

ВАВИЛОВИЯ, ГОРОХ И ДРУГИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ ТРИБЫ *FABEAE* (*FABACEAE*): РОДСТВО И СХОДСТВО

А. А. Синюшин

Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова,
Москва, Россия, e-mail: asinjushin@mail.ru

Резюме

Охарактеризованы два основных подхода к изучению эволюционных процессов: определение родства филогенетическими методами и изучение биологии адаптаций. На примере собственных работ по изучению биологии развития представителей трибы *Fabeae* (сем. *Fabaceae*) проанализирована связь между филогенетическим родством и сходством в проявлении некоторых адаптивных признаков. В ряду рассмотренных признаков – морфология и особенности онтогенеза сложного листа, число первых чешуевидных листьев, характер поверхности семенной кожуры.

Ключевые слова: триба *Fabeae*, морфогенез, эволюция, филогения, микросистематика

VAVILOVIA, PEA AND OTHER REPRESENTATIVES OF TRIBE FABEAE (FABACEAE): RELATION AND SIMILARITY

A. A. Sinjushin

Biological faculty of M. V. Lomonosov Moscow State University,
Moscow, Russia, e-mail: asinjushin@mail.ru

Summary

Two basic approaches to study of evolutionary processes have been characterized, viz. investigation of relation with means of phylogeny and study of adaptive biology. Some of original results obtained on developmental biology of members of Fabeae tribe (family Fabaceae) were reviewed. Basing on these results, the connection between phylogenetic relation and adaptive similarity was analyzed. The scored features are morphology and ontogenetic features of compound leaves, number of first scale-like leaves, and character of seed coat surface.

Key words: tribe Fabeae, morphogenesis, evolution, phylogeny, microsystematics

Основной целью большей части биологических исследований является определение характера эволюции – признака, группы, сообщества, адаптации. Генеральное направление биологических исследований было сформулировано Ф. Г. Добжанским в виде хорошо известного афоризма: «Ничто не имеет смысла в биологии, кроме как в свете эволюции» (Dobzhansky, 1973). Один из наиболее распространенных подходов к установлению закономерностей эволюции – определение родственных связей между таксонами разного ранга, т. е. установление филогенетических взаимоотношений. В последние десятилетия основным инструментом такого анализа стала молекулярная филогения – определение степени родства по результатам сравнения структуры ДНК (нуклеотидных последовательностей определенных районов генома или полиморфизма различных молекулярных маркеров).

Ниже мы рассмотрим имеющиеся к настоящему времени результаты использования различных подходов к выявлению филогенетического родства представителей трибы виковых (*Fabeae* Rchb. = *Vicieae* (Adans.) DC.). В настоящее время в составе этой трибы выделяют 5 родов (Schaeffer et al. 2012, в скобках приведено число видов): *Lathyrus* (150-160), *Vicia* (150-160), *Lens* (~5), *Pisum* (2) и *Vavilovia* (1). По современным представлениям, эта триба принадлежит к самым специализированным группам семейства и входит в так называемую кладу, лишенную обращенного повтора

хлоропластного генома (Inverted Repeat-lacking Clade, IRLC) (Wojciechowski et al., 2004). Системе этой трибы посвящено достаточно много работ, в том числе в последние десятилетия. Так, например, значительный интерес вызвал статус рода *Vavilovia* (Sinjushin, Demidenko, 2010 и мн. др.). С одной стороны, это связано с тем, что в ее состав входят многие хозяйственно-ценные виды, в том числе древнейшие культуры – горох посевной (*Pisum sativum*), чечевица (*Lens culinaris*), бобы (*Vicia faba*) и др. С другой стороны, представители этой группы, в основном, населяют умеренные широты, т. е. представляют собой доступный для работы материал.

Результатом филогенетической реконструкции вне зависимости от выбранных критериев и метода становится филогенетическое древо – графическое отражение предполагаемого взаимного родства. Достаточно интересно взглянуть на такие деревья, полученные в различных независимых работах. Беглого взгляда достаточно, чтобы убедиться в том, что их топология оказывается различной, и иногда довольно значительно. Например, в статье Рыжовой и др. (2007) получены данные о достаточном отдалении двух видов чины – *L. pratensis* и *L. aphaca*, в то время как в других работах приводятся данные о близости этих видов вплоть до объединения их в одну секцию (Kenicer et al., 2005). Значительно варьирует топология отдельных подгрупп: одни и те же виды в разных реконструкциях оказываются сгруппированы по-разному: например, для видов А, В и С ситуация может выглядеть как ((А-В)-С) или как ((А-С)-В) и т. д. При этом учет даже еще одного вида (скажем, D) приводит к изменению топологии дерева. Значительно различаются результаты обработки разных данных – например, последовательностей разных районов генома.

Даже самая полная и современная система, построенная для 262 (из ~360) видов виковых (Schaefer et al., 2012) также не может считаться исчерпывающей – хотя бы потому, что охватывает не все разнообразие группы. Впрочем, о полноте выявления разнообразия также говорить нельзя, поскольку за последние 25 лет лишь в роде *Lathyrus* было описано 3 новых вида – речь идет именно об обнаружении «хороших» видов, а не о пересмотре статуса уже известных групп (Genc, Sahin, 2008). Все три новых вида населяют Старый Свет, и можно лишь удивляться тому, что они не были описаны ранее. Так или иначе, с открытием каждого нового вида имеющуюся систему надо будет вновь и вновь приводить в соответствие новым данным – устанавливать родственные связи нового растения теми же средствами, которыми были проанализированы уже ранее описанные таксоны.

Нет нужды и говорить о том, что до настоящего времени нет единого мнения о том, какую последовательность удобнее всего анализировать при работе методами молекулярной филогении, или о том, какой алгоритм предпочтительнее при обработке полученных данных. Таким образом, фактически утрачивает смысл вопрос о том, какая именно из имеющихся (и, несомненно, будущих) филогенетических реконструкций – верная. Если при работе не было допущено явных методических ошибок, то все имеющиеся деревья имеют равную ценность. Выбор наиболее предпочтительной версии, как и в большинстве случаев для систематики, – дело вкуса.

При этом есть еще одно обстоятельство, которое, как кажется, ограничивает применимость этого подхода в изучении эволюционных процессов. Практически любые выводы, которые в рамках подобных исследований удастся сделать – например, подтверждение гибридного происхождения подвида от двух других, установление принадлежности вида к той или иной секции рода, определение принадлежности рода к той или иной трибе – останутся в пределах подвида, вида, секции, рода или трибы. Получаемые результаты локальны, оказываются в противоречии ранее полученным (а иногда и друг другу), имеют ограниченное время актуальности (достаточно построить новое дерево иными методами, чтобы создать повод к пересмотру имеющихся представлений) и, выражаясь фигурально, имеют немного значения для вечности.

Альтернативный подход к изучению закономерностей эволюции – это определение биологического смысла адаптаций к тем или иным условиям, факторам среды. При этом возможна ситуация, когда группа родственных таксонов обладает одной и той же особенностью, унаследованной от общего предка, но уже не имеющей биологического смысла (таковы, например, нектарники у различных *Fabeae*, большая часть которых специализирована к самоопылению и уже не нуждается в привлечении опылителей). Именно поэтому интереснее случаи, когда та или иная структурная (физиологическая, онтогенетическая) особенность встречается у неродственных таксонов. Степень родства можно определять по филогенетическим данным, используя их в таком случае как средство, а не как самоцель. Независимое появление сходных особенностей у неродственных организмов может указывать на их биологический смысл и в конечном итоге – на особенности адаптивных механизмов, возникших в эволюции групп. Например, у бобовых усики встречаются у лиан во всех трех подсемействах и явно возникают независимо. Так, у некоторых *Entada* (подсем. *Mimosoideae*) и виковых (подсем. *Faboideae*) в усики преобразована дистальная часть листа, а у *Bauhinia* (подсем. *Caesalpinioideae*) усики, вероятно, имеют побеговое происхождение.

Ниже приведен краткий обзор собственных работ, посвященных выявлению сходных закономерностей развития у таксонов разной степени родства. Основным объектом рассмотрения являются представители трибы *Fabeae*.

Регуляция развития листа у бобовых.

Горох посевной является одним из традиционных объектов для изучения генетики и биологии развития сложного листа. Напомним, что у более популярных модельных видов в генетике морфогенеза растений – *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (*Brassicaceae*) и *Antirrhinum majus* L. (*Plantaginaceae* s.l.) – лист простой, и изучение регуляции развития сложного листа на них затруднительно.

В норме у гороха (как и у большинства виковых) лист состоит из пары прилистников, рахиса, листочков (1 или более пар) и усиков (0-2 пары). Рахис также заканчивается усиком. Таково в общем строение листьев, начиная с третьего, первый и второй листья обычно редуцированы, и их особенности рассмотрены ниже.

Детали генетического контроля развития листа у гороха изучены достаточно давно, хотя говорить о полноте картины преждевременно. Буквально каждый год появляются описания новых мутаций, нарушающих развитие листа или его отдельных частей. Более подробная информация о путях регуляции морфогенеза сложного листа приведена в работах (Gourlay et al., 2000, Hofer et al., 2001, Синюшин, Гостимский, 2008 и др.). При этом значительный интерес вызывает формирование листа у различных мутантов (рис. 1). Так, мутация в гене *unifoliata* (*uni*) приводит к образованию листа, состоящего из единственного конечного листочка. Мутантный аллель того же гена с более «мягким» действием *unitas* сохраняет общую архитектуру листа, но после развития первой пары усиков неизбежно образуется конечный листочек (фенотип «усиковая акация»). Описанная недавно мутация *tendrilled acacia-A* (*tacA*) приводит к слиянию конечных структур листа в единую листовую пластинку.

Ген *UNI* является одним из ключевых регуляторов морфогенеза у гороха и детерминирует вообще развитие сложного листа. При нарушении функции этого гена происходит прекращение нарастания оси листа с образованием конечного листочка. У нормальных растений лист развивается до конца, у мутантов происходит прерывание этого процесса на разных этапах. В целом мутация *uni* приводит к упрощению строения листа.

Напротив, мутация *tacA* не изменяет сложности листа, но нарушает процесс деления его частей: листочки и усики закладываются в нормальном количестве, но оказываются объединенными в общую многолопастную листовую пластинку. Именно поэтому такой фенотип первоначально получил название «рассеченнолисточковый лист» (Зеленов и др., 2008).

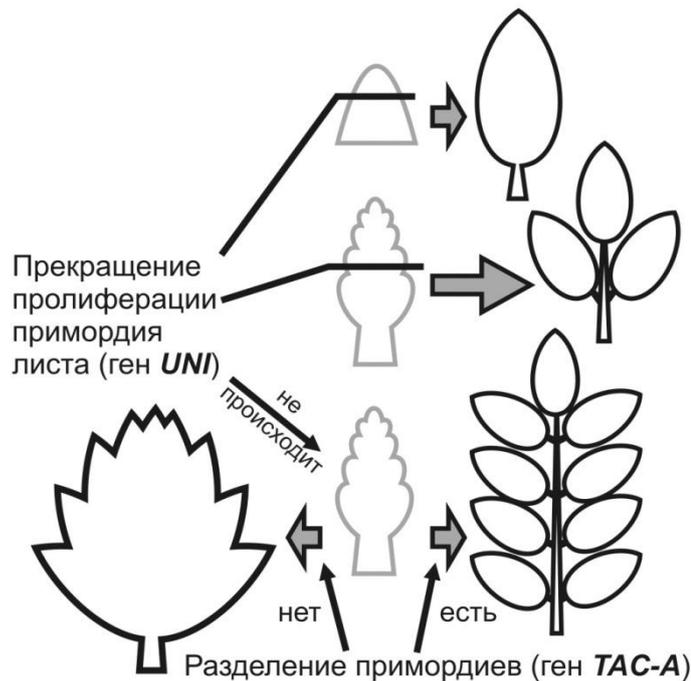


Рис. 1. Схема формирования различных типов листа у бобовых за счет активности генов UNI и TAC-A.

Если принять, что в нормальном морфогенезе листа гороха есть функции ограничения сложности путем формирования конечного листочка и разделения/неразделения частей сложного листа, то можно построить логическую схему, которая объясняет практически все разнообразие листьев в семействе бобовых (рис. 1). Так, при образовании конечного листочка на разных стадиях развития сложного листа можно получить соответственно однолисточковый, тройчатый и непарноперистый листья. При неразделении частей сложного листа можно получить вторично-простой лист – вероятно, именно таким путем сформировался своеобразный двулопастной лист у представителей самой древней трибы бобовых – *Cercideae* (например, у *Bauhinia*).

Ряды переходов можно наблюдать не только у мутантов, но и в природе в пределах нормального морфогенеза. Так, ряд от однолисточкового к перистосложному с большим числом пар листочков листу характерен для развития многих бобовых – например, *Astragalus*. Особенности развития первого листа (однолисточковый/тройчатый) предложены как систематический признак у астрагалов при определении их всходов (Васильченко, 1965). Постепенный переход от простого перистораздельного к перистосложному листу обычен для листьев *Gleditsia triacanthos* (Neville, 1970, собств. наблюдения).

Логика подобного обобщения основана на законе гомологических рядов в наследственной изменчивости, сформулированном Н. И. Вавиловым (1935). Для аномальных (в том числе и мутантных) форм изменчивости эта идея была переформулирована С. В. Мейеном в виде так называемого «правила Кренке» (Meуen, 1973). В значительной степени такой подход лежит в основе активно развивающегося в настоящее время направления – эволюционной биологии развития (evo-devo). Даже если за морфологическим сходством структур (в данном случае листьев) не стоит общность путей генетического контроля их регуляции, то можно говорить как минимум о модусах

преобразования некоего базового плана строения (сложного листа), которые рожают все разнообразие реальных листьев в семействе бобовых. Горох посевной в этой связи выступает лишь как модель – растение, у которого спектр мутационной (аномальной) изменчивости значительно перекрывает диапазон изменчивости для семейства в целом, частично воспроизводя формы, которые у отдаленно родственных триб возникают как нормальные. Таким образом, можно моделировать процессы эволюции листа, основываясь в первую очередь на сходстве структур, а не на близости родства групп, у которых эти структуры возникают.

Разнообразие в числе и строении первых листьев у виковых.

Описанное выше строение листа за несколькими исключениями характерно для всей трибы виковых – но лишь для листьев срединной формации. Для всей группы характерно подземное прорастание (семядоли остаются под землей), и несколько первых листьев оказываются редуцированными. Так, у гороха первые два листа имеют вид трехзубчатых чешуек (катафиллов). Считается, что боковые лопасти этих видоизмененных листьев соответствуют прилистникам, а срединная часть – листу как таковому. Первый лист у виковых всегда оказывается на выпуклой стороне крючкообразно изогнутого зародыша, второй смещен на 180°, последующие листья расположены двурядно.

Имеются данные о числе и особенностях строения катафиллов у представителей родов *Vicia* (Nozzolillo, 1977), *Pisum*, *Vavilovia*, *Lathyrus* (Sinjushin, Akopian, 2011), а также у близкого рода *Cicer* (Nozzolillo, 1985), относящегося к трибе *Cicereae*. Структура первых листьев у перечисленных родов достаточно однообразна, но число сильно варьирует. При этом наблюдается любопытная тенденция: для однолетников в целом характерно небольшое (2) число катафиллов, в то время как у многолетних видов число катафиллов больше (3-5). Такая закономерность достаточно стабильно сохраняется у нутов, вик и чин, среди которых есть и однолетние, и многолетние виды.

Биологический смысл такой связи остается не вполне понятным, возможны как минимум два объяснения. Так, можно предположить, что для многолетников характерно более длительное время покоя семян. За время, которое успевают пройти от диссеминации до прорастания, часто накапливается значительный слой опада, через который растение должно прорасти, сохранив апекс побега неповрежденным. Дополнительные катафиллы могли бы служить цели защиты конуса роста. С другой стороны, такая логика кажется применимой лишь для части местообитаний (например, леса или луга), но не для условий, в которых опад накапливается очень медленно или практически не образуется – например, каменистых осыпей, на которых произрастает *Vavilovia* (у проростков вавиловии образуется 3 катафилла).

В качестве альтернативной гипотезы (безусловно, нуждающейся в опытной проверке) можно предположить, что граница между катафиллами и сложными листьями у многолетников совпадает с границей между зимующей и однолетней частями. Тогда логично принять, что эпикотиль и катафиллы остаются в грунте, и из пазух чешуевидных листьев вырастают побеги возобновления – в этот же или последующий сезон. Для того чтобы подтвердить или опровергнуть эту гипотезу, требуются наблюдения за онтогенезом растений с разной длительностью жизненного цикла в естественных местообитаниях.

Интересно, что в приведенном примере мы видим связь признака числа катафиллов с длительностью жизненного цикла, а не с положением вида в системе рода. В новейшей из доступных систем трибы (Schaefer et al., 2012) многие клады на дендрограмме состоят из видов с разной длительностью жизненного цикла. Таким образом, функционально обусловленное сходство вновь оказывается не связанным с родством – по крайней мере, тем, которое выявляют методы молекулярной филогении.

Характер поверхности семенной кожуры у виковых и его возможное адаптивное значение.

Одной из важных особенностей, определяющих специфику функционирования организма растений (по сравнению, например, с животными), является практически полное отсутствие способности к активному передвижению. Расселение растений происходит путем пассивной (ненаправленной) диссеминации и, выражаясь фигурально, любую проблему, возникшую на месте прорастания, растение вынуждено решать, не сходя с места. В этой связи существенное значение приобретает комплекс признаков, связанных с распространением плодов и семян.

У бобовых вообще разнообразие приспособлений к диссеминации очень велико. Среди представителей этого семейства есть и орнитохорные виды с ярко окрашенными семенами (*Abrus*), и анемохорные с различными выростами на крылаткообразных плодах (*Pterocarpus*), и гидрохорные с легким эндокарпием (*Entada*) и т.д. Большинству виковых присуща баллистохория: зрелый плод вскрывается двумя швами за счет деформации пергаментного слоя створок, и происходит разбрасывание семян в разные стороны. Очевидно, что для обеспечения такого механизма существует целый ряд приспособлений: особенности анатомического строения перикарпия, характер прикрепления семян к створкам плода, предположительно строение соцветия. В контексте обсуждаемого «синдрома диссеминации» мы проанализировали характер поверхности семенной кожуры у ряда виковых.

Хорошо известно, что поверхность спермодермы у представителей *Fabeae* весьма разнообразна (Abou-El-Enain et al., 2007). Наши наблюдения подтвердили, что у большинства представителей преобладает семенная поверхность в виде одноклеточных бугорков, реже встречаются многоклеточные гребни или возвышения. У части представителей (например, *L. aphaca*) семенная кожура практически гладкая. В дополнение к качественному описанию поверхности семян был проведен учет их массы, размеров (диаметра) и формы (среднее значение округлости контура для трех проекций семени, округлость рассчитывали по формуле $R = 4\pi S/P^2$, где S и P – соответственно площадь и периметр контура проекции). Удалось показать, что в целом семена виковых обладают формой, близкой к идеальной сфере, их поверхность скульптурирована. На проанализированном материале было обнаружено несколько интересных исключений. Так, у культивируемых форм (*P. sativum* ssp. *sativum*, *V. faba*) наблюдается сглаживание поверхности семян – что согласуется также с отсутствием вскрывания плодов у этих форм. Напротив, у дикорастущего *P. sativum* ssp. *elatius* бобы вскрываются, семена округлые, с очень крупными поверхностными многоклеточными бугорками. Более или менее гладкая поверхность спермодермы отмечена для форм, у которых семена по форме значительно отличаются от сферической (*L. tingitanus*).

Интерес в этой связи представляет аэродинамика обтекания потоком воздуха сферического тела. На поверхности гладкого шара образуется пограничный слой воздуха. При его отрыве с поверхности тела возникает область завихрений, которые создают торможение. Если же поверхность шара несет неровности, то пограничный слой разрушается, и аэродинамическое сопротивление значительно падает. Торможение полета происходит в существенно меньшей степени. Тем или иным образом скульптурированную поверхность (например, ямчатую) используют в конструкционных целях – например, при производстве мячей для гольфа. Сфера с неровностями определенного размера на поверхности испытывает при полете меньшее сопротивление, чем такая же сфера с гладкой поверхностью. Для того чтобы поверхностные неровности оказывали влияние на пограничный слой воздуха, размер этих неровностей должен быть сопоставим с толщиной слоя. Расчет этой толщины показал, что у семян с крупными многоклеточными бугорками на поверхности эта величина имеет тот же порядок, что и высота самих бугорков. Для окончательного подтверждения адаптивной ценности такой скульптуры поверхности семян требуется проведение экспериментов, но и имеющиеся данные указывают на возможную принадлежность признаков семенной кожуры к «синдрому диссеминации» у виковых.

Интересно, что такие крупные многоклеточные бугорки на просмотренном материале были отмечены у достаточно отдаленных (в системе трибы, приведенной в работе (Schaefer et al., 2012)) видов: *P. sativum* ssp. *sativum*, *L. annuus*, *L. hirsutus*, *L. nissolia* и *L. belinensis*. Таким образом, мы вновь сталкиваемся с явлением, когда признак, предположительно обладающий адаптивной ценностью, составляет сходство между формами, не имеющими по филогенетическим данным близкого родства.

Резюмируя, можно сделать следующее заключение. Изучение наблюдаемого разнообразия форм жизни преследует одной из своих целей установление путей эволюции, исторического становления этого разнообразия. Филогенетические реконструкции, применяемые для этого, зачастую противоречивы и приносят плохо верифицируемые результаты. Изучение биологии адаптаций к различным факторам среды представляется более плодотворным подходом, направленным на постижение функционального разнообразия живого.

Благодарности

Автор посвящает настоящую работу памяти Сергея Александровича Гостимского (21.05.1939 – 06.11.2012).

В выполнении этапов представленной работы и обсуждении ее основных положений в разное время принимали участие проф. К. В. Краснобаев, проф. В. В. Чуб, проф. Д. Д. Соколов, А. С. Белякова (МГУ им. М. В. Ломоносова), проф. А. Н. Зеленов (ГНУ ВНИИЗБК РАСХН), д.б.н. М. А. Вишнякова, к.б.н. М. О. Бурляева (ГНУ ВИР РАСХН), Dr. M. Ambrose (John Innes Centre, Норвич, Великобритания), Dr. J. A. Akorian (Institute of Botany, Ереван, Армения). Всем перечисленным коллегам автор выражает свою искреннюю благодарность за содействие.

Литература

- Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М.-Л., 1935. 56 с.
- Васильченко И.Т. Определитель всходов сорных растений. Л., 1965. 432 с.
- Зеленов А.Н., Щетинин В.Ю., Соболев Д.В. Селекционная ценность формы гороха с рассеченным листочком // Аграрная наука. 2008. Т. 2. С. 19-20.
- Рыжова Н.Н., Бурляева М.О. и др. Использование ITS-последовательностей для оценки таксономических отношений у представителей трибы Viciae (Adans.) Bronn сем. Fabaceae Lindl. // Экол. генет. Т. 5. № 3. С. 5-14.
- Синюшин А.А., Гостимский С.А. Достижения и перспективы использования гороха посевного (*Pisum sativum* L.) в качестве модельного объекта в генетике развития растений // Успехи современной биологии. 2008. Т. 128. № 6. С. 531-541.
- Abou-El-Enain M.M., Loufty M.H.A., Shehata A.A. Seed surface characters and their systematic significance in the genus *Lathyrus* (Leguminosae, Papilionoideae, Viciae) // Feddes Repert. 2007. V. 118. P. 269-285.
- Dobzhansky Th. Nothing makes sense in biology except in the light of evolution // Amer. Biol. Teacher. 1973. V. 35. № 3. P. 125-129.
- Genc H., Sahin A. A new species of *Lathyrus* L. (section *Cicercula*, Fabaceae) from Turkey // Bot. J. Linn. Soc. 2008. V. 158. P. 301-305.
- Gourlay C.W., Hofer J.M.I., Ellis T.H.N. Pea compound leaf architecture is regulated by interactions among the genes UNIFOLIATA, COCHLEATA, AFILA, and TENDRIL-LESS // Plant Cell. 2000. V. 12. P. 1279-1294.
- Hofer J.M.I., Gourlay C.W., Ellis T.H.N. Genetic control of leaf morphology: a partial view // Ann. Bot. 2001. V. 88. P. 1129-1139.
- Kenicer G.J., Kajita T. et al. Systematics and biogeography of *Lathyrus* (Leguminosae) based on internal transcribed spacer and cpDNA sequence data // Am. J. Bot. 2005. V. 92. № 7. P. 1199-1209.
- Meyen S.V. Plant morphology in its nomothetical aspects // Bot. Rev. 1973. V. 39. P. 205–260.
- Neville P. Morphogenesis in *Gleditsia triacanthos*. IV. Foliar polymorphism // Rev. Gen. Bot. 1970. V. 77. P. 353-385.

- Nozzolillo C.* Identification of *Vicia* seedlings // *Can. J. Bot.* 1977. V. 55. P. 2439-2462.
- Nozzolillo C.* Seedling morphology and anatomy of eight *Cicer* species and their taxonomic value // *Can. J. Bot.* 1985. V. 63. P. 1-6.
- Schaefer H., Hechenleitner P. et al.* Systematics, biogeography, and character evolution of the legume tribe Fabeae with special focus on the middle-Atlantic island lineages // *BMC Evol. Biol.* 2012. V. 12. P. 250.
- Sinjushin A.A., Demidenko N.V.* *Vavilovia formosa* (Stev.) Fed. (Fabeae, Fabaceae) on Meyen's 'panel with a multitude of lamps' // *Wulfenia.* 2010. V. 17. P. 45-57.
- Sinjushin A.A., Akopian J.A.* On seedling structure in *Pisum L.*, *Lathyrus L.* and *Vavilovia Fed.* (Fabeae: Fabaceae) // *Wulfenia.* 2011. V. 18. P. 81-93.
- Wojciechowski M.F., Lavin M., Sanderson M.J.* A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. 2004. *Am. J. Bot.* V. 91. P. 1846-1862.