

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

# ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ЗООЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ТЕОРИЯ И МЕТОДЫ

По материалам Международной конференции  
"Юбилейные чтения, посвященные  
170-летию Зоологического института РАН",  
проходившей 23-25 октября 2002 г.

Товарищество научных изданий КМК  
Москва - Санкт-Петербург • 2004

# Коллекции ДНК — новый путь изучения и сохранения биологического разнообразия

Н.И. Абрамсон, Н.Б. Ананьева,  
С.А. Подлипаев, О.Н. Пугачев

*Зоологический институт РАН*

В настоящее время существуют два основных типа коллекций организмов, главный из которых — традиционные музейные коллекции, давно занявшие свое место как отправной материал при описании биологического разнообразия. Значительно менее распространены депозитарии замороженных жизнеспособных репродуктивных и соматических клеток.

Традиционные коллекции служат для экспонирования обработанных тем или иным способом останков животных, пригодных, в основном, для морфологических исследований и дающих общее представление о биоте. Возможности получения дополнительной информации, например, об особенностях тонкого строения и о геноме организма, сохраненного в виде чучела, весьма ограничены.

Криоконсервация позволяет сохранять потенциально жизнеспособные организмы или их клетки и почти идеальный тип депонирования материала. Она открывает широкие возможности для исследований и практических приложений. Однако технология глубокого замораживания и хранения в жидком азоте достаточно сложная, дорогая и энергоемкая процедура. Только расходы на содержание одного такого банка в США оцениваются от 50 000 \$ до 80 000 \$ в год. В результате лишь ограниченное число видов живых организмов в настоящее время находится в криобанках и трудно надеяться на репрезентативное отражение природного биологического разнообразия по имеющемуся в криобанках материалу в будущем. Криобанки нуждаются в дополнении криоконсервированных объектов коллекцией ДНК, призванной служить, в том числе и для контроля состояния генома организмов, полученных из криобанков, путем сравнения с референтной ДНК.

Технический аспект сохранения ДНК весьма прост. Выделенная, очищенная и высушенная ДНК длительное время может сохраняться при комнатной температуре в закрытых пробирках, наполненных инертным газом.

Широкое использование молекулярных методов для изучения биоразнообразия, исследования механизмов эволюции и адаптации живых организмов и др. будет, очевидно, развиваться как стратегическое направление развития фундаментальных наук о жизни в обозримом будущем. Прикладные достижения молекулярно-биологических и гено-инженерных исследований общеизвестны и, во многом, определяют технологический прогресс современной цивилизации. Для значительной доли, если не для подавляющего большинства таких работ, исходным материалом служит ДНК. Повсеместное применение молекулярных маркеров для описания биоразнообразия и таксономических исследований связано как с особенностями

ми этих методов, позволяющих формализовать процедуры описания, так и с уже упомянутой возможностью длительного срока хранения ДНК. Объединение классических методов таксономических исследований и сбора материала для молекулярно-генетического анализа и мониторинга биологического разнообразия, можно считать главным направлением в разработке стратегии сохранения биологического разнообразия как в настоящее время, так и в долгосрочной перспективе.

Традиционные способы сохранения биологического разнообразия — это, прежде всего, создание заповедников, в которых основные усилия направлены на сохранение среды обитания, создание живых коллекций в ботанических и зоологических садах, банков семян растений, а также собирание и документирование музейных коллекций. Однако, если к проблеме уменьшения биологического разнообразия в результате исчезновения видов привлечено пристальное внимание, то сопутствующее уменьшение доступа к генетическим ресурсам редко широко обсуждается. Между тем, информация, заключенная в геноме вида, чрезвычайно важна и легко сохраняется в форме ДНК. Шадающие методы сбора материала для выделения ДНК, позволяющие сохранить организм живым, особенно важны при исследовании редких, реликтовых и исчезающих видов. Разработанные к настоящему времени методы молекулярного типирования не только живых объектов, но и использования для этих целей коллекционного материала, позволяют включить в круг современных исследований уникальные экземпляры животных, многие из которых находятся на грани вымирания или уже исчезли.

В ближайшем будущем определение последовательностей нуклеотидов (сиквенс) ДНК будет рутинной автоматизированной процедурой, и исследователи смогут быстро получать сиквенс любого организма, чья ДНК была соответствующим образом выделена и сохранена. Это позволит оценить эволюционные отношения между организмами, возможно, уже исчезнувшими, выяснить, как организованы специфичные гены, кодирующие белки, выполняющие специализированные функции и т.п. Здесь уместно вспомнить, что наши предшественники, создававшие коллекции, не только дали нам возможность работать с объектами разными методами, появление которых они не могли предвидеть, но и дали нам пример научного предвидения. Со времени зарождения наук о природе музейные образцы являлись основой проводимых исследований. Это положение сохранялось в течение всего периода развития описательных биологических дисциплин и, как нам представляется, сохранится и дальше на новом качественном уровне.

Последнее десятилетие характеризовалось революционными изменениями представлений о системе и эволюции животных. Эти изменения, в первую очередь, были связаны с развитием методов молекулярной систематики. Современные методы мониторинга и сохранения биологического разнообразия и широкое распространение молекулярных методов для его описания с неизбежностью требуют объединения усилий представителей традиционных направлений, накопивших огромный опыт отражения разнообразия классическими методами, с бурно развивающимися методами описания биоразнообразия по молекулярным признакам. Это объединение совершенно необходимо уже на самых начальных этапах — сборе и определении материала, так как иногда трудно доверять определениям видов, использо-

ванных в молекулярных исследованиях. Поэтому значение традиционных музейных коллекций — непреходящее и фундаментальное, а систематика выступает в качестве базовой науки для биологических исследований.

В настоящий момент в мире лишь начинается широкое обсуждение необходимости создания коллекций ДНК (Ryder et al., 2000). Нам представляется, что время не упущено, и мы не будем отставать от аналогичных международных программ, и имеем хорошие возможности стать частью единой мировой системы банков ДНК, создание которой, очевидно, — дело ближайших лет. Как для разработки и реализации стратегии сохранения биологического разнообразия, так и для создания депо биологического материала, пригодного для исследования различными методами как сейчас, так и в будущем, создание коллекции ДНК представляется чрезвычайно важным. Коллекция ДНК дополнит банк данных о биологическом разнообразии, где каждая составная часть коллекционной триады — музей, криобанк и банк ДНК — будут нести свои специфические функции и смогут адекватно обслуживать потребности биологической науки и технологии в новом тысячелетии.

Зоологический институт РАН, ведущий в России и один из самых авторитетных институтов, занимающихся систематикой живых организмов, в мире. Огромный опыт сотрудников и исключительные по богатству фондовые коллекции, собранные за многие десятилетия, делают Зоологический институт идеальной базой для развития современных методов систематики животных в России. Разработанные к настоящему времени методы молекулярного типирования не только живых организмов, но и использования для этих целей костного материала, в том числе и ископаемого, позволяют включить в круг современных исследований имеющиеся только в коллекции Зоологического института уникальные экземпляры животных, многие из которых находятся на грани вымирания или уже исчезли. Подобные исследования, без сомнения, будут иметь мировой приоритет. В Институте уже имеется группа сотрудников, накопивших опыт использования молекулярных методов. На сегодняшний день межлабораторное подразделение "Группа молекулярной систематики" Центра коллективного пользования "Таксон" имеет в своем распоряжении приборы и оборудование, позволяющие обслуживать текущие потребности нескольких исследовательских групп. На базе центра уже проводятся комплексные исследования насекомых, рыб, млекопитающих, рептилий, различных групп паразитических организмов (от простейших до червей) специалистами — систематиками. Начато создание банка генетических ресурсов животных (простейшие, насекомые, рыбы, амфибии, рептилии, млекопитающие), которые могут быть легко сохранены в виде очищенной высокомолекулярной ДНК. К настоящему времени в Зоологическом институте имеются две довольно значительные коллекции ДНК — в определенной степени прообраз будущего банка. Это коллекции ДНК рептилий в Лаборатории герпетологии и ДНК паразитических простейших — трипаносоматид в Лаборатории протозоологии. Трипаносоматиды насекомых исследуются в нашем институте уже давно и разными методами (морфология, электронная микроскопия, биометрия). Логика исследований этих организмов, имеющих исключительно мало информативных морфологических признаков, с неизбежностью привела к применению молекулярных методов. Такие исследования нашей коллекции трипаносоматид начались около 10

лет тому назад и проводились на базе лабораторий в Москве и за рубежом, а теперь продолжаются и в Зоологическом институте РАН. Имеющаяся коллекция ДНК отражает биологическое разнообразие трипаносоматид насекомых на Севере и Северо-Западе России от Калининграда до Баренцева моря.

В коллекции ДНК рептилий представлены образцы, в частности узорчатого полоза, прыткой ящерицы, ряда видов гадюковых змей, в том числе 55 образцов редких и исчезающих видов. В Группе молекулярной систематики ЗИН РАН в 2001 г., в частности, с использованием прижизненно взятых образцов крови, собран материал, позволивший выделить тотальную ДНК из 10 видов рептилий, хорошо исследованных морфологически и занесенных в Красную книгу России. Следует особо отметить, что для многих образцов ДНК была выделена из экзубиев (линных шкурок) и крови животных, при применении щадящих методов, оставляющих животных живыми. Начата коллекция ДНК млекопитающих — весьма интересных в таксономическом и эволюционном отношении. Выделены первые образцы ДНК рыб и паразитических червей. Собраны первые десятки образцов ДНК и начат подбор молекулярных маркеров для описания биоразнообразия — мух, тлей, муравьиных львов и других насекомых, в том числе и таких перспективных для дальнейших исследований, как домовый комарик (*Culex pipiens molestus*), очень быстро видоизменяющийся и становящийся все большей проблемой в городах, в то время как разнообразие этого вида, привлекающего все большее внимание исследователей, изучено очень мало. Начало молекулярных исследований по этому насекомому стало возможным потому, что в Зоологическом институте работает специалист, в течение многих лет исследующий этот вид и поддерживающий лабораторную культуру (Vinogradova, 2000).

За короткий срок существования межлабораторного подразделения молекулярной систематики "Таксон" с использованием последовательностей нуклеотидов генов 5S рНК и генов 18S ррНК для 5 видов построены филогенетические схемы, показавшие гетерогенность ряда существующих родов паразитических простейших — трипаносоматид. Особый интерес представляет включение в молекулярные филогении трипаносоматид, выделенных в лабораторные культуры сотрудниками ЗИН на Севере — на Беломорской биологической станции института и на Кольском полуострове. Полученные данные позволяют говорить о высоком уровне клональной изоляции у трипаносоматид и впервые указывают на чрезвычайно широкое географическое распространение отдельных генотипов (Подлипаев, Фролов, 2000; Podlipaev, 2001).

Значительное внимание уделяется молекулярно-генетическим исследованиям пресмыкающихся, в частности, изучению внутривидовой структуры в комплексе колубридных змей с использованием молекулярных маркеров РАПД. В качестве объекта исследования использовали широкоареальный палеарктический вид узорчатого полоза *Elaphe dione* (Pallas, 1773). Представления о внутривидовой дифференциации этого таксона весьма противоречивы, а использование различных методов и признаков нередко дает противоположные результаты. Материалом для данного исследования послужили музейные коллекции ЗИН РАН и живая коллекция рептилий Тульского областного экзотариума. Из музейных коллекций использованы образцы тканей печени и скелетных мышц, фиксированные в 96%-ном этаноле.

У живых змей образцы крови брались из хвостовой вены и также фиксировались в 96%-ном этаноле. Кроме того, ДНК выделялась из крови, сохраненной на фильтровальной бумаге без консервации в этаноле. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что узорчатый полоз не является монотипическим видом, а дальневосточная популяция больше тяготеет к *E. bimaculata*, нежели к представителям своего же вида, обитающих западнее. На основании анализа полученных данных подтверждается самостоятельность дальневосточного подвида *Elaphe dione* — *Elaphe d. cherskii* Nikolsky, 1914. Особи из Китая, ранее относимые к *E. bimaculata*, скорее всего, следует относить к подвиду *E. d. bimaculata*.

Другая работа, выполненная на пресмыкающихся, посвящена проблеме наследования РАПД-ДНК-маркеров в семейных группах змей рода *Elaphe*. Индивидуальной характеристикой особи при этом подходе является число копий и длина фрагментов геномной ДНК, образующихся в результате ПЦР со случайными РАПД-праймерами. Проблема наследования данных ДНК-маркеров при внутривидовых и межвидовых скрещиваниях в лабораторных условиях остается неизученной. В работе была поставлена задача изучения наследования генетических РАПД-маркеров в семейных группах змей рода *Elaphe* с использованием особей с документально зарегистрированной родословной в экспериментах по межвидовому скрещиванию. Материалом для работы послужили четыре семейные группы змей рода *Elaphe*, в которой родительские формы были представлены особями подвидов и видов *E. guttata guttata*, *E. obsoleta rossalleni*, *E. climacophora*, *E. schrenckii schrenckii*, *E. s. anomala*. Каждая семья состояла из родителей и двух поколений гибридных особей, выращенных в неволе. Результаты исследования показали, что внутри семей полозов существует очень низкая генетическая гетерогенность, sibсы часто идентичны. Вне зависимости от использованных РАПД-маркеров, каждая семья имела собственный паттерн (рисунок) фрагментов ДНК на электрофореграмме, который четко отличался от распределения фрагментов в неродственной семье. Особи рода *Elaphe*, родившиеся от межвидовых скрещиваний, приобретают РАПД-генотип от своих отцов. Полученные результаты позволят в дальнейшем выявить отдельные молекулярные РАПД-маркеры, которые можно будет использовать для установления степени родственных отношений у пресмыкающихся (Sideleva et al., 2003).

С применением молекулярных методов в центре начато исследование генетической изменчивости ряда широкоареальных видов позвоночных (Калябина и др., 2003). Предполагается, что сопоставление результатов молекулярных исследований (прежде всего секвенирования) с палеонтологическими и зоогеографическими данными позволит проследить историю расселения и формирования ареала того или иного вида. В настоящее время опубликованы предварительные результаты работы с прыткой ящерицей (*Lacerta agilis*) (Калябина и др., 2001, 2003; Kalyabina et al., 2001), где на основе молекулярного анализа гена цитохрома b показано, что в пределах проанализированных популяций и подвидов прыткой ящерицы выделяются три генетически обособленные группы, являющиеся монофилетическими, так же как и собственно прыткая ящерица, а в пределах комплекса *Vipera berus* четко выделяются пять филогеографических групп.

Исследования, проводимые на организмах с широким голарктическим распространением, особенно с использованием молекулярных маркеров, позволяют оценить роль процессов дисперсии, фрагментации ареала и изоляции в формировании современной картины генетической и морфологической дифференциации и видообразования. Представители обоих родов леммингов (*Dicrostonyx* и *Lemmus*), распространенные циркумполярно, являются прекрасными модельными объектами для исследований такого рода, так как по обеим группам к настоящему времени накоплен большой объем данных по морфологии вымерших и современных форм, по кариологии и гибридизации, а также имеются и данные анализа мДНК. Сопоставление всей совокупности данных (молекулярно-генетических, морфологических, палеонтологических) у двух симпатрических форм, находившихся под влиянием одних и тех же физико-географических факторов в плейстоцене, показало резкие различия в характере дифференциации и степени дивергенции у двух таксонов (Абрамсон, Тихонова, 2003) и, в то же время, наличие соответствия между кластерами, получаемыми на основании исследования изменчивости черепных признаков и мДНК (Abramson, 1999; Abramson, Tikhonova, 2003). Комплексный анализ данных морфологии, палеонтологии, кариологии, гибридизации и изменчивости мДНК у обоих родов леммингов показал неправомочность прямого переноса уровня молекулярной дивергенции на таксономический ранг и применимости молекулярных часов даже к родственным формам со сходной биологией, скоростью метаболизма и сменой поколений.

Объединение классических и современных методов в области систематики, описания и мониторинга биоразнообразия, в первую очередь, определяет научную значимость программы на долгосрочную перспективу. Изложенные результаты исследований проводятся как в тесном контакте специалистов по классической систематике и молекулярным методам, так и самими классическими таксономистами, обучающимися новым методам в процессе исследований. В настоящее время сбор материала осуществляется по единой программе и методами, позволяющими адекватно отражать природное биологическое разнообразие. Подобное объединение позволяет надеяться на развитие синтетической концепции биологической систематики и описания биологического разнообразия.

Несмотря на широкое и успешное применение молекулярных методов в систематике и филогении, необходимо отметить, что, как и всякий метод, молекулярно-генетический имеет свои ограничения и недостатки. Подробный анализ последних приведен в ряде обзоров (Avice, 1994; Hillis, Moritz, 1996; Ayala, 1997; Гречко, 2002) и выходит за рамки настоящего сообщения. Однако в связи с еще бытующим порой представлением, особенно среди молекулярных биологов, что молекулярные маркеры в области изучения эволюции и систематики животных и растений являются некоей панацеей, мы ниже кратко остановимся на наиболее явных заблуждениях.

Распространенная область использования молекулярной систематики — это предсказание времени дивергенции видов по данным молекулярной дивергенции, и в то же время — это поле значительных противоречий между классическими и молекулярными методами. Представляется очевидным, что молекулярная дивергенция грубо скоррелирована с дивергенцией во времени, однако самые ожесточенные споры ведутся вокруг вопросов постоянства скорости дивергенции и того,

насколько сильна ошибка, связанная с предсказанием времени дивергенции по данным меры молекулярного сходства. Гипотеза молекулярных часов базируется на том, что скорость молекулярных изменений относительно постоянна (в пределах конкретных генов и таксонов) и, вследствие этого, данные по молекулярной дивергенции вполне можно использовать для предсказания времени реальной дивергенции. Использование данных по уровню молекулярной дивергенции привело к созданию так называемой шкалы времени для выведения филогении, которая особенно часто используется тогда, когда не хватает палеонтологических данных. Не имеет смысла оспаривать факт гетерогенности скорости изменения отдельных нуклеотидов, различных генов, различных участков генома, различных геномов внутри организма (ядерного или митохондриального). Тем не менее "универсальные" молекулярные часы предполагались для многих отдельных генов и участков генома у широкого спектра таксонов. К примеру, очень распространено положение о том, что мДНК животных изменяется с постоянной скоростью примерно в 2% дивергенции последовательностей за 1 млн. лет между парой таксонов. Однако последние исследования показали значительную гетерогенность скорости изменения мДНК внутри и между различными группами животных. Молекулярные часы предполагались и для многочисленных ядерных генов, но в большинстве случаев скорости замен варьируют среди различных таксономических групп. Хотя имеется много причин, объясняющих отсутствие универсальных молекулярных часов, это очевидная гетерогенность оставляет лазейку для сторонников концепции молекулярных часов, чтобы настаивать на существовании "локальных" молекулярных часов. Согласно этой точке зрения, у близкородственных видов со сходной биологией, скоростью метаболизма и сменой поколений, скорость эволюции конкретного гена, вероятно, стабильна. Однако исследования, проведенные на конкретных таксонах, удовлетворяющих этим требованиям (Fedorov, 1999; Абрамсон, Тихонова, 2003) не подтвердили и это допущение. При оценке времени дивергенции по значениям молекулярной дивергенции необходимо иметь в виду следующее.

1. При любой оценке времени нужна ясная ссылка на калибровку времени для конкретного типа анализируемых молекулярных данных. Такая калибровка должна основываться на независимых оценках времени дивергенции, например, палеонтологические данные, но не другие молекулярные данные.

2. Очень осторожно следует относиться к переносу калибровки, полученной для одной группы организмов на другую, поскольку скорости молекулярной дивергенции значительно различаются между группами.

Один из способов решения проблемы калибровки — это получить как можно больше различных независимых оценок времени дивергенции по различным независимым генам или по многим таксонам, которые могли быть затронуты конкретным фрагментационным событием.

Среди распространенных "ловушек" молекулярной филогении следует отметить следующие:

1) использование генов, которые, строго говоря, не являются гомологичными (ортологичными) у рассматриваемых видов: выведение филогении видов на осно-



вании сравнения различных паралогичных версий генов, т.е. копий, получившихся от дубликации, имевшей место до разделения видов;

2) использование в качестве молекулярных маркеров генов, скорость эволюции которых не адекватна рассматриваемому периоду времени (гены, накопившие слишком много мутаций трудно поддаются выравниванию, гены, которые слишком медленно эволюционировали, хорошо поддаются выравниванию, но несут очень мало филогенетической информации);

3) использование недостаточного количества информации (слишком короткие цепочки), приводящее к ошеломляющему эффекту случайных факторов;

4) несоответствие методов реконструкции деревьев. Кроме того, к артефактам зачастую могут приводить: использование ограниченного набора видов и малых выборок, мутационное насыщение последовательностей и неравномерность скоростей молекулярной эволюции.

Разнообразие молекулярных методов исследования, которые на сегодняшний день применимы в систематике, и вопросы, которые решаются с применением этих методов, невозможно осветить в одном сообщении, поскольку круг проблем последних воистину грандиозен, от отношений внутри демов, до построения всеобщей филогении. Быстрое развитие молекулярных методов привело к своего рода эйфории в эволюционной биологии, поскольку вместе с совершенствованием молекулярных методов появилась возможность подойти к решению огромного множества новых проблем. Это привело к очень распространенному ложному впечатлению, что все проблемы эволюционной биологии можно решить с помощью молекулярных данных. Это безусловно не так. Как это часто бывает, достижения новых технологий сопровождаются своего рода "шовинизмом" по отношению к данным, полученным при использовании методов, применявшихся для решения тех же вопросов ранее. Когда в 1960-е и первой половине 1970-х гг. в систематических исследованиях стал широко применяться электрофорез белков, новые данные биохимической систематики некоторыми исследователями были немедленно объявлены "лучше" традиционных морфологических данных. Развитие методов ДНК гибридизации и рестрикционного анализа сопровождалось новым признанием превосходства, и те, кто продолжал работать с электрофорезом белков, были наказаны (в рецензиях на гранты и публикации) за "старомодность". Определенные методы лучше подходят для решения конкретных проблем, но нет таких методик, которые хороши при всех условиях и для всех проблем. Не существует "плохих" методов, но мы часто сталкиваемся с их некорректным применением. При решении определенных задач данные морфологии имеют явное преимущество над молекулярными данными, тогда как обратное может быть справедливо при других условиях. Но главное, что хотелось бы подчеркнуть, что только путем сопоставления данных, полученных с применением различных морфологических и молекулярных методик, можно добиться полноценного описания эволюционного сценария, филогении и систематики группы.

Хотелось бы закончить это сообщение высказыванием выдающегося зоолога, работавшего в нашем институте — Артемия Васильевича Иванова: "Систематика — наука синтетическая и строит свои выводы на данных морфологии, эмбриологии, палеонтологии, физиологии, биохимии, экологии, этологии и генетики. Возможно-

сти и достижения систематики в значительной степени определяются успехами этих наук" (Иванов, 2000: 85).

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят С.В. Калябину, Ю.А. Смирнову, О.Г. Сиделеву и А.Ю. Костыкова за предоставление материалов и обсуждение, и Российский фонд фундаментальных исследований (гранты 00-04-48849, 02-04-48720; 02-04-48581; 03-04-49179) и программу фундаментальных исследований РАН "Динамика генофондов растений, животных и человека" за финансовую поддержку исследований.

## ЛИТЕРАТУРА

- Абрамсон Н.И., Тихонова Е.П. 2003. Сравнительный анализ морфологической и молекулярной изменчивости у двух родов арктических леммингов (*Lemmus* и *Dicrostonyx*) с оценкой филогеографических гипотез // Орлов В.Н. (ред.). Териофауна России и сопредельных территорий (VII съезд Териологического общества). Материалы Международного совещания. С. 12.
- Гречко В.В. 2002. Молекулярные маркеры ДНК в изучении филогении и систематики // Генетика. Т.38. Вып.8. С.1013-1033.
- Иванов А.В. 2000. Систематика и ее задачи // Карпов С.А., Степаньянц С.Д. (ред.). Руководство по зоологии. Протисты.1. СПб.: Наука. С.85-97.
- Калябина С.А., Мильто К.Д., Ананьева Н.Б., Легал Л., Йогер У., Винк М. 2001. Филогеография и систематика прыткой ящерицы (*Lacerta agilis*): молекулярный подход // Вопросы герпетологии. Материалы первого съезда Герпетологического общества им. А.М. Никольского. С. 112-115.
- Калябина С.А., Йогер У., Орлов Н.Л., Винк М. 2003. Филогения и систематика гадюковых змей комплекса "*Vipera berus*" // Бакиев А.Л., Маленев А.Л., Носкова О.Л. (ред.). Змеи Восточной Европы, Материалы международной конференции. С.22-24.
- Подлипаев С. А., Фролов А.О. 2000. Филогения трипаносоматид: молекулярный и морфологический подходы//Паразитология. Т.34. Вып.3. С. 169-180.
- Abramson N.I. 1999. Taxonomy and zoogeography of true lemmings (*Lemmus*): evidence from classical morphology and mtDNA variation data // Trudi Zoologicheskogo Instituta RAN (Proc.Zool.Inst.RAS). Т.281. P.9-14.
- Abramson N.I., Tikhonova E.P. 2003. Morphometric variation in Collared lemming (Rodentia, Arvicolinae, *Dicrostonyx*) in the Eurasian Arctic in relation to karyotype and mitochondrial DNA diversity // Russian J. Theriol. Vol.1. No.2. P. 125-132.
- Avice F.J. 1994. Molecular markers, Natural History, and Evolution. N.Y.: Chapman and Hall. 511 p.
- Ayala F.J. 1997. Vagaries of the molecular clock // Proc. Natnl Acad. Sci. USA. Vol.94. P.7776-7783.
- Fedorov V.B. 1999. Contrasting mitochondrial DNA diversity estimates in two sympatric genera of Arctic lemmings (*Dicrostonyx*, *Lemmus*) indicate different responses to Quaternary environmental fluctuations // Proc. Roy. Soc., London. Vol.266. P.621-626.
- Hillis D., Moritz C. 1996. Molecular Systematics. Sunderland, Massachusetts, USA. 655 p.
- Kalyabina S.A., Milto K.D. Ananjeva N.B., Legal L., Joger U. Wink M. 2001. Phylogeography and systematics of *Lacerta agilis* based on mitochondrial cytochrome B gene sequences: first results // Russian J. Herpetol. Vol.8. No.2. P. 149-158.
- Podlipaev S.A. 2001. The more insect trypanosomatids under study — the more diverse

- Trypanosomatidae appears // International Journal for Parasitology. Vol.31. P.648-652.
- Ryder O.A., McLaren A., Brenner S., Zhang Ya., Benirschke K. 2000. DNA Banks for Endangered Animal Species // Science. Vol.288. P.275-277.
- Sideleva O., Ananjeva N., Ryabov S., Orlov N. 2003. The comparison of morphological and molecular characters inheritance in family groups of rat snakes of *Elaphe* genus (Serpentes: Colubridae) // Russian J. Herpetol. Vol. 10. No.2. P. 149-156.
- Vinogradova E.B. 2000. Mosquitoes *Culex pipiens pipiens* (taxonomy, distribution, physiology, ecology, genetics, applied importance and control). Sofia: Pensoft Publ. 220 p.

## DNA collections as a new approach to the investigation and conservation of the biological diversity

**N.I. Abramson, N.B. Ananjeva, S.A. Podlipaev, O.N. Pugachev**

*Zoological Institute, RAS*

Last decades were characterized by the revolutionary changes in the concepts on evolution and system of animals. These changes were in the first turn related to the development of methods of molecular systematics. Establishment of the DNA collections is very important both for the development and realization of biodiversity conservation strategy and for the storage of biological material suitable for the study by various methods currently and in the future. The DNA collection will supplement the data bank on biodiversity where each part of the collection: museum, cryobank and DNA bank will have their specific functions and will adequately serve to biological science and technology in the new millennium. Methods of molecular typing of not only living animals but using for this aims of bone material including fossils, allow researchers to enrich the studies with unique specimens available only in the collection of Zoological Institute. Many of such specimens are endangered or already became extinct. Such studies undoubtedly will have world priority. The center for application of molecular-genetic studies "Taxon" has been established in Zoological Institute and the examples of various research programs together with the first results obtained are described. The collection of material is carried out according to a single program. Therewith, the authors want to underline that despite great attention and some boom around molecular methods there are no such techniques which is best in all conditions and for all issues. Some methods are better for the solution of particular problems than others, but there are no "bad" methods, however we often come across their incorrect application. Morphological data have evident advantage over morphological in solution of certain tasks while opposite may be true in other circumstances. The comprehensive description of the evolutionary scenario, phylogeny and systematics of the group may be obtained only by means of careful comparison of data obtained by the application of various morphological and molecular methods.