



- щие Советского Союза : в 3 т. ; Т. 2. : в 3 ч. Ч. 1. Морские коровы и хищные. М., 1967. С. 585–604.
5. Горшков П. И. Барсук в биоценозах Республики Татарстан. Казань, 1997. 176 с.
 6. Данилов П. И., Туманов И. Л. Куньи Северо-Запада СССР. Л., 1976. 256 с.
 7. Сидорович В. Е. Куньи в Беларуси. Эволюция, биология, демография и биоценотические связи. Минск, 1997. 263 с.
 8. Сидорович В. Е. Норка, выдра, ласка и другие куньи. Минск, 1995. 191 с.
 9. Терновский Д. В., Терновская Ю. Г. Экология куницеобразных. Новосибирск, 1994. 221 с.
 10. Туманов И. Л. Биологические особенности хищных млекопитающих России. СПб., 2003. 448 с.
 11. Филиппьев А. О., Беляченко А. В., Захаров К. С. Особенности пространственного распределения некоторых видов куньих (Carnivora, Mustelidae) на севере Нижнего Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2010. Т. 10. Сер. Химия. Биология. Экология, вып. 1. С. 24–28.
 12. Новиков Г. А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. М., 1953. 499 с.
 13. Беляченко А. В., Захаров К. С., Филиппьев А. О. Экология каменной куницы – *Martes foina* (Carnivora, Mustelidae) на севере Нижнего Поволжья // Поволж. экол. журн. М., 2010. № 1. С. 3–13.
 14. Беляченко А. В., Филиппьев А. О. Современное распространение и экология европейской норки (*Mustela lutreola* L.) на севере Нижнего Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. 2010. Т. 10. Сер. Химия. Биология. Экология, вып. 1. С. 70–79.

УДК 575.17:598.126.3

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ В СИСТЕМАТИКЕ МОЛЕЙ-ЧЕХЛОНОСОК (LEPIDOPTERA, COLEOPHORIDAE)

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

Саратовский государственный университет
E-mail: anikinVV@mail.ru

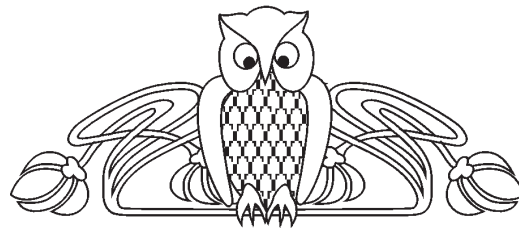
Обсуждается надродовая система молей-чехлоносок на основании изучения нуклеотидной последовательности гена первой субъединицы цитохром с оксидазы (COI). Подтверждена монофилия семейства Coleophoridae и наличие сестринской группы – семейства Batracherdridae, которые рассматриваются в ранге отдельных семейств. Предложенная схема в целом поддерживает систему семейства молей-чехлоносок с выделенными ранее надродовыми таксонами отечественными и зарубежными специалистами-лепидоптерологами [1–5] на основе морфологических признаков и особенностей трофики гусениц данных бабочек.

Ключевые слова: молекулярная систематика, семейство Coleophoridae, анализ сиквенса COI.

Application of Molecular Methods in Systematics Casebearer Moths (Lepidoptera, Coleophoridae)

V. V. Anikin, A. G. Demin, M. V. Knushevitskay

Discussed suprageneric system casebearer moths from a study of the nucleotide sequence of the gene first subunit of cytochrome c oxidase (COI). Confirmed the monophyly of the family and the availability sister Coleophoridae groups – family Batracherdridae, which are discussed in the rank of individual families. The proposed scheme, in general, supports the families of moths casebearer with selected earlier suprageneric taxa domestic and foreign experts, lepidopterist [1–5] based on morphological characteristics and features of these trophic caterpillars of moths.



Key words: molecular systematics, family Coleophoridae, COI sequence data analysis.

Введение

Одной из важнейших фундаментальных проблем современной биологической науки является таксономическое структурирование разнообразия существующих организмов. Значимость данной проблемы обусловлена необходимостью повышения эффективности управления элементами биоразнообразия в научном и практическом аспектах, поскольку они задействованы в хозяйственной деятельности человека. Решение данной задачи напрямую связано с развитием биологической систематики: идентификации животного организма и отнесению его к тому или иному таксону.

Будучи одним из древнейших направлений познания природы человеком, научное рождение систематики организмов произошло только в XVIII в., когда на повестку дня был поставлен вопрос об упорядочивании глобального биоразнообразия на основе единых критериев и понятий. Сформировавшись в трудах К. Линнея в качестве одной из вершин типологического мировоззрения и пережив во второй половине XIX в. содержа-



тельную трансформацию под влиянием эволюционной теории Ч. Дарвина, с середины прошлого века систематика вновь вошла в полосу реформ, связанную с развитием филогенетических идей В. Хеннига и расцветом компьютерных и молекулярно-генетических технологий.

Систематика избранной для исследования группы организмов – чешуекрылых насекомых (Lepidoptera) – со времени формирования этого таксона К. Линнеем испытала на себе почти весь спектр теоретических и практических подходов к классификации. Характерной чертой их применения было то, что каждый новый метод прилагался к группе в условиях неполной реализации предыдущих подходов, что не позволяло корректно сравнивать результаты, полученные в рамках каждой из методик.

Часто случается, что систематизацию не удается провести только по морфологическим признакам. Большинство изменений организмов происходит на молекулярном уровне и не поддается визуальной оценке. Но именно они могут предоставить важные для систематики сведения, дополняющие характеристику морфологических и анатомических особенностей.

Объектом исследования данной работы является семейство молей-чехлоносок – Coleophoridae, принадлежащее к надсемейству выемчатокрылых молей (Gelechioidea). Coleophoridae – исключительно сложная в таксономическом отношении группа чешуекрылых, в состав которой входит уже более 1400 видов [6], большинство из которых (приблизительно 98%) принадлежит к роду *Coleophora* в понятии западных специалистов-лепидоптерологов. Представители семейства встречаются на всех континентах, за исключением Антарктиды, в основном в областях с умеренным климатом Северного полушария.

Как правило, Coleophoridae – небольшие моли 4–30 мм в размахе, крылья которых часто разделены на листообразные фрагменты, что делает их бахромчатыми. Крошечные личинки, вышедшие из яиц, питаются тканями листьев, цветков, семенами растений-хозяев и являются в большинстве своем облигатными минёрами. Уже в первом возрасте строят защитный чехлик, который сбрасывают и меняют по мере роста. Именно поэтому семейство получило название молей-чехлоносок.

Виды Coleophoridae чрезвычайно сходны между собой по внешним и анатомическим признакам, что затрудняет их идентификацию. Эта группа привлекает к себе внимание исследователей, но, несмотря на этот факт, вплоть до настоящего времени остается малоизученной. Как сказано выше, большинство (около 95%)

видов семейства принадлежат к роду *Coleophora* Hbn., 1822, который западными лепидоптерологами причислен к «wastebasket-таксонам». Этот термин [7] используется к отношению таксонов, чьи виды имеют сходную морфологию и с трудом поддающиеся классификации. Используемая многими европейскими энтомологами система Coleophoridae не включает таксонов надродового ранга, и многие исследователи предпочитают придерживаться именно такой системы. Предложенные системы родовых таксонов [1–4, 8] отвергались многими специалистами, а новые таксоны сводились в синонимы [9–11], что обесценивает многолетнюю работу исследователей именно этой группы. С нашей точки зрения, данный подход не оправдан, поскольку исключает возможность построения филогенетического дерева семейства. В. В. Аникиным и О. В. Синичкиной были получены результаты, подтверждающие наличие четко выделенных ранее таксонов в семействе на основе хетотаксиальных признаков гусениц для представителей почти 40 различных родов и триб [5, 12–14].

В последние несколько десятилетий в классической систематике насекомых наметился системный кризис, связанный с ограничением возможностей морфологической дифференциации таксонов. Так, высокое видовое разнообразие молей-чехлоносок (Coleophoridae), сложность их морфологической дифференциации и отсутствие четких границ, разделяющих таксоны надвидового ранга, порождают у современных исследователей огромные проблемы при установлении систематического положения, не говоря уже о вопросах фауногенеза и путей эволюции данной группы. Точная видовая идентификация подавляющего большинства молей-чехлоносок затруднена настолько, что в настоящее время доступна лишь узкой группе специалистов. Невозможность объективной оценки эволюционного вклада различных морфологических преобразований этих насекомых делает чрезвычайно сложной реконструкцию эволюционной истории отдельных таксонов. Кроме того, морфологический анализ не позволяет получить информацию о физиологических и биохимических преобразованиях видов, которые зачастую являются наиболее эволюционно информативными.

Новой вехой изучения молей-чехлоносок стало применение методов молекулярной филогении [15–18], уже доказавших свою эффективность при исследовании многих сложных в таксономическом отношении групп насекомых (хируномид, пчел, муравьев и т.д.). В основе молекулярно-филогенетического метода лежат представления о существовании прямо пропор-



циональной зависимости между временем расхождения таксонов и накоплением мутаций в ряде нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, таких, например, как гены «домашнего хозяйства» в пределах конкретных эволюционных линий. Структура генов «домашнего хозяйства» кодирует белки, отвечающие за жизненно важные процессы клетки, такие как репликация (EF-1 α), синтез АТФ (CAD), транспорт электронов по электрон-транспортной цепи митохондрий (COI-COIII), кроме того, сюда же относятся гены, кодирующие рибосомальную РНК (5,8, 18, 28 rDNA). Структура этих генов редко подвергается значительным преобразованиям. В пределах крупных эволюционных линий насекомых практически отсутствуют изменения длины гомологичных нуклеотидных последовательностей, значительный сдвиг в соотношении нуклеотидов; изменения в строении функционально значимых участков могут не наблюдаться вовсе (Histone genes 1-4). Эволюционно значимые мутации в последовательностях генов «домашнего хозяйства» чаще всего выбраковываются отбором, так как приводят к дестабилизации устоявшихся биохимических и энергетических циклов клетки. В результате единственным механизмом, приводящим к преобразованиям ДНК-последовательностей этих генов, является, по всей видимости, нейтральная эволюция. Скорость нейтральной эволюции в пределах конкретной филогенетической линии можно считать постоянной или практически постоянной. Краткосрочно действующие экологические факторы, на наш взгляд, как правило, не оказывают существенного влияния на динамику нейтральной эволюции, в связи с чем степень различия в структуре генов между родственными таксономическими группами будет находиться в прямой зависимости от времени прекращения их гибридизации.

Таким образом, у современных систематиков на вооружении имеется метод, который позволяет, избегая излишней предвзятости, реконструировать последовательность эволюционных событий, искать молекулярные границы таксонов, определять систематическое местоположение впервые описанных видов и т.д.

Огромным преимуществом использования методов молекулярной филогении на основе ДНК-штрихкодирования, особенно при изучении таких всеветно распространенных групп насекомых, как моли-чехлоноски, является возможность установления времени их дивергенции (гипотеза молекулярных часов). Этой тематике будет посвящена следующая работа авторов.

Данная статья прямо или косвенно подтвердила несколько очень важных авторских позиций:

1) семейство молей-чехлоносок является монофилетическим;

2) сестринской группой Coleophoridae является небольшое семейство Batrachedridae;

3) единую кладу образуют линии, обозначенные как группы в границах ранее выделенных триб – Carpochenini Căpuse, 1973; Coleophorini Hübner, 1825; Casignetellini Starnd, 1928; Aporipturini Falkovitsh, 2003 и Tolleophorini Căpuse, 1971;

4) монофилетичны представители клады в рамках родов: Eupista Hübner, 1825; Damophila Curtis, 1832; Multicoloria Căpuse, 1973; Casas Wallengren, 1881; Goniiodoma Zeller, 1849; Casas Wallengren, 1881; Chnoocera Falkovitsh, 1972; Carpochena Falkovitsh, 1972; Klimeschia Căpuse, 1973; Symphypoda Falkovitsh, 1972;

5) близкородственные таксоны Naploptilini Barnes & McDunnough, 1917; Systrophoecini Falkovitsh, 2003 находятся в одном кластере с Metriotini Căpuse, 1971, что не противоречит их объединению в одно подсемейство Coleophorinae Hübner 1825 (Аникин, 2010);

6) трибы Coleophorini Hübner, 1825 и Aporipturini Falkovitsh, 2003 разбиты на отдельные клады, что свидетельствует о их неоднородности;

7) наличие отдельных крупных кластеров подтверждает выделение двух подсемейств Tolleophorinae Căpuse, 1972 и Coleophorinae Hübner 1825.

Материал и методы

Развитие относительно нового метода ДНК-штрихкодирования и связанного с ним масштабного канадского проекта «Штрихкодирование жизни» открывает большие перспективы в систематике, филогении и зоогеографии. В основе метода лежит использование последовательности нуклеотидов гена первой субъединицы цитохром с оксидазы (COI). Ген COI располагается в митохондриальной ДНК, в связи с чем он передается из поколения в поколение только по материнской линии. Изменение структуры COI происходит только за счет точечных мутаций (преимущественно эволюционно нейтральных), рекомбинация посредством кроссинговера отсутствует. Достаточно высокая скорость эволюции этого гена (около 2% за 1 млн лет в третьем положении кодона) делает возможным его применение для маркирования и последующей идентификации даже близкородственных организмов. На данный момент благодаря программе «Штрихкодирование жизни» COI является самым изученным у живых организмов геном, что делает его наиболее привлекательным для



реконструкции эволюционной истории таксонов насекомых, имеющих высокое видовое разнообразие. Уже сегодня с использованием гена COI у систематиков имеется возможность получения предварительных схем эволюции и расселения большинства хорошо изученных таксонов насекомых надродового уровня Палеарктики и Палеогеи, в том числе и молей-чехлоносок.

Установление нуклеотидной последовательности гена COI было проведено для 94 видов молей-чехлоносок на основании типового материала из коллекции лаборатории систематики насекомых Зоологического института РАН (г. Санкт-Петербург) и фондов Зоологического музея Саратовского государственного университета (сборы В. В. Аникина).

Для ДНК-анализа у каждого экземпляра отделили по одной ноге и помещали в индивидуальную пробирку типа Eppendorf, выделяли и секвенировали ДНК в лаборатории молекулярной биологии СГУ. Выделение ДНК проводилось из ног насекомых коммерческим набором реактивов Diatomtm DNA Prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) в соответствии с протоколом фирмы-изготовителя. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовались праймеры: CO1(+)/5'-CGAGCAGAATTAGGAAATCCAGG-3'/, CO1(-)/5'-GAATAACGACGTGGTATCCAGC-3'.

Для проведения ПЦР был использован следующий режим: денатурация ДНК при 94 °C – 30 с, отжиг праймеров при 55 °C – 40 с, полимеризация при 72 °C – 1 мин. Нуклеотидную последовательность определяли по Сенгеру с детекцией флуоресцентно меченых продуктов ПЦР. ПЦР-продукт подвергался очистке с помощью набора DNA Extraction Kit #K0513 «Fermentas» для последующего секвенирования.

Анализ нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе Beckman [15]. Коррекцию полученных последовательностей выполняли в программе BioEdit Sequence Alignment Editor [19]. Для множественного выравнивания использовали метод ClustalW, реализованный в пакете программ MEGA5 (www.genebee.ru).

Большая часть материала (виды целого ряда палеарктических родов) отправлялась (с 2008 по 2011 г.) на выделение и секвенирование ДНК по гену COI в Канадский центр ДНК-штрихкодирования Института биоразнообразия Университета штата Онтарио в городе Гуэльфе (Canadian Centre for DNA Barcoding Biodiversity Institute of Ontario University of Guelph) в рамках

научной программы «Barcode of Life», проекты: «Coleophoridae of the Old World» [МРАЕВ], «Microlepidoptera of the Palearctic 1» [МРЕА] и «Microlepidoptera of the Palearctic 2» [МРЕВ], руководитель – Дж.-Ф. Ландри (Jaen-Francois Landry). Выделение ДНК, амплификацию гена COI и его секвенирование проводили по стандартным методикам [20] с использованием праймеров LepF1-LepR1 [21]. При сравнении видов использованы данные GeneBank и Канадского центра ДНК-штрихкодирования (www.barcodinglife.org) по гену COI.

Выбор оптимальной эволюционной модели и построение кладограммы с использованием метода максимального правдоподобия проводили в пакете прикладных программ MEGA 5.05: Molecular Evolutionary Genetics Analysis [22]. Была использована эволюционная модель GTR+G+I. Для оценки устойчивости филогенетических реконструкций использовался бутстреп-тест (1000 псевдореplik для ML).

Построение филогенетического дерева с использованием метода минимальной эволюции (Minimum Evolution, ME) производили в программе MEGA 5.1 [22]. Для коррекции генетических дистанций применялась модель Maximum Composite Likelihood. Для оценки устойчивости филогенетических реконструкций использовался бутстреп-тест (2000 повторностей).

Построение филогенетических деревьев с использованием метода Байеса (Bayes Inference, BI) производили в программе MrBayes 3.1.2 [23, 24], использовали модель нуклеотидных замен GTR+G+I [25]. В ходе анализа генерировали 10000000 деревьев марковских цепей, отбор дерева проводился через каждые 1000 генераций. Из анализа исключали первые 2000 деревьев, считая их неустойчивыми. Для оценки устойчивости клад на полученном консенсусном дереве использовали значение постериорной вероятности.

«Старые образцы» (в основном типовые экземпляры или сборы 60–80-х годов прошлого столетия) имаго бабочек целого ряда видов использовали для молекулярно-генетического анализа (рис. 1). Как видно из графика, образцы (бабочки) с коллекционным возрастом 15–55 лет имели приемлемое для анализа количество нп, хотя более высокие результаты показывали «свежие» экземпляры (до 7–10 лет хранения).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных сравнений секвенсов различных представителей близкород-

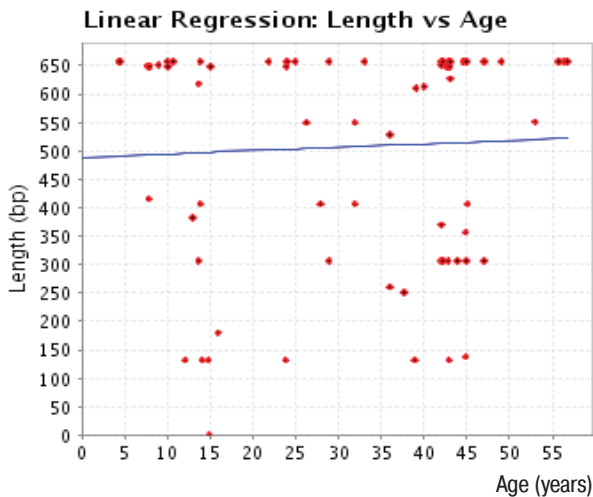


Рис. 1. Зависимость длины нуклеотидной последовательности (число нп) от возраста образца

ственных таксономических групп гелехионидных молей на представленной филограмме (схема 1) четко вырисовываются кластеры, подчеркивающие монофилетичность семейства Coleophoridae и наличие сестринской группы – семейства Vatrachedridae.

Всего было проанализировано 675 нуклеотидных сайтов гена COI, из них 358 оказались вариабельными. Было построено дерево методом Minimum Evolution с использованием эволюционной модели Maximum Composite Likelihood [26]

на основании положения кодонов 1, 2, 3. Кроме того, были проработаны рабочие модели деревьев и по положению кодонов 1, 2 и аминокислот. При построении аминокислотного дерева использовался метод построения Minimum Evolution [27], эволюционная модель – Jones-Taylor-Thornton (JTT) [28]. Бутстреп поддержки составлял 2000 повторностей, а вариабельность аминокислотной последовательности – 41% (225 сайтов проанализировано, из них 93 вариабельные). В работе приводится только одно дерево по положению кодонов 1, 2, 3, так как именно оно является более информативным и наглядным по представлению распределения видов молей-чехлоносок по таксонам. Кроме того, график насыщения нуклеотидными заменами (рис. 2) продемонстрировал, что насыщения в 3-м положении кодона нет.

В работе приводится только одно дерево по положению кодонов 1, 2, 3, так как именно оно является более информативным и наглядным по представлению распределения видов молей-чехлоносок по таксонам.

Анализ базового дерева (схема 2) позволил выделить несколько четко очерченных групп в границах ранее выделенных триб – Casignetellini Starnd, 1928; Coleophorini Hübner, 1825; Carpochenini Căpuse, 1973; Aporipturini Falkovitsh, 2003 и Tolleophorini Căpuse, 1971. Из этих триб одна клада является монофилетичной – Tolleophorini.

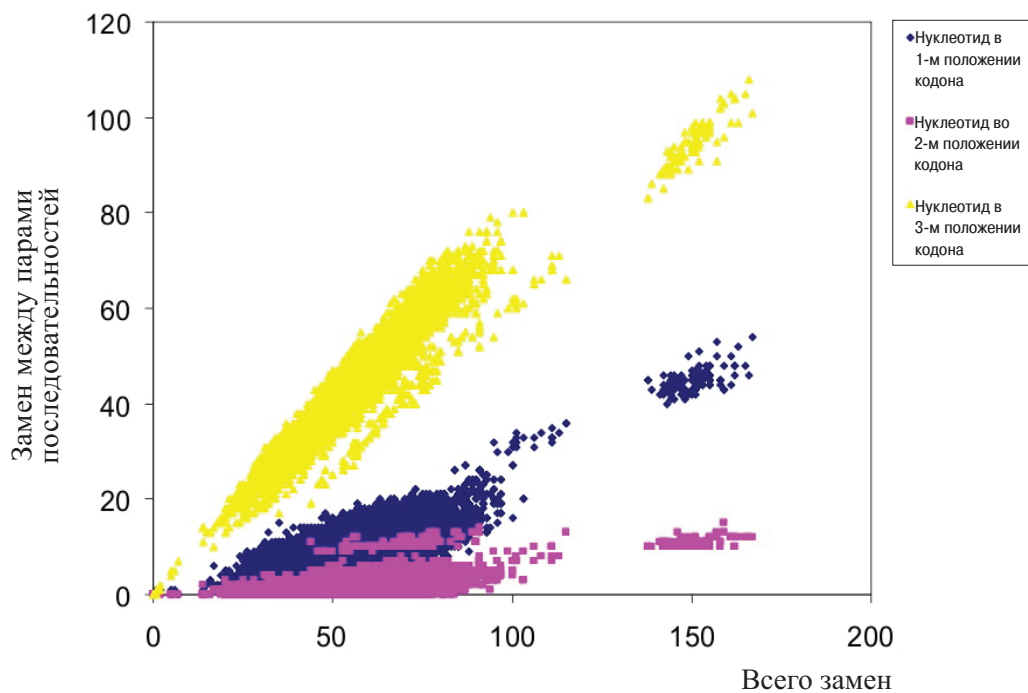


Рис. 2. Насыщение нуклеотидной последовательности заменами в 1-м, 2-м и 3-м положениях кодона. Общее количество вариабельных сайтов показано по оси x; по оси y – количество вариабельных сайтов между парами видов

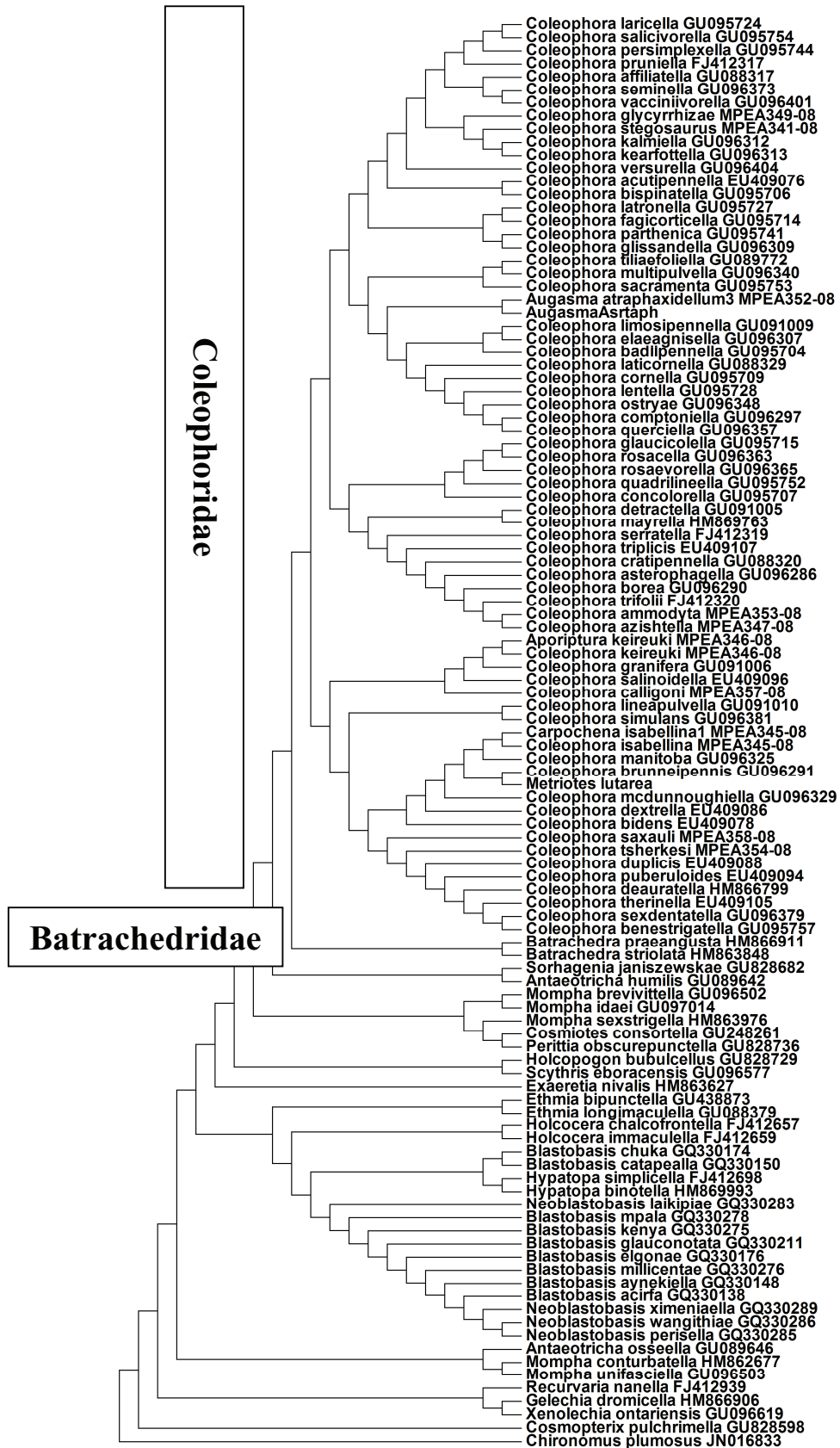


Схема 1. Монофилетичность семейства Coleophoridae и сестринской группы – семейства Batrachedridae. Наименование родовых таксонов приведено согласно базам использованных данных

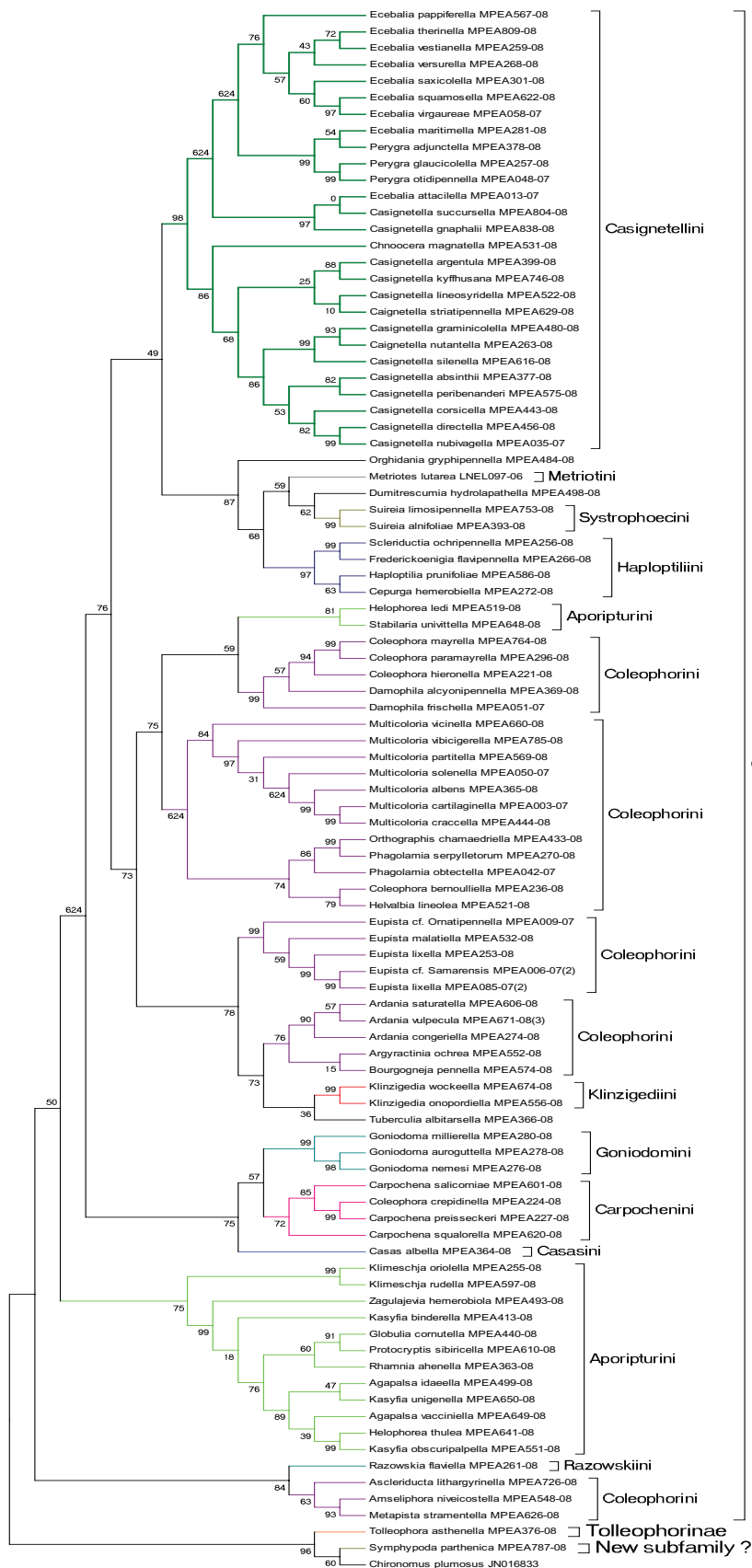


Схема 2. Филограмма семейства Coleophoridae, основанная на гене COI. Метод построения – ME, эволюционная модель MCL



Кроме того, монофилетичны следующие рода: *Eupista* Hübner, 1825; *Damophila* Curtis, 1832; *Multicoloria* Căpuse, 1973; *Casas* Wallengren, 1881; *Goniodoma* Zeller, 1849; *Casas* Wallengren, 1881; *Chnoocera* Falkovitsh, 1972; *Carpochena* Falkovitsh, 1972; *Klimeschia* Căpuse, 1973; *Symphypoda* Falkovitsh, 1972. Из числа этих родов следует отметить *Eupista*, *Klimeschia* и *Symphypoda*, которые занимают достаточно обособленное положение и их таксономический ранг даже выше, чем у таксонов «общеизвестных» западными систематиками, а именно – *Casas*, *Goniodoma* и *Metriotes*.

Близкородственные таксоны *Naploptilini* Barnes & McDunnough, 1917; *Systrophocini* Falkovitsh, 2003 находятся в одном кластере с *Metriotini* Căpuse, 1971, что не противоречит их объединению в одно подсемейство *Coleophorinae* Hübner 1825 [6]. Равно как и то, что трибы *Coleophorini* Hübner, 1825; *Aporipturini* Falkovitsh, 2003 разбиты на отдельные клады (что в принципе подтверждает неоднородность этих таксонов), но при этом все они объединены единым кластером в рамках одного подсемейства *Coleophorinae* Hübner 1825.

Наличие отдельных крупных кластеров подтверждает пока только выделение двух подсемейств *Tollleophorinae* Căpuse, 1972 и *Coleophorinae* Hübner 1825. Однако, кроме указанных этих двух кладов, им по рангу не уступают клады рода *Symphypoda* и в меньшей степени клада с трибой *Razowskiini* Falkovitsh, 2003.

Заключение

Таким образом, в результате анализа полученных филограмм, основанных на частичной нуклеотидной последовательности гена COI была рассмотрена кластерная схема расположения таксонов молей-чехлоносок разного уровня, начиная от родов и заканчивая подсемействами. Можно констатировать, что данный метод оправдал и подтвердил (хотя и частично, по причине отсутствия сиквенсов представителей всех родов) выделение значительного числа таксонов не только на уровне родов, но и триб и подсемейств.

Авторы выражают глубокую признательность сотрудникам Института биоразнообразия – директору, профессору Полу Эберу (*Prof. Paul D. N. Hebert*), руководителям лабораторий – А. В. Борисенко (*Dr. Alex Borisenko*) и Е. В. Захарову (*Dr. Evgeny Zakharov*), сотрудникам Канадской национальной коллекции насекомых, паукообразных и нематод (*Canadian National Collection of Insects, Arachnids and Nematodes*,

Canada, Ottawa) – Джону-Франкусу Ландри (*Dr. J.-F. Landry*) и Вазрику Назри (*Dr. V. Nazri*) за осуществление молекулярной части работы и за лабораторией систематики насекомых ЗИН РАН (С.-Петербург) С. Ю. Синёву за возможность работы с коллекционными фондами института по данному семейству.

Список литературы

1. Căpuse I. Recherches morphologiques et systématiques sur la famille des Coleophoridae (Lepidoptera). Bucarest, 1971. 116 p.
2. Căpuse I. Sur la taxonomie de la famille des Coleophoridae (Clés de détermination des taxa superspécifiques). Bucarest, 1973. 24 p.
3. Фалькович М. И. Новые роды палеарктических чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) // Энтомол. обозрение. 1972. Т. 51, вып. 2. С. 369–386.
4. Фалькович М. И. Новые роды чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) пустынной зоны Палеарктики // Энтомол. обозрение. 1987. Т. 66, вып. 4. С. 817–826.
5. Аникин В. В. Эколого-географический анализ фауны чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) России : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 2002. 38 с.
6. Аникин В. В. Центры видового разнообразия и происхождения молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) Палеарктики // Чтения памяти Н. А. Холодковского. Вып. 62. СПб., 2010. 34 с.
7. Hallam, A., Wignall, P. B. Mass extinctions and their aftermath. Oxford [England]: Oxford University Press, 1997. P. 107.
8. Фалькович М. И. О системе чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae), с описанием новых таксонов // Энтомол. обозрение. 2003. Т. 82, вып. 4. С. 860–885.
9. Sattler K., Tremewan W. G. A Catalogue of the family-group and genus-group names of the Coleophoridae (Lepidoptera) // Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology. 1974. Vol. 30. P. 183–214.
10. Sattler K., Tremewan W. G. A supplementary catalogue of the family-group and genus-group names of Coleophoridae (Lepidoptera) // Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology Series. 1978. Vol. 37. P. 73–96.
11. Vives Moreno, A. Catalogo mundial sistematico y de distribucion de la Familia Coleophoridae Hübner, [1825] (Insecta: Lepidoptera) // Boletín de Sanidad Vegetal. 1988. Fuera de Serie 12. 196 p.
12. Аникин В. В., Синичкина О. В. Хетотаксия гусениц чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) // Самарская Лука. Самара, 1999. Т. 9, вып. 10. С. 264–272.
13. Аникин В. В., Синичкина О. В. Особенности морфологии головы гусениц Coleophoridae (Lepidoptera) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сб. науч. тр. Саратов, 2001. С. 30–32.
14. Синичкина О. В., Аникин В. В. Использование хетотаксии гусениц в систематике молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения : сб. науч. ст. Саратов, 2003. Вып. 6. С. 50–59.



15. Ефимов Р. В., Аникин В. В., Дёмин А. Г. Секвенирование митохондриального гена цитохромоксидазы 1 (CO1) *Metriotes lutarea* (Hw., 1828) (Lepidoptera, Coleophoridae) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сб. науч. тр. Саратов, 2006. Вып. 5. С. 8–10.
16. Аникин В. В. Использование методов ДНК-диагностики в зоологии // Нанобиотехнология : проблемы и перспективы : IV Всерос. шк.-семинар для студ., аспирантов и молодых ученых / под ред. О. Е. Лебедевой. Белгород, 2011. С. 26–29.
17. Аникин В. В., Кнушевицкая М. В. Степень изученности представителей семейства молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) на базе молекулярных исследований // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сб. науч. тр. Саратов, 2011. Вып. 9. С. 23–25.
18. Аникин В. В., Кнушевицкая М. В. Применение молекулярных методов исследований в систематике и филогении молей-чехлоносок (Lepidoptera, Coleophoridae) // Материалы XIV съезда Рус. энтомол. о-ва. Санкт-Петербург, 27 авг. – 1 сент. 2012. СПб., 2012. С. 22.
19. Hall T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids. Symp. Ser. 1999. Vol. 41. P. 95–98.
20. Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball Sh. L., Waard de J.R. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. R. Soc. London B. 2003. Vol. 270. P. 313–321.
21. Ivanova N. V., Waard J. de, Hebert P. D. N. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA // Molecular Ecology Notes. 2006. Vol. 6. P. 998–1002.
22. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Molecular Biology and Evolution (submitted). 2011. Vol. 28, № 10. P. 2731–2739.
23. Huelsenbeck J. P., Ronquist F. MRBAYES : Bayesian inference of phylogeny // Bioinformatics. 2001. Vol. 17. P. 754–755.
24. Ronquist F., Huelsenbeck J. P. MRBAYES 3 : Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. 2003. Vol. 19. P. 1572–1574.
25. Tavaré S. Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequence // Lectures on Mathematics in the Life Sciences. 1986. Vol. 17. P. 57–86.
26. Tamura K., Nei M., Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method // Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). 2004. Vol. 101. P. 11030–11035.
27. Zhetsky A., Nei M. A simple method for estimating and testing minimum evolution trees // Molecular Biology and Evolution. 1992. Vol. 9. P. 945–967.
28. Jones D. T., Taylor W. R., Thornton J. M. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. // Computer Applications in the Biosciences. 1992. Vol. 8. P. 275–282.

УДК 577.151

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ЛИГНИН-ПЕРОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНОГО И ЭПИФИТНОГО ШТАММОВ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

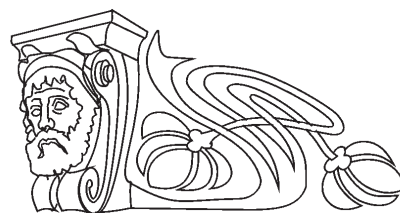
В. Е. Никитина, М. А. Купряшина, С. В. Петров*, Е. В. Глинская*

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: nikitina@ibppm.sgu.ru

*Саратовский государственный университет

E-mail: elenavg-2007@yandex.ru



Установлено различие в лигнин-пероксидазной активности эндофитного и эпифитного штаммов бактерий рода *Azospirillum*. Выявлена зависимость активности лигнин-пероксидазы от возраста культуры, температуры выращивания, присутствия источников азота и углерода в среде культивирования. Обнаружено стимулирование активности лигнин-пероксидазы соединением ароматической природы.

Ключевые слова: лигнин-пероксидаза, *Azospirillum brasiliense*, эндофитный и эпифитный штаммы, условия культивирования.

Influence Conditions of Cultivation on Lignin Peroxidase Activity of Endophytic and Epiphytic Strains *Azospirillum Brasiliense*

V. E. Nikitina, M. A. Kupryashina, S. V. Petrov, E. V. Glinskaya

Differences in lignin-peroxidase activity between the endophytic and epiphytic strains of bacteria of the genus *Azospirillum* has been demonstrated. Dependence of The lignin-peroxidase activity was found