

КАРИОТИП *AMOEBA BOROKENSIS* ИЗ ГРУППЫ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ «*PROTEUS*-ПОДОБНЫХ» АМЕБ (АМОЕВОЗОА: ЕУАМОЕВИДА)¹

© С. Ю. Демин, Ю. И. Подлипаева, М. А. Бердиева, А. В. Гудков*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;

* электронный адрес: pelgood1@gmail.com

Впервые изучен кариотип *Amoeba borokensis*. Установлено, что в метафазе митоза у этого вида амёб содержится гаплоидный набор хромосом: $n = 27$. Это составляет ровно половину диплоидного кариоти-па *A. proteus* (штамм В), что на первый взгляд подтверждает существующие представления о непо-средственном происхождении одного вида от другого путем кратного изменения количества хромосом. Однако сравнительный цитогенетический анализ показывает, что всего четыре ортологичные хромо-сомы из гаплоидных наборов этих двух видов не имеют заметных различий между собой по паттерну DAPI-окрашивания бэндов. Иными словами, между *A. proteus* и *A. borokensis* имеет место относительно большая генетическая дистанция, чем предполагалось ранее, и они представляют собой достаточно сильно дивергировавшие виды. Анализ данных, полученных нами в ходе исследования жизненных цик-лов *A. proteus* и *A. borokensis*, позволяет заключить, что у «*proteus*-подобных» амёб имеет место одна из разновидностей так называемой циклической полиплоидии. Последняя, как принято считать в настоя-щее время, является вполне удовлетворительной альтернативой половому процессу в отношении гене-тической рекомбинации у агамных протистов, относящихся к разным макротаксонам.

Ключевые слова: *Amoeba borokensis*, *Amoeba proteus*, митоз, хромосомы, кариотип, клеточный цикл, циклическая полиплоидия.

Амеба, изучению которой посвящена настоящая ра-бота, была выделена Л. В. Калининой (Институт цитоло-гии РАН) из пресноводного водоема в пос. Борок (Ярос-лавская обл., Россия) в 1974 г. Природный изолят был клонирован и полученный штамм благодаря существен-ному сходству на светооптическом уровне с распростра-ненным видом *Amoeba proteus* был депонирован в Кол-лекции штаммов крупных свободноживущих амёб Ин-ститута цитологии РАН в качестве отдельного штамма этого вида, обозначенного как Вог (см.: Goodkov et al., 2015). Однако в 1986 г. на основании комплексных морфо-физиологических и биохимических исследований штамм Вог был выделен Калининой с соавторами в самостоя-тельный вид *A. borokensis* (Kalinina et al., 1986); при этом авторы особо подчеркивают, что эти два вида, несомнен-но, тесно связаны друг с другом и, вероятно, один происхо-дит от другого («... it is certain that the two species are closely related and probable that one was derived from the other» p. 343).

Из особенностей *A. borokensis*, отличающих этот вид от *A. proteus*, для нас сейчас важно отметить следующие. Клетки *A. borokensis* существенно меньше по размеру, чем «типичные штаммы» *A. proteus*. Длительность кле-точного цикла при оптимальных условиях составляет ме-нее 24 ч (Kalinina et al., 1986), тогда как у *A. proteus* гене-рационное время варьирует в пределах от 40 до 70 ч (Ord, 1968; Sopina, 1976; Rogerson, 1980; Афонькин, 1983). На-

конец, содержание ДНК в ядрах *A. borokensis* ровно в 2 раза меньше, чем у *A. proteus* (в качестве эталона был использован штамм В) (Kalinina et al., 1986).

Кариотипы амёб группы «*proteus*» ранее никем не были описаны в связи с отсутствием протокола полу-чения спрэдов хромосом из митотических ядер этих про-тистов. Однако недавно нам удалось разработать такой протокол и с его помощью охарактеризовать кариотип *A. proteus* штамма В (Демин и др., 2016). Оказалось, что на спрэдах метафазных ядер этого штамма выявляется диплоидное число хромосом (27 пар), хотя на спрэдах профазных ядер всегда насчитывается гипердиплоидное. Хромосомы *A. proteus* на спрэдах дифференциально окра-шиваются с помощью ДНК-специфичных флуорохромов, что позволило идентифицировать все индивидуальные хромосомы набора по характерному рисунку их DA-PI-бэндирирования (Демин и др., 2016).

В задачу настоящей работы входило кариотипирова-ние и составление банка изображений индивидуальных DAPI-бэндирированных хромосом из митотических ядер *A. borokensis*, а также идентификация хромосом, соответ-ствующих ортологам *A. proteus*, и выявление перестроек, отличающих эти хромосомы у двух видов амёб.

Материал и методика

Работа выполнена на клетках культуры *A. borokensis* из коллекции штаммов свободноживущих амёб Институ-та цитологии РАН (Goodkov et al., 2014, 2015). Культуру

¹ Авторы посвящают эту работу светлой памяти коллеги и замечатель-ного человека проф. А. Л. Юдина (1932—2017).

амеб поддерживали при комнатной температуре по стандартной методике на минеральной среде Прескотта (Prescott, Carrier, 1964); 1 раз в 2 сут амеб кормили инфузориями *Tetrahymena pyriformis* GL (Юдин, 1975).

Протокол частичной синхронизации клеток культуры *A. borokensis* в митозе, а также метод получения спрэдов хромосом и техника кариотипирования подробно описаны нами ранее (Podlipaeva et al., 2013; Демин и др., 2016).

Для синхронизации амеб после 2-суточного голодания помещали в 25 %-ный раствор бычьего сывороточного альбумина в среде Прескотта. Через 1—2 ч амеб переносили в минеральную среду Прескотта. Спустя 18—21 ч содержания в этой среде при комнатной температуре клетки отмывали 0.025%-ным раствором Trypsin-EDTA (Sigma-Aldrich, США) и концентрировали в пробирках Eppendorf (1.5 мл) с помощью центрифугирования (1500 об/мин, 2 мин, микроцентрифуга Eppendorf MiniSpin, Eppendorf International). Осадок клеток встряхивали с помощью вортекса. Гипотонический раствор — 2.5 мМ KCl в бидистиллированной воде (superQ) — добавляли во встряхиваемую пробирку по каплям. Гипотоническую обработку клеток осуществляли при комнатной температуре в течение 20 мин при соотношении объемов клеток и гипотонического раствора 1 : (25—30). После этого клетки осаждали центрифугированием (2 мин, 1500 об/мин) и удаляли супернатант. Осадок клеток ресуспендировали с помощью вортекса. Полученную взвесь клеток фиксировали в трех сменах смеси метанола с ледяной уксусной кислотой (3 : 1). Пробирки с фиксированными клетками хранили в холодильнике при -20°C .

Для приготовления препаратов спрэдов ядер использовали предметные стекла, покрытые полилизинном (Thermo Scientific, США). На стекло с помощью микропипетки помещали 40—50 мкл взвеси клеток. Избыток фиксатора убирали полоской фильтровальной бумаги. На препарат наносили 10 мкл 50%-ной пропионовой кислоты и сразу после этого накрывали покровным стеклом 18×18 мм, обработанным силиконом SL-2 (Sigma-Aldrich, США).

Клетки раздавливали с помощью вертикальных гидравлических тисков с манометром. Давление в течение 90—120 с плавно повышали до 230 кг/см^2 . После этого давление сбрасывали, вынимали препарат и окунали его в жидкий азот. С замороженного препарата с помощью бритвенного лезвия отделяли покровное стекло. Предметное стекло с клетками проводили через серию спиртов повышающейся концентрации (50, 70 и 96%-ный этанол), а затем высушивали. Полученные препараты помещали в герметичный контейнер и хранили при -20°C .

Препараты окрашивали DAPI (3 мкг/мл; Sigma-Aldrich, США) на буфере Мак-Илвейна, pH 7.0, в течение 15 мин при комнатной температуре. Окрашенные препараты заключали в ProLong® Gold antifade (Invitrogen Corporation, США). Изображения хромосомных спрэдов получали с помощью микроскопа Axio Scope A1 (Zeiss, Германия) со штатной цифровой камерой и программным обеспечением для фотосъемки. Полученные изображения хромосом контрастировали с помощью программ ImageJ и Adobe Photoshop CS4, используя приемы, опубликованные ранее (Demin et al., 2011). Выпрямление хромосом для получения банка изображений индивидуальных DAPI-бэндирированных хромосом осуществляли с помощью плагина Straighten программы ImageJ.

Результаты и обсуждение

Настоящая работа представляет собой первый пример сравнительного цитогенетического исследования хромосом двух разных видов из группы «*proteus*-подобных» амеб. Поскольку в период исследования был кариотипирован только один вид и штамм — *A. proteus* штамма В, — именно его хромосомы мы использовали в качестве стандарта для поиска, идентификации и нумерации ортологов. Это, однако, не означает, что мы считаем данный штамм наиболее близким к анцестральному виду. Такой вид еще предстоит найти после кариотипирования всех известных видов группы, а также ряда штаммов различного географического происхождения из коллекции штаммов амеб Института цитологии РАН, провизорно относимых к виду *A. proteus* (см.: Goodkov et al., 2015). Последние вполне могут оказаться криптовидами, весьма сходными по морфологии, но значительно отличными по кариотипу. В связи с этим в настоящей работе мы будем употреблять понятия «ортолог» и «ортологичные хромосомы» только в смысле обозначения хромосом со сходным паттерном DAPI-окрашенных бэндов в кариотипах двух рассматриваемых видов.

Всего на препаратах митотических ядер *A. borokensis* нами было найдено и изучено 5 метафазных и 10 профазных-прометафазных спрэдов хромосом, пригодных для кариотипирования.

На спрэдах метафазных хромосом *A. borokensis* по паттерну DAPI-окрашенных бэндов были идентифицированы хромосомы, ортологичные присутствующим в кариотипе *A. proteus* штамма В, и им соответственно были присвоены те же номера.

Все пять спрэдов метафазных ядер *A. borokensis* содержали гаплоидный набор индивидуальных хромосом, число которых $n = 27$, что составляет ровно половину диплоидного кариотипа *A. proteus* штамма В. Негативное изображение типичного спрэда метафазных хромосом и кариограммы *A. borokensis* представлены на рис. 1.

Таким образом, основная причина меньших размеров и более короткого клеточного цикла *A. borokensis* по сравнению с таковыми *A. proteus* — гаплоидный, а не диплоидный статус метафазных-телофазных клеток этих протистов. Здесь уместно напомнить, что еще Калинина с соавторами (Kalinina et al., 1986) на основании результатов измерений количества ДНК в ядрах *A. borokensis* и *A. proteus* и имеющегося между ними сходства высказали предположение о непосредственном родстве данных видов амеб. Авторы писали: «Очевидная возможность заключается в том, что Bor является просто вариантом *A. proteus*, в котором 2X пloidность была уменьшена до 1X... Другая возможность заключается в том, что *A. proteus* происходит от амеб, подобных Bor, путем удвоения пloidности» («An obvious possibility is that Bor is simply a variant of *A. proteus* in which a 2X ploidy has been reduced to 1X... Another possibility is that *A. proteus* has originated from amoebae like Bor by a doubling of ploidy») (Kalinina et al., 1986, p. 355). Или иными словами и формулируя более точно, путем гаплоидизации или, напротив, диплоидизации. Однако результаты проведенного нами сравнительного цитогенетического анализа показывают, что ситуация несколько сложнее.

Метафазные хромосомы *A. borokensis* оказываются заметно слабее конденсированы, чем таковые у *A. proteus* штамма В (см.: Демин и др., 2016, рис. 3), и по своему «разрешению» они ближе к профазным хромосомам по-

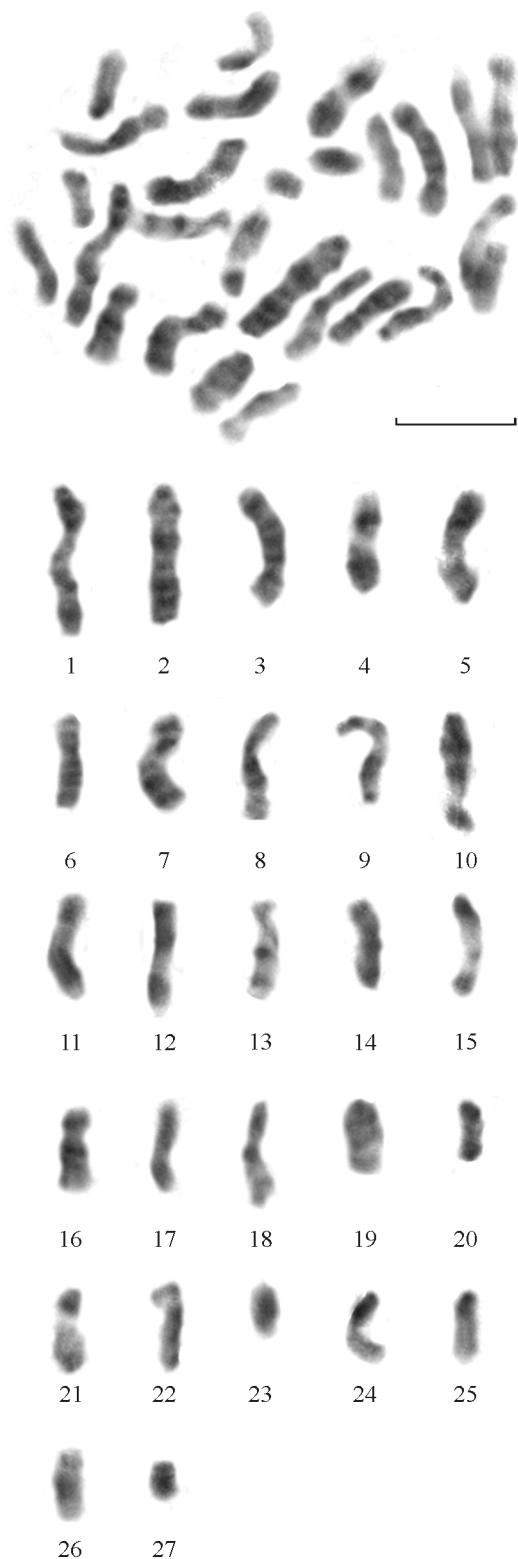


Рис. 1. Негативные изображения типичного спреда метафазных хромосом и кариогаммы *Amoeba borokensis*.

Окрашивание раствором DAPI. Масштабный отрезок — 5 мкм.

следнего вида. Сравнение изображений DAPI-бэндрованных позднепрофазных и метафазных индивидуальных хромосом набора *A. borokensis* показывает, что уровень митотической конденсации хромосом у этого вида относительно невысок. Укорочение хромосом в этот период

не превышает 30 % в отличие от *A. proteus*, хромосомы которой в этот период укорачиваются в 2 раза и более, при этом «разрешение» бэндов меняется драматическим образом (Демин и др., 2016), тогда как у рассматриваемого вида «разрешение» бэндов меняется незначительно. Поэтому для составления банка изображений DAPI-бэндрованных индивидуальных хромосом набора *A. borokensis* с наилучшим «разрешением» мы использовали изображения не только метафазных, но и в случае необходимости позднепрофазных хромосом (рис. 2).

Для сравнительного цитогенетического анализа двух видов амёб из имеющихся банков было выбрано по одной репрезентативной хромосоме (рис. 3).

Из 27 хромосом гаплоидного набора обоих видов амёб только 4 ортологичные хромосомы не различаются между собой по рисунку бэндов (3, 9, 10 и 16). При этом ортологичные хромосомы 3 отличаются друг от друга по экспрессии теломерных бэндов. Поскольку краситель DAPI, использованный нами для дифференциального окрашивания (бэндрования) хромосом, имеет повышенное сродство к АТ-парам нуклеотидов (Karuscinski, 1995), терминальные диски этой хромосомы в случае *A. proteus* штамма В содержат много больше АТ, чем таковые у *A. borokensis*. Аналогичные различия по экспрессии концевых бэндов характерны для ортологичных хромосом 14, которые разнятся также по инверсии и интерстициальной вставке дополнительных бэндов в хромосоме *A. proteus*.

Пять ортологичных хромосом набора отличаются друг от друга одной инверсией группы бэндов (6, 17, 18, 20 и 21). Дополнительные бэнды на одном или обоих концевых участках содержат хромосомы *A. borokensis* — соответственно 4 и 26. Дополнительные бэнды на одном из концов хромосомы содержат шесть ортологичных хромосом *A. proteus* штамма В (7, 19, 22, 23, 24 и 27).

Ортологичные хромосомы 11 отличает друг от друга внутривидовая транслокация терминального бэнда. Внутривидовая вставка дополнительных бэндов отличает хромосому 13 *A. proteus* и хромосому 25 *A. borokensis*. Три хромосомы *A. proteus* отличаются от ортологов наличием как инверсии, так и концевых бэндов (1, 5, 15). Одна хромосома *A. proteus* отличается от ортолога наличием двух инверсий и вставкой бэнда (2). Ортологичные хромосомы 8 отличают друг от друга две инверсии и концевые добавочные бэнды (по одной у каждого вида амёб на противоположных сторонах хромосом). Наконец, в двух случаях (хромосомы 5 и 23) концевые добавки у *A. proteus* содержат 4—5 бэндов.

Судя по результатам проведенного нами сравнительного цитогенетического анализа, между *A. proteus* и *A. borokensis* имеет место относительно большая генетическая дистанция, чем предполагалось ранее (Kalinina et al., 1986), и соответственно они представляют собой достаточно сильно дивергировавшие виды. В целом полученные данные говорят о том, что видообразование в группе «*proteus*-подобных» амёб вполне может протекать без изменения числа хромосом, а только на базе перестроек ортологичных хромосом.

Мы считаем необходимым затронуть здесь еще один важный вопрос, касающийся биологии «*proteus*-подобных» видов амёб, а именно вопрос об особенностях клеточного цикла этих облигатно агамных протистов.

Согласно данным из литературы, в клеточном цикле «типичных штаммов» вида *A. proteus* имеет место явление гиперрепликации ядерной ДНК, а именно: во второй

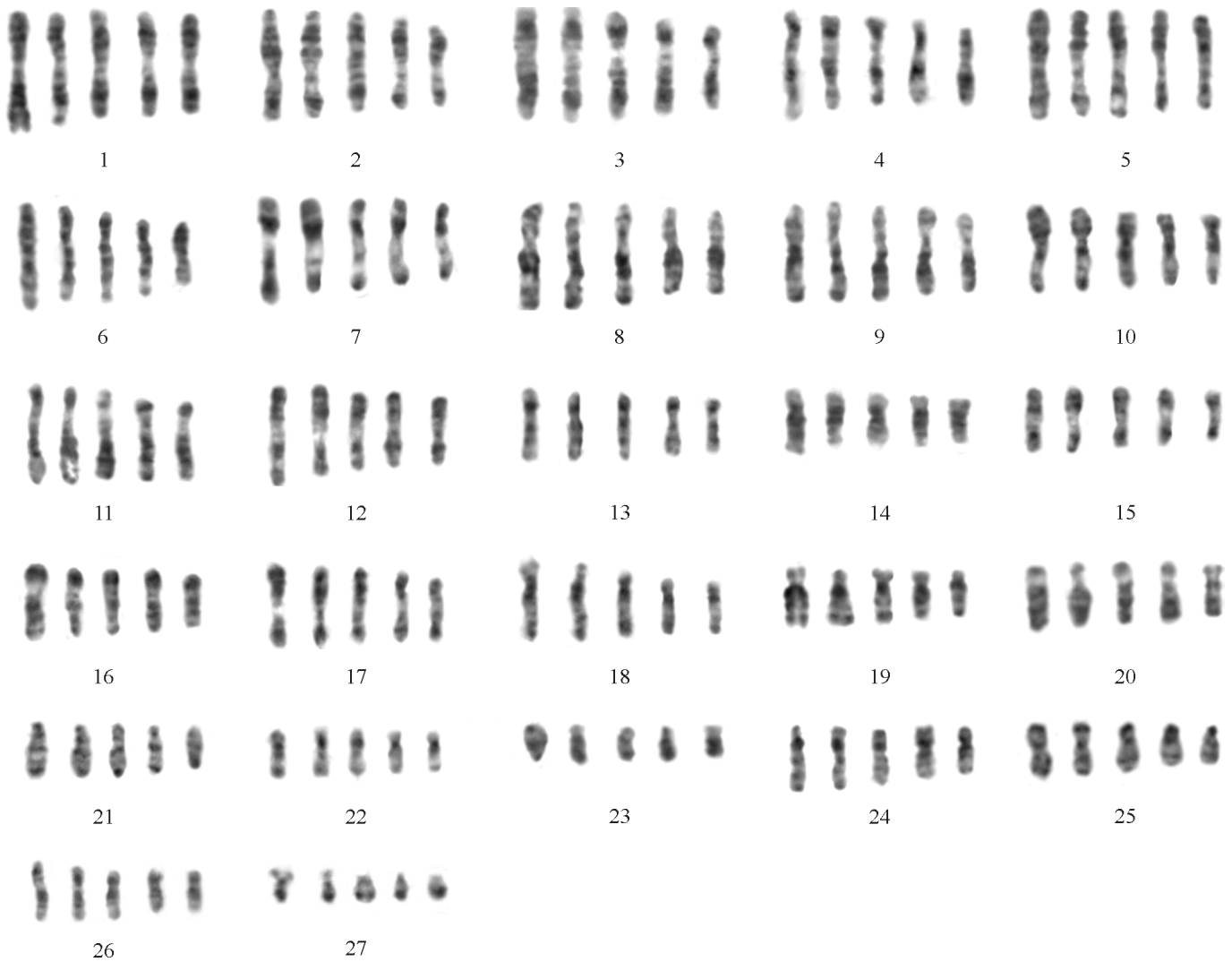


Рис. 2. Банк негативных изображений DAPI-бэндируемых индивидуальных хромосом *Amoeba borokensis*, составленный из разных спрэдов митотических клеток.

половине интерфазы количество ДНК в ядре может более чем вдвое, а то и втрое превышать таковое в начале цикла, однако в дальнейшем «избыточная ДНК» элиминируется (Makhlin et al., 1979; Афонькин, 1983; Махлин, 1987, 1993; Afon'kin, 1989). При этом никакой закономерности в увеличении количества ДНК в ядрах амёб у 24, 32, 48, 56 и 72-часовых дочерних клеток по сравнению с содержанием ДНК в ядрах 1-часовых дочерних клеток не наблюдается (Махлин, 1993).

Недавние исследования, выполненные методом оптической томографии, подтверждают, что в ядерном цикле у *A. proteus* (штамм В) наблюдаются признаки как эндоредупликации, так и деплоидизации (Демин и др., 2015). Последняя может частично осуществляться непосредственно в течение интерфазы, но в основном в предмитотический период путем экстрезии из ядра «избыточной ДНК» (Демин и др., 2015).

Цитогенетический анализ кариотипов профазных и метафазных ядер *A. proteus* (штамм В) позволил установить, что к началу метафазы все «сверхштатные» хромосомы уже элиминированы из ядра амёбы и остается только базовый диплоидный набор хромосом (Демин и др., 2016). Однако в профазе всегда регистрировали анеупло-

идное (гипердиплоидное) число хромосом, т. е. в ядре на этой стадии еще присутствуют отдельные «сверхштатные» хромосомы, имеющие рисунок хромомеров базового набора. Чаще всего, хотя и не всегда, это самые мелкие хромосомы набора (Демин и др., 2016).

Согласно имеющимся в литературе данным, измерение содержания ДНК в ядрах *A. borokensis* в ходе клеточного цикла не выявило превышения постмитотического уровня в конце интерфазы более чем в 2 раза (Kalinina et al., 1986). Однако сами авторы, как и другие исследователи, отмечают, что одного определения недостаточно, чтобы с полной уверенностью считать, что в отличие от *A. proteus* у *A. borokensis* содержание ДНК в ядрах возрастает в интерфазе не более чем в 2 раза (Kalinina et al., 1986; Махлин, 1993). Напротив, результаты наших предварительных исследований ядерного цикла *A. borokensis* с применением метода оптической томографии свидетельствуют о том, что у этого вида также наблюдаются картины экстрезии хроматина из ядра амёбы. Наконец, как и у *A. proteus*, на всех исследованных нами в настоящей работе спрэдах профазных ядер *A. borokensis* присутствовало анеуплоидное (гипергаплоидное) количество хромосом.

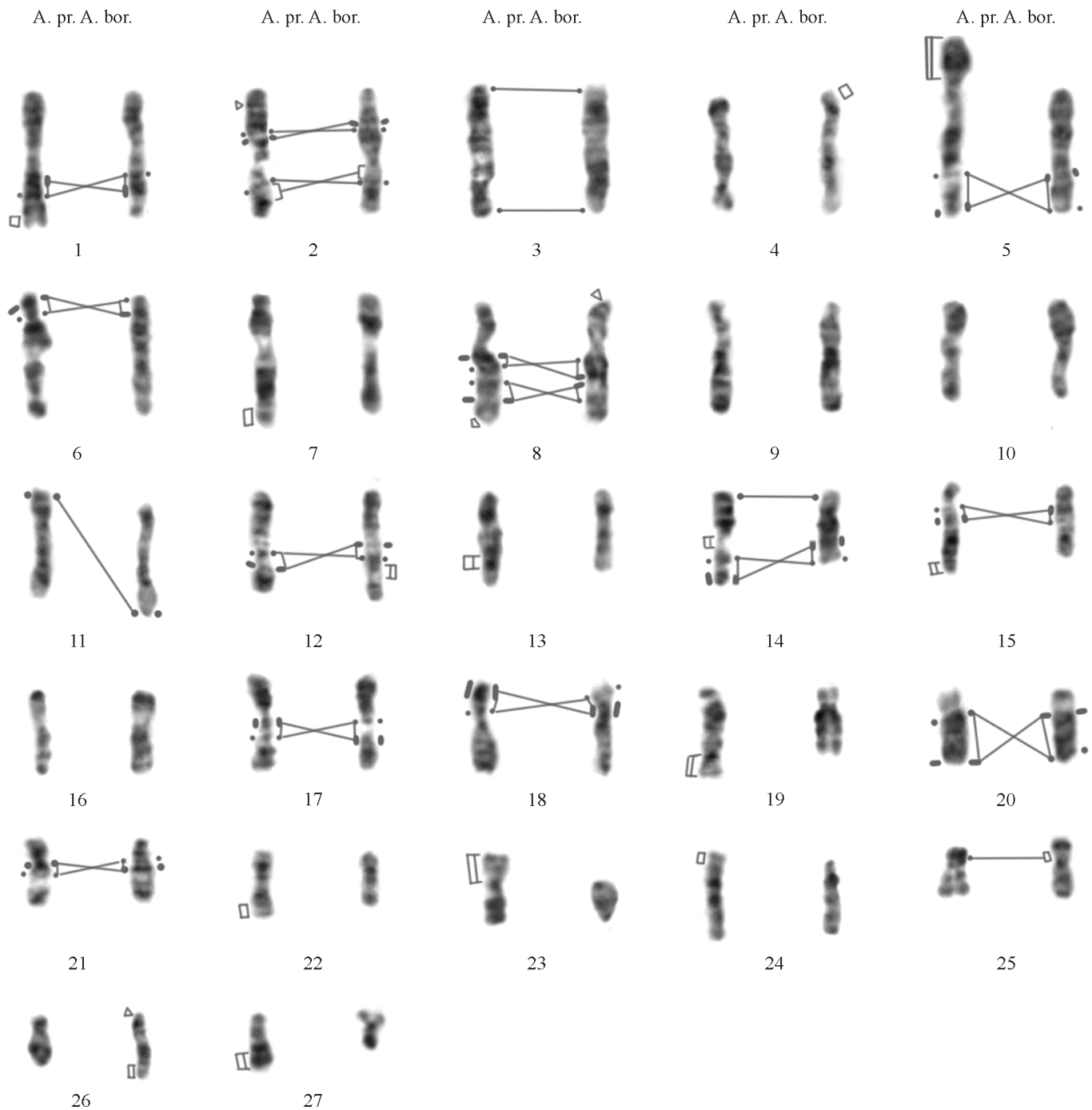


Рис. 3. Ортологичные хромосомы *Amoeba proteus* штамм В (*A. pr.*) и *A. borokensis* (*A. bor.*): цитогенетическое сопоставление по паттерну DAPI-бэндирувания.

Инvertированные районы хромосом помечены *перекрещенными линиями* (например, хромосомы 1), границы инверсий — *точками разного размера* (например, хромосомы 2), соединенными тонкой линией. Дополнительные и вставочные бэнды маркированы *боксами*, если это несколько бэндов, и *треугольником*, если это один бэнд. *Горизонтальные линии* соединяют терминальные бэнды с резко отличным уровнем флуоресценции. *Диагональная линия* маркирует межконцевой внутривидовой обмен.

Таким образом, на основании имеющихся в настоящее время данных можно сделать заключение о том, что в клеточном (жизненном) цикле «*proteus*-подобных» амёб, являющихся облигатно агамными организмами, скорее всего, имеет место одна из разновидностей так называемой циклической полиплоидии — феномена, независимо встречающегося у представителей самых разных, часто весьма далеко отстоящих друг от друга

филогенетически макротаксонов низших эукариот (Райков, 1978; Raikov, 1982; Parfrey et al., 2008; Lahr et al., 2011). Принято считать, что стратегия циклической полиплоидии является вполне удовлетворительной альтернативой половому процессу в отношении генетической рекомбинации у агамных протистов (Kondrashov, 1994, 1997; Parfrey et al., 2008; Lahr et al., 2011).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 15-04-03451).

Список литературы

Афонькин С. Ю. 1983. Содержание ДНК в ядрах разных штаммов *Amoeba proteus* по данным цитофлуориметрии. Цитология. 25 (7) : 771—776. (Afon'kin S. Yu. 1983. The maintenance of DNA in nuclei of different strains of *Amoeba proteus* according to a cytofluorimetry. Tsitologiya. 25 (7) : 771—776.)

Демин С. Ю., Бердиева М. А., Подлипаева Ю. И., Юдин А. Л., Гудков А. В. 2015. Организация хроматина в клеточном цикле *Amoeba proteus* по данным оптической томографии. Цитология. 57 (11) : 813—822. (Demin S. Yu., Berdieva M. A., Podlipaeva Yu. I., Yudin A. L., Goodkov A. V. 2015. Optical tomography analysis of *Amoeba proteus* chromatin organization at various cell cycle stages. Cell Tissue Biol. 10 : 84—94.)

Демин С. Ю., Бердиева М. А., Подлипаева Ю. И., Юдин А. Л., Гудков А. В. 2016. Кариотипирование *Amoeba proteus*. Цитология. 58 (12) : 971—976. (Demin S. Yu., Berdieva M. A., Podlipaeva Yu. I., Yudin A. L., Goodkov A. V. 2016. Karyotyping of *Amoeba proteus*. Cell Tissue Biol. 11 : 308—313.)

Махлин Е. Е. 1987. Вариабельность количества ДНК, синтезируемой в ядрах амёб *Amoeba proteus*, в клеточном цикле. Цитология. 29 (12) : 1379—1384. (Makhlin E. E. 1987. Variability of DNA quantity synthesized in *Amoeba proteus* nuclei during the cell cycle. Tsitologiya. 29 (12) : 1379—1384.)

Махлин Е. Е. 1993. Синтез избыточной ДНК в ядрах амёб *Amoeba proteus* в клеточном цикле. Цитология. 35 (3) : 109—121. (Makhlin E. E. 1993. The extra DNA synthesis in *Amoeba proteus* nuclei during the cell cycle. Tsitologiya. 35 (3) : 109—121.)

Райков И. Б. 1978. Ядро простейших. Морфология и эволюция. Л., Наука. 328с. (Raikov I. B. 1978. Protozoan nucleus. Morphology and evolution. Leningrad: Nauka. 328 p.)

Юдин А. Л. 1975. Амёба. В кн.: Объекты биологии развития. М.: Наука. 5—12. (Yudin A. L. 1975. Amoeba. In: Objects of developmental biology. Moscow: Nauka. 5—12.)

Афон'кин С. Ю. 1989. Induced and spontaneous polyploidization in large amoebae. Int. Rev. Cytol. 115 : 231—266.

Demin S., Pleskach N., Svetlova M., Solovyeva L. 2011. High-resolution mapping of interstitial telomeric repeats in Syrian hamster metaphase chromosomes. Cytogenet. Genome Res. 132 : 151—155.

Goodkov A. V., Yudin A. L., Podlipaeva Yu. I. 2014. Collection of the proteus-type amoebae at the Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences. I. History, goals and research field. Protistology. 8 (2) : 71—75.

Goodkov A. V., Yudin A. L., Podlipaeva Yu. I. 2015. Collection of the proteus-type amoebae at the Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences. II. Index of strains and list of publications. Protistology. 9 (2) : 99—111.

Kalinina L. V., Afon'kin S. Yu., Gromov D. B., Khrebtukova I. A., Page F. C. 1986. *Amoeba borokensis* n. sp., a rapidly dividing organism especially suitable for experimental purposes. Arch. Protistenk. 132 : 343—361.

Kapuscinski J. 1995. DAPI: a DNA-specific fluorescent probe. Biotech. Histochem. 70 : 220—233.

Kondrashov A. S. 1994. The asexual ploidy cycle and the origin of sex. Nature. 370 : 213—216.

Kondrashov A. S. 1997. Evolutionary genetics of life cycles. Annu. Rev. Ecol. Syst. 28 : 391—435.

Lahr D. J. G., Parfrey L. W., Mitchell E. A. D., Katz L. A., Lara E. 2011. The chastity of amoebae: re-evaluating evidence for sex in amoeboid organisms. Proc. R. Soc. B. 278 : 2081—2090.

Makhlin E. E., Kudryavtseva M. V., Kudryavtsev B. N. 1979. Peculiarities of changes in DNA content of *Amoeba proteus* nuclei during interphase. Exp. Cell Res. 118 : 143—150.

Ord M. J. 1968. The synthesis of DNA through the cell cycle of *Amoeba proteus*. J. Cell Sci. 3 : 483—491.

Parfrey L. W., Lahr D. J. G., Katz L. A. 2008. The dynamic nature of eukaryotic genomes. Mol. Biol. Evol. 25 : 787—794.

Podlipaeva Yu., Demin S., Goodkov A. 2013. New method for cell cycle synchronization in *Amoeba proteus* culture. Protistology. 8 : 3—7.

Prescott D. M., Carrier R. F. 1964. Experimental procedures and cultural methods for *Euplotes eurystomus* and *Amoeba proteus*. In: Methods in cell physiology. New York; London: Acad. Press. 1 : 85—95.

Raikov I. B. 1982. The protozoan nucleus. Morphology and evolution. Wien: Springer. 474 p.

Rogerson A. 1980. Generation times and reproductive rates of *Amoeba proteus* (Leidy) as influenced by temperature and food concentration. Can. J. Zool. 58 : 543—548.

Sopina V. A. 1976. The multiplication rate of amoebae related to the cultivation temperature. J. Therm. Biol. 1 : 199—204.

Поступила 20 VII 2017

KARYOTYPE OF *AMOEBIA BOROKENSIS* FROM THE «PROTEUS-LIKE» AMOEBAE GROUP (AMOEBZOEA: EUAMOEBIDA)

S. Yu. Demin, Yu. I. Podlipaeva, M. A. Berdieva, A. V. Goodkov¹

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064; ¹ e-mail: pelgood1@gmail.com

Karyotype of *Amoeba borokensis* is studied for the first time. At the metaphase of mitosis there is the haploid set of chromosomes ($n = 27$) is present. That is exactly the half of the diploid *Amoeba proteus* (strain B) karyotype. At first glance, this confirms existing presumption about the direct origin of one species from another by a divisible change in the ploidy of the amoeba nucleus. However, the comparative cytogenetic analysis reveal only four orthologous chromosomes from haploid sets of these two species do not have noticeable differences between themselves according to pattern of DAPI-staining of bands. It is concluded that the genetic distance between *A. proteus* and *A. borokensis* is greater than it was considered earlier, and thus these two species have been rather diverged from each other. The analysis of data obtained while studying life cycles of *A. proteus* and *A. borokensis* allows us to conclude that in «proteus-like» amoebae one of the kind of so-called «cyclic polyploidy» takes place. As is generally accepted, the last being the good alternative to sex process as a genetic recombination in agamic protists. As is generally accepted, the cyclic polyploidy is a working alternative to the sexual process with respect to genetic recombination in agamic protists from different macrotaxones.

Key words: *Amoeba borokensis*, *Amoeba proteus*, mitosis, chromosomes, karyotype, cell cycle, cyclic polyploidy.