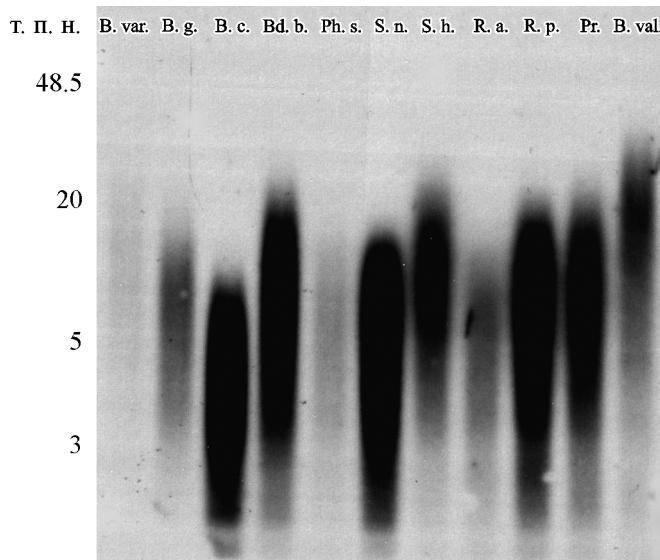


Рис. 1. Длина тДНК у 11 видов планарий: *Baikalobia variegata* (B. var.), *Baikalobia guttata* (B. g.), *Baikalobia copulatrix* (B. c.), *Bdellocephala baikalensis* (Bd. b.), *Phagocata sibirica* (Ph. s.), *Sorocelis nigrofasciata* (S. n.), *Sorocelis hepatizon* (S. h.), *Rimacephalus arecepta* (R. a.), *Rimacephalus pulvinar* (R. p.), *Protocotylus* sp. (Pr.), и т. п. *Baikaloplana valida* (B. val.).

Слева показаны значения маркера мол. массы в т. п. н.

вида, последовательность *18S rPHK* для *B. guttata* была взята из базы данных NCBI — Z99946) и актина (от 1 до 7 образцов для вида) использовали для филогенетического анализа. Длина фрагментов составляет 540 и 712 п. н., соответственно. Для *ACT* максимальное значение дивергенции в пределах исследуемой группы равно 0.23. Уровень внутривидового генетического полиморфизма (π) этого фрагмента составляет: 0.01 для *B. guttata*, 0.001 для *B. variegata*, 0.004 для *B. valida*, 0.001 для *P. sibirica*, 0.018 для *Protocotylus* sp., 0.003 для *R. pulvinar*. У представителей *R. arecepta*, *B. copulatrix*, *S. hepatizon* и *S. nigrofasciata* нуклеотидные последовательности *Act* в пределах видов идентичны. Максимальное значение дивергенции среди исследованных видов для *18S rPHK* равно 0.08, что значительно меньше этого показателя для *Act*.

Длина тела, средняя и максимальная длина тДНК у исследованных видов планарий

Вид	Длина тела, см	Средняя длина тДНК, т. п. н.	Максимальная длина тДНК, т. п. н.
<i>Baikalobia variegata</i>	2.5—2.8	10	21
<i>B. guttata</i>	1.8—2	8	12
<i>B. copulatrix</i>	2.5	4	9.5
<i>Bdellocephala baikalensis</i>	3—4	5.5	20.5
<i>Phagocata sibirica</i>	2	7	11.2
<i>Sorocelis nigrofasciata</i>	2—2.2	4.5	13.5
<i>S. hepatizon</i>	7	9.3	22.6
<i>Rimacephalus arecepta</i>	12	7	11
<i>R. pulvinar</i>	11	9	20
<i>Protocotylus</i> sp.	10	9	25
<i>Baikaloplana valida</i>	15—40	18.6	34

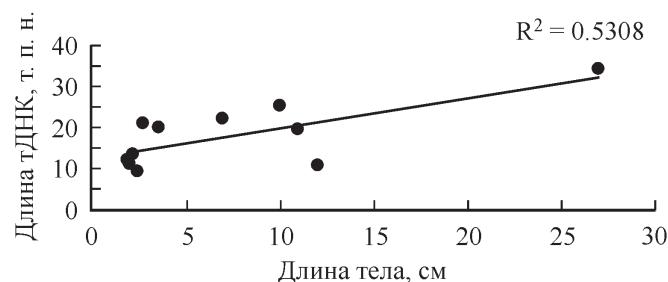


Рис. 2. Корреляция между длиной теломерной ДНК (тДНК) и длиной тела у исследуемых видов планарий.

Последовательности *18S rPHK* у представителей видов *B. valida*, *R. pulvinar*, *R. arecepta* и *Protocotylus* sp. идентичны, для остальных видов наблюдали различия. Соотношение количества транзиций/трансверсий для обоих фрагментов равнялось примерно 1.

Уровень поддержки ветвей древа *18S rPHK* невысокий (рис. 3, а). Очевидно, что это связано с высокой консервативностью этого гена. В целом по древу *18S rPHK* можно выделить три кластера: 1) виды *B. baikalensis* и *P. sibirica*; 2) представители рода *Baikalobia*; 3) представители разных родов: *Sorocelis*, *Rimacephalus*, *Baikaloplana*, *Protocotylus*, которые не выделяются в отдельные подкластеры.

Филогенетическое древо по последовательностям *ACT* (рис. 3, б) является более информативным, чем по *18S rPHK*. Это выражается, в частности, в отсутствии нулевых генетических расстояний между видами и в более высоких значениях поддержки внутренних ветвей. В древе, так же как и для *18S rPHK*, можно выделить 3 кластера. Первый кластер составляет один вид — *P. sibirica*, последовательность *Act* для *B. baikalensis* не была получена. В кластере 2 виды *B. guttata* и *B. copulatrix* являются филогенетически близкими, а вид *B. variegata* значительно удален от них, образуя отдельную ветвь. В пределах кластера 3 выделяется подкластер, образованный видами рода *Rimacephalus*. Все указанные кластеры и подкластеры имеют высокую статистическую поддержку. Виды *S. hepatizon* и *S. nigrofasciata* относятся к разным подкластерам, что согласуется с полученными ранее данными (Кузнеделов и др., 1996).

Полагая, что реконструированное по обеим последовательностям (*18S rPHK* и *ACT*) древо более надежно отражает филогенетические отношения исследуемых видов, мы сопоставили его со значениями длины тДНК и размеров тела (рис. 4). Представители кластеров 2 и 3 отличаются друг от друга по обоим параметрам.

Обсуждение

Попытки использовать размер тДНК в качестве молекулярного маркера в филогенетических исследованиях предпринимались (Gomes et al., 2011), но дали противоречивые результаты, что характерно для признаков, в контроле за которыми участвуют многочисленные генные комплексы. Несмотря на это, мы полагали, что поиск возможной корреляции между длиной тДНК и размером тела, так же как и возможность использования этих признаков для уточнения филогенетических связей, представляют особый интерес в силу специфических особенностей выбранного объекта, о чём упоминалось в начале работы.

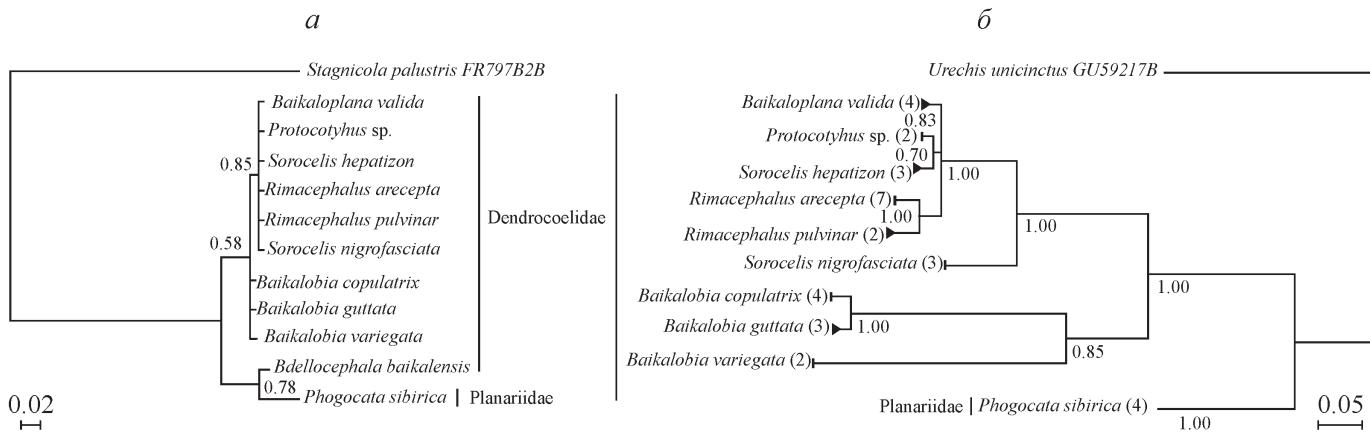


Рис. 3. Филогенетические отношения между исследованными видами планарий.

a — дерево, реконструированное по фрагменту гена 18S рДНК, в качестве внешней группы взята последовательность гена 18S рPHK (FR797828) моллюска *S. palustris*; *б* — дерево, реконструированное по актину, в качестве внешней группы взята последовательность гена актина (GU592178) эхиуры *U. unicinctus*. В скобках указано число полученных нами последовательностей разных особей одного и того же вида. Здесь и на рис. 4 в точках ветвления указаны значения апостериорной вероятности. Линейки демонстрируют генетические расстояния.

Сравнение значений длины тДНК у эндемичных видов байкальских планарий, имеющих различный размер тела (рис. 1; см. таблицу), позволяет предполагать наличие положительной корреляции между этими параметрами, что подтверждается значением коэффициента корреляции (рис. 2). Широко распространенный в различных районах Сибири вид *P. sibirica* с небольшим размером тела имеет и небольшую длину тДНК. Имеющиеся в литературе данные о зависимости длины тДНК и размеров тела организмов, так же как и в случае применения этих параметров для филогенетии, указывают на противоречивые тенденции.

Проведенный нами корреляционный анализ показал, что у зайцеобразных (Forsyth et al., 2005) и у хвойных растений (Flanary, Kletetschka, 2005), так же как и у байкальских планарий, существует положительная корреляция между этими параметрами ($R = 0.8$ и $R = 0.6$ соответ-

ственно). Однако отрицательная корреляция между длиной тДНК и массой тела была обнаружена у грызунов: крупные животные имели небольшую длину тДНК ($R = -0.5$) (Seluanov et al., 2007). У птиц и приматов корреляция между размерами тела и длиной тДНК по нашим подсчетам была слабой ($R = 0.3$) (Bhatnagar et al., 1995; Delany et al., 2000; Steinert et al., 2002; Salomons et al., 2009), а у муравьев отсутствовала вообще ($R = -0.08$) (Lorite et al., 2007). Таким образом, обнаруженная нами тенденция в присутствии длинных треков тДНК у крупных планарий оз. Байкал, вероятно, связана с возможным адаптивным значением этой характеристики, имеющей важное значение для формирования высокой регенерационной способности, свойственной этим организмам.

Проведенный нами филогенетический анализ (рис. 3, *a*, *б*) выявил определенную связь между эволюцией длины тДНК

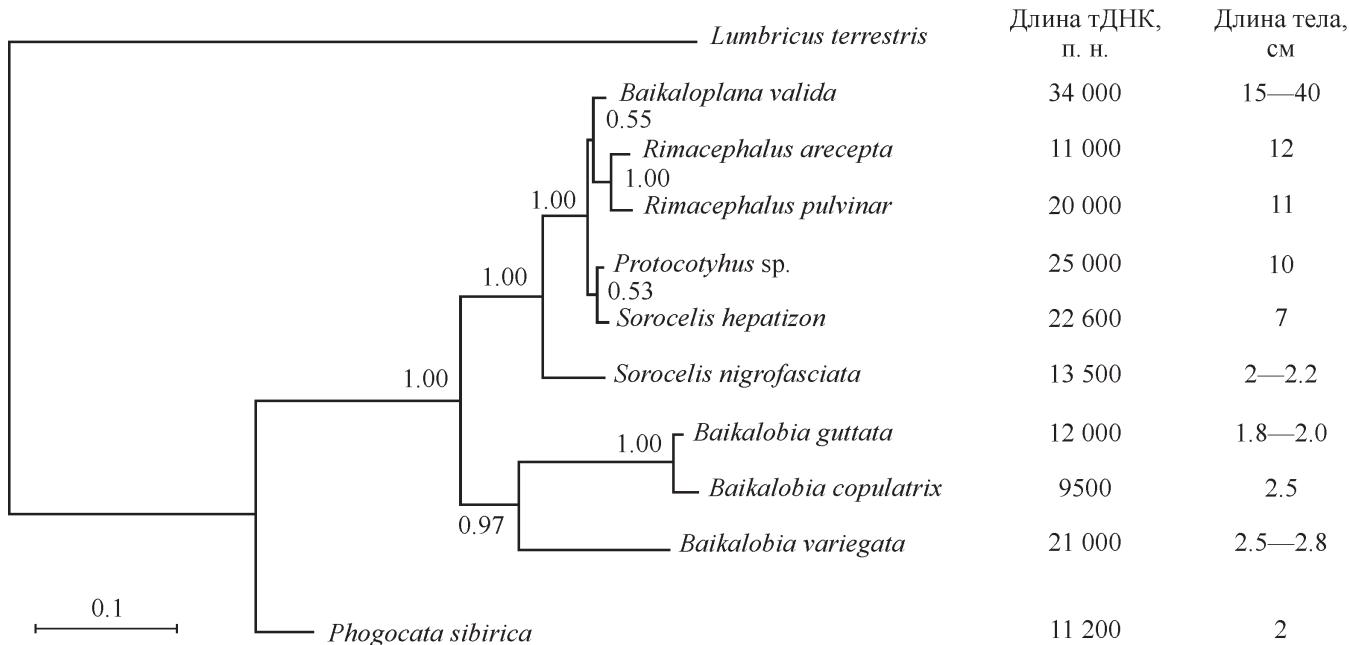


Рис. 4. Дерево, реконструированное по совмещенным последовательностям 18S рPHK и актина.

В качестве внешней группы взяты последовательности генов 18S рPHK (HQ691211) и актина (X96515) дождевого черва *L. terrestris*.

и эволюцией длины тела планарий. Как видно на рис. 4, виды-гиганты, обитающие на больших глубинах (*S. hepatizon*, *R. arecepta*, *R. pulvinar*, *B. valida* и *Protocotylus* sp.), образуют один подклuster. Треки их тДНК имеют большую протяженность от 20 до 34 т. п. н. Остальные изученные виды характеризуются небольшими размерами тела и распространены главным образом в литорали оз. Байкал. Они имеют более короткую тДНК — от 9.5 до 13.5 т. п. н. Эти результаты позволяют предполагать существование определенной связи между размерами тДНК, всего организма и средой обитания. Однако имеющиеся исключения как среди гигантов (*R. arecepta* с длиной тДНК 11 т. п. н.), так и среди планарий небольшого размера (*B. baikalensis* и *B. variegata* с длинами тДНК 20.5 и 21 т. п. н.) не позволяют пока делать однозначные выводы о динамике изменения тДНК, сопровождающей дивергенцию исследуемых видов планарий. Для ответа на этот вопрос требуются дополнительные исследования.

Авторы выражают благодарность Е. П. Зайцевой, Н. В. Максимовой и И. В. Ханаеву за помощь в сборе и предоставлении фиксированного и живого материала, Л. В. Сухановой — за помощь в освоении методик и обсуждении результатов, И. Ф. Жимулову, Е. А. Иванкиной, А. В. Иванкину и А. М. Оловникову — за помощь в выполнении работы и ценные советы.

Работа выполнена при финансовой поддержке интеграционных проектов СО РАН № 49, 37 и 51, Российского фонда фундаментальных исследований (проект 12-04-32052) и госбюджетного проекта № VII-62-1-4 «Междисциплинарное исследование заплесковой зоны как важной составляющей литорали озера Байкал», а также при поддержке программы стратегического развития Иркутского государственного университета (проект Р212-04-04).

Список литературы

- Koroleva A., Kirylichik C., Timoshkin O.* 2010. Межвидовая изменчивость длин теломерных последовательностей некоторых общесибирских и эндемичных для Байкала планарий (Plathelminthes, Tricladida). Генетика. 46 (9) : 1237—1240.
- Kuznecov K., Timoshkin O., Kumarev B.* 1996. Молекулярная филогения планарий (Turbellaria, Tricladida, Paludicola) озера Байкал, установленная сравнительным анализом нуклеотидных последовательностей 18S рибосомной РНК. Молекулляр. биол. 30 (6) : 1316—1325.
- Порфириева Н. А.* 1977. Планарии озера Байкал. Новосибирск: Наука. 207 с.
- Timoshkin O. A.* 2005. Состав и происхождение фауны Turbellaria (Plathelminthes) озера Байкал: Автореф. докт. дис. СПб.: ЗИН. 39 с.
- Baguna J., Riutort M.* 2004. Molecular phylogeny of the Platyhelminthes. Can. J. Zool. 82 : 168—193.
- Bhatnagar Y., Mishra P., Martinez J., Saxena K. M., Wertelecki W.* 1995. Telomeres of higher primates. Biochem. Mol. Biol. Int. 37 : 57—64.
- Delany M., Krupkin A., Miller M.* 2000. Organization of telomere sequences in birds: evidence for arrays of extreme length and for *in vivo* shortening. Cytogenet. Cell Genet. 90 : 139—145.
- Feinberg A., Vogelstein B.* 1983. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. Anal. Biochem. 132 : 6—13.
- Flanary B., Kletetschka G.* 2005. Analysis of telomere length and telomerase activity in tree species of various life-spans, and with age in the bristlecone pine *Pinus longaeva*. Biogerontology. 6 : 101—111.
- Forsyth N., Elder F., Shay J., Wright W.* 2005. Lagomorphs (rabbits, pikas and hares) do not use telomere-directed replicative aging *in vitro*. Mech. Ageing Develop. 126 : 685—691.
- Gomes N., Ryder O., Houck M., Charter S. J., Walker W., Forsyth N. R., Austad S. N., Venditti C., Pagel M., Shay J., Wright W.* 2011. Comparative biology of mammalian telomeres: hypotheses on ancestral states and the roles of telomeres in longevity determination. Aging Cell. 10 : 761—768.
- Hirai H., LoVerde P.* 1996. Identification of the telomeres on *Schistosoma mansoni* chromosomes by FISH. J. Parasitol. 82 : 511—512.
- Huelsenbeck J., Ronquist F.* 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics. 7 : 754—755.
- Joffe B., Solovei I., Macgregor H.* 1996. Ends of chromosomes in *Polycelis tenuis* (Plathelminthes) have telomere repeat TTAGGG. Chromosome Res. 4 : 323—324.
- Lorite P., Carrillo J., Palomeque T.* 2002. Conservation of (TTAGG)_n telomeric sequences among ants (Hymenoptera, Formicidae). J. Heredity. 93 : 282—285.
- Nakajima T., Nakai K.* 1994. Lake Biwa: speciation in ancient lakes. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 44 : 43—54.
- Posada D.* 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. Mol. Biol. Evol. 25 : 1253—1256.
- Salomons H., Mulder G., Zande L.* 2009. Telomere shortening and survival in free-living corvids. Proc. R. Soc. 276 : 3157—3165.
- Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T.* 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor. 1659 p.
- Seluanov A., Chen Z., Hine C., Sasahara T., Ribeiro A., Cataño K., Presgraves D., Gorbunova V.* 2007. Telomerase activity co-evolves with body mass, not lifespan. Aging Cell. 6 : 45—52.
- Steinert S., White D., Zou Y., Shay J. W., Wright W. E.* 2002. Telomere biology and cellular aging in nonhuman primate cells. Exp. Cell Res. 272 : 146—152.
- Tan T., Rahman R., Jaber-Hijazi F., Felix D. A., Chena C., Louisa E. J., Aboobakeret A.* 2012. Telomere maintenance and telomerase activity are differentially regulated in asexual and sexual worms. PNAS. www.pnas.org/cgi/doi/ 10.1073/pnas.1118885109.
- Thompson J., Higgins D., Gibson T.* 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22 : 4673—4680.
- Timoshkin O. A., Grygier M. J., Wada E. J., Nakai K. et al.* 2011. Biodiversity of Lake Biwa: new discoveries and future potential. In: Index of animal species inhabiting Lake Baikal and its catchment area. Novosibirsk: Nauka. 1439—1513.
- Traut W., Szczepanowski M., Vitkova M., Opitz C., Marec F., Zrzavy J.* 2007. The telomere repeat motif of basal Metazoa. Chromosome Res. 15 : 371—382.

Поступила 26 XI 2012

TELOMERE LENGTH AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF BAIKAL
AND SIBERIAN PLANARIANS (TURBELLARIA, TRICLADIDA)*A. G. Koroleva,^{1,*} E. V. Evtushenko,² O. A. Timoshkin,¹ A. V. Vershinin,² S. V. Kirilchik¹*¹ Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, and ² Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk;
* e-mail: takoneda.bb@mail.ru

Dynamics of the telomeric DNA (tDNA) and the phylogeny of the Baikal and Siberian planarians have been studied based on the analysis of the 18S rDNA and β -actin gene fragments. A relationship between tDNA and the planarians size has been demonstrated. Giant planarians with a minor exception have longer tDNA than little planarians. Phylogenetic affinity between the species that have the stretched tracks of tDNA, big size and similar habitats may indicate possible role of tDNA in the development of the indefinite regenerative capacity of planarians.

Key words: planarians, Baikal, length of telomere DNA, phylogenetic analysis, actin, 18S rRNA.