

ISSN 0044-4596

Том 84, Номер 3

Июль - Сентябрь 2023



# ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ



[www.sciencejournals.ru](http://www.sciencejournals.ru)



# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 84, номер 3, 2023

---

---

(Воспроизводится в журнале “Current Contents”)

Глутаматные и ГАМК-рецепторы безнервных животных (Placozoa): преадаптация к нейротрансмиссии <i>М. А. Никитин, С. И. Борман</i>	163
Морфология личинок мух-береговушек <i>Ephydra riparia</i> и <i>Paracoenia fumosa</i> (Diptera: Ephydriidae) и адаптация двукрылых к повышенной солености <i>Е. Ю. Яковлева, Е. Б. Наймарк, Д. Д. Сивунова, М. Г. Кривошеина, А. В. Марков</i>	177
Феномен морского биопроспектинга <i>С. М. Русяев, А. М. Орлов</i>	195
Динамика населения птиц в ходе восстановительной сукцессии сосняков мшистых Юго-Западной Беларуси <i>И. В. Абрамова</i>	215
Сезонная динамика роста побегов у растений <i>Forsythia ovata</i> Nakai: ритмичность апикального и радиального роста <i>С. А. Шавнин, А. А. Монтиле, Л. А. Семкина, А. И. Монтиле</i>	229

---

---

# Contents

---

---

Vol. 84, No. 3, 2023

---

---

(Indexed in “Current Contents”)

Glutamate and GABA receptors in non-neural animals (Placozoa): Preadaptation to neural transmission <i>M. A. Nikitin, S. I. Borman</i>	163
Larva morphology of shore flies <i>Ephydra riparia</i> and <i>Paracoenia fumosa</i> (Diptera: Ephydriidae) and adaptation of Diptera to increased salinity <i>E. Yu. Yakovleva, E. B. Naimark, D. D. Sivunova, M. G. Krivosheina, A. V. Markov</i>	177
The phenomenon of marine bioprospecting <i>S. M. Rusyaev, A. M. Orlov</i>	195
Bird population dynamics during the regenerative succession of mossy pine woodland in southwestern Belarus <i>I. V. Abramova</i>	215
Seasonal dynamics of shoots growth in <i>Forsythia ovata</i> Nakai plants: Rhythmicity of apical and radial growth <i>S. A. Shavnin, A. A. Montile, L. A. Semkina, A. I. Montile</i>	229

---

---

УДК 575,592

## ГЛУТАМАТНЫЕ И ГАМК-РЕЦЕПТОРЫ БЕЗНЕРВНЫХ ЖИВОТНЫХ (PLASOZOA): ПРЕАДАПТАЦИЯ К НЕЙРОТРАНСМИССИИ

© 2023 г. М. А. Никитин<sup>1</sup>, \*, С. И. Борман<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова  
Ленинские горы, 1, стр. 40, Москва, 119992 Россия

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. К.К. Кольцова РАН  
ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия

\*E-mail: nikitin.fbb@gmail.com

Поступила в редакцию 12.11.2022 г.

После доработки 28.11.2022 г.

Принята к публикации 06.12.2022 г.

Появление нервной системы является одним из важнейших событий в эволюции жизни на Земле. Детали этого события остаются малоизвестными, в частности, объяснения требуют большое разнообразие известных веществ-нейротрансмиттеров. Мы анализируем гомологи нейрональных рецепторов глутамата и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) у Placozoa — животных без нервной системы, но обладающих подвижностью и поведением. Филогенетический анализ и сравнение аминокислотных остатков, ответственных за лигандную специфичность, показали, что эти рецепторы Placozoa неожиданно многочисленны, разнообразны и эволюционно динамичны и по всем этим признакам напоминают скорее обонятельные рецепторы высших животных. Наши результаты указывают, что хеморецепторная система была важным источником разнообразных рецепторов для возникающей нервной системы, а будущие аминокислоты-нейротрансмиттеры (глутамат, ГАМК, глицин) были релевантными внешними сигналами для первых животных, еще не имевших нервной системы.

DOI: 10.31857/S0044459623030053, EDN: ZFEFJW

Происхождение нервной системы является одним из сложнейших вопросов эволюционной биологии (Szathmáry, Smith, 1995; Layden, 2019). Его важной частью является происхождение нейротрансмиттеров. Для передачи сигналов между нейронами используются десятки разнообразных веществ: аминокислоты (глутамат, глицин, ГАМК), моноамины (серотонин, дофамин и др.), многочисленные нейропептиды и даже низкомолекулярные газы, например оксид азота NO. Сценарии эволюционного происхождения нервной системы должны включать в себя предположения о происхождении этого разнообразия и критериях, по которым те или иные вещества вошли в число нейротрансмиттеров (Sakharov, 1974; Agnati et al., 1995).

Для изучения происхождения нервной системы необходимы данные по животным с примитивными нервными системами (Cnidaria и Stenophora)

**Сокращения:** АТФ — аденозинтрифосфат; ГАМК — гамма-аминомасляная кислота; iGluR — ионотропный глутаматный рецептор; mGluR — метаботропный глутаматный рецептор; ГАМК<sub>A</sub> — ионотропный рецептор гамма-аминомасляной кислоты; ГАМК<sub>B</sub> — метаботропный рецептор гамма-аминомасляной кислоты.

и без нервной системы вовсе (Porifera и Placozoa). Особое место занимают здесь Placozoa — подвижные животные, у которых есть поисковое, пищевое и социальное поведение при полном отсутствии нервной системы (Окштейн, 1987; Серавин, 1987; Ueda et al., 1999; Smith et al., 2015; Mayorova et al., 2018; Fortunato, Aktipis, 2019; Romanova et al., 2020). В геноме наиболее изученного вида Placozoa, *Trichoplax adhaerens*, обнаружены ионные каналы, которые участвуют в передаче нервных импульсов у животных, компоненты систем биосинтеза нейротрансмиттеров и транспорта везикул, а также предполагаемый нейроэндокринно-подобный секреторный аппарат (Srivastava et al., 2008; Smith et al., 2014).

Для выполнения веществом функции трансмиттера необходимо наличие систем как его синтеза, так и рецепции. Чтобы возникновение этих систем было поддержано естественным отбором, они должны были выполнять какие-то функции по отдельности. То есть эволюция веществ-трансмиттеров с необходимостью должна включать в себя смену функций. Можно предположить две группы путей возникновения трансмиттеров. Во-первых, вещество-трансмиттер исходно

могло быть сигналом из внешней среды, и организм сначала приобретает систему его рецепции, а потом сигнал интернализуется. Во-вторых, будучий трансмиттер исходно может иметь какие-то не сигнальные функции, например защитные. Тогда сначала возникает система его синтеза и выделения, а потом, например для координации защитной реакции, возникают рецепторы к этому веществу, и оно становится трансмиттером.

Первый сценарий (трансмиттер из внешнего сигнала) показан, например, для тироидных гормонов животных, происходящих от вторичных метаболитов водорослей (Heyland, Moroz, 2005; Heyland et al., 2005). Среди нейротрансмиттеров первый сценарий наиболее вероятен для глутамата и АТФ. Эти два вещества содержатся в больших количествах в цитоплазме почти всех клеток, их присутствие во внешней среде сообщает о повреждении и гибели клеток и может служить пищевым или болевым сигналом (Moroz et al., 2021b). Второй сценарий более вероятен для нейропептидов и оксида азота. Нейропептиды используют ту же систему посттрансляционного процессинга, что и антимикробные пептиды, антимикробная активность оксида азота также хорошо известна (Moroz et al., 2020a, 2021b).

Имеющиеся экспериментальные данные по *Trichoplax* показывают большую роль секретиремых пептидов в регуляции и интеграции его пищевого поведения (Senatore et al., 2017; Varoqueaux et al., 2018). В отношении аминокислот-нейротрансмиттеров данных меньше, известно только, что *Trichoplax* содержит миллимолярные концентрации ГАМК, глицина, D-аспартата и L-глутамата, и что глицин является хемоаттрактантом для этого животного (Romanova et al., 2020; Moroz et al., 2020b).

Глутамат и ГАМК выполняют ряд функций, кроме (нейро)трансмиттерной, как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных. Описано их участие в других регуляторных системах млекопитающих: иммунной и эндокринной. Так, секреция ГАМК в бета-клетках поджелудочной железы происходит совместно с секрецией инсулина, что влияет на ингибирование секреции глюкагона (Bansal et al., 2011). В эпителии дыхательных путей была описана ГАМК-эргическая система, которая активируется под воздействием аллергенов и, предположительно, играет роль в механизмах развития астмы. Кроме того, глутамат выполняет функцию пищевого сигнала. Воздействуя на вкусовые рецепторы человека, глутамат вызывает вкус “умами”. Впервые эту функцию глутамата в 1908 г. описал профессор Токийского университета Кикунэ Икэда. Глутамат, ГАМК и другие нейротрансмиттеры являются важными сигнальными молекулами у зародышей различных животных еще до появления у них

первых нейронов (Бузников, 1987; Levy et al., 2021; Špírková et al., 2022).

У позвоночных животных в глутаматной передаче участвуют возбуждающие ионотропные глутаматные рецепторы (iGluR) и metabotropные (связанные с G-белками) глутаматные рецепторы (mGluR). Ионотропные рецепторы при связывании лиганда открывают в мембране клетки ионный канал, проницаемый для определенных ионов. Для ионотропных глутаматных рецепторов это  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ . В ГАМК-зависимой передаче участвуют тормозные ионотропные ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы (GABA-A), открывающие каналы для ионов  $\text{Cl}^-$ , и metabotropные ГАМК<sub>B</sub>-рецепторы (GABA-B). G-белок-связанные metabotropные рецепторы в неактивном состоянии связаны с комплексом субъединиц  $\text{G}\alpha$ ,  $\text{G}\beta$  и  $\text{G}\gamma$ . При связывании лиганда рецептор меняет конформацию, субъединицы G-белка диссоциируют от рецептора и связываются с другими внутриклеточными белками, запуская дальнейшие сигнальные каскады, например аденилатциклазный. У ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов основные пути передачи сигнала G-белком — это активация калиевых каналов внутреннего выпрямления, инактивация кальциевых каналов и аденилатциклазы (Terunuma, 2018). Различные типы metabotropных глутаматных рецепторов могут активировать фосфолипазу C, протеинкиназы MAPK, cdk5, Jun и MTOR/p70-S6, фосфатидилинозитолкиназу PI3, калиевые каналы, инактивировать кальциевые каналы и аденилатциклазу (Niswender, Conn, 2010). В восприятии глицина у позвоночных основную роль играют тормозные ионотропные глициновые рецепторы (GlyR). Кроме того, глицин является коагонистом ионотропных глутаматных рецепторов семейства NMDA. Типичные NMDA-рецепторы — это гетеротетрамеры из двух субъединиц, связывающих глутамат, и двух — глицин, и для активации они нуждаются в одновременном связывании этих двух трансмиттеров.

ГАМК, глутамат и другие аминокислоты участвуют в передаче сигналов между клетками уже у бактерий (Закатаева и др., 2006; Chevrot et al., 2006; Quillin et al., 2021). У бактерий эти аминокислоты участвуют в “чувстве кворума”, регуляции образования биопленок, состояния покоя, патогенности и множества других процессов. У цианобактерии *Synechocystis* был выделен и охарактеризован рецептор, сходный с ионотропными глутаматными рецепторами эукариот. Он реагирует на широкий спектр аминокислот, включая глутамат, серин, треонин, гомоцистеин и аланин, но не реагирует на аспартат (Chen et al., 1999).

Среди эукариот сигнальные функции глутамата, ГАМК и глицина лучше всего изучены у животных, растений, инфузорий и миксомицетов.

У высших растений глутамат регулирует реакцию на повреждение, рост пыльцевых трубок, ответы на стрессы и многие другие процессы. В геноме *Arabidopsis* найдено 20 генов ионотропных глутаматных рецепторов (iGluR), лиганд-связывающие домены некоторых из них похожи на таковые домены рецепторов к гамма-аминомасляной кислоте ГАМК<sub>B</sub>. Показано, что агонисты и антагонисты ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов влияют на транспорт кальция и рост у ряски *Lemna minor* (Kinnersley, Lin, 2000). Совместное действие глицина и глутамата в концентрации 0.01 мМ вызывает вход кальция в клетки проростков *Arabidopsis*. Эти же аминокислоты по отдельности вызывают аналогичный ответ лишь в намного более высокой концентрации 1 мМ. Эффект глицина и глутамата исчезает при добавлении DNQX – блокатора всех семейств ионотропных глутаматных рецепторов животных (Dubos et al., 2003).

У инфузории *Paramecium* ГАМК была обнаружена иммуногистохимическими методами, а ее рецептор ГАМК<sub>A</sub> – гистохимически, флуоресцентным производным бензодиазепаина; показано, что ГАМК регулирует конъюгацию этой инфузории (Delmonte Corrado et al., 2002). У нее же был обнаружен ГАМК<sub>B</sub>-рецептор, который участвует в модуляции плавания (Ramoino et al., 2003; Vucchi et al., 2005). Выделение ГАМК у этой инфузории происходит по механизмам, близким к синаптическим: кальций-зависимый экзоцитоз, запуск емкой деполяризации мембраны, при участии мембранных белков VAMP, SNAP-25, синтаксина и везикулярного ГАМК-транспортера (Ramoino et al., 2010). Глутамат является хемоаттрактантом для этой инфузории и вызывает гиперполяризацию мембраны (Preston, Usherwood, 1988). Одновременное добавление глицина и N-метил-D-аспартата (NMDA) вызывает у нее переход к плаванию по кругу, тогда как оба эти вещества по отдельности ответа не вызывают. Эта реакция инфузорий на глицин + NMDA подавляется специфическими блокаторами NMDA-семейства глутаматных рецепторов позвоночных: ифенпродиллом, D-AP5, ДСКА, МК-801 и ионами цинка (Ramoino et al., 2014).

У слизевика *Dictyostelium* (тип Mycetozoa) ГАМК в наномолярной концентрации запускает дифференциацию спор через ГАМК<sub>B</sub>-рецептор (Anjard, 2006). Глутамат оказался конкурентным ингибитором ГАМК – 100 нМ глутамата полностью подавляют споруляцию на фоне 1 нМ ГАМК.

Таким образом, глутамат, ГАМК и в какой-то степени глицин являются сигнальными молекулами в различных супергруппах эукариот – животные, растения, инфузории, слизевика. В геномах растений обнаруживаются гены, явно сходные по последовательности с генами ионотропных глутаматных рецепторов животных. Гены ионотроп-

ных глутаматных рецепторов обнаруживаются и в других группах эукариот, таких как красные, зеленые, бурые и диатомовые водоросли, динофлагелляты, воротничковые жгутиконосцы, хищный жгутиконосец *Tunicaraptor* (Opisthokonta) и амeba *Naegleria* (представитель супергруппы Excavata), что может указывать на присутствие подобных рецепторов уже у предковых эукариот (Bortoli et al., 2016; Tikhonenkov et al., 2020; Moroz et al., 2021a).

В геномах инфузорий и слизевиков поиск по последовательности не находит известных типов глутаматных и ГАМК-рецепторов, но рецепторы глутамата и ГАМК в этих группах по фармакологическим свойствам похожи на рецепторы семейств NMDA, ГАМК<sub>A</sub> и ГАМК<sub>B</sub> животных.

На филогенетическом древе животных Placozoa являются третьей ветвью после губок и гребневиков (Ryan et al., 2013; Moroz et al., 2014; Feuda et al., 2017; Simion et al., 2017; Nielsen, 2019). Такая топология древа совместима с двумя сценариями происхождения нервной системы: 1) двукратное независимое появление у Stenophora и Cnidaria + Bilateria и 2) однократное появление у общего предка Metazoa и последующая вторичная утрата у Placozoa и, возможно, еще у Porifera.

Возможность вторичного упрощения в эволюции Placozoa широко обсуждалась (см. обзоры Syed, Schierwater, 2002; Алешин, Петров, 2002). Основными движущими силами глубокого вторичного упрощения в эволюции животных являются паразитизм и прикрепленный образ жизни. Ни то, ни другое не относится к Placozoa – подвижным свободноживущим животным. И даже среди паразитических животных полная утрата нервной системы произошла лишь два раза – у дициемид и миксоспоридий (Feng et al., 2014; Zverkov et al., 2019). И те, и другие демонстрируют крайнюю степень морфологической редукции, будучи устроены намного проще, чем Placozoa. У чуть менее редуцированных паразитов, таких как ортонектиды или спороцисты сосальщиков, нейроны сохраняются (Podvyaznaya, Galaktionov, 2012; Slyusarev et al., 2019).

Геномные данные указывают на возможную вторичную утрату симметрии и сегментации у Placozoa в связи с миниатюризацией (гипотеза “призрачного Нох-локуса”; Ferrier, 2016), но миниатюризованные животные не утрачивают нервную систему полностью. Поэтому вторичная утрата нервной системы Placozoa выглядит менее вероятной, чем первичное ее отсутствие.

Независимо от первичности или вторичности отсутствия нервной системы у Placozoa изучение их набора рецепторов представляет большой интерес. Если у Placozoa никогда не было нервной системы, их рецепторы могут сохранять те исходные функции, которые они выполняли у древних животных до появления нервной системы, что

может дать важную информацию о вхождении глутамата, ГАМК и глицина в число нейротрансмиттеров. Если нервная система у Placozoa была потеряна вторично, у нас есть шанс изучить смену функций бывших компонентов нервной системы. Поэтому мы произвели поиск, аннотацию и филогенетический анализ генов, кодирующих рецепторы глутамата, глицина и ГАМК, в геномах двух видов Placozoa: *Trichoplax adhaerens* и *Hoilungia hongkongensis*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для поиска и аннотации генов рецепторов мы использовали последовательности геномов животных из базы данных GenBank. Для Placozoa использовали обновленную аннотацию генома *T. adhaerens* (<https://genomevolution.org/coge/GenomeInfo.pl?gid=31909>) и аннотацию генома *H. hongkongensis* (<https://bitbucket.org/molpalmuc/hoilungia-genome/src/master/>).

Поиск производили по гомологии последовательностей с помощью программы BLASTP (Altschul et al., 1997), используя в качестве исходного запроса последовательности всех iGluR, mGluR и ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов человека из базы данных SwissProt/Uniprot (<https://www.uniprot.org/>). Найденные таким образом последовательности рецепторов Placozoa были выравнены с последовательностями других животных при помощи сервера MAFFT Online (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) (Kato, Standley, 2013). Выравнивания были проверены вручную. Неполные последовательности, не содержащие одного из обязательных для iGluR или mGluR доменов (PBP1, PBP2 и TMD для ионотропных, PBP1 и 7tm для метаболитропных), были удалены.

Филогенетические деревья были построены с помощью алгоритма Maximum Likelihood, реализованного в программе IQTREE 1.6.12 (Nguyen et al., 2015) с автоматическим выбором модели аминокислотных замен, и с помощью Байесового алгоритма в программе MrBayes 3.2.6 (Ronquist et al., 2012). Статистическая достоверность Maximum Likelihood деревьев была проверена с помощью 2000 реплик ультрабыстрого бутстрэпа (Hoang et al., 2018).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Поиск и аннотация рецепторов в геномах Placozoa

Мы анализировали генные семейства, связанные с передачей сигналов при помощи глутамата, глицина и гамма-аминомасляной кислоты. У позвоночных животных в глутаматной передаче участвуют возбуждающие ионотропные глутаматные рецепторы (iGluR) и метаболитропные глутаматные рецепторы (mGluR). В ГАМК-зависи-

мой передаче участвуют тормозные ионотропные ГАМК<sub>A</sub>-рецепторы (GABA-A) и метаболитропные ГАМК<sub>B</sub>-рецепторы (GABA-B). В восприятии глицина у позвоночных основную роль играют тормозные ионотропные глициновые рецепторы (GlyR). В геноме *Trichoplax* обнаружены гены для большинства из этих семейств рецепторов, за исключением ГАМК<sub>A</sub> и глициновых.

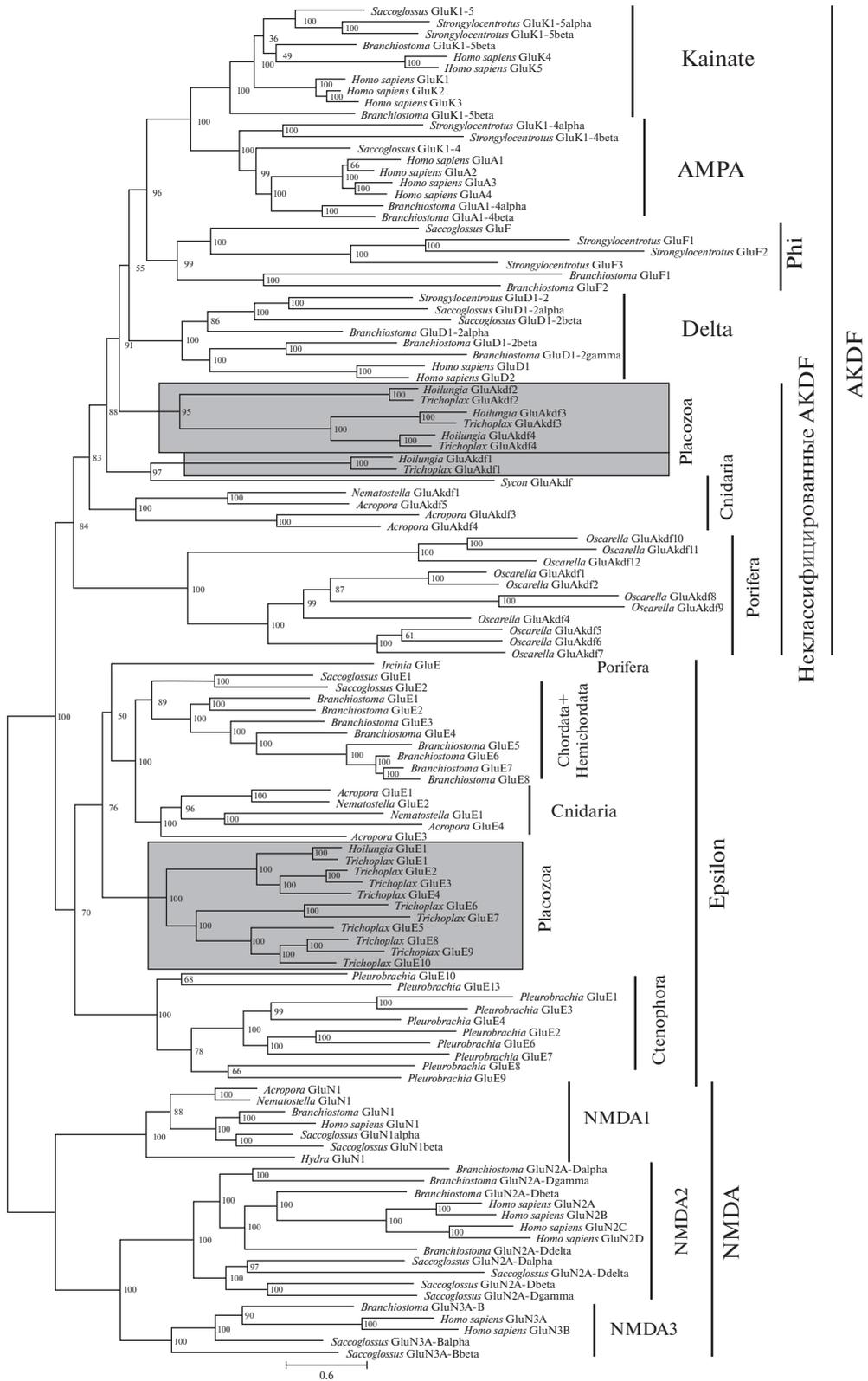
### Филогения и эволюция ионотропных глутаматных рецепторов

Актуальный взгляд на классификацию и эволюцию ионотропных глутаматных рецепторов представлен в обзорах (Ramos-Vicente et al., 2018, 2021; Moroz et al., 2021a). iGluR животных делятся на семейства NMDA, Epsilon, Lambda и AKDF. В свою очередь, семейство NMDA делят на классы NMDA1, NMDA2, NMDA3. В семействе AKDF выделяют четыре класса (AMPA, каинатные, Delta, Phi), соответствующих монофилетическим кладам на дереве рецепторов. Кроме того, часть рецепторов семейства AKDF, образующая на дереве несколько ветвей в основании семейства, не включается ни в один из этих классов. Далее мы будем называть эту группу рецепторов “неклассифицированные AKDF”. Экспериментально изучены в первую очередь представленные у человека и других позвоночных и важные для медицины классы NMDA, AMPA и каинатных рецепторов.

Все обнаруженные нами iGluR *Trichoplax* на филогенетическом дереве попадают в семейство Epsilon (присутствуют у базальных многоклеточных животных, головохордовых и немертин) и группу неклассифицированных AKDF.

У *Trichoplax* имеется 14 генов ионотропных глутаматных рецепторов (10 семейства Epsilon и 4 семейства AKDF). Рецепторы *Trichoplax* AKDF-типа делятся на две клады, одна из которых является сестринской по отношению к AKDF-рецептору губки *Sycon*. В то же время у представителя другого рода пластинчатых, *H. hongkongensis*, только пять iGluR – те же четыре AKDF и лишь один рецептор Epsilon-семейства (рис. 1). Таким образом, *T. adhaerens* и *H. hongkongensis* имеют ионотропные глутаматные рецепторы и потенциально могут реагировать на глутамат.

Представители двух самых базальных ветвей животных, губки и гребневики, тоже имеют ионотропные глутаматные рецепторы. Гребневики имеют многочисленные рецепторы семейства Epsilon, обыкновенная губка *Ircinia* – один Epsilon-рецептор, у известковой губки *Sycon* и гомосклеритной *Oscarella* есть рецепторы AKDF-типа. У модельных видов обыкновенных губок *Amphimedon queenslandica* и *Spongilla lacustris* ионотропные глутаматные рецепторы полностью отсутствуют.



**Рис. 1.** Байесово филогенетическое древо 117 ионотропных глутаматных рецепторов животных. Ветви рецепторов Плацозоа выделены серым фоном. Байесовы постериорные вероятности ветвей обозначены цифрами около узлов дерева. Анализ продолжался 1.42 млн поколений до конвергенции марковских цепей, определенной с помощью программы Трасер. Выравнивание состояло из 2472 позиций, 1348 из них информативных.

Это указывает на то, что дивергенция семейств ионотропных глутаматных рецепторов произошла до дивергенции современных типов многоклеточных животных и до появления нервных систем. Распределение типов рецепторов по представителям классов губок указывает, что в эволюции губок происходила потеря генов глутаматных рецепторов.

Особо стоит обсудить происхождение рецепторов семейства NMDA. Эти рецепторы, с одной стороны, отсутствуют у всех вошедших в анализ губок, гребневиков и Placozoa, с другой стороны, их ветвь отходит от самой базальной части дерева, что указывает на глубокую древность разделения рецепторов на NMDA и все остальные – до дивергенции базальных типов Metazoa. Это можно интерпретировать либо как полную вторичную потерю NMDA-рецепторов у губок, гребневиков и Placozoa, либо как искажение их положения на дереве, например, в результате эффекта притяжения длинных ветвей.

#### *Лигандная специфичность ионотропных глутаматных рецепторов*

Несмотря на название “глутаматные”, многие рецепторы этого семейства имеют другие физиологические лиганды. Лигандная специфичность экспериментально изучена в основном для семейства NMDA и классов AMPA, каинатных и Delta, так как они играют важную роль в нервной системе млекопитающих и человека. AMPA и каинатные рецепторы высоко специфичны к глутамату. Семейства NMDA1, NMDA3 и Delta реагируют на глицин и D-серин, но не на глутамат. NMDA2 реагируют на глутамат и аспарат.

Семейство Epsilon отсутствует у позвоночных и модельных групп беспозвоночных, таких как насекомые и моллюски. Поэтому лигандная специфичность известна лишь для пяти рецепторов этого семейства – двух из ланцетника и трех из гребневиков (Alberstein et al., 2015; Ramos-Vicente et al., 2018). Три из пяти этих рецепторов специфичны к глицину, один (GluE13\_Mle) – к глутамату, и, наконец, рецептор GluE7\_Vla ланцетника не реагирует ни на какие проверенные аминокислоты. Изучение кристаллической структуры GluE7\_Vla показало, что его лиганд-связывающий карман перекрыт объемной боковой цепью тирозина-653 (Ramos-Vicente et al., 2018), и, вероятно, этот белок больше не является ионотропным рецептором аминокислот и выполняет другие функции.

Аминокислотные остатки рецепторов, участвующие в связывании лигандов, хорошо изучены (Armstrong, Gouaux, 2000; Furukawa et al., 2005; Naur et al., 2007; Yao et al., 2008; Mayer, 2021). Тирозин или фенилаланин в позиции 450 участвует

в Ван-дер-Ваальсовом взаимодействии с альфа-углеродным атомом лиганда, консервативный аргинин в позиции 485 образует ионную связь с карбоксильной группой, аспарат или глутамат в позиции 705 – ионную связь с аминогруппой лиганда (нумерация соответствует зрелой последовательности рецептора GluA2 крысы). Кроме того, водородную связь с карбоксиллом образует NH-группа 654 остатка (обычно серин или аланин), а водородные связи с аминогруппой лиганда – остатки 478 (пролин, аланин или аспарат) и 480 (серин или треонин).

Лигандная специфичность зависит главным образом от аминокислотных остатков 653, 655 и 704, контактирующих с боковой цепью аминокислоты-лиганда. У глутамат-специфичных AMPA и каинатных рецепторов в этих позициях находятся остатки G/S, T, V/I/M соответственно. Глутамат-специфичный рецептор GluE13\_Mle имеет в этих позициях серин, треонин и глутамат. Рецепторы NMDA2, связывающие глутамат и аспарат, имеют в этих позициях глицин, треонин и тирозин (табл. 1).

У глицин-связывающих рецепторов лиганд-связывающие сайты более разнообразны. У NMDA1, NMDA3 и Delta (лиганды – глицин и D-серин) в этих позициях серин, гидрофобная аминокислота и триптофан. У глицин-связывающих рецепторов семейства Epsilon наблюдается большее разнообразие. GluE1\_Bba ланцетника имеет там остатки S, P, W, что похоже на NMDA1/3, тогда как у GluE7\_Mle и GluE3\_Pba гребневиков присутствуют более полярные остатки: аргинин в 653 и глутамат в 704, между их боковыми цепями есть ионная связь, в 655 позиции пролин (табл. 1).

Посмотрим теперь на соответствующие аминокислотные остатки рецепторов *Trichoplax*. Среди его рецепторов Epsilon-семейства выделяются пять белков (GluE5, GluE7, GluE8, GluE9, GluE10) с небольшими аминокислотами (Gly, Ala, Ser) в 704 позиции. 704 остаток контролирует размер лиганд-связывающего кармана, у глициновых рецепторов там обычно триптофан, у глутаматных – алифатические аминокислоты или тирозин. Небольшие аминокислоты в этой позиции указывают на вероятность связывания молекул лигандов более крупных, чем глутамат. Более того, у белка GluE7 *Trichoplax* консервативный аргинин-485 заменен на неполярный лейцин, что должно нарушать связывание карбоксильных групп аминокислот, и, вероятно, его лиганды вообще не относятся к аминокислотам. Замены в этой позиции, помимо Placozoa, нами были найдены только у губок, все 63 проанализированных рецептора Bilateria имеют там аргинин. Один рецептор (GluE1) имеет мотив SAW в этих позициях, как у NMDA3-рецепторов млекопитающих

**Таблица 1.** Выравнивание фрагментов ионотропных глутаматных рецепторов, участвующих в связывании лигандов

Тип животных	Рецептор	Семейство	Лиганд	Аминокислотные позиции						
				450	478	480	485	653	655	704
Placozoa	GluE1_Hhon	Epsilon	неизвестный промежуточный	S S Y G S	A G A F S	I T V N R A	G G G A T E	F L	W D A A	
Placozoa	GluE1_Triad	Epsilon	глицин/D-серин	R N Y G S	A G A F S	I T A S R S	I D S E A M	F L	W D A A	
Placozoa	GluE2_Triad	Epsilon	неизвестный промежуточный	-	A G A F S	I T V K R S	I D T E A M	- - - - -	- - - - -	
Placozoa	GluE3_Triad	Epsilon	глицин/D-серин	N S Y G G	A G A F S	I T V K R S	A N S S Y E	F L	W D A A	
Placozoa	GluE4_Triad	Epsilon	неизвестный промежуточный	D S Y G G	A G A F S	I S V S R A	A N T S T E	F L	W D A A	
Placozoa	GluE5_Triad	Epsilon	неизвестный крупный	G Q Y G A	A A P L S	I S P V R Q	K E G S T N	F I	G D A S	
Placozoa	GluE6_Triad	Epsilon	глицин/D-серин	G Q Y G I	V A P L S	I T K E R E	A N S S I E	F L	Y D A S	
Placozoa	GluE7_Triad	Epsilon	неизвестный крупный	G Q Y G R	L V P L S	I T A E L Q	G N S S A E	F I	A D S T	
Placozoa	GluE8_Triad	Epsilon	неизвестный крупный	G Q Y G S	A A P L S	I T P E R Q	A G G S I H	Y I	G D A A	
Placozoa	GluE9_Triad	Epsilon	неизвестный крупный	G F Y G T	A A P L S	I T P E R Q	Q G S S V Y	F I	G G A T	
Placozoa	GluE10_Triad	Epsilon	неизвестный крупный	G Q Y G V	A A A L S	I T P E R Q	S G S S V H	F I	S D T A	
Placozoa	GluAkd1_Hhon	AKDF	глицин/D-серин	N I F G E	V A P L S	I T S F R Q	- - - - -	F I	W Y S Q	
Placozoa	GluAkd1_Triad	AKDF		N I F G E	I A P L S	I T S F R Q	Q G S S V D	F I	W Y Y P	
Placozoa	GluAkd2_Hhon	AKDF		неизвестный промежуточный	K R Y G V	V A D L T	I T A D R E	R G G Q T S	F I	W D T P
Placozoa	GluAkd2_Triad	AKDF		неизвестный промежуточный	M I Y G A	F A D L T	I T A E R E	K G G H T S	F I	W D T P
Placozoa	GluAkd3_Hhon	AKDF		неизвестный промежуточный	G Q Y G S	I G D L T	I S Q Q R Q	S D T S L T	F L	L D Q P
Placozoa	GluAkd3_Triad	AKDF		неизвестный промежуточный	G Q Y G S	L G D F T	I S R E R Q	S D T S L T	F L	L D R P
Placozoa	GluAkd4_Hhon	AKDF		неизвестный промежуточный	H Q Y G Q	L A D L T	I T M H R E	R D S Q L H	F L	I D Q V
Placozoa	GluAkd4_Triad	AKDF		неизвестный промежуточный	H Q Y G A	L A D L T	I S L I R E	Q D S Q V H	F L	I D K A
Chordata	GluA2_Hsa	AMPA		L-глутамат	G K Y G A	I A P L T	I T L V R E	D S G S T K	Y L	L E S T
Arthropoda	GluA1-4_Ame	AMPA		L-глутамат	G K Y G M	I A P M T	I T S E R E	S H G S T W	L L	I E S P
Chordata	GluK2_Hsa	Kainate	L-глутамат	G K Y G A	V A P L A	I T Y V R E	E D G A T M	F L	M E S T	
Arthropoda	GluK1-5alpha_Ame	Kainate	L-глутамат	E R Y G S	I A D L T	I T Y D R E	K G G S T A	F L	M E S T	
Ctenophora	GluE13_Mle	Epsilon	L-глутамат	G R Y G H	A M D L S	V S S Q R R	Q N S V T S	L I	E D S L	
Ctenophora	GluE3_Pba	Epsilon	глицин	L K F G G	V V A L S	N N A V R K	D S R N P E	F I	D E I P	
Ctenophora	GluE7_Mle	Epsilon	глицин	R K F G A	A I D L S	T N S A R K	G S R H P E	F I	D E G P	
Chordata	GluE1_Bla	Epsilon	глицин	E N F G A	A A S F T	I S Y E R E	Q N S Q P L	F I	W D S A	
Chordata	GluE7_Bla	Epsilon	нет	G Q Y G I	L A P L S	I T S E R Q	S T Y A T W	L F	T D S A	
Chordata	GluN1_Hsa	NMDA	глицин/D-серин	G K F G T	V A P L T	I N N E R A	K Q S S V D	F I	W D S A	
Chordata	GluN3A_Hsa	NMDA	глицин/D-серин	G K Y G A	V T S F S	I N T A R S	R E S S A E	F I	M D K A	
Chordata	GluD2_Hsa	Delta	глицин/D-серин	V W D A A	I S A L T	I T P D R E	L D S A V Y	F V	W D A A	
Chordata	GluN2_Hsa	NMDA	L-Глу/L-Асп	G K H G K	V G S L T	I N E E R S	P N G S T E	F I	Y D A A	

**Примечание.** Лигандная специфичность приведенных в таблице рецепторов Chordata, Arthropoda и Ctenophora установлена экспериментально. Специфичность рецепторов Placozoa предсказана нами путем сравнения последовательностей с экспериментально охарактеризованными рецепторами. Аминокислоты, связывающие аминокислотную группу, карбоксильную группу и альфа-углерод лиганда, выделены светло-серым фоном. Аминокислоты, связывающие боковую цепь лиганда, выделены жирным шрифтом на светло-сером фоне. Аминокислоты, резко отличающиеся от гомологичных у других рецепторов, показаны белым шрифтом на черном фоне. Аминокислота в позиции 450 взаимодействует с альфа-углеродом лиганда, в позициях 478, 480 и 705 – связывают аминокислотную группу, 485 и 654 – альфа-карбоксильную группу. Аминокислотные позиции 653, 655 и 704 контактируют с боковой цепью лиганда и определяют специфичность рецептора. Специфичность “неизвестный промежуточный” указана для рецепторов, лиганд-связывающие мотивы которых сочетают признаки глутаматных и глициновых рецепторов. Они потенциально могут связывать бета-аланин, таурин и ГАМК. Специфичность “неизвестный крупный” – для рецепторов, у которых в 704 позиции объемные аминокислоты (Trp, Tyr, Leu, Ile, Met) заменены на компактные (Gly, Ala, Ser), и, соответственно, лиганд-связывающий карман больше, чем у типичных глутаматных рецепторов.

(лиганды – глицин и D-серин). Два рецептора, GluE3 и GluE6, имеют мотивы SYW и SIY, более сходные с NMDA1 млекопитающих, и тоже, вероятно, могут связывать глицин и D-серин. На-

конец, GluE4 имеет мотив TTW, сочетающий черты глицин-связывающих (W704) и глутамат-связывающих (T655) рецепторов, и его специфичность мы предположить не можем (табл. 1).

Из четырех AKDF-рецепторов *Trichoplax* один (GluAkdf1) имеет мотив SVW, как NMDA1 млекопитающих, и, вероятно, связывает глицин и D-серин. Три других имеют мотивы TLL, SVI, GTW, сочетающие черты глицин-связывающих и глутамат-связывающих белков, и их лигандная специфичность остается под вопросом.

Таким образом, из 14 ионотропных глутаматных рецепторов *Trichoplax* 4, предположительно, специфичны к глицину и D-серину, 5, вероятно, реагируют на какие-то лиганды большей молекулярной массы, чем глутамат, возможно даже не аминокислоты, и у 5 рецепторов лиганд-связывающие сайты имеют промежуточное строение между типичными глутаматными и глициновыми. Ни один из рецепторов *Trichoplax* не соответствует типичным глутаматным, ближе всего к ним рецептор GluAkdf2 с мотивом GTW.

#### Филогенез и эволюция метаболитных глутаматных и ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов

Метаболитные рецепторы глутамата и ГАМК относятся к G-белок-связанным рецепторам (GPCR) класса C, характеризующимся гетероили гомодимерной структурой. Этот класс рецепторов также включает внеклеточные кальциевые, вомероназальные, вкусовые рецепторы сладкого и умами, рецепторы стероидов GPRC6A и несколько рецепторов с неизвестными лигандами (orphan).

Из-за значительной дивергенции последовательностей GPCR класса C мы аннотировали и анализировали ГАМК<sub>B</sub> отдельно от mGluR и родственных им рецепторов. При построении филогенетических деревьев рецепторов ГАМК<sub>B</sub> последовательности mGluR использовали в качестве внешней группы, и наоборот.

В геноме *Trichoplax* нами обнаружено 34 гена mGluR-подобных рецепторов, что намного больше, чем у человека (8 mGluR и 4 mGluR-подобных рецепторов) и *Aplysia* (2 mGluR и 8 mGluR-подобных). Большое разнообразие mGluR-подобных рецепторов также найдено у коралла *Stylophora* (35 генов) и известковой губки *Sycon* (29 генов).

Филогенетическое дерево mGluR и родственных рецепторов (рис. 2) показывает большое разнообразие этих рецепторов у Placozoa. В это дерево также включены рецепторы внеклеточного кальция, вкусовые (сладкого и умами) и мембранный рецептор андрогенов GPRC6A, поскольку они более сходны с mGluR, чем с GABA-B. Рецепторы Bilateria на этом древе образуют две ветви. Одна составлена метаболитными глутаматными рецепторами (mGluR), другая — рецепторами внеклеточного кальция, вкусовыми и GPRC6A. Рецепторы *Trichoplax* образуют четыре ветви на древе. Два рецептора *Trichoplax* образуют сест-

ринскую ветвь к mGluR моллюсков (TriadITZ\_005103, 005104). Три других белка *Trichoplax* составляют две ветви, близкие к ветви кальций-чувствительных, вкусовых рецепторов и рецепторов GPRC6 позвоночных (TriadITZ\_006745, 006746, 009440). 29 iGluR-подобных рецепторов *Trichoplax* образуют свою собственную кладу, более отдаленно связанную с кальций-чувствительными, вкусовыми и GPRC6 рецепторами Bilateria.

Также у *Trichoplax* и ряда других видов обнаружено большое количество рецепторов ГАМК<sub>B</sub>. У *Trichoplax* их 37, у *Stylophora* (Anthozoa) — 18, *Amphimedon* (Porifera) — 21, *Saccoglossus* (Hemichordata) — 28. Это резко отличает их от позвоночных, моллюсков и членистоногих, которые имеют не более четырех рецепторов этого семейства. На филогенетическом древе рецепторов ГАМК<sub>B</sub> (рис. 3) рецепторы *Trichoplax*, Porifera и Cnidaria образуют множество ветвей, перемешанных друг с другом и с рецепторами полухордового *Saccoglossus*.

Примечательно, что кладу рецепторов Placozoa и Cnidaria является сестринской к рецепторам ГАМК<sub>B</sub> Bilateria. Общая топология древа с несколькими кладами рецепторов Placozoa и Cnidaria предполагает, что диверсификация семейства рецепторов ГАМК<sub>B</sub> началась на самых ранних стадиях эволюции животных, и Bilateria (кроме *Saccoglossus*) потеряли большую часть этого древнего разнообразия.

#### Микроэволюция глутаматных и ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов у Placozoa

Мы провели филогенетический анализ ионотропных и метаболитных рецепторов, используя последовательности двух относительно близких видов Placozoa — *Trichoplax adhaerens* и *Hoilungia hongkongensis*. Это позволило нам выявить события дупликаций и делеций генов, произошедшие после расхождения этих видов.

*H. hongkongensis* отличается от *T. adhaerens* меньшим количеством генов ионотропных глутаматных рецепторов (5 вместо 14) и большим — метаболитных глутаматных и ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов (43 и 49 вместо 34 и 37 соответственно). Среди ионотропных рецепторов отличия касаются только семейства Epsilon. *Trichoplax* имеет 10 этих рецепторов, *Hoilungia* — лишь один. На древе Epsilon-рецептор *Hoilungia* является сестринским к белку *Trichoplax* GluE1, дивергенция остальных Epsilon-рецепторов *Trichoplax* произошла ближе к корню древа. Это означает потерю *Hoilungia* разнообразия рецепторов, которое было у ее общего предка с *Trichoplax*. Набор AKDF-рецепторов *Hoilungia* и *Trichoplax* идентичен, оба вида имеют по четыре рецептора, которые на древе объединяются в пары ортологов.



**Рис. 2.** Филогенетическое древо 189 метаботропных глутаматных рецепторов (mGluRs) животных. Древо построено методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Ветви рецепторов Placozoa выделены серым фоном. Ветви многочисленных рецепторов одного и того же организма схлопнуты в треугольники. Схлопнутые ветви рецепторов Placozoa показаны в развернутом виде в правой части рисунка. Выравнивание состояло из 4306 позиций, 1574 из них информативных.

На филогенетических деревьях метаботропных рецепторов (рис. 2 и 3) видно 24 пары ортологичных рецепторов mGluR *Trichoplax* и *Hoilungia* и 29 пар GABA-B рецепторов. Соответственно, чтобы объяснить количество этих рецепторов у современных Placozoa, после расхождения *Trichoplax* и *Hoilungia* должны были произойти не

менее 19 дупликаций и делеций генов mGluR и не менее 28 – генов GABA-B рецепторов.

Таким образом, во всех трех семействах рецепторов у Placozoa происходят многочисленные дупликации и/или делеции генов, причем в эволюции р. *Hoilungia* преобладала потеря ионотропных и дупликация метаботропных рецепторов.

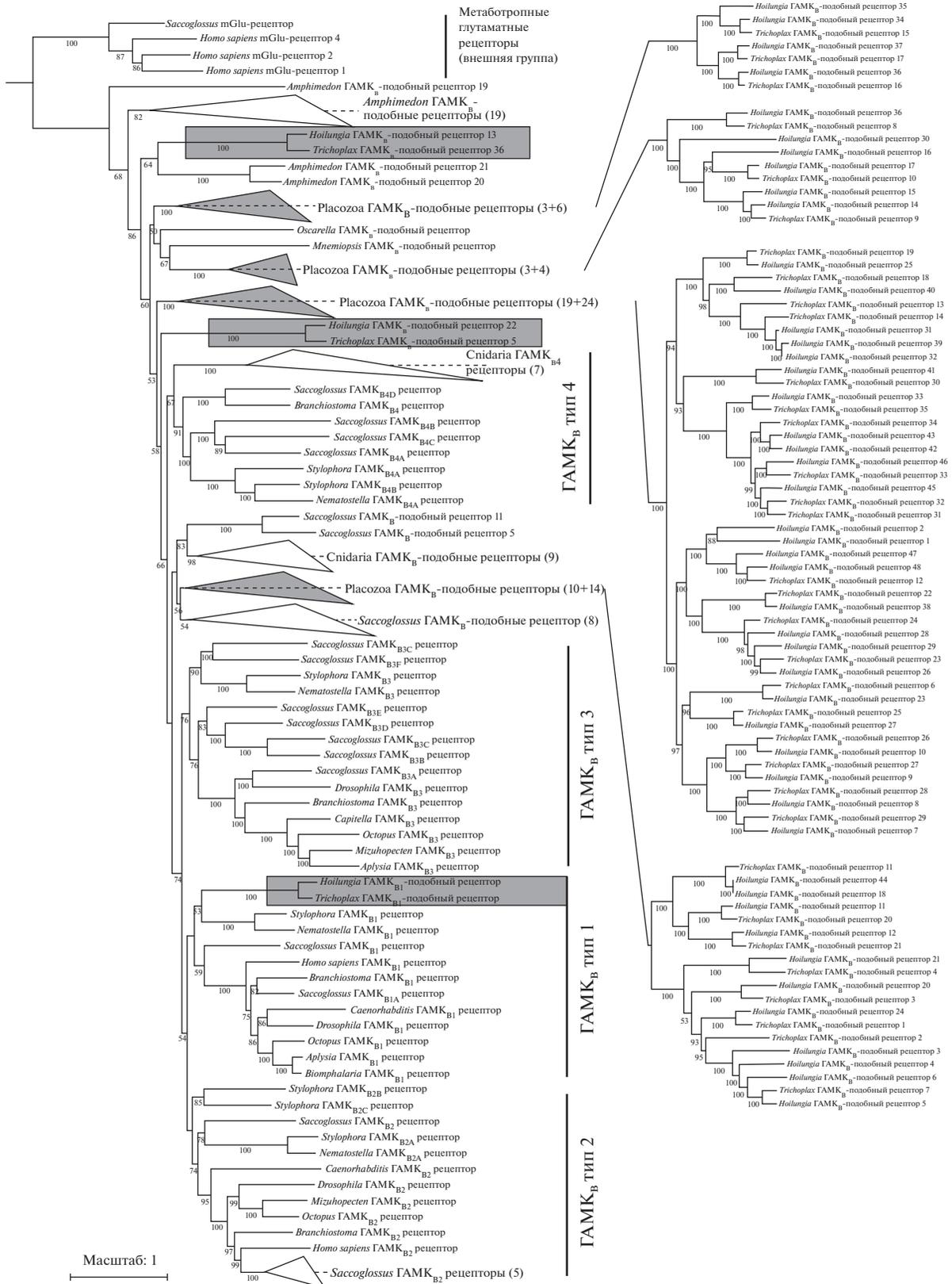


Рис. 3. Филогенетическое древо 190 метаботропных GAMK<sub>B</sub>-рецепторов животных. Древо построено методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood). Ветви рецепторов Placozoa выделены серым фоном. Ветви многочисленных рецепторов одного и того же организма схлопнуты в треугольники. Схлопнутые ветви рецепторов Placozoa показаны в развернутом виде в правой части рисунка. Выравнивание состояло из 6303 позиций, 1700 из них информативных.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Мы обнаружили у Placozoa большое разнообразие рецепторов iGluR, mGluR и GABA-B. Количество iGluR *Trichoplax* (14) сопоставимо с таковым у животных с нервной системой (17 у человека), а количество метаботропных рецепторов mGluR и GABA-B даже выше, чем у большинства Bilateria.

Сравнение аминокислот, участвующих в связывании лигандов, указывает на большое разнообразие лигандной специфичности iGluR *Trichoplax*. Среди них пять рецепторов имеют детерминанты лигандной специфичности, промежуточные между типичными глутаматными и глициновыми, а еще пять, предположительно, связывают более крупные молекулы, чем глутамат. Следовательно, функции iGluR Placozoa не могут ограничиваться глутаматной и глициновой передачей, они также участвуют в восприятии других веществ, причем скорее из внешней среды. На это указывает и почти полная (9 из 10) потеря Epsilon iGluR у *Hoilungia*. Из нашего опыта культивирования этого рода известно, что у *Hoilungia* есть те же основные формы поискового, пищевого и социального поведения, что и у *Trichoplax*, следовательно, потерянные iGluR не играли важной роли в этих программах поведения.

Какие молекулы потенциально могут связывать iGluR с “промежуточными” лиганд-связывающими сайтами? Это могут быть, например, аминокислоты, промежуточные по строению между глицином и глутаматом: ГАМК, бета-аланин и таурин. Трансмиттерные функции ГАМК у различных животных хорошо известны. Бета-аланин связывается с ГАМК<sub>A</sub>, NMDA и ионотропными глициновыми рецепторами млекопитающих и играет роль нейромодулятора (Tiedje et al., 2010). Таурин у млекопитающих тоже связывается с ГАМК<sub>A</sub> и глициновыми рецепторами и работает нейромодулятором, нейропротектором и регулятором развития нейронов (Wu, Prentice, 2010). У кишечнополостных таурин и бета-аланин накапливаются в синаптических пузырьках, выделяются нейронами в ответ на электрическую стимуляцию и вызывают потенциалы действия постсинаптических мембран, т.е. являются настоящими нейротрансмиттерами (Anderson, Trapido-Rosenthal, 2009). Поэтому вероятно, что рецепторы бета-аланина и таурина могут присутствовать и у безнервных животных, таких как Placozoa.

Гены рецепторов iGluR, mGluR и ГАМК<sub>B</sub> Placozoa неожиданно склонны к дупликациям и делециям. Со времени расхождения *Trichoplax* и *Hoilungia* произошло около 0.6 делеций и/или дупликаций на ген. Время расхождения *Trichoplax* и *Hoilungia* оценивается в 20–50 млн лет назад (Eitel et al., 2018). Для сравнения, человек и мышь име-

ют идентичные наборы генов глутаматных рецепторов, несмотря на 100 млн лет независимой эволюции. *Drosophila melanogaster*, *D. pseudoobscura* и *D. virilis* тоже имеют одни и те же глутаматные рецепторы, хотя разошлись около 50 млн лет назад (Nozawa, Nei, 2007). Рецепторы Placozoa по эволюционной динамичности сходны с обонятельными рецепторами Bilateria. Так, у далеких видов *Drosophila* за 50 млн лет произошло 0.2 дупликаций и делеций на ген обонятельных рецепторов, у различных отрядов млекопитающих – 0.5–0.7 дупликаций и делеций на ген за 100 млн лет (Nozawa, Nei, 2007; Niimura et al., 2014). Эволюционная динамичность характерна для генных семейств, участвующих во взаимодействии с переменными факторами внешней среды – обонятельных рецепторов, белков иммунной системы, ферментов детоксикации и белков, участвующих во взаимодействии сперматозоида и яйцеклетки (Aagaard et al., 2006; Kononov et al., 2017; Vicens et al., 2017). Поэтому можно ожидать, что большинство mGluR-подобных и ГАМК<sub>B</sub>-подобных рецепторов Placozoa участвуют в хеморецепции внешних стимулов. Даже у млекопитающих часть GPCR класса C сохраняют эту функцию как вкусовые (TASR) и вомероназальные рецепторы. Однако у Placozoa есть ортологи ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов позвоночных и mGluR *Aplysia*, которые являются первыми кандидатами на восприятие эндогенных ГАМК и глутамата.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Д.Ю. Романову за ценные обсуждения.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа финансировалась из средств гранта РФ № 22-24-00566.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликты интересов отсутствуют.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алешин В.В., Петров Н.Б., 2002. Молекулярные свидетельства регресса в эволюции Metazoa // Журн. общ. биологии. Т. 63. № 3. С. 195–208.
- Бузников Г.А., 1987. Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. М.: Наука. 232 с.

- Закатаева Н.П., Кутукова Е.А., Гронский С.В., Трошин П.В., Лившиц В.А., Алёшин В.В., 2006. Экспорт метаболитов белками семейств DMT и RhtV и их возможная роль в межклеточной коммуникации // Микробиология. Т. 75. № 4. С. 509–520.
- Окитейн И.Л., 1987. К биологии *Trichoplax* sp. (Placozoa) // Зоол. журн. Т. 66. № 3. С. 325–338.
- Серавин Л.Н., 1987. Особенности ориентировки беспозвоночных в трехмерном пространстве // Зоол. журн. Т. 66. № 9. С. 1285–1292.
- Aagaard J., Yi X., Maccoss M., Swanson W., 2006. Rapidly evolving zona pellucida domain proteins are a major component of the vitelline envelope of abalone eggs // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 103. P. 17302–17307.
- Agnati L.F., Bjelke B., Fuxe K., 1995. Volume versus wiring transmission in the brain: A new theoretical frame for neuropsychopharmacology // Med. Res. Rev. V. 15. № 1. P. 33–45.
- Alberstein R., Grey R., Zimmel A., Simmons D.K., Mayer M.L., 2015. Glycine activated ion channel subunits encoded by ctenophore glutamate receptor genes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 112. № 44. P. 6048–6057.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z. et al., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs // Nucleic Acids Res. V. 25. № 17. P. 3389–3402.
- Anderson P.A.V., Trapido-Rosenthal H.G., 2009. Physiological and chemical analysis of neurotransmitter candidates at a fast excitatory synapse in the jellyfish *Cyanea capillata* (Cnidaria, Scyphozoa) // Invert. Neurosci. V. 9. № 3. P. 167–173.
- Anjard C., 2006. GABA induces terminal differentiation of *Dictyostelium* through a GABAB receptor // Development. V. 133. № 11. P. 2253–2261.
- Armstrong N., Gouaux E., 2000. Mechanisms for activation and antagonism of an AMPA-sensitive glutamate receptor: Crystal structures of the GluR2 ligand binding core // Neuron. V. 28. № 1. P. 165–181.
- Bansal P., Wang S., Liu S., Xiang Y.-Y., Lu W.-Y., Wang Q., 2011. GABA Coordinates with insulin in regulating secretory function in pancreatic INS-1  $\beta$ -cells // PLoS One. V. 6. № 10. Art. e26225. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026225>
- Bortoli S., de Teardo E., Szabò I., Morosinotto T., Alboresi A., 2016. Evolutionary insight into the ionotropic glutamate receptor superfamily of photosynthetic organisms // Biophys. Chem. V. 218. P. 14–26.
- Bucci G., Ramoino P., Diaspro A., Usai C., 2005. A role for GABA receptors in the modulation of *Paramecium* swimming behavior // Neurosci. Lett. V. 386. № 3. P. 179–183.
- Chen G.Q., Cui C., Mayer M.L., Gouaux E., 1999. Functional characterization of a potassium-selective prokaryotic glutamate receptor // Nature. V. 402. № 6763. P. 817–821.
- Chevrot R., Rosen R., Haudecoeur E., Cirou A., Shelp B.J. et al., 2006. GABA controls the level of quorum-sensing signal in *Agrobacterium tumefaciens* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 103. № 19. P. 7460–7464.
- Delmonte Corrado M.U., Ognibene M., Trielli F., Politi H., Passalacqua M., Falugi C., 2002. Detection of molecules related to the GABAergic system in a single-cell eukaryote, *Paramecium primaurelia* // Neurosci. Lett. V. 329. № 1. P. 65–68.
- Dubos C., Huggins D., Grant G.H., Knight M.R., Campbell M.M., 2003. A role for glycine in the gating of plant NMDA-like receptors // Plant J. V. 35. № 6. P. 800–810.
- Eitel M., Francis W.R., Varoqueaux F., Daraspe J., Osigus H.-J. et al., 2018. Comparative genomics and the nature of placozoan species // PLoS Biol. V. 16. № 7. Art. e2005359. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005359>
- Feng J.-M., Xiong J., Zhang J.-Y., Yang Y.-L., Yao B. et al., 2014. New phylogenomic and comparative analyses provide corroborating evidence that Myxozoa are Cnidaria // Mol. Phylogenet. Evol. V. 81. P. 10–18.
- Ferrier D.E.K., 2016. The origin of the Hox/ParaHox genes, the Ghost Locus hypothesis and the complexity of the first animal // Brief. Funct. Genomics. V. 15. № 5. P. 333–341.
- Feuda R., Dohrmann M., Pett W., Philippe H., Rota-Stabelli O. et al., 2017. Improved modeling of compositional heterogeneity supports sponges as sister to all other animals // Curr. Biol. V. 27. № 24. P. 3864–3870.e4.
- Fortunato A., Aktipis A., 2019. Social feeding behavior of *Trichoplax adhaerens* // Front. Ecol. Evol. V. 7. Art. 19. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00019>
- Furukawa H., Singh S.K., Mancusso R., Gouaux E., 2005. Subunit arrangement and function in NMDA receptors // Nature. V. 438. № 7065. P. 185–192.
- Heyland A., Moroz L.L., 2005. Cross-kingdom hormonal signaling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae // J. Exp. Biol. V. 208. № 23. P. 4355–4361.
- Heyland A., Hodin J., Reitzel A.M., 2005. Hormone signaling in evolution and development: A non-model system approach // Bioessays. V. 27. № 1. P. 64–75.
- Hoang D.T., Chernomor O., Haeseler A., von Minh B.Q., Vinh L.S., 2018. UFBoot2: Improving the ultrafast bootstrap approximation // Mol. Biol. Evol. V. 35. № 2. P. 518–522.
- Katoh K., Standley D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability // Mol. Biol. Evol. V. 30. № 4. P. 772–780.
- Kinnersley A.M., Lin F., 2000. Receptor modifiers indicate that 4-aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants // Plant Growth Regulation. V. 32. № 1. P. 65–76.
- Konorov E.A., Nikitin M.A., Mikhailov K.V., Lysenkov S.N., Belenky M. et al., 2017. Genomic exaptation enables *Lasius niger* adaptation to urban environments // BMC Evol. Biol. V. 17. Art. 39. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0867-x>
- Layden M.J., 2019. Origin and evolution of nervous systems // Old Questions and Young Approaches to Animal Evolution Fascinating Life Sciences / Eds Martín-Durán J.M., Vellutini B.C. Cham: Springer International Publishing. P. 151–171.
- Levy S., Brekhman V., Bakhman A., Malik A., Sebé-Pedrós A. et al., 2021. Ectopic activation of GABA B receptors inhibits neurogenesis and metamorphosis in the cnidarian *Nematostella vectensis* // Nat. Ecol. Evol. V. 5. № 1. P. 111–121.

- Mayer M.L., 2021. Structural biology of kainate receptors // *Neuropharmacology*. V. 190. Art. 108511. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108511>
- Mayorova T.D., Smith C.L., Hammar K., Winters C.A., Pivovarova N.B. et al., 2018. Cells containing aragonite crystals mediate responses to gravity in *Trichoplax adhaerens* (Placozoa), an animal lacking neurons and synapses // *PLoS One*. V. 13. № 1. Art. e0190905. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190905>
- Moroz L.L., Kocot K.M., Citarella M.R., Dosung S., Norekian T.P. et al., 2014. The ctenophore genome and the evolutionary origins of neural systems // *Nature*. V. 510. P. 110–114.
- Moroz L.L., Nikitin M.A., Poličar P.G., Kohn A.B., Romanova D.Y., 2021a. Evolution of glutamatergic signaling and synapses // *Neuropharmacology*. V. 199. Art. 108740. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108740>
- Moroz L.L., Romanova D.Y., Kohn A.B., 2021b. Neural versus alternative integrative systems: molecular insights into origins of neurotransmitters // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* V. 376. № 1821. Art. 20190762. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0762>
- Moroz L.L., Romanova D.Y., Nikitin M.A., Sohn D., Kohn A.B. et al., 2020a. The diversification and lineage-specific expansion of nitric oxide signaling in Placozoa: Insights in the evolution of gaseous transmission // *Sci. Rep.* V. 10. № 1. Art. 13020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69851-w>
- Moroz L.L., Sohn D., Romanova D.Y., Kohn A.B., 2020b. Microchemical identification of enantiomers in early-branching animals: Lineage-specific diversification in the usage of D-glutamate and D-aspartate // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 527. № 4. P. 947–952.
- Naur P., Hansen K.B., Kristensen A.S., Dravid S.M., Pickering D.S. et al., 2007. Ionotropic glutamate-like receptor  $\delta 2$  binds d-serine and glycine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 104. № 35. P. 14116–14121.
- Nguyen L.-T., Schmidt H.A., Haeseler A., von, Minh B.Q., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* V. 32. № 1. P. 268–274.
- Nielsen C., 2019. Early animal evolution: A morphologist's view // *R. Soc. Open Sci.* V. 6. № 7. Art. 190638. <https://doi.org/10.1098/rsos.190638>
- Niimura Y., Matsui A., Touhara K., 2014. Extreme expansion of the olfactory receptor gene repertoire in African elephants and evolutionary dynamics of orthologous gene groups in 13 placental mammals // *Genome Res.* V. 24. № 9. P. 1485–1496.
- Niswender C.M., Conn P.J., 2010. Metabotropic glutamate receptors: Physiology, pharmacology, and disease // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* V. 50. P. 295–322.
- Nozawa M., Nei M., 2007. Evolutionary dynamics of olfactory receptor genes in *Drosophila* species // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 104. № 17. P. 7122–7127.
- Podvyaznaya I.M., Galaktionov K.V., 2012. Morpho-functional specialization of the branching sporocyst of *Prosohrhynchoides borealis* Bartoli, Gibson & Bray, 2006 (Digenea, Bucephalidae) // *J. Helminthol.* V. 86. № 2. P. 173–184.
- Preston R.R., Usherwood P.N.R., 1988. L-Glutamate-induced membrane hyperpolarization and behavioural responses in *Paramecium tetraurelia* // *J. Comp. Physiol.* V. 164. № 1. P. 75–82.
- Quillin S.J., Tran P., Prindle A., 2021. Potential roles for gamma-aminobutyric acid signaling in bacterial communities // *Bioelectricity*. V. 3. № 2. P. 120–125.
- Ramoino P., Candiani S., Pittaluga A.M., Usai C., Gallus L., et al., 2014. Pharmacological characterization of NMDA-like receptors in the single-celled organism *Paramecium primaurelia* // *J. Exp. Biol.* V. 217. № 3. P. 463–471.
- Ramoino P., Fronte P., Beltrame F., Diaspro A., Fato M. et al., 2003. Swimming behavior regulation by GABAB receptors in *Paramecium* // *Exp. Cell Res.* V. 291. № 2. P. 398–405.
- Ramoino P., Milanese M., Candiani S., Diaspro A., Fato M. et al., 2010.  $\gamma$ -Amino butyric acid (GABA) release in the ciliated protozoan *Paramecium* occurs by neuronal-like exocytosis // *J. Exp. Biol.* V. 213. № 8. P. 1251–1258.
- Ramos-Vicente D., Grant S.G.N., Bayés À., 2021. Metazoan evolution and diversity of glutamate receptors and their auxiliary subunits // *Neuropharmacology*. V. 195. Art. 108640. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108640>
- Ramos-Vicente D., Ji J., Gratacòs-Batlle E., Gou G., Reig-Viader R. et al., 2018. Metazoan evolution of glutamate receptors reveals unreported phylogenetic groups and divergent lineage-specific events // *eLife*. V. 7. Art. e35774. <https://doi.org/10.7554/eLife.35774>
- Romanova D.Y., Heyland A., Sohn D., Kohn A.B., Fasshauer D. et al., 2020. Glycine as a signaling molecule and chemoattractant in *Trichoplax* (Placozoa): Insights into the early evolution of neurotransmitters // *NeuroReport*. V. 31. № 6. P. 490–497.
- Ronquist F., Teslenko M., Mark P., van der, Ayres D.L., Darling A. et al., 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space // *Syst. Biol.* V. 61. № 3. P. 539–542.
- Ryan J.F., Pang K., Schnitzler C.E., Nguyen A.-D., Moreland R.T. et al., 2013. The genome of the Ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its implications for cell type evolution // *Science*. V. 342. № 6164. Art. 1242592. <https://doi.org/10.1126/science.1242592>
- Sakharov D.A., 1974. Evolutionary aspects of transmitter heterogeneity // *Neurovegetative Transmission Mechanisms* / Eds Csillik B., Kappers J.A. Vienna: Springer. P. 43–59.
- Senatore A., Reese T.S., Smith C.L., 2017. Neuropeptidergic integration of behavior in *Trichoplax adhaerens*, an animal without synapses // *J. Exp. Biol.* V. 220. № 18. P. 3381–3390.
- Simion P., Philippe H., Baurain D., Jager M., Richter D.J., et al., 2017. A large and consistent phylogenomic dataset supports sponges as the sister group to all other animals // *Curr. Biol.* V. 27. № 7. P. 958–967.
- Slyusarev G.S., Nesterenko M.A., Starunov V.V., 2019. The structure of the muscular and nervous systems of the male *Intoshia linei* (Orthonectida) // *Acta Zool.* V. 100. № 4. P. 451–458.
- Smith C.L., Pivovarova N., Reese T.S., 2015. Coordinated feeding behavior in *Trichoplax*, an animal without syn-

- apses // PLoS One. V. 10. № 9. Art. e0136098.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136098>
- Smith C.L., Varoqueaux F., Kittelmann M., Azzam R.N., Cooper B. et al., 2014. Novel cell types, neurosecretory cells, and body plan of the early-diverging metazoan *Trichoplax adhaerens* // Curr. Biol. V. 24. № 14. P. 1565–1572.
- Špírková A., Kovaříková V., Šefčíková Z., Pisko J., Kšíňanová M. et al., 2022. Glutamate can act as a signaling molecule in mouse preimplantation embryos // Biol. Reprod. V. 107. № 4. P. 916–927.
- Srivastava M., Begovic E., Chapman J., Putnam N.H., Hellsten U. et al., 2008. The *Trichoplax* genome and the nature of placozoans // Nature. V. 454. № 7207. P. 955–960.
- Syed T., Schierwater B., 2002. *Trichoplax adhaerens*: Discovered as a missing link, forgotten as a hydrozoan, re-discovered as a key to metazoan evolution // Vie Milieu. V. 52. P. 177–187.
- Szathmáry E., Smith J.M., 1995. The major evolutionary transitions // Nature. V. 374. № 6519. P. 227–232.
- Terunuma M., 2018. Diversity of structure and function of GABAB receptors: A complexity of GABAB-mediated signaling // Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci. V. 94. № 10. P. 390–411.
- Tiedje K.E., Stevens K., Barnes S., Weaver D.F., 2010. Beta-alanine as a small molecule neurotransmitter // Neurochem. Int. V. 57. № 3. P. 177–188.
- Tikhonenkov D.V., Mikhailov K.V., Hehenberger E., Karpov S.A., Prokina K.I. et al., 2020. New lineage of microbial predators adds complexity to reconstructing the evolutionary origin of animals // Curr. Biol. V. 30. № 22. P. 4500–4509.
- Ueda T., Koya S., Maruyama Y.K., 1999. Dynamic patterns in the locomotion and feeding behaviors by the placozoan *Trichoplax adhaerens* // Biosystems. V. 54. № 1. P. 65–70.
- Varoqueaux F., Williams E.A., Grandemange S., Truscello L., Kamm K. et al., 2018. High cell diversity and complex peptidergic signaling underlie placozoan behavior // Curr. Biol. V. 28. № 21. P. 3495–3501.e2.
- Vicens A., Borzjak K., Karr T.L., Roldan E.R.S., Dorus S., 2017. Comparative sperm proteomics in mouse species with divergent mating systems // Mol. Biol. Evol. V. 34. № 6. P. 1403–1416.
- Wu J.-Y., Prentice H., 2010. Role of taurine in the central nervous system // J. Biomed. Sci. V. 17. Suppl 1. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-S1-S1>
- Yao Y., Harrison C.B., Freddolino P.L., Schulten K., Mayer M.L., 2008. Molecular mechanism of ligand recognition by NR3 subtype glutamate receptors // EMBO J. V. 27. № 15. P. 2158–2170.
- Zverkov O.A., Mikhailov K.V., Isaev S.V., Rusin L.Y., Popova O.V. et al., 2019. Dicyemida and Orthonectida: Two stories of body plan simplification // Front. Genet. V. 10. Art. 443. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00443>

## Glutamate and GABA receptors in non-neural animals (Placozoa): Preadaptation to neural transmission

M. A. Nikitin<sup>a, \*</sup>, S. I. Borman<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University  
Leninskiye gory, 1, bld. 40, Moscow, 119992 Russia*

<sup>b</sup>*Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS  
Vavilov st., 26, Moscow, 119334 Russia*

\*e-mail: [nikitin.fbb@gmail.com](mailto:nikitin.fbb@gmail.com)

Origins of neural system is one of the major transitions in planetary evolution. Many details of these transitions are still unknown. In particular, high diversity of neurotransmitters lacks convincing explanation so far. We analyze homologues of neuronal glutamate and gamma-aminobutyric acid (GABA) receptors of Placozoa – animal phyla lacking neurons but displaying motility and complex behaviour. Phylogenetic analysis and comparison of amino acids in ligand-binding pockets show that glutamate and GABA-like receptors of Placozoa are surprisingly numerous, diverse and fast-evolving. All these traits are characteristic of odorant rather than neurotransmitter receptors of higher animals. We argue that chemoreception system was an important source of diverse receptors for emerging nervous system to recruit, and that amino acid neurotransmitters (glutamate, GABA, glycine) were relevant external stimuli for early animals before the emergence of nervous system.

УДК 595.773.4;575.826;574.24;574.23

## МОРФОЛОГИЯ ЛИЧИНОК МУХ-БЕРЕГОВУШЕК *EPHYDRA RIPARIA* И *PARACOENIA FUMOSA* (DIPTERA: EPHYDRIDAE) И АДАПТАЦИЯ ДВУКРЫЛЫХ К ПОВЫШЕННОЙ СОЛЕННОСТИ

© 2023 г. Е. Ю. Яковлева<sup>1</sup>\*, Е. Б. Наймарк<sup>2</sup>, Д. Д. Сивунова<sup>1</sup>,  
М. Г. Кривошеина<sup>3</sup>, А. В. Марков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

<sup>2</sup>Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН  
ул. Профсоюзная, 123, Москва, 117997 Россия

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН  
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

\*E-mail: e.u.yakovleva@gmail.com

Поступила в редакцию 22.11.2022 г.

После доработки 01.12.2022 г.

Принята к публикации 06.12.2022 г.

Личинки многих видов мух-береговушек (сем. Ephydriidae) адаптированы к жизни в воде с высокой, а иногда экстремально высокой соленостью. О морфологических и физиологических основах такой адаптации известно немного. В настоящем исследовании описаны детали морфологии личинок 3-го возраста двух видов мух-береговушек *Ephydra riparia* и *Paracoenia fumosa* (сем. Ephydriidae) и приведены их изображения, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). С помощью окрашивания нитратом серебра и СЭМ удалось впервые показать наличие у личинок обоих изучаемых видов анальных органов (АО) – специализированных структур, выполняющих осморегуляторную функцию и отвечающих за транспорт ионов из окружающей среды в гемолимфу личинки (но не в обратном направлении). Проведено сравнение морфологии личинок изученных видов с другими видами мух-береговушек из родов *Ephydra*, *Paracoenia*, *Hydrellia*, *Coenia*, а также с личинками модельного вида *Drosophila melanogaster* (сем. Drosophilidae). Особое внимание уделено морфологии АО, которые, по-видимому, вносят вклад в адаптацию личинок к повышенной солености. У экстремально галофильных эфидрид АО либо вовсе отсутствуют, либо развиты слабо, в то время как у умеренно галофильных эфидрид сильнее развиты признаки, связанные с проницаемостью кутикулы АО и активным транспортом ионов. У пресноводных эфидрид эти признаки получают наибольшее развитие. Активность АО может варьировать за счет формы и площади АО, гладкости или сморщенности кутикулы и наличия наноямок на ней. Обнаруженная изменчивость, вероятно, является адаптивной, поскольку при высокой окружающей солености как проницаемость кутикулы АО, так и активный транспорт ионов из окружающей среды становятся менее полезными или даже вредными.

DOI: 10.31857/S0044459623030077, EDN: BACMGF

Эфидриды – семейство двукрылых, отличающееся высоким видовым разнообразием и насчитывающее около 2000 видов (Pape et al., 2011; Courtney et al., 2017). Их разнообразие связано с чрезвычайно широким спектром адаптаций к самым различным средам, в том числе и экстремальным. Среди них есть виды, предпочитающие высокую соленость, пресные воды, содовые озера и даже нефтяные лужи. Некоторые виды рода *Ephydra* являются, по-видимому, самыми галотолерантными и галофильными среди насекомых, развивающихся в воде. *Ephydra gracilis* и *E. hians* выживают даже в насыщенном солевом растворе,

когда соль выпадает в виде кристаллов (Aldrich, 1912; Beyer, 1939; Herbst, 1988). В столь экстремальных условиях могут процветать немногие многоклеточные, поэтому из-за отсутствия конкуренции эти мухи достигают столь высокой численности (в Большом Соленом озере продукция *E. gracilis* – до 50 г биомассы на 1 м<sup>2</sup> в год), что служит важным пищевым ресурсом для птиц, а в прошлом и для коренных индейцев (Aldrich, 1912). Водные личинки других эфидрид развиваются в умеренно соленых, солоноватых, а также пресных водоемах. Таковы, например, растительноядные пресноводные личинки южноазиатского ви-

да *Hydrellia pakistanae*, используемые для биологического контроля инвазивного пресноводного растения *Hydrilla verticillata* (Durham, Grodowitz, 2012). Таким образом, эфидриды приспособились к полному спектру соленостей, который может предложить природа.

Удивительно, что столь разные адаптации выработались в пределах одного семейства. Ясно, что это семейство обладает чрезвычайно широкой экологической пластичностью, в том числе по отношению к средам с различающейся соленостью, поэтому это эволюционно молодое семейство (Mathis, Zatzwornicki, 1995) является интересным объектом для изучения адаптивной эволюции. Однако данных по эволюции эфидрид и их адаптации к различной солености немного. Внимание ученых в основном сфокусировано на описании экстраординарных феноменов, таких как приспособление к жизни в асфальтовых лужах у “нефтяной мухи” *Diasemocera petrolei* (Thorpe, 1930; Kadavy et al., 1999), или на изучении биологии хозяйственно важных видов, таких как *H. pakistanae*. Выяснению адаптационных механизмов в этой группе, в том числе связи морфологии личинок с адаптацией к различной солености, посвящено совсем немного работ (Beyer, 1939). При этом изучение эволюционной пластичности требует более цельной картины, основанной в том числе на детальном морфологическом анализе личинок. Есть основания полагать, что в морфологии личинок можно найти указания на адаптацию к тому или иному уровню солености. Например, Байер (Beyer, 1939) показал, что относительная длина дыхательной трубки (сифона) у личинок и куколок *Ephydra* связана с соленостью положительной зависимостью.

Для многих видов двукрылых близких к эфидридам семейств, включая модельный вид *Drosophila melanogaster* (сем. Drosophilidae), характерно наличие рядом с анальным отверстием специализированных органов, выполняющих осморегуляторные функции и называемых, в зависимости как от их строения, так и от традиций морфологических описаний в разных группах двукрылых, анальными органами (АО), анальными папиллами, анальными подушками и др. Размер АО в ряде случаев отрицательно коррелирует с соленостью среды (Wigglesworth, 1933; Te Velde et al., 1988). Уоддингтон (Waddington, 1959) получил обратный результат, но, по-видимому, вместо АО он измерял область, расположенную между АО, непосредственно вокруг анального отверстия, которая неизбежно должна сокращаться вслед за растягиванием АО при понижении солености среды (Te Velde et al., 1988). При этом данных по строению (и даже просто по наличию) АО у эфидрид крайне мало.

В этой работе мы предлагаем описание деталей морфологии и полученные при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) изображения личинок 3-го возраста двух широко распространенных видов эфидрид, *E. riparia* и *Paracoenia fumosa*, дополняющие опубликованные ранее морфологические данные (Beyer, 1939; Krivosheina, 2003). Ранее личинки этих видов изучались только при помощи световой микроскопии. Более детальные данные по внешней морфологии личинок опубликованы пока лишь для единичных видов эфидрид. Мы обсуждаем эти морфологические данные, в том числе данные по строению АО, в контексте поиска морфологических особенностей, так или иначе связанных с адаптацией к соленой среде и проливающим свет на возможные механизмы такой адаптации.

*E. riparia* и *P. fumosa* являются типичными обитателями морских побережий, где их личинки встречаются в прибрежных лагунах, мелких заливах и литоральных лужах. Они относятся к умеренно галофильным представителям эфидрид, и при этом они весьма галотолерантны. Их личинки выдерживают широкий диапазон солености — от континентальных водоемов с соленостью до 70‰ (Beyer, 1939) и нормальной морской солености до пресной воды. В пресных водоемах личинки *P. fumosa* могут нормально развиваться, а личинки *Ephydra* выживают, но не могут нормально завершить свое развитие (Krivosheina, 2003). Несмотря на сходный спектр местообитаний и диету (основу которой составляют водоросли и цианобактерии), личинки этих двух видов заметно различаются по образу жизни и морфологии: личинки *E. riparia* — представители эпифауны, активно передвигающиеся по поверхности твердых субстратов при помощи ложных ножек (prolegs) с когтеобразными шипами (spinules), с относительно короткой дыхательной трубкой, тогда как личинки *P. fumosa* — скорее представители инфауны, живущие преимущественно в толще субстрата, без ложных ножек и с более длинной дыхательной трубкой.

В связи с особенностями образа жизни личинок изучаемых видов поверхность их тела покрыта глиной и илом, слизью, бактериальными пленками и диатомовыми водорослями. Для изучения тонких морфологических структур личинок перед нами стояла задача разработать методы их отмывки от загрязнения, чтобы не повредить нежные покровы и внешнюю морфологию. В настоящей работе описание деталей морфологии личинок мух-береговушек *E. riparia* и *P. fumosa* мы сопровождаем протоколом их очистки от органических и неорганических загрязнений.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

*Описание мест обитания мух-береговушек*

Личинки 3-го возраста мухи *E. riparia* были собраны у побережья Белого моря вблизи Беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова (66.553° с.ш., 33.090° в.д.) в луже с илистыми черными донными отложениями с высоким содержанием сероводорода. Во время прилива в водоем поступает соленая вода из Белого моря, в то же время в него стекает небольшой пресный ручей из леса, поэтому соленость в водоеме колеблется, и в отдельные моменты вода может быть почти пресной.

Личинки 3-го возраста мухи вида *P. fumosa* были собраны на литорали Белого моря, также вблизи Беломорской биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова. Личинки развиваются в черных илистых отложениях с большим содержанием сероводорода. Во время отлива местообитания не покрыты водой, но остаются влажными, во время прилива — высоко покрыты соленой водой Кандалакшского залива.

*Описание линий Drosophila melanogaster*

В настоящем исследовании АО личинок мух-береговушек сопоставлены с АО личинок лабораторных линий *D. melanogaster*, содержащихся на корме с разной осмолярностью:

— контрольная линия, содержащаяся на нормальном лабораторном корме (60 г инактивированных дрожжей, 35 г манной крупы, 50 г сахара, 45 г измельченного изюма, 8 г агара, 2 г пропионовой кислоты на 1 л корма);

— линия, содержащаяся на соленом субстрате (нормальный корм с добавлением 7% NaCl);

— линия, содержащаяся на корме с пониженной осмолярностью на основе крахмала (60 г инактивированных дрожжей, 30 г крахмала, 8 г агара, 2 г пропионовой кислоты на 1 л корма).

Все три линии содержатся в лаборатории на кафедре биологической эволюции биологического факультета МГУ и берут свое начало от исходной популяции мух *D. melanogaster*, полученной в начале сентября 2014 г. от 30 диких особей, пойманных на юго-западе г. Москвы (Горшкова и др., 2018).

Очистку личинок, изъятых из корма, проводили в полипропиленовых пробирках объемом 25 мл с завинчивающейся плоской крышкой. Живых личинок промывали в проточной воде, ошпаривали горячей водой (80–90°C), охлаждали, затем в течение 3 мин обрабатывали в 5%-м растворе КОН, после чего снова промывали четыре–пять раз проточной водой, а последний раз — споласкивали дистиллированной водой. Далее личинок по-

следовательно фиксировали этанолом (30–50–70%).

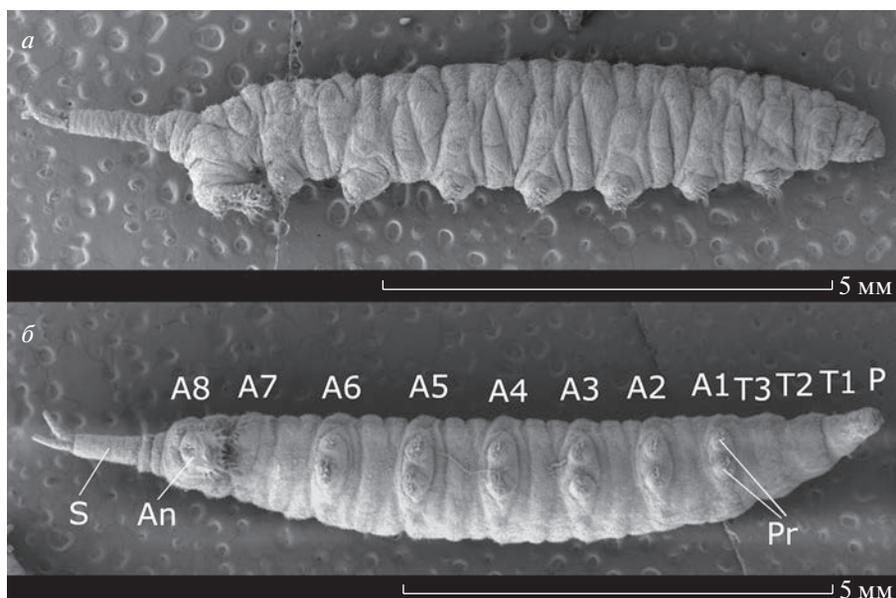
*Методы очистки личинок мух-береговушек*

Очистку личинок проводили в полипропиленовых пробирках объемом 25 мл с завинчивающейся плоской крышкой. Живых личинок 3-го возраста *E. riparia* и *P. fumosa* промывали в пресной воде, затем три раза в растворе детергента (1 : 40) и три–четыре раза ополаскивали пресной водой. На следующем этапе личинки ошпаривались горячей водой (80–90°C), чтобы расслабить мышцы и выправить голову и дыхательную трубку из соответствующих сегментов. Это позволяет изучить микроструктуры на переднем и заднем концах тела личинки. Охлажденные личинки обрабатывались 2%-м раствором пироглутамата в течение 1–1.5 ч при комнатной температуре (20°C), затем 5 мин в ультразвуковой ванне (YA XUN YX2000A с рабочей частотой 42 кГц и мощностью 50 Вт), три–четыре раза промывались пресной водой и обрабатывались 5%-м раствором КОН в течение 5 мин. После обработки КОН удаляли путем промывания личинок пресной водой четыре–пять раз, а последний раз — споласкивали дистиллированной водой. Далее личинок последовательно фиксировали этанолом (30–50–70%).

Данный протокол отмывки личинок мух *E. riparia* и *P. fumosa* был разработан в процессе исследования, так как представленные в литературе подходы к удалению органических и неорганических загрязнений, в том числе с помощью только ультразвука или применения различных концентраций КОН, не позволяли достичь желаемого результата (Schneeberg et al., 2017).

*Подготовка препаратов для сканирующей электронной микроскопии*

Образцы личинок эфидрид и дрозофил, зафиксированные в 70% этаноле, обезвоживались путем серии проводок: 95.6% этанол, смесь 95.6% этанола и 100% ацетона, 100% ацетон два раза (длительность каждого этапа составляла 30 мин), — и высушивались при критической точке на приборе Hitachi Critical Point Dryer HCP-2 (Hitachi, Япония). Высушенные образцы наклеивались на алюминиевые столики и напылялись сплавом золота и меди (Eiko IB-3, Eiko, Япония). Изображения были получены с помощью сканирующих электронных микроскопов Jeol JSM-7000 (Jeol, Япония) с использованием программного обеспечения JEOL JCM-7000 и TESCAN VEGA-II XMU (Брно, Чехия) и программного обеспечения TESCAN Essence. Изображения обрабатывались в программе GIMP.



**Рис. 1.** Личинка 3-го возраста мухи *E. riparia*: а – вид сбоку, б – вид снизу. An – анальное отверстие, A1–A8 – восемь брюшных сегментов, P – псевдоцефалон, Pr – ложные ножки, S – сифон, T1–T3 – три грудных сегмента.

#### Окрашивание АО нитратом серебра

Анальные органы окрашивали по методу, описанному в статье Глора и Чена (Gloor, Chen, 1950). Живых личинок 3-го возраста *E. riparia* и *P. fumosa* промывали в пресной воде, а затем ошпаривали горячей водой (80–90°C). Охлажденных личинок погружали на 15 мин в 1%-й раствор  $\text{AgNO}_3$  и выставляли на солнечный свет на 20–30 мин до окрашивания их анальных органов в чернильный цвет (вместо солнечного света можно помещать образцы на то же время под ультрафиолетовую лампу). После этого личинок промывали в пресной воде, чтобы предотвратить окрашивание всей поверхности тела.

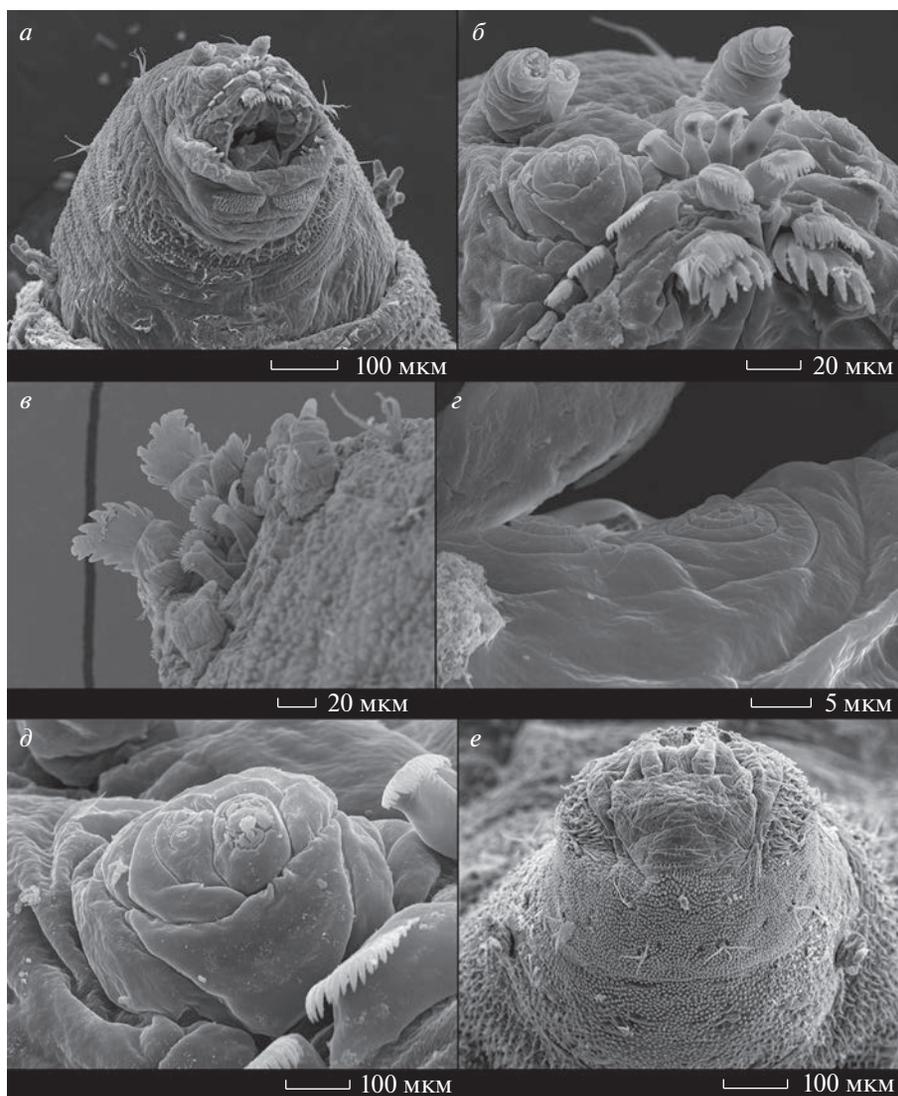
## РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Описание личинки 3-го возраста мухи-береговушки *Ephydra riparia*

Личинка мухи-береговушки *E. riparia* имеет типичную для представителей рода *Ephydra* форму – удлиненную, почти цилиндрическую, сужающуюся к обоим концам. Тело личинки состоит из 12 сегментов: головного сегмента (псевдоцефалона), способного втягиваться в грудные сегменты, трех грудных сегментов (T1–T3), лишенных ложных ножек, и восьми брюшных сегментов (A1–A8), каждый из которых несет пару ложных ножек. Последний сегмент брюшка A8 несет разветвленную дыхательную трубку (сифон) на дорсальной стороне, самую большую пару ложных ножек на вентральной стороне и анальное отверстие позади ложных ножек, окруженное АО (рис. 1).

Длина тела личинки с вытянутой дыхательной трубкой в среднем составляет 11.19 мм (от 9.79 до 12.15 мм,  $n = 3$ ), длина дыхательной трубки – 2.26 мм (от 1.94 до 2.76 мм,  $n = 3$ ), длина тела от головы до конца восьмого брюшного сегмента (там, где заканчиваются АО) в среднем составила 8.94 мм (от 7.72 до 10.22 мм,  $n = 3$ ).

**Псевдоцефалон** несет сложный набор сенсорных и ротовых структур (рис. 2). Мандибулы (ротовые крючки, oral hooks) обращены концами вниз и движутся сверху вниз во время кормления, что характерно для личинок круглошовных мух (*Cyclogrpha*). Кончики ротовых крючков сильно зазубрены. Это отличает их от личинок мух *E. hians*, у которых кончики ротовых крючков тупые и закругленные (Cash-Clark, Bradley, 1994) (рис. 2б, в). Область над ротовым отверстием несет многочисленные цирры (ротовые папиллы, oral papillae), уплощенные и гребенчатые на дистальном конце. Цирры расположены горизонтальными рядами, причем каждый ряд имеет немного различную морфологию. Медиально, над ротовыми крючками, расположены три ряда цирр. Самый верхний, расположенный между максиллярными органами (maxillary sensory organs = terminal organs), содержит четыре папиллы с довольно тонкими стебельками и небольшими уплощенными гребенчатыми концами. Второй ряд образован папиллами с более толстыми стебельками и более широкими кончиками; этот ряд расположен латерально, папиллы постепенно уменьшаются дистально от средней линии; под ними по обеим сторонам рта добавляются еще три горизонтальных ряда толстых папилл. Третий



**Рис. 2.** Псевдоцефалон личинки 3-го возраста мухи *E. riparia*. *a* – псевдоцефалон, вытянутый из грудных сегментов; видны ротовые, сенсорные структуры и передние дыхальца (расположенные на первом грудном сегменте) с тремя пальцевидными выростами. *б* – увеличенный вид верхней части головы; видны антенны, максиллярные органы, три ряда цирр разной формы и зубчатые ротовые крючки под ними. *в* – вид сверху на зубчатый кончик ротовых крючков. *г* – сложные сенсиллы на нижней стороне ротового отверстия. *д* – максиллярный (= терминальный) орган с двумя отчетливыми наборами сенсилл. *е* – вид псевдоцефалона и первого грудного сегмента сверху.

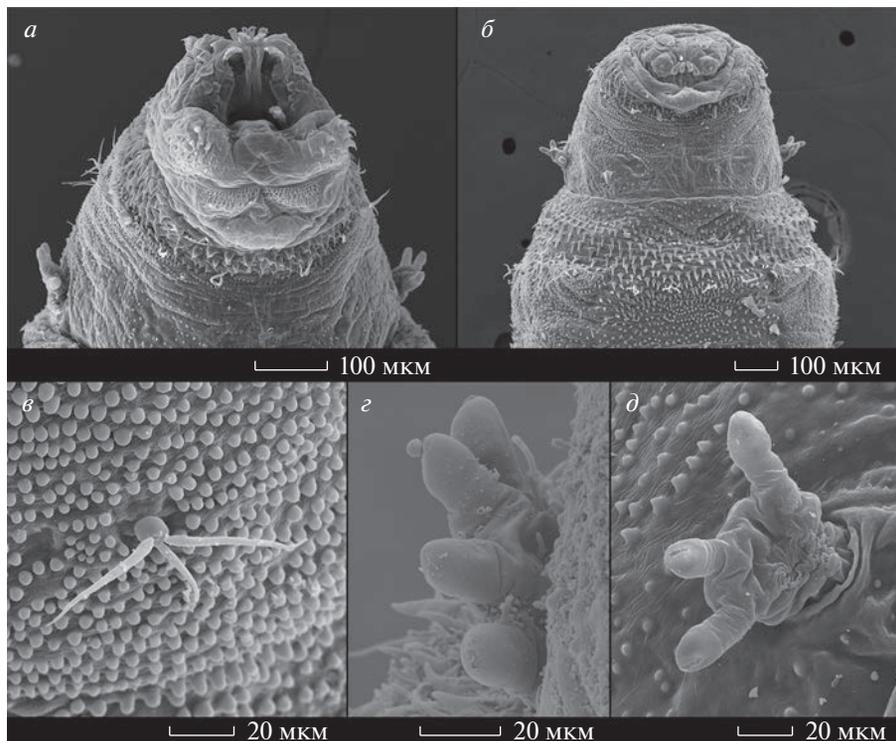
(самый нижний) ряд содержит только две плоские, широкие, гребенчатые папиллы, расположенные непосредственно над ротовыми крючками.

В полости рта на нижней стороне глотки расположены две сложные сенсиллы в форме бугорка, окруженного рядом расширяющихся ободков (рис. 2г), по-видимому, это органы вкуса.

Пара максиллярных (терминальных) органов расположена дорсально относительно ротового отверстия (рис. 2д). Каждый из органов содержит две группы сенсилл, каждая из которых окружена уплощенным гребнем. Дорсолатеральная группа содержит две сложные сенсиллы (compound sensilla), состоящие из центрального бугорка (central

tubercle) и обода (rim). В вентромедиальную группу входят три сложные сенсиллы и две простые сенсиллы (simple sensilla) – бугорки без ободка. Это отличает максиллярный орган *E. riparia* от максиллярного органа дрозофилы, у которой все семь сенсилл (пять сложных и две простые) расположены вместе и окружены одним кольцевым гребнем (Wipfler et al., 2013; Apostolopoulou et al., 2015).

Антенны, или антеннальные органы (antennal organs), личинок *E. riparia* удлиненные, двухчлениковые и расположены дорсально относительно пары максиллярных органов, что характерно для эфидрид и отличает их от дрозофил, у которых



**Рис. 3.** Личинка 3-го возраста мухи *E. riparia*. *a* – вид снизу вытянутого псевдоцефалона и первого грудного сегмента; видны шипики, ряд лучевидных сенсилл и “трехпалые” дыхальца на первом грудном сегменте. *б* – первый и второй грудные сегменты с вентральной стороны. *в* – увеличенное изображение лучевидной сенсиллы, расположенной на втором грудном сегменте позади дыхальца. *з* – “четырепальное” переднее дыхальце. *д* – “трехпальное” дыхальце со щелевидными отверстиями на конце каждого из пальцевидных выростов.

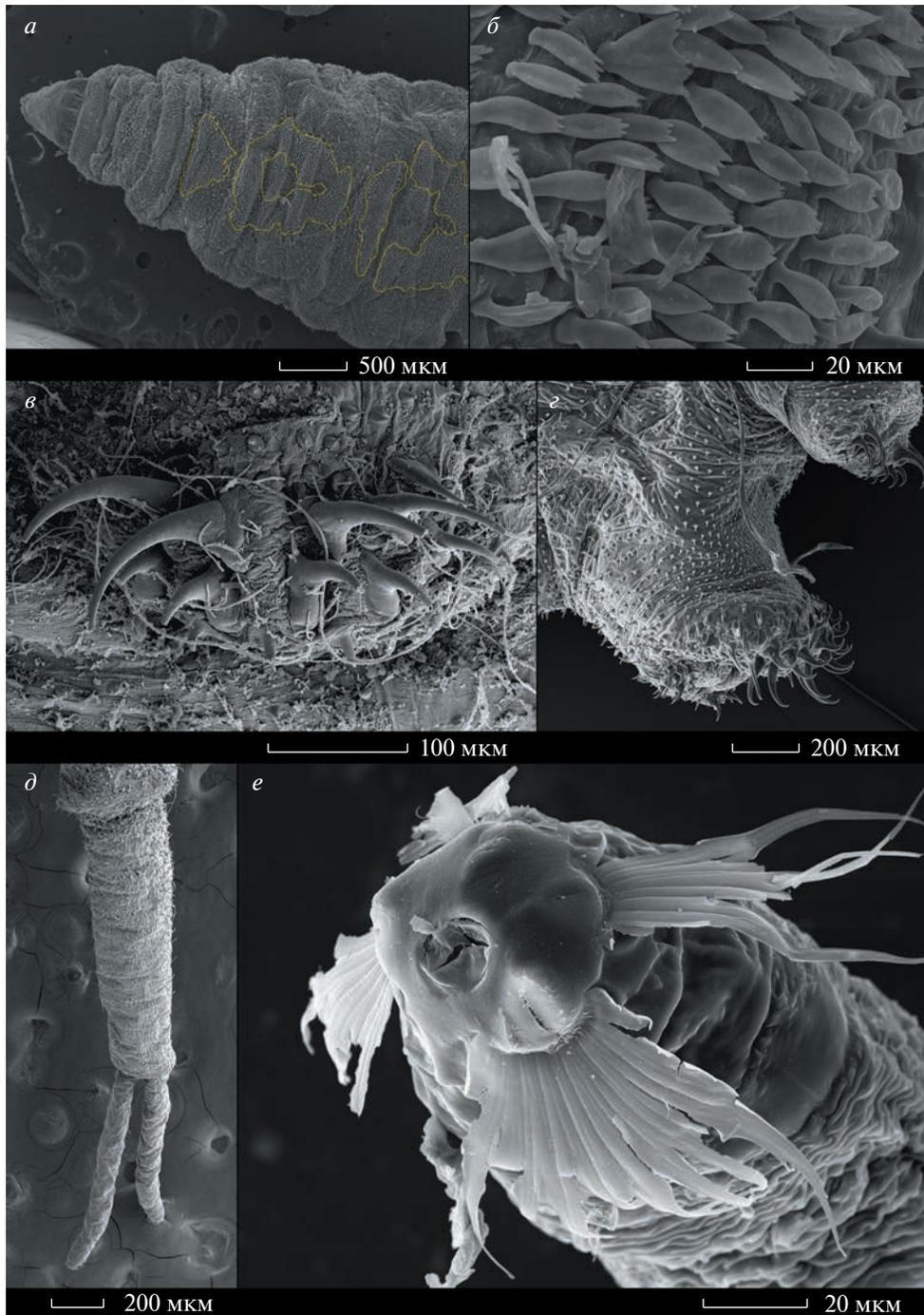
антеннальные органы короткие, дистальный членик имеет шаровидную форму, а базальный выглядит как невысокая подставка под него (Wipfler et al., 2013; Apostolopoulou et al., 2015) (рис. 2б).

Дорсальная поверхность псевдоцефалона гладкая и покрыта лишь несколькими шипиками (рис. 2е). На вентральной поверхности (видимой, только когда псевдоцефалон полностью вытянут из грудных сегментов) латерально к заднему краю ротового отверстия расположены два участка больших изогнутых заостренных когтевидных шипиков (или щетинок), а также два участка крошечных уплощенных гребневидных направленных вперед шипиков, расположенных позади рта (рис. 3а).

**Грудные сегменты** лишены ложных ножек, у переднего края каждого сегмента вентрально и латерально расположены довольно крупные заостренные шипики, а в других местах сегментов – более мелкие притупленные шипики, последние более многочисленны дорсально, чем вентрально (рис. 3а, б). На поверхности сегментов расположены многочисленные тонкие структуры (скорее всего, механорецепторы), которые называют или лучевидными сенсиллами (rayed sensilla), или разветвленными щетинками (branched setae) в опи-

саниях других личинок эфидрид (рис. 3в). Лучевидные сенсиллы обычно располагаются в один ряд в передней части каждого грудного сегмента, за исключением дорсальной части первого грудного сегмента, где они располагаются в два ряда. Внешне они напоминают органы Кейлина (Keilin's organs) личинок дрозофилы (хотя обычно на сегмент приходится только одна пара органов Кейлина, расположенных в глубоких кутикулярных ямках), которые функционируют как механорецепторы и считаются гомологичными ногам взрослых особей. Первый грудной сегмент также несет пару передних дыхалец с тремя (иногда четырьмя) пальцевидными выростами и щелью на вершине каждого из них (рис. 3з, д).

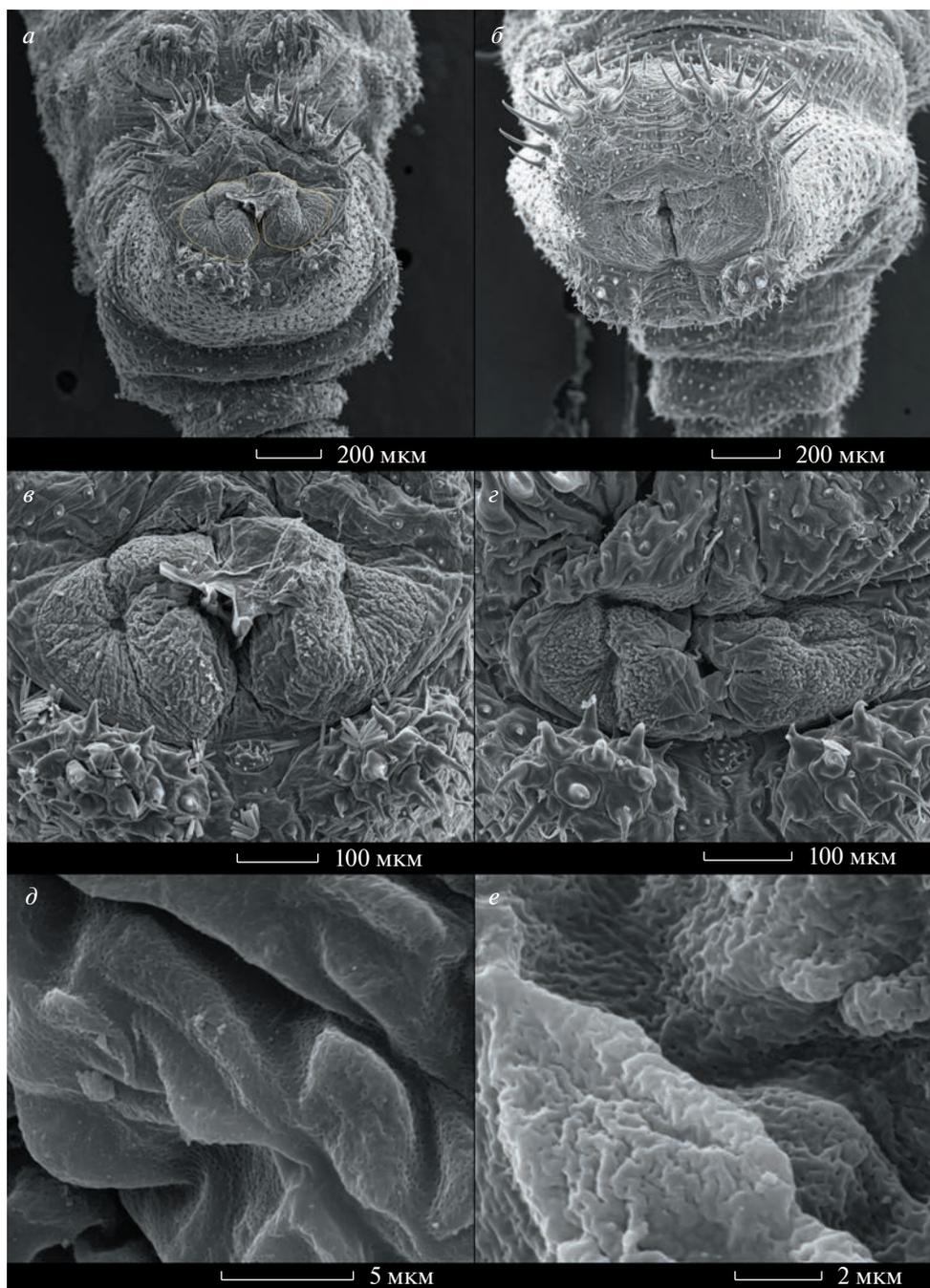
**Брюшные сегменты** несут ложные ножки на вентральной стороне, со спинной стороны личинка покрыта участками плоских пигментированных чешуек, образующих узор (рис. 4а, б). Ложные ножки сегментов А1–А7 несут крупные когтеобразные шипы, загнутые назад (рис. 4в); ложные ножки последнего брюшного сегмента А8 самые крупные, их когтеобразные шипы загнуты вперед (рис. 4г). Это необходимо для того, чтобы личинка могла захватить стебель травы ложными ножками на сегментах А7 и А8 во время окукливания (рис. 1а).



**Рис. 4.** Личинка 3-го возраста мухи *E. riparia*. *a* – вид передней части тела сверху; участки пигментированных чешуек обведены желтым цветом. *б* – увеличенный вид плоских чешуек на дорсальной стороне брюшного сегмента. *в* – ложная ножка, вид снизу. *г* – вид сбоку на ложные ножки седьмого и восьмого брюшных сегментов; видны когтеобразные шипы, загнутые друг к другу. *д* – дыхательная трубка (сифон). *е* – кончик одной из ветвей разветвленной дыхательной трубки (дыхательная пластинка) с круглым перепончатое отверстием, четырьмя щелями и четырьмя разветвленными пластинками для удерживания на поверхности воды.

Разветвленная дыхательная трубка (сифон) расположена на конце последнего брюшного сегмента A8 и может в него втягиваться. На притупленном, слегка выпуклом конце каждой ветви,

именуемом дыхальцевой пластинкой (spiracular plate), имеется округлое, прикрытое мембраной отверстие и четыре радиально ориентированные щели (рис. 4д). Напротив каждой щели располо-

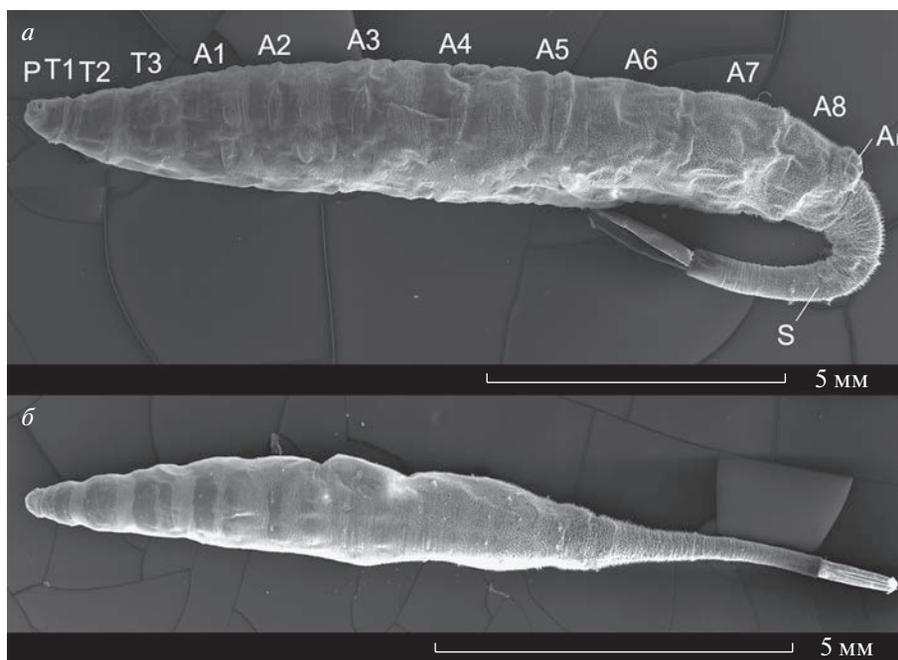


**Рис. 5.** Анальные органы личинки 3-го возраста мухи *E. riparia*. *a–г* – общий вид; АО обведены желтым на рис. *a*; виден постанальный шиповидный бугорок; на рис. *в* видно несколько диатомовых водорослей, прилипших к кутикуле сзади от АО. *д–е* – наноямки (около 100 нм) на морщинистой поверхности кутикулы АО.

жена плоская, тонкая, ветвящаяся пластинка (branching lamina, также используются термины “palmate seta” или “webbed hydrofuge lamella”), которая служит для удержания кончика дыхальца на поверхности воды (рис. 4e).

Анальное отверстие (иногда называемое анальной щелью у эфидрид и других двукрылых,

поскольку обычно оно имеет щелевидную форму) расположено на последнем брюшном сегменте А8 позади оснований ложных ножек. Два серповидных АО расположены симметрично слева и справа от анальной щели (рис. 5*a–г*). Чтобы прояснить функции АО, был использован стандартный метод их окрашивания раствором нитрата серебра, который проникает через кутикулу АО,



**Рис. 6.** Личинка 3-го возраста мухи *P. fumosa*: *a* – вентролатеральная проекция, *б* – вид сверху. Ap – анальное отверстие, A1–A8 – восемь брюшных сегментов, P – псевдоцефалон, S – сифон, T1–T3 – три грудных сегмента.

связывается с ионами хлора и после облучения солнечным светом и/или ультрафиолетом образует частицы серебра, которые окрашивают АО в темно-чернильный цвет, тогда как другие части тела личинки остаются неокрашенными. Это дает основания предполагать, что у *E. riparia* АО выполняют осморегуляторную функцию (через них происходит транспорт ионов из окружающей воды в АО), как и у дрозофил и многих других двукрылых. Ранее наличие функциональных АО у эфидрид было подтверждено (путем окрашивания серебром) только для мухи *Hydrellia pakistanae*, личинки которой развиваются в пресной воде (Durham, Grodowitz, 2012).

Кутикула АО у *E. riparia* сильно морщинистая (так же, как и у *H. pakistanae*) и имеет многочисленные наноямки диаметром около 100 нм (рис. 5*д, е*). Ямки такого же размера и плотности типичны для АО дрозофилы и были замечены у *H. pakistanae*. Вероятно, они связаны с участием АО в ионном транспорте (Jarial, 1987).

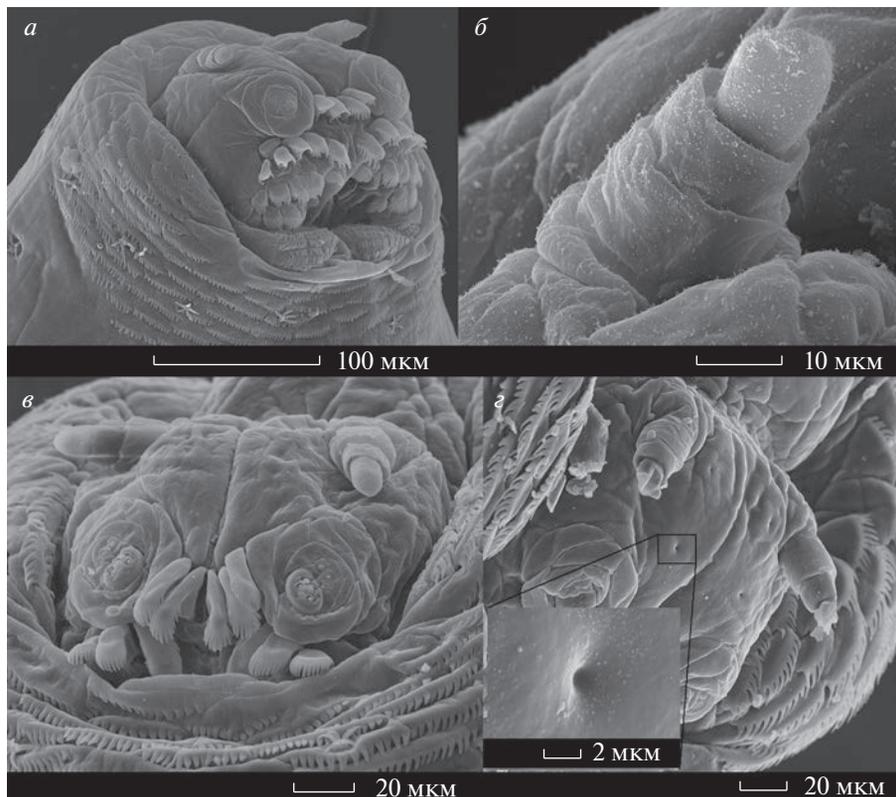
*Описание личинки 3-го возраста мухи-береговушки Paracoenia fumosa*

Тело личинки *P. fumosa* имеет веретеновидную форму и состоит из 12 сегментов: перепончатого псевдоцефалона, способного втягиваться в грудные сегменты, трех безногих грудных сегментов (T1–T3) и восьми безногих брюшных сегментов (A1–A8). Последний брюшной сегмент A8 заканчивается длинной втяжной разветвленной дыха-

тельной трубкой, расположенной дорсально, и анальным отверстием на вентральной стороне. Длина тела личинки с вытянутой дыхательной трубкой в среднем составляет 11.14 мм (от 9.63 до 12.5 мм, *n* = 4), длина дыхательной трубки – 3.56 мм (от 2.88 до 4.65 мм, *n* = 3), длина тела от головы до конца восьмого брюшного сегмента (там, где заканчиваются анальные органы) в среднем составила 7.16 мм (от 6.76 до 7.85 мм, *n* = 3).

Покровы личинки полупрозрачны, благодаря чему видны внутренние пигментированные структуры и система трахей. Кутикула довольно равномерно покрыта мелкими пигментированными шипиками в задней части тела (начиная от сегмента A6 вентрально и примерно от A4 дорсально); на грудных и передних брюшных сегментах шипики приурочены преимущественно к передней вентральной и передней латеральной частям сегмента, остальные части сегментов голые. Все шипики, покрывающие тело личинки, однородные, нет плоских чешуек, формирующих узор. Плотность шипиков постепенно увеличивается от грудных сегментов к заднему концу тела (рис. 6).

**Псевдоцефалон** разделен на две половины (доли) отчетливой прямой продольной бороздой (рис. 7*а*). Набор органов чувств *P. fumosa* аналогичен таковому у *E. riparia*, максиллярные (терминальные) органы у личинок двух видов имеют сходную морфологию (рис. 2*д* и 7*в*), в то же время *P. fumosa* имеет ряд отличий. Ее антенны трехчлениковые, тогда как у *E. riparia* они двухчленико-



**Рис. 7.** Личинка 3-го возраста мухи *P. fumosa*. *a* – псевдоцефалон, вытянутый из грудных сегментов; видны ротовые и сенсорные структуры, а также кончики ротовых крючков. *б* – увеличенный вид трехчлениковой антенны. *в* – увеличенный вид верхней части головы, видны антенны, максиллярные органы, два ряда почти одинаковых по форме цирры. *г* – две пары сенсорных ямок на каждой доле лица (увеличенный вид одной из них на вставке).

вые (рис. 7б). Цирры расположены дорсально и дорсолатерально относительно ротового отверстия горизонтальными рядами, но медиально, над ротовыми крючками, имеется всего два ряда цирр. Самый верхний ряд располагается между максиллярными органами и содержит четыре (иногда пять) папилл, как и у *E. riparia*. Второго ряда образован папиллами той же формы, что и предыдущие, а папиллы, расположенные у личинок *E. riparia* непосредственно над ротовыми крючками, отсутствуют (рис. 7а, в).

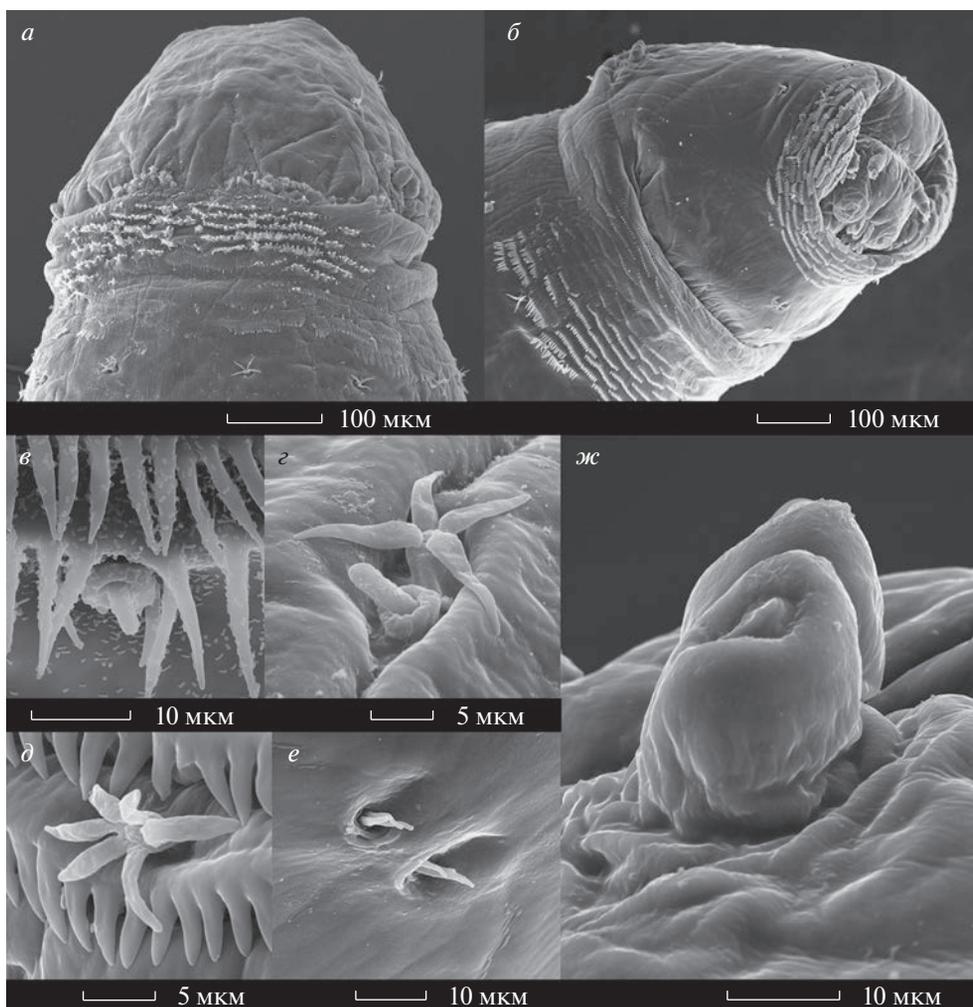
В отличие от *E. riparia* у личинок *P. fumosa* имеется две небольшие, но хорошо заметные сенсорные ямки на каждой доле головы: одна пара расположена дорсомедиально относительно максиллярного органа, а другая – между антеннами (рис. 7г).

Дорсальная поверхность псевдоцефалона *P. fumosa* гладкая и несет лишь несколько шипиков (рис. 8а). На вентральной поверхности (видимой, только если псевдоцефалон вытянут из грудных сегментов) так же, как и у *E. riparia*, имеются два участка крошечных уплощенных гребенчатых, направленных вперед шипиков, расположенных позади рта (рис. 7а).

**Грудные сегменты** безногие, несут многочисленные поперечные ряды мелких, направленных назад шипиков в передней части сегмента на брюшной стороне и по бокам, остальная часть сегментов гладкая (рис. 6, 8а, б). Многочисленные лучевидные сенсиллы и редкие кольшкообразные, они же розеткообразные, сенсиллы (peg-like rosette sensilla) встречаются преимущественно в передней части грудных сегментов; большинство сенсилл расположены в кутикулярных ямках (в отличие от личинок *E. riparia*, у которых лучевидные сенсиллы обычно располагаются не в ямках, а на плоской поверхности кутикулы) (рис. 8в–д). Также хорошо заметна пара трехлучевых сенсилл, расположенных в двух глубоких ямках на брюшной стороне первого грудного сегмента T1 (вероятнее всего, это органы Кейлина) (рис. 8е).

Первый грудной сегмент несет пару передних дыхалец в виде сдвоенных бугорков с углублением на вершине каждого из них (рис. 8а, б, ж). Их вид сильно отличается от пальцевидных дыхалец личинок *E. riparia* (рис. 3г, д).

**Брюшные сегменты** безногие, довольно равномерно покрытые шипиками, с вентральными ползательными валиками (creeping welts) на гра-



**Рис. 8.** Личинка 3-го возраста мухи *P. fumosa*. *a* – псевдоцефалон и первый грудной сегмент сверху. *б* – вентролатеральная проекция частично втянутого псевдоцефалона и двух грудных сегментов T1–T2. Видны передние дыхальца (в заднебоковой части T1), пара близко расположенных сенсилл (вероятно, органы Кейлина) на брюшной стороне T1 (около средней линии), поперечные ряды мелких, направленных назад шипиков в передней части грудных сегментов на брюшной стороне. *в–д* – лучевидные сенсиллы и колышкообразные (розеткообразные) сенсиллы. *е* – увеличенный вид органов Кейлина на вентральной стороне T1. *ж* – увеличенный вид передних дыхалец в виде двоянных бугорков с углублением на вершине каждого выступа.

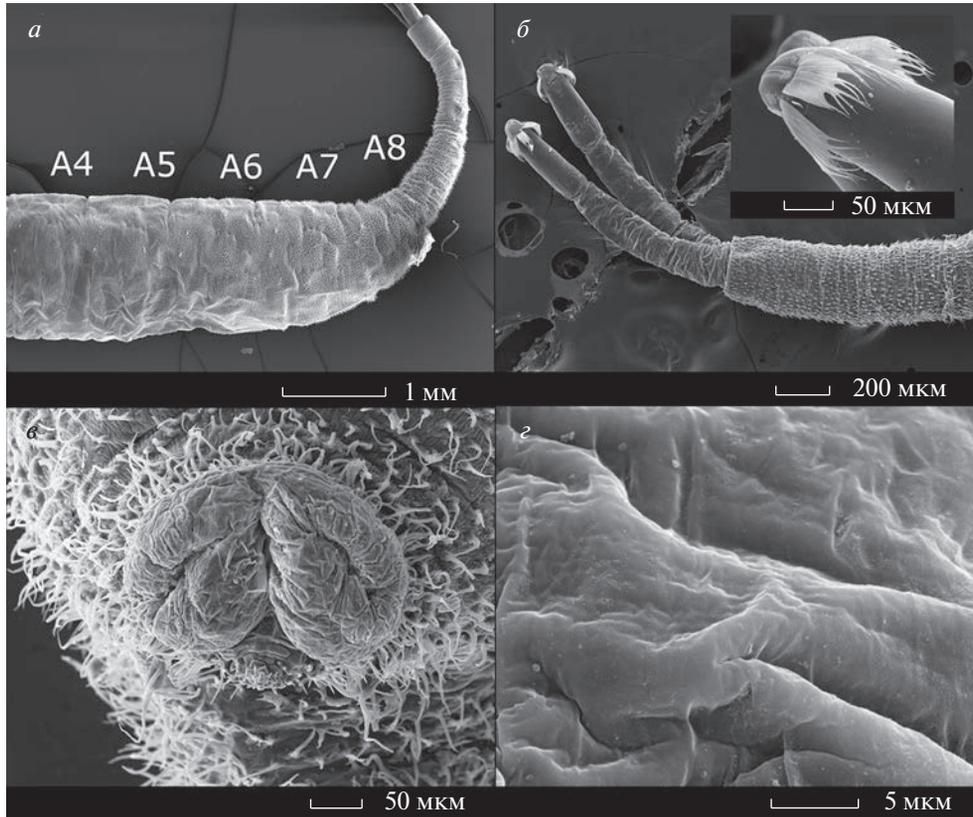
ницах сегментов (рис. 6, 9*a*). На последнем брюшном сегменте дорсально расположена втягивающаяся разветвленная дыхательная трубка (сифон), более длинная, чем у *E. riparia*, но в остальном схожая с ней по строению (включая строение дыхальцевой пластинки и ветвящихся пластинок, служащих для удержания кончика дыхальца на поверхности воды) (рис. 9*a, б*).

Анальное отверстие находится на вентральной стороне последнего брюшного сегмента A8, у основания сифона (рис. 6, 9*a*). Два полукруглых АО вместе образуют приподнятую, выступающую сердцевидную структуру, окружающую задний проход. Их кутикула сильно сморщена и не имеет видимых наноямок на поверхности. Проницае-

мость кутикулы АО подтверждена окрашиванием серебром.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Личинки многих видов короткоусых двукрылых (Brachycera) развиваются в средах с повышенной соленостью. Например, личинки семейств Coelopidae, Heterocheilidae, Helcomyzidae, личинки рода *Fucellia* (сем. Anthomyiidae) и рода *Orygma* (сем. Sepsidae), представленного единственным видом *Orygma luctuosum*, развиваются в выброшенных на берег водорослях в прибрежной зоне морей и океанов (Aldrich, 1918; Dobson, 1976; McAlpine, 1991). Высокую степень адаптации к повышенной солености демонстрируют многие

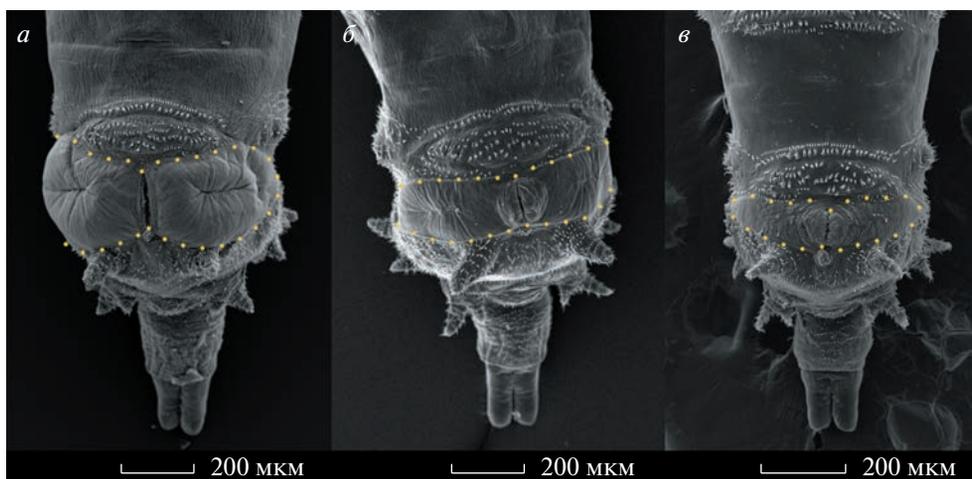


**Рис. 9.** Личинка 3-го возраста мухи *P. fumosa*. *a* – вид сбоку брюшных сегментов A4–A8; видна постепенно нарастающая плотность шипиков от переднего к заднему концу тела личинки и слегка выступающая вентрально анальная область у основания сифона. *б* – выдвижной сифон с шипиками и несколькими лучевидными сенсиллами (на вставке кончик сифона с дыхальцевой пластинкой со щелями и разветвленные пластинки для удерживания на поверхности воды). *в* – АО сердцевидной формы с постанальным шиповидным бугорком. *г* – увеличенный вид сморщенной кутикулы АО; наноямки не видны.

виды мух рода *Lispe* (сем. Muscidae, группа *L. caesia*, группа *L. rigida* и некоторые другие) (Vikhrev, 2020) и мух-береговушек (сем. Ephydridae). Личинки обозначенных мусцид приурочены к водным местообитаниям и развиваются в мокром песке или иле с высоким содержанием органического вещества, считаются галофильными или эвригалинными (Skidmore, 1985; Zinchenko et al., 2017; Vikhrev, 2021). Некоторые виды рода *Ephydra* являются, по-видимому, одними из самыми солелюбивых и солетолерантных среди насекомых, развивающихся в воде. Личинки этих видов питаются цианобактериями и одноклеточными водорослями (также могут поедать дрожжевые клетки) на дне соленых континентальных водоемов, порой настолько соленых и (или) щелочных, что эти личинки оказываются единственными Metazoa, способными там жить (иногда в компании с солелюбивыми ракообразными *Artemia*). Например, в Большом Соленом озере (США, Юта), в озере Моно (США, Калифорния) и в других очень соленых озерах на западе США в огромном

количестве развиваются личинки *E. gracilis* и *E. hians*.

Адаптации к высокой солености у эфидрид изучались начиная с первой половины XX в., однако прогресс в этой области был очень медленным. Так, Байер (Beyer, 1939) показал, используя данные по популяциям шести видов рода *Ephydra* из водоемов с соленостью от 6–9‰ до насыщенного солевого раствора, что относительная длина дыхательной трубки (сифона) у личинок и куколок *Ephydra* связана с соленостью положительной зависимостью: чем соленее вода, тем длиннее сифон. Это предположительно связано с тем, что у экстремально галофильных личинок растет роль кожного дыхания, а поверхность сифона, вероятно, работает как трахейная жабра (Aldrich, 1912; Beyer, 1939). Байер выяснил, что длина сифона подтверждена фенотипической пластичности, подтвердив это в опытах. Он переносил яйца *E. riparia* в воду разной солености и измерял длину сифона у личинок и куколок, показав, что в более соленой воде развиваются личинки и куколки с более длинным сифоном. Кожное дыхание требу-



**Рис. 10.** Уменьшение АО личинок *D. melanogaster* по мере роста солёности/осмолярности среды. Вентральный вид восьмого брюшного сегмента личинок, *a* – выросших на корме с пониженной осмолярностью на основе крахмала, *б* – на стандартном корме, где вместо крахмала содержится сахар, манная крупа и измельченный изюм, *в* – на стандартном корме с добавлением 7% NaCl. Желтыми точками обозначены контуры АО.

ет увеличения поверхности тела путем образования складок и выростов (Beyer, 1939).

Помимо специализированных обитателей соленых субстратов, таких как упомянутые виды эфидрид, среди двукрылых есть виды, которые не живут в соленых субстратах в природе, но способны быстро адаптироваться к ним в условиях лабораторного эксперимента. Широко известны эксперименты по развитию адаптаций к соленой среде у *Drosophila melanogaster*. Адаптация этого вида к соленому корму оказалась удобной экспериментальной моделью. Концентрация соли, превышающая 4%, может быть фатальной для личинок и взрослых особей *D. melanogaster* (Te Velde et al., 1988; Stergiopoulos et al., 2009). Однако лабораторные линии дрозофил способны адаптироваться к концентрациям NaCl до 6–8% в течение нескольких десятков поколений (Waddington, 1959; Te Velde et al., 1988; Arbuthnott, Rundle, 2014; Markov et al., 2015; Dmitrieva et al., 2017, 2019; Горшкова и др., 2018).

Адаптация плодовых мушек к соленому субстрату сопровождается характерным изменением морфологии: у личинок, выращенных на соленом корме, резко уменьшаются размеры анальных органов (АО). Напротив, у личинок, выращенных на пище с низкой осмолярностью, АО становятся больше (по сравнению с личинками, выращенными на стандартном лабораторном корме) (Te Velde et al., 1988).

Анальные органы у дрозофил и некоторых других круглошовных мух (*Cyrtophaga*) называют по-разному: анальными папиллами, анальными подушками, перианальными подушками, анальными пластинками, перианальными пластинками, восстанавливающими серебро органами

или вентральными гиподермальными органами (anal papillae, anal pads, perianal pad, anal plates, perianal plate, silver-reducing organs, ventral hypodermal organs) (Stoffolano, 1970). В отличие от разнообразных длинных выступающих анальных папилл, характерных для многих водных и околоводных личинок Nematocera и некоторых Brachycera (*Syrphidae*) (Кривошеина, 2005), АО дрозофил представляют собой парные органы, имеющие вид уплощенных или слегка выпуклых подушечек, расположенных на последнем сегменте брюшка по обе стороны от анального отверстия.

АО покрыты относительно тонкой, проницаемой кутикулой, под которой находится слой крупных клеток сложного строения с политенными хромосомами. Их называют хлорными клетками, так как в них нередко бывает повышена концентрация ионов  $Cl^-$ . Функция АО связана с ионным обменом. Считается, что они служат для активной транспортировки некоторых ионов, например кальция, из окружающей среды в тело личинки, но не для выведения избыточных ионов в обратном направлении (этот транспорт обеспечивается в первую очередь мальпигиевыми сосудами) (Jarial, 1987). Поэтому представляется логичным, что АО личинок дрозофил увеличиваются при дефиците ионов в окружающей среде и уменьшаются при их избытке; это может быть примером адаптивной фенотипической пластичности (адаптивной модификации) (рис. 10).

Изучение АО у личинок трех видов сем. Muscidae также показало, что к среде с высокой осмолярностью приурочены личинки с меньшими по размеру АО, тогда как в среде с низкой осмолярностью живут личинки с крупными АО (Stoffolano, 1970).

Исходя из этого, логично предположить, что адаптация эфидрид к средам с различной соленостью могла отразиться на строении их АО. Однако имеющиеся в литературе сведения об АО у личинок эфидрид крайне скудны. Отчасти это может быть связано с тем, что АО у личинок короткокрылых (*Brachycera*) часто незаметны из-за того, что бесцветны и прозрачны, их трудно отличить от окружающей кутикулы, особенно под световым микроскопом.

Классическим методом идентификации АО является окрашивание нитратом серебра (Gloor, Chen, 1950; Jarial, 1987; Te Velde et al., 1988; Durham, Grodowitz, 2012). Личинку помещают в слабый раствор  $\text{AgNO}_3$ , после чего освещают ультрафиолетом. Это приводит к окрашиванию АО (но не других частей личинки) в чернильный или темно-чернильный цвет, поскольку ионы серебра проходят через проницаемую кутикулу АО и связываются с хлором, а затем под действием ультрафиолета в толще кутикулы и подстилающем эпителии образуются частицы атомарного серебра, которые и обеспечивают чернильную окраску (Jarial, 1987).

Насколько нам известно, пока единственным видом эфидрид, у личинок которого присутствие АО было подтверждено окрашиванием, является *Hydrellia pakistanae*. У пресноводных личинок этого вида описаны небольшие по размеру, но четко выраженные АО с характерной сильно сморщенной поверхностью и очень мелкими ( $D \approx 100$  нм) ямками на поверхности кутикулы (Deonier, 1971; Durham, Grodowitz, 2012).

Напротив, имеющиеся в литературе описания как экстремально галофильных видов (*E. hians*, *E. gracilis*), так и умеренно галофильных (*E. riparia*, *P. fumosa*) либо вообще не содержат упоминаний АО (создавая впечатление, что эти органы у солелюбивых эфидрид отсутствуют), либо упоминают перианальные подушки (perianal pads) различной формы и размера, функциональная общность и гомология которых с АО других двукрылых остается непроясненной. В настоящей работе мы впервые показали окрашиванием и с помощью СЭМ наличие АО у личинок обоих изучаемых видов, *E. riparia* и *P. fumosa*.

Ниже мы сравним детали морфологии личинок двух рассмотренных видов эфидрид с литературными данными по близким видам (по которым есть соответствующие опубликованные данные) и обсудим их в контексте адаптации к различной солености.

#### Сравнение *E. riparia* и *E. hians*

Насколько нам известно, единственным видом из рода *Ephydra*, морфология которого была подробно изучена (с помощью СЭМ), является

*E. hians* (Cash-Clark, Bradley, 1994). *E. hians* – гипергалофильный вид из сильносоленых и щелочных озер западной части Северной Америки. Многие морфологические детали личинок 3-го возраста *E. riparia* и *E. hians* сходны, в том числе:

1. Двухчлениковые антенны.
  2. Максиллярные (= терминальные) органы чувств с двумя отдельными группами сенсилл. Эти группы включают дорсолатеральную группу из двух сложных сенсилл и вентромедиальную группу из трех сложных и двух простых сенсилл.
  3. Гребенчатые цирры (mouth brushes), расположенные дорсально и дорсолатерально относительно рта; форма и расположение этих структур практически идентичны у *E. riparia* и *E. hians*.
  4. Ложные ножки с пучками длинных когтеобразных шипов; эти шипы изгибаются назад, за исключением шипов на самой большой паре ложных ножек, расположенных на последнем брюшном сегменте, которые изгибаются вперед. Противопоставленные ложные ножки с шипами на последнем и предпоследнем брюшных сегментах помогают личинке захватывать стебель травы при окукливании.
  5. Небольшой шиповидный бугорок неизменно располагается позади анального отверстия у эфидрид, как и у дрозофил.
  6. Внешнее строение сифона и дыхальцевой пластинки сходно у *E. hians* и *E. riparia*, однако, вероятно, имеется различие в количестве дыхальцевых щелей. На фотографиях дыхальцевой пластинки *E. hians* со сканирующего электронного микроскопа в статье Кэш-Кларка и Брэдли (Cash-Clark, Bradley, 1994) видны три щели, тогда как у *E. riparia* мы наблюдали четыре щели (рис. 4e).
  7. Узор на спинной стороне, образованный расположенными особым образом пигментированными и уплощенными чешуйками (рис. 4a, б), сходен у *E. hians* и *E. riparia*.
  8. Кэш-Кларк и Брэдли (Cash-Clark, Bradley, 1994) сообщают в своей статье о многочисленных лучеобразных сенсиллах (branched setae), распределенных по телу у *E. hians* так же, как и у *E. riparia*. Ни у одного из видов *Ephydra* не было обнаружено кольшкообразных (розеткообразных, peg-like) сенсилл, подобных тем, которые описаны у личинок мух рода *Paracoenia*.
- Между личинками мух-береговушек *E. hians* и *E. riparia* есть несколько заметных отличий:
1. У *E. hians* пучки щетинок в задней и вентральной области головы имеют широкое основание, увенчанное несколькими заостренными выступами (Cash-Clark, Bradley, 1994), тогда как у *E. riparia* эти щетинки расположены вентролатерально относительно ротового отверстия и имеют обычную когтевидную форму с одним изогнутым заостренным выступом (рис. 3a).

2. Передние дыхальца с 4–5 пальцевидными выростами у *E. hians* и с 3–4 – у *E. riparia*.

3. Кончики ротовых крючков тупые и округлые у *E. hians*, зубчатые у *E. riparia*. Это может быть связано с различиями в механизмах сбора пищи и диете, хотя достоверно природа этих различий в настоящее время неизвестна.

4. У *E. hians* анальное отверстие полностью окружено толстой перианальной подушкой. Эта подушка почти круглая, не двулопастная и не разделена на две половины анальной щелью. Ее кутикула выглядит жесткой и сильно морщинистой согласно опубликованным фотографиям и описанию, о наличии наноямок не сообщается (Cash-Clark, Bradley, 1994). У *E. riparia* слева и справа от ануса имеется пара поперечно-вытянутых полуовальных АО. Кутикула АО проницаема для ионов (что подтверждается окрашиванием серебром) и имеет многочисленные крошечные ямки диаметром около 100 нм.

#### Сравнение *P. fumosa* и *P. bisetosa*

Личинки только одного вида *Paracoenia*, *P. bisetosa*, были ранее описаны с помощью СЭМ. Это неарктический вид, обитающий в разнообразных средах, включая горячие и холодные минеральные источники, а также водоемы от пресноводных до умеренно щелочных и соленых (Zack, 1983).

Личинки 3-го возраста видов *P. fumosa* и *P. bisetosa* очень похожи, особенно с головного конца. У обоих видов трехсегментные антенны и одинаково устроенные максиллярные (терминальные) сенсорные органы (состоящие из 7 сенсилл, разделенных ободками на две группы, 2 + 5). Число рядов гребневидных цирр также одинаково. Тело личинок обоих видов обильно усеяно разнообразными сенсиллами. Остановимся более подробно на отдельных небольших морфологических различиях личинок двух данных видов:

1. Личинки 3-го возраста вида *P. bisetosa* примерно в 1.5 раза крупнее личинок *P. fumosa*: 14.50–18.71 мм против 9.63–12.50 мм. Дыхательная трубка в вытянутом состоянии у *P. bisetosa* составляет примерно половину длины тела, тогда как у *P. fumosa* – от 30 до 37%.

2. Размер и густота шипиков у личинок обоих видов нарастает от головы к концу брюшка, однако если у *P. bisetosa* уже второй брюшной сегмент полностью покрыт шипиками, то у *P. fumosa* такими становятся сегменты только начиная с пятого–шестого брюшного.

3. По бокам тела на дистальном конце первого грудного сегмента у личинок находятся передние дыхальца. У обоих видов они раздвоены, но у *P. bisetosa* они имеют скорее пальцевидную фор-

му, как у *E. riparia*, а у *P. fumosa* дыхальца напоминают невысокие вздутые бугорки (рис. 8ж).

4. У *P. fumosa* АО компактные, округлые, вместе образующие выпуклую площадку сердцевидной формы, с сильно сморщенной поверхностью, без наноямок на кутикуле. Для *P. bisetosa* нет опубликованных фотографий АО со сканирующего электронного микроскопа, есть лишь словесное описание: “Перианальная подушка двулопастная, полукруглая, гладкая, разделенная посередине анальной щелью, позади которой располагается бугорок с шипиками” (“Perianal pad bilobed, subcircular, glabrous, furrowed by median anal slit, with spinule patch posteromedially”; Zack, 1983, p. 496). В первом приближении оно подходит также и к АО *P. fumosa*, особенно если учесть, что сморщенность поверхности АО становится заметна лишь при большом увеличении. Есть ли наноямки у *P. bisetosa*, также непонятно. Иными словами, мы можем сказать лишь то, что АО двух сравниваемых видов похожи по форме, но их более тонкое строение может различаться.

#### Сравнение *E. riparia* и *P. fumosa* с *Coenia curvicauda*

Роды *Ephydra* и *Paracoenia* относятся к трибе Ephydrini Zetterstedt, к этой же трибе относится род *Coenia*. Личинки вида *Coenia curvicauda* были описаны с использованием СЭМ. Этот голарктический вид обычно встречается в заболоченных местах со скоплениями разлагающейся органики (Foote, 1990). Сравним морфологию личинок данного вида с личинками, описанными выше:

1. Личинки 3-го возраста *C. curvicauda* заметно меньше по размеру (7.6 мм), чем личинки *P. fumosa* (11.19 мм) и *E. riparia* (11.14 мм).

2. Личинки *C. curvicauda* имеют типичную для личинок эфидрид веретенообразную форму, при этом они безногие, как и личинки *P. fumosa*. Тот факт, что у личинок *Ephydra* есть ложные ножки, а у *Paracoenia*, *Coenia* и *Drosophila* – только ползательные валики, связан с особенностями образа жизни. Личинки *Ephydra* – представители эпифауны, активно передвигающиеся по дну водоемов, а все прочие перечисленные – менее подвижные представители инфауны, живущие погруженными в мягкий, рыхлый субстрат – богатый органикой ил, скопление цианобактерий или нитчатых водорослей и т.п. (*Coenia*, *Paracoenia*), либо это животные, обитающие в высокопитательном полужидком субстрате и передвигающиеся лишь в предделах, например, гниющего плода (*Drosophila*). Возможно, в связи с тем, что личинки *P. fumosa* погружены в субстрат, а личинки *E. riparia* проводят часть времени на его поверхности, у первых есть дополнительные сенсорные органы – две па-

ры ямок между антеннами и максиллярными органами (рис. 7г).

3. Тело личинок *C. curvicauda* покрыто слегка пигментированными шипиками одинаковой формы, которые не образуют рисунка на спинной стороне, что снова сближает их с *P. fumosa* и отличается от *E. riparia*. Однако кольца из пигментированных шипиков *C. curvicauda* представлены уже на грудных сегментах, а начиная с брюшных сегментов уже вся площадь сегментов покрыта шипиками, тогда как пигментированные шипики у *P. fumosa* отчетливо заметны только на задней трети тела, и только с пятого – шестого брюшных сегментов покрытие шипиками сплошное.

4. На грудных и брюшных сегментах *C. curvicauda* можно обнаружить сенсиллы двух типов – лучистые (rayed) и колышкообразные (или розеткообразные, rosette/peg-like) – как у *P. fumosa* (рис. 8в–д). У личинок *E. riparia* мы обнаруживаем только лучистые сенсиллы и не находим колышкообразных (рис. 3в).

5. Головной сегмент личинок *C. curvicauda* двухчастный, как у личинок *P. fumosa*. Лицевая часть личинок *E. riparia*, напротив, цельная.

6. Антенны *C. curvicauda* двухсегментные, как у *E. riparia*.

7. Цирры *C. curvicauda*, скорее, напоминают таковые личинок *P. fumosa*, так как над ротовым отверстием располагается два ряда цирр, а не три, как у *E. riparia*. Согласно изображениям в статье Фута (Foote, 1990), цирры личинок *C. curvicauda* характеризуются длинной и пушистой гребенкой на дистальном конце.

8. Дистальный край челюстей *C. curvicauda* гребневидный, как у личинок *E. riparia*, а не гладкий, без зазубрин, как у личинок *P. fumosa*. Сходство ротовых частей может отражать сходные механизмы сбора пищи и сходные диеты, состоящие в основном из одноклеточных водорослей (например, диатомовых) и цианобактерий.

9. Передние дыхальца личинок *C. curvicauda* с 4–6 пальцевидными выростами. Их форма напоминает дыхальца *E. riparia*, хотя, по-видимому, отростков у них больше, чем у *E. riparia*. Напомним, что передние дыхальца личинок *P. fumosa* выглядят как два вздутых бугорка, т.е. значительно отличаются от дыхалец с пальцевидными отростками.

10. Дыхательная трубка на заднем конце тела личинок *C. curvicauda* имеет существенное отличие от дыхательной трубки личинок *E. riparia* и *P. fumosa*: примерно на середине ее длины имеется два мясистых выступа.

11. У *C. curvicauda* АО гладкие, поперечно вытянутые (т.е. похожие по общим очертаниям на АО дрозифил), ограниченные на дистальных концах особыми шипастыми бугорками (spinulose tu-

bercles). У *P. fumosa*, напротив, АО компактные, округлые, вместе образующие выпуклую площадку сердцевидной формы, с сильно сморщенной поверхностью, но без крошечных ямок на кутикуле (есть ли эти ямки у *Coenia*, непонятно). Анальные органы *E. riparia* серповидной формы, их кутикула сильно сморщена и имеет многочисленные ямки диаметром около 100 нм (рис. 5г, д), которые также обнаружены у *D. melanogaster* и *H. pakistanae*. Несмотря на такие значительные различия АО по форме и текстуре кутикулы, позади них у личинок всех пяти видов располагается бугорок с шипиками.

Таким образом, личинки 3-го возраста *C. curvicauda* менее крупные, чем личинки *E. riparia* и *P. fumosa*, более густо покрыты пигментированными шипиками, безногие, с нехарактерными для двух других видов мясистыми выступами на дыхательной трубке. Большая часть отмеченных нами морфологических особенностей сближает *C. curvicauda* с *P. fumosa* (отсутствие ложных ножек, однородность шипиков, сходство сенсилл, двухлопастная лицевая часть), но есть и важные сходства с личинками *E. riparia* (форма кончиков челюстей и передних дыхалец, двухсегментные антенны).

#### Заключение по АО и по связи морфологических признаков с адаптацией к солёности

У экстремально галофильной *E. hians*, судя по опубликованным фотографиям, выполненным на сканирующем электронном микроскопе, вероятно, нет функциональных АО, а есть только толстая перианальная подушка (thick perianal pad), которая, возможно, не служит для закачивания ионов из окружающей среды или функционирует не так активно, как у менее галофильных видов. У умеренно галофильной мухи *E. riparia* мы видим небольшие по площади, сморщенные, но все же настоящие АО с проницаемой кутикулой, красящиеся серебром, с наноямками, как у дрозифил. У галотолерантных видов *Paracoenia* АО примерно такие же по относительному размеру, тоже сморщенные, но, по-видимому, без наноямок.

У пресноводной *C. curvicauda* АО крупнее, чем у *Ephydra* и *Paracoenia*. У пресноводной *Hydrellia* АО тоже настоящие, подтвержденные окрашиванием серебром, с наноямками, однако они небольшие по площади, сравнимы по этому параметру с *Ephydra* и *Paracoenia*.

У личинок дрозифил по мере роста солёности среды уменьшается площадь АО, их поверхность из гладкой становится сморщенной, наноямки на поверхности кутикулы становятся менее заметны или вовсе исчезают. Это сопровождается дегенеративными изменениями крупных эпителиальных клеток, подстилающих кутикулу АО и служащих для активного транспорта ионов из окружа-

ющей среды в гемолимфу (Jarial, 1987). Такая фенотипическая пластичность, вероятно, является адаптивной, поскольку при высокой окружающей солености как проницаемость кутикулы АО, так и активный транспорт ионов из окружающей среды, скорее всего, становятся менее полезными или даже вредными. Таким образом, кажется естественным, что у экстремально галофильных эфидрид АО либо вовсе отсутствуют, либо развиты слабо, в то время как у умеренно галофильных эфидрид отмечается более выраженное развитие признаков, увеличивающих проницаемость кутикулы АО и клеток, обеспечивающих транспорт ионов через кутикулу. У пресноводных эфидрид все эти признаки или часть их получают наибольшее развитие.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00156, <https://rscf.ru/project/22-24-00156/>.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования на сканирующем электронном микроскопе проводились на оборудовании Центра микроскопии Беломорской биологической станции МГУ, МГУ и Палеонтологического института РАН. Коллектив авторов выражает благодарность Роману Анатолевичу Ракитову и Большакову Федору Васильевичу за помощь в работе на СЭМ, а также Максимовой Ирине Аркадьевне за помощь в сборе полевого материала на Беломорской биологической станции МГУ.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием теплокровных животных в качестве объектов экспериментов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Горшкова А.А., Фетисова Е.С., Яковлева Е.Ю., Наймарк Е.Б., Марков А.В., 2018. Влияние пространственной гетерогенности среды на адаптацию *Drosophila melanogaster* к неблагоприятным кормовым субстратам: результаты эволюционного эксперимента // Журн. общ. биологии. Т. 79. № 1. С. 3–17.
- Кривошеина М.Г., 2005. Строение и роль анальных папилл личинок двукрылых (Diptera) // Зоол. журн. Т. 84. № 2. С. 207–217.
- Aldrich J.M., 1912. The biology of some Western species of the dipterous genus *Ephydra* // J. N. Y. Entomol. Soc. V. 20. № 2. P. 77–99.
- Aldrich J.M., 1918. The kelp-flies of North America (genus *Fucellia*, family Anthomyiidae) // Proc. Calif. Acad. Sci. V. 8. № 5. P. 157–179.
- Apostolopoulou A.A., Rist A., Thum A.S., 2015. Taste processing in *Drosophila* larvae // Front. Integr. Neurosci. V. 9. Art. 50. <https://doi.org/10.3389/fnint.2015.00050>
- Arbuthnott D., Rundle H.D., 2014. Misalignment of natural and sexual selection among divergently adapted *Drosophila melanogaster* populations // Anim. Behav. V. 87. P. 45–51.
- Beyer A., 1939. Morphologische, ökologische and physiologische Studien an den Larven der Fliegen // Kieler Meeresforschungen. Bd. 3. S. 265–320.
- Cash-Clark C.E., Bradley T.J., 1994. External morphology of the larvae of *Ephydra* (*Hydropyrus*) *hians* (Diptera: Ephydriidae) // J. Morphol. V. 219. P. 309–318.
- Courtney G.W., Pape T., Skevington J.H., Sinclair B.J., 2017. Biodiversity of Diptera // Insect Biodiversity: Science and Society / Eds Footitt R.G., Adler P.H. Chichester: John Wiley & Sons. P. 229–278.
- Deonier D.L., 1971. A Systematic and Ecological Study of Nearctic *Hydrellia* (Diptera: Ephydriidae). Washington: Smithsonian Inst. Press. 147 p.
- Dmitrieva A.S., Ivnitisky S.B., Markov A.V., 2017. Adaptation of *Drosophila melanogaster* to unfavourable feed substrate is accompanied by expansion of trophic niche // Biol. Bull. Rev. V. 7. № 5. P. 369–379.
- Dmitrieva A.S., Ivnitisky S.B., Maksimova I.A., Panchenko P.L., Kachalkin A.V., Markov A.V., 2019. Yeasts affect tolerance of *Drosophila melanogaster* to food substrate with high NaCl concentration // PLoS One. V. 14. № 11. Art. e0224811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224811>
- Dobson T., 1976. Seaweed flies (Diptera: Coelopidae, etc.) // Marine Insects / Ed. Cheng L. Oxford: North Holland Publishing Company; N.Y.: Elsevier. P. 447–464.
- Durham B., Grodowitz M.J., 2012. The anal plates of larval *Hydrellia pakistanae* (Diptera: Ephydriidae) // Florida Entomol. V. 95. № 1. P. 82–88.
- Foote B.A., 1990. Biology and immature stages of *Coenia curvicauda* (Diptera: Ephydriidae) // J. N. Y. Entomol. Soc. V. 98. № 1. P. 93–102.
- Gloor H., Chen P.S., 1950. Über ein Analorgan bei *Drosophila*-larven // Rev. Suisse Zool. V. 57. P. 571–576.
- Herbst D.B., 1988. Comparative population ecology of *Ephydra hians* Say (Diptera: Ephydriidae) at Mono Lake (California) and Abert Lake (Oregon) // Hydrobiologia. V. 158. P. 145–166.
- Jarial M.S., 1987. Ultrastructure of the anal organ of *Drosophila* larva with reference to ion transport // Tissue Cell. V. 19. № 4. P. 559–575.
- Kadavy D.R., Plantz B., Shaw C.A., Myatt J., Kokjohn T.A., Nickerson K.W., 1999. Microbiology of the oil fly, *Helaeomyia petrolei* // Appl. Environ. Microbiol. V. 65. № 4. P. 1477–1482. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.4.1477-1482.1999>
- Krivosheina M.G., 2003. To the biology of flies of the genus *Ephydra* Fallén, 1810, with the description of larvae of seven *Palaeartic* species (Diptera: Ephydriidae) // Russ. Entomol. V. 12. № 1. P. 79–86.
- Markov A.V., Ivnitisky S.B., Kornilova M.B., Naimark E.B., Shirokova N.G., Perfilieva K.S., 2015. Maternal effect masks the adaptation to adverse conditions and hampers divergence in *Drosophila melanogaster* // Biol.

- Bull. Rev. V. 6. P. 429–435.  
<https://doi.org/10.1134/s2079086416050054>
- Mathis W.N., Zarnowski T., 1995. World Catalog of Shore Flies (Diptera: Ephydriidae) // Memoires of Entomology, International. V. 4. P. 1–423.
- McAlpine D.K., 1991. Relationships of the genus *Heterocheila* (Diptera: Sciomyzoidea) with description of a new family // Tijdschr. Entomol. V. 134. P. 193–199.
- Pape T., Blagoderov V., Mostovski M.B., 2011. Order Diptera Linnaeus, 1758 // Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (Zootaxa 3148) / Ed. Zhang Z.-Q. Auckland: Magnolia Press. P. 222–229.
- Schneeberg K., Bauernfeind R., Pohl H., 2017. Comparison of cleaning methods for delicate insect specimens for scanning electron microscopy // Microsc. Res. Tech. V. 80. № 11. P. 1199–1204.  
<https://doi.org/10.1002/jemt.22917>
- Skidmore P., 1985. The Biology of the Muscidae of the World. Dordrecht: Springer. 550 p.
- Stergiopoulos K., Cabrero P., Davies S.A., Dow J.A., 2009. Salty dog, an SLC5 symporter, modulates *Drosophila* response to salt stress // Physiol. Genomics. V. 37. № 1. P. 1–11.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.90360.2008>
- Stoffolano J.G., 1970. The anal organ of larvae of *Musca autumnalis*, *M. domestica*, and *Orthellia caesarion* (Diptera, Muscidae) // Ann. Entomol. Soc. Am. V. 63. P. 1647–1654.
- Te Velde J.H., Molthoff C.F.M., Scharloo W., 1988. The function of anal papillae in salt adaptation of *Drosophila melanogaster* larvae // J. Evol. Biol. V. 2. P. 139–153.
- Thorpe W.H., 1930. The biology of the petroleum fly (*Psilopa petrolii*, COQ) // Trans. R. Entomol. Soc. Lond. V. 78. № 2. P. 331–344.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1930.tb00391.x>
- Vikhrev N.E., 2020. *Lispe* (Diptera, Muscidae) of the Palearctic region // Amurian Zool. J. V. 13. № 2. P. 158–188.  
<https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2020-12-2-158-188>
- Vikhrev N.E., 2021. *Lispe* (Diptera, Muscidae) of Africa // Amurian Zool. J. V. 13. № 3. P. 369–400.  
<https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2021-13-3-369-400>
- Waddington C.H., 1959. Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters // Nature. V. 183. P. 1654–1655.
- Wigglesworth V.B., 1933. The effect of salts on the anal gills of the mosquito larva // J. Exp. Biol. V. 10. № 1. P. 1–15.
- Wipfler B., Schneeberg K., Löffler A., Hünefeld F., Meier R., Beutel R.G., 2013. The skeletomuscular system of the larva of *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae, Diptera) – A contribution to the morphology of a model organism // Arthropod Struct. Dev. V. 42. № 1. P. 47–68.  
<https://doi.org/10.1016/j.asd.2012.09.005>
- Zack R.S., 1983. Biology and immature stages of *Paracoenia bisetosa* (Coquillett) (Diptera: Ephydriidae) // Ann. Entomol. Soc. Am. V. 76. № 3. P. 487–497.  
<https://doi.org/10.1093/aesa/76.3.487>
- Zinchenko T.D., Golovatyuk L.V., Abrosimova E.V., Popchenko T.V., 2017. Macrozoobenthos in saline rivers in the Lake Elton basin: Spatial and temporal dynamics // Inland Water Biol. V. 10. № 4. P. 384–398.  
<https://doi.org/10.1134/S1995082917040125>

## Larva morphology of shore flies *Ephydra riparia* and *Paracoenia fumosa* (Diptera: Ephydriidae) and adaptation of Diptera to increased salinity

E. Yu. Yakovleva<sup>1</sup>\*, E. B. Naimark<sup>2</sup>, D. D. Sivunova<sup>1</sup>, M. G. Krivosheina<sup>3</sup>, A. V. Markov<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University  
 Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119991 Russia

<sup>2</sup>Borisovskiy Paleontological Institute, RAS  
 Profsoyuznaya st., 123, Moscow, 117997 Russia

<sup>3</sup>Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS  
 Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia

\*e-mail: e.u.yakovleva@gmail.com

Larvae of many shore fly species (family Ephydriidae) are adapted to living in water with high or extremely high salinity. Little is known about the morphological and physiological foundations of such adaptation. We described the details of the morphology of third-instar larvae of two shore flies: *Ephydra riparia* and *Paracoenia fumosa* and presented the scanning electron microscopy (SEM) images. For the first time, by silver-staining and SEM, we proved that the larvae of both studied species had anal organs (AO) – specialized structures that serve an osmoregulatory function and are responsible for the transport of ions from the environment to the larval hemolymph (but not in the opposite direction). We compared the larvae morphology of the studied species with some other shore fly species from the genera *Ephydra*, *Paracoenia*, *Hydrellia*, and *Coenia*, as well as with larvae of the model species *Drosophila melanogaster* (family Drosophilidae). Special attention was paid to the morphology of AO, which contribute to the adaptation of larvae to increased salinity. Extremely halophilic species either do not have AO, or they are poorly developed, while moderately halophilic shore flies have more developed features connected with the permeability of the AO cuticle and active ion transport. These features are most developed in freshwater shore flies. AO activity can vary due to the shape and area of the AO, the smoothness or wrinkling of the cuticle, and the presence of nanoscale pits on it. Described variability of AO structure is probably adaptive since, at high salinity, both the permeability of the AO cuticle and the active transport of ions from the environment to the hemolymph become less beneficial or even harmful.

УДК 597.585.591.471.36

## ФЕНОМЕН МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА

© 2023 г. С. М. Русяев<sup>1</sup>, А. М. Орлов<sup>2, 3, 4, 5, 6, \*</sup>

<sup>1</sup>Магаданский филиал Всероссийского научно-исследовательского института  
рыбного хозяйства и океанографии – МагаданНИРО  
ул. Портовая, 36/10, Магадан, 685000 Россия

<sup>2</sup>Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН  
Нахимовский просп., 36, Москва, 117218 Россия

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН  
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

<sup>4</sup>Прикаспийский институт биологических ресурсов ДФИЦ РАН  
ул. М. Гаджиева, 45, Махачкала, 367000 Россия

<sup>5</sup>Дагестанский государственный университет  
ул. М. Гаджиева, 43-а, Махачкала, 367000 Россия

<sup>6</sup>Томский государственный университет  
просп. Ленина, 36, Томск, 634050 Россия

\*E-mail: orlov@vniro.ru

Поступила в редакцию 01.09.2022 г.

После доработки 29.12.2022 г.

Принята к публикации 18.05.2023 г.

Биопроспектинг (биоразведка или биопоиск), оформившееся с конца 90-х годов прошлого столетия направление исследований, стремительно развивается. В последние десятилетия число научных публикаций по этой теме возросло многократно. Морской биопроспектинг, как часть общего направления, характеризуется крайне широким спектром исследований, большая часть которых все еще находится в фазе накопления информации о генетическом и биохимическом разнообразии биологического материала. С целью оценки потенциала данного направления выполнен обзор результатов проведенных в мире исследований. В его рамках осуществлена периодизация направления, показан масштаб, основные факторы, проблемы и экономический фундамент развития биопроспектинга. Осуществлен анализ и классификация методологических концепций. Выявлена роль информации и рассмотрены последствия развития биопроспектинга. Существенное отставание российской науки в морском биопроспектинге требует принятия серьезных шагов в развитии этого важного и перспективного направления: создания соответствующей инфраструктуры и новых форм организации исследований, консолидации научного сообщества, включения в процесс бизнеса и государственных структур.

DOI: 10.31857/S0044459623030065, EDN: BKLSOB

Биопроспектинг или биоразведка – исследование окружающей среды в поисках биологических источников активных химических соединений и молекул, которые могут быть использованы в медицине (Carpello, Nieri, 2021; Naque et al., 2022), пищевой промышленности (Draaisma et al., 2013), энергетике (Khan et al., 2018) и других отраслях.

С точки зрения смысловой категории биопроспектинг, очевидно, является инструментом научного поиска (пока еще не отдельным направлением науки). В некоторой степени имеется сходство между биопроспектингом и понятием “эвристика” (от др.-греч. εὐρίσκω – “отыскиваю”, “открываю”) – научной областью, изучающей специфичную созидательную деятельность.

В историческом контексте очевидна эволюционная связь биопроспектинга с поиском полезных свойств живых объектов природы. В наше время связь альтернативной медицины с принципами современного биопроспектинга весьма наглядна (Cooper, 2005). Впечатляющим примером исторической связи знаний наземного биоиска может служить история розового барвинка *Catharanthus roseus*, использовавшегося еще в древней народной медицине. Открытие алкалоидов барвинка, помогающих бороться с рядом тяжелых заболеваний, вызвали по истине волну в исследовании биологического разнообразия и поиска полезных свойств в природе (Кудрявцева, Телегина, 2020).

Однако сегодня наибольший интерес исследователей привлекает морской биопроспектинг. И хотя морские виды по самым общим оценкам составляют только 16% живущих на планете, их видовое разнообразие не подлежит сомнению: 39% эндемичных видов на земле приходится на Мировой океан (Costello, Chaudhary, 2017). Слабо изученные морские экосистемы рассматриваются как колоссальный источник лекарственных молекул с более высокой, чем на суше, степенью химического разнообразия (Blunt et al., 2015).

Показательным примером разделения биопроспектинга на наземный и морской является использующийся в зарубежной научной литературе термин “морская фармакогнозия” (Martin, Padilla, 1973). Фармакогнозия – наука, изучающая лекарственные свойства веществ из растительного сырья. В отечественной научной литературе морской поиск полезных биологических ресурсов нашел отражение в книге “Морская фармация: Теория и практика нового направления в фармацевтической науке” (Ажгихин и др., 1982).

Ценность и самодостаточность морского биопроспектинга в ранний период его развития хорошо характеризуют две крупные работы по этой теме. Одна из ранних работ, сподвигших к зарождению биопроспектинга, имела весьма точное и символическое название: “*Drugs from the sea – fact or fantasy?*” (“Лекарства из моря – факт или фантазия?”) (Grant, Mackie, 1977). Спустя десятилетие, продолжая историю морского биопроспектинга, Райт (Wright, 1987) названием своей работы усилил актуальность этого направления: “*Drugs from the sea – a sunken treasure?*” (“Лекарства из моря – затонувшие сокровища?”). Такая семантическая эволюция от фантазии до понимания ценности биологических молекул из океана как бы подчеркивает потенциал морских ресурсов для разработки полезных лекарств.

Хотя первоначальной целью биопроспектинга являлись поиски новых молекул и свойств живых организмов, последующее развитие привело к расширению спектра его целей. Например, в одной из первых обзорных работ, посвященных биопроспектингу (Mateo et al., 2001), авторы выделяют химический, генный, бионический проспектинг, которые должны быть направлены на поиск структур, процессов и механизмов функционирования биологических систем, многие свойства которых по-прежнему остаются малоизвестными.

Сегодня объектом биоразведки в Мировом океане является вся биота от микробов до морских млекопитающих. Сфера применения результатов исследований по этому направлению расширяется с каждым годом, что порождает огромное количество новых публикаций. Соот-

ветственно, растут потребности в систематизации информации, что выражается в росте числа публикуемых обзоров. По мере развития исследований направленность обзоров морского биопроспектинга меняется, что позволяет в некоторой степени проследить эволюцию данного направления. Если начальные обзоры имели описательно-ознакомительный характер (Artuso, 2002), то позднее все чаще стали появляться обзоры, построенные по объектному принципу, в которых исследование сфокусировано на определенных экологических или крупных таксономических группах морских организмов (Leal et al., 2012a; Pereira, Costa-Lotufu, 2012; Abida et al., 2013).

По мере накопления информации появляются обзоры, подготовленные по географическому принципу, представляющие результаты биоразведки в отдельных районах Мирового океана или проведенные конкретной страной (Bolton et al., 2013; Svenson, 2013). Позднее увидели свет как весьма специализированные обзоры (Amago et al., 2011), так и включающие очень большие и разносторонние сведения (Rotter et al., 2021). Таким образом, обзоры проведенных исследований позволяют оценить скорость развития и информационной эволюции биопроспектинга. При этом в опубликованных статьях, как правило, отсутствует целостная характеристика биопроспектинга как феномена современной науки, занявшего свое место и играющего важную роль в научной и социально-экономической деятельности, а также недостаточно полно осмыслен его исторический контекст.

В предлагаемом обзоре предпринята попытка обобщить предпосылки развития биопроспектинга как неотъемлемой части общего развития современной науки и технологий, оценить его современное состояние, методологической базы и основных направлений исследований. Также представлена оценка эффектов, вызванных биопроспектингом на локальном, государственном и международном уровне, которая может стать базой для прогнозирования социально-экономических явлений.

## ФАКТОРЫ И МАСШТАБ РАЗВИТИЯ МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА

По нашему мнению, первичной причиной, вызвавшей бурное развитие морского биопроспектинга, явилось почти одновременное исчерпание ресурсной базы и технологических идей в фармацевтическом бизнесе. В частности, антибиотики, продуцентами которых являлись почвенные микроорганизмы, постепенно перестали быть эффективными ингибиторами патогенов (Орлова и др., 2015). Также можно отметить, что до 1980-х годов разработка новых препаратов велась путем проб и ошибок, где часто применялась

Таблица 1. Основные факторы и предпосылки развития биопроспектинга

Факторы развития биопроспектинга	Период		
	1928–1971 гг.	1972–2004 гг.	2004 г. – н. в.
Научный мейнстрим	Успехи биосинтеза	Успехи геномики	Успехи биоинженерии
Основной фактор (фармацевтическая отрасль)	Формирование фармацевтической отрасли	Становление и развитие “Big pharma”	Появление компаний новой волны (биоинженерия)
Технологический уклад	4-й: эпоха нефти	5-й: эпоха компьютеров, телекоммуникаций	6-й: нано- и биотехнологии

химическая модификация активных молекул, воздействующих на цель (белок). Такой подход существенно ограничивал прорывы на мировом рынке. Подтверждением этого факта является статистика, приведенная Ньюманом и соавт. (Newman et al., 2003) за 1981–2002 гг., согласно которой препараты, получаемые из морских организмов, были единичны. Однако уже в этот период начинает формироваться представление о ценности морских продуктов для фармацевтики (Ireland et al., 1993). Необходимость ускорения разработки теоретических и практических принципов эксплуатации биологических ресурсов Мирового океана как нового гигантского источника биологически активных и вспомогательных веществ для фармакологии и фармацевтики способствовала проведению 1-й Международной конференции по проблеме использования морских организмов для фармацевтики “Drugs from the Sea” уже в 1977 г.

Во второй половине 90-х годов XX века начала формироваться первая волна биотехнологических препаратов (Scannell et al., 2012). Именно в этот период в ведущих странах мира стала складываться новая инфраструктура инноваций, в которой начальные исследования и первичная разработка биологически активных соединений (в иностранной литературе часто используется изначально техногенный термин “compound”) стали проводиться в научных учреждениях с последующим приобретением удачных решений крупными фармацевтическими компаниями. Такая концепция, получившая название “открытые инновации” (open innovation), открыла ворота новым игрокам, что незамедлительно выразилось во всплеске новых идей и направлений науки, в том числе и морского биопроспектинга.

Однако, по нашему мнению, внутренние причины и проблемы развития фармацевтической индустрии не могли в полной мере обеспечить динамичный старт морского биопроспектинга. Немаловажное значение имело также развитие отдельных дисциплин биологического направления: геномики, биоинформатики. Так, успех геномики – расшифровка генома человека, завершившаяся в 2012 г., – дал начало мощному развитию методов секвенирования и биостатистики – клю-

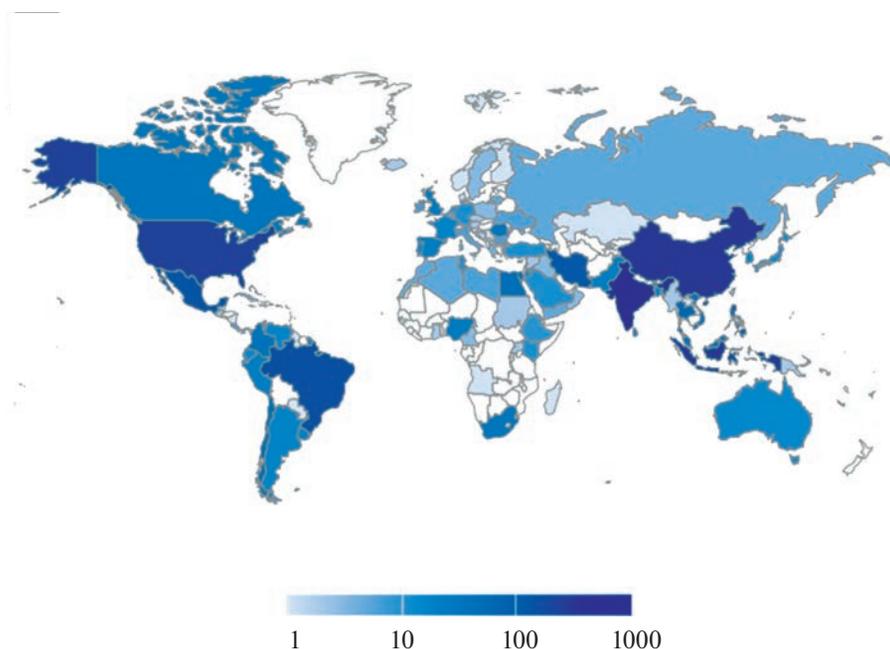
чевых методов, используемых в биопроспектинге. Выделившееся в начале 2000-х годов из геномики новое направление – метагеномика – также сыграло большую роль в развитии биопроспектинга, усилив мощь методологии поиска.

Исходя из формальных правил периодизации – поиска ключевых дат открытий и событий, наиболее оправданным ключевым событием начала первого этапа биоразведки следует считать открытие пенициллина в 1928 г. (Diggins, 1999), а расшифровку гена белка оболочки РНК-вируса-бактериофага MS2 в 1972 г. (Min Jou et al., 1972) – началом второго периода. В области молекулярной биологии развитию биопроспектинга способствовало получение в 1986 г. фермента ДНК-полимеразы из термофильного микроорганизма *Thermus aquaticus*, найденного в гидротермальных источниках (Brock, Freeze, 1969). Таq-полимераза этого организма значительно улучшила метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), который используется в секвенировании ДНК – ключевом процессе лабораторной фазы биопроспектинга (Innis et al., 1988). Началом периода качественного рывка и оформления биопроспектинга как инструмента и отправной точкой третьего этапа следует считать 2003 г., когда метод секвенирования позволил прочитать геном человека (Wenter, 2003). В целом, появление и развитие биопроспектинга как части процесса биоинженерии укладывается в концепцию технологической периодизации (Садовничий и др., 2012), в которой 6-й технологический уклад начал развиваться с 2010 г. (табл. 1).

Таким образом, исследуя явление биопроспектинга, становится очевидным: этот процесс не только пронизан научной идеологией, но и имеет существенное сопряжение с развитием индустрии и глобальными социальными процессами.

Временной период начала бурного развития морского биопроспектинга характеризует и год основания (2003 г.) одного из самых известных журналов, публикующих успехи по данному направлению – “Marine Drugs”.

Анализ публикационной активности по теме биопроспектинга (использование в качестве поискового ключевого слова в аннотации к статье)



**Рис. 1.** Число скачиваний цифровой версии книги “Marine Biotechnology in the Twenty-First Century: Problems, Promise, and Products” (National Research..., 2002) по странам (по данным сайта National Academia Press, <https://nap.nationalacademies.org/catalog/10340/marine-biotechnology-in-the-twenty-first-century-problems-promise-and>; дата обращения: 02.08.2022).

показывает, что в исследования по данной теме вовлечены ученые многих стран, из которых наиболее активными являются США, Китай, Индия, Бразилия, Индонезия, Иран. Интерес ученых различных стран к биопроспектингу может характеризовать показатель числа скачиваний одной из наиболее известных книг по данной теме начала текущего столетия – “Marine Biotechnology in the Twenty-First Century: Problems, Promise, and Products” (National Research..., 2002) (рис. 1).

Сравнение публикационной активности по теме морского биопроспектинга ведущих научных издательств мира в последние два десятилетия показывает взрывной рост работ (табл. 2). При этом важно отметить значительную научную активность таких стран, как Индия и Китай.

Полученные данные о публикационной активности в период с 2000 г. указывают на значительное расширение масштабов морского биопроспектинга, поистине позволяя говорить о феномене этого процесса.

#### ПРОСТРАНСТВО И ОБЪЕКТЫ МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА

Биопроспектинг ведется практически во всех широтных зонах, работы организуются в тех районах, где имеется возможность нахождения уникальных организмов. Наиболее перспективными районами для него можно с уверенностью назвать экваториальный и тропический пояс, моря которых характеризуются колоссальным многообра-

**Таблица 2.** Динамика публикационной активности ведущих мировых издательств в 1998–2021 гг. по теме морского биопроспектинга (для поискового запроса по ключевым словам “marine bioprospecting” на сайтах издательств; дата обращения: 27.08.2022)

Издательская группа (страна)	Тип издания	Число изданий с упоминанием термина	
		2000–2010 гг.	2011–2021 гг.
Springer Nature (Германия)	Книги	6	80
Elsevier Science (Нидерланды)	Книги и статьи	329	645
Wiley (США)	Книги и статьи	235	334
Taylor & Francis (Великобритания)	Статьи	45	142
Hindawi (Великобритания)	Книги и статьи	61	779

зием видов, в особенности рифовые и прибрежные районы. Арктика и Антарктика представляют интерес из-за уникальных стенотермных организмов, например психрофильных бактерий (Rizzo, Lo Giudice, 2020). Ферменты этих организмов характеризуются повышенной молекулярной гибкостью, высокой каталитической эффективностью и сниженной термостабильностью (Feller, Gerday, 2003). Канадскими учеными исследуются бактерии грунтов залива Фанди, известного максимальной амплитудой приливно-отливного цикла (Duncan et al., 2014). Внушительный объем неизведанных адаптаций и свойств характерен для бактерий, ассоциированных с поверхностью морских организмов (Penesyan et al., 2010) и имеющих перспективу для биопроспектинга. Глубоководная зона Мирового океана — еще один район с экстремальными условиями обитания организмов. В условиях высокого давления, низких температур и отсутствия света ряд адаптаций глубоководных организмов привлекает внимание специалистов, работающих на энергетику и химическую промышленность (Haefner, 2003; Synnes, 2007). Также в глубоководной зоне существуют организмы, обитающие в местах выхода гидротермальных вод, — еще одна группа объектов, вызывающих интерес у научного сообщества. Тенденции в создании новых продуктов морского биопроспектинга отчетливо указывают на постепенное увеличение доли публикаций, связанных с глубоководными ресурсами (Harden-Davies, 2016).

Большой интерес для биоразведки представляет бентос, включающий по некоторым оценкам свыше 1 млн видов (Lalli, Parsons, 1997). Среди бентосных форм исследователей привлекают губки и актинии, обладающие колоссальным разнообразием (Caron, 2001), и на которые приходится более 50% исследований. Важнейшим свойством этих бентосных организмов является создание внутри тела уникальных и устойчивых бактериальных сообществ (Santos-Gandelman, 2014), которые на 2–4 порядка превосходят по разнообразию таковые в окружающей среде. Губки становятся концентраторами уникальных бактерий, делая их мишенями для поиска важных свойств.

Планктон и нектонные головоногие моллюски интересны для биопроспектинга с точки зрения не только нахождения биоактивных молекул, но и особенностей и функций организмов (Abida et al., 2013; Sudarshan et al., 2021). Рыбы представляют интерес как источники полезных свойств ферментных систем и ядов (Smith, Wheeler, 2006). Перспективу изучения химических свойств защитной оболочки имеет икра моллюсков и полихет (Benkendorff et al., 2001).

Важным свойством морских водорослей является их ассоциация с бактериями и создание мик-

робиомов (Kubaneck et al., 2003; Egan et al., 2013; Singh, Reddy, 2014), способных оказывать антибактериальное влияние на патогенные микроорганизмы.

Однако наибольшие успехи биопроспектинга для фармацевтической индустрии связаны с бактериями, их ферментными системами, их первичными и даже больше вторичными метаболитами. Среди морских бактерий выделяют группу под общим названием “экстремофилы”. Первое упоминание о них приходится на середину 90-х годов прошлого столетия, примерно в это же время был учрежден научный журнал “*Extremophiles*”. Группа объединяет семейства бактерий, способных обитать в крайне экстремальных условиях: при высокой солености (галофилы), крайне низкой и высокой температуре (соответственно психрофилы и термофилы), в сильно кислотной или, наоборот, щелочной среде (соответственно алкалофилы и ацидофилы), при высокой концентрации тяжелых металлов (металлофилы). Уникальные свойства ферментов этой группы организмов особенно востребованы для промышленных технологий, условия прохождения процессов создания продукта в которых зачастую экстремальны. Кроме того, исключительные свойства метаболитов и ферментов таких организмов представляют интерес сразу в нескольких направлениях. Так, психрофильные бактерии рассматриваются одновременно для промышленных целей и биотехнологического применения (Kumari et al., 2021), а структурная характеристика липополисахарида (ЛПС) экстремофилов имеет важное значение для биомедицинского и терапевтического применения (Lorenzo et al., 2017).

Развитие исследований экстремофилов привело к выделению новой группы бактерий — полиэкстремофилов, обладающих двумя и более ценными свойствами. Помимо того, что эти организмы являются одними из лучших моделей для изучения адаптивных механизмов, приводящих к стрессоустойчивости, информация, полученная от них, может быть использована для биоинженерии других лабильных ферментов и промышленных циклов (Sysoev et al., 2021).

Среди микроорганизмов-продуцентов актинобактерии по количеству синтезируемых ими соединений занимают первое место (Raja, Prabakaran, 2011). Так, в актиномицетах в период 2003–2005 гг. было обнаружено более 20 молекул с биоактивными свойствами (Lam, 2006). Возможности этой группы бактерий, особенно морских (Bull et al., 2005), как продуцентов новых биологически активных веществ далеко не исчерпаны и обладают колоссальной научной ценностью (Chen et al., 2021). Подводя итог данному разделу, деятельное пространство морского био-

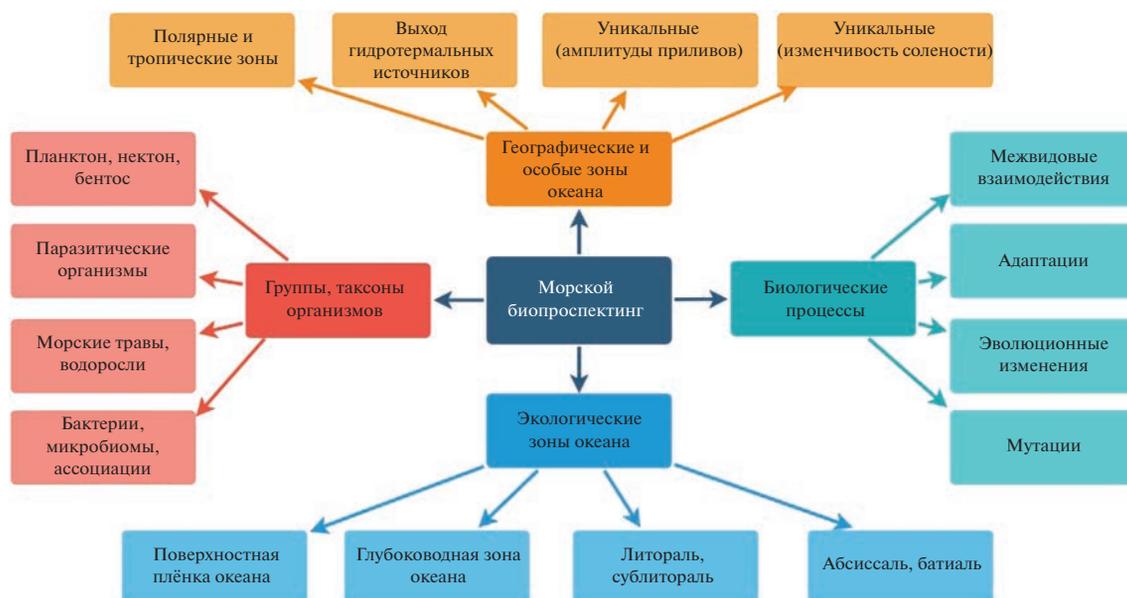


Рис. 2. Уровни и объекты морского биопроектирования.

проектирования можно изобразить следующей схемой (рис. 2).

### ОСНОВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА – ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ БИМОЛЕКУЛ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИКИ И КОСМЕТОЛОГИИ

Убедительной иллюстрацией зарождавшегося мейнстрима стал симпозиум “Морская биотехнология: основы и приложения” (“Marine Biotechnology: Basics and Applications”), прошедший в 2003 г. в Испании. На специальной сессии участником конференции были заданы два вопроса: “Какое развитие в области морской биотехнологии является наиболее желательным?” и “Каким представляется наиболее впечатляющее развитие в этой области в ваших “самых смелых мечтах”?”. Наиболее важной проблемой участники признали здоровье человека (Tramper et al., 2003).

В научном мире признается, что наиболее перспективным источником новых лекарств остаются природные соединения (“natural products”) (Fenical, Jensen, 2006). Этот тезис объясняется особенностями развития фармакологии и наук, способствующих ее развитию. В частности, прогресс комбинаторной химии привел к созданию на рубеже тысячелетий обширных коллекций веществ – комбинаторных библиотек, а автоматизация и информатизация способствовали созданию платформ для тотального развернутого скрининга, когда огромное количество соединений тестируется в отношении множества биологических эффектов. Соответственно, этот процесс способствовал поиску биологически активных

веществ в таких коллекциях (Головкин и др., 2012), а при отсутствии искомым соединений – развитию конкретных задач биопроектирования в природе.

Так, в результате исследования морских губок были открыты алкалоиды, обладающие противомикробным действием, а позже также из губок получены цитотоксические макролиды и производные аминокислот. Новые исследования показывают, что цитотоксические алкалоиды имеются у представителей многих родов губок, что открывает широчайшее поле для поиска природных соединений (Elissawy et al., 2021). Алкалоиды из губок, которые в низких концентрациях индуцируют апоптоз в опухолевых клетках и останавливают клеточное деление (например, ааптамин), представляют огромный интерес как потенциальные противоопухолевые агенты (Макарьева и др., 2014; Nadar et al., 2022). Уникальный ароматический стероидный метаболит – цинантренол, обнаруженный у губки р. *Cinachyrella*, очевидно, обладает сильной эстрогенной активностью (Machida et al., 2014).

При изучении метаболитов иглокожих (голотурий) особое внимание уделяется стероидным соединениям – сапонином, имеющим у этого класса беспозвоночных весьма высокое разнообразие. Некоторые из сапонинов баренцевоморского вида *Cucumaria frondosa*, очевидно, имеют противораковые свойства, а тритерпеновые гликозиды *C. japonica* проявляют радиопротекторные свойства (Hossain et al., 2020; Kamyab et al., 2020). Анализ тритерпеновых гликозидов голотурий (Kalinin et al., 2021) указывает на необходимость дальнейших детальных исследований их структуры и функций, моделирования возможных меха-

низмов мембранотропного действия этого класса природных соединений.

Много лет интерес ученых привлекают свойства хитина — наиболее распространенного среди беспозвоночных полисахарида. Исследования кальцифицированного скелета членистоногих потенциально могут обеспечить разработку готовых остеоиндуктивных молекул, а также структурных матричных материалов для тканевой инженерии опорно-двигательного аппарата, которые в силах потенциально заменить и расширить использование некоторых рекомбинантных факторов роста и молекул внеклеточного матрикса человека (Green et al., 2013).

Отдельным направлением исследований являются антибактериальные и противовирусные свойства гемолимфы донных беспозвоночных (Naug et al., 2002; Casas et al., 2011). Актинии стали привлекать внимание ученых, занятых исследованием нейротоксинов (Urbarova et al., 2012). Изучение конусообразных моллюсков сем. Conidae показало, что их яд состоит из более чем тысячи коротких, небольших, дисульфид-содержащих пептидов и потенциально нацелен на ионные каналы или другие ключевые мембранные рецепторы с исключительной эффективностью и селективностью (Duterte, Lewis, 2010).

Больше внимания в последнее время стало уделяться головоногим моллюскам (осьминоги, кальмары, каракатицы), некоторые из которых (например, двужаберные Coleoidea) имеют малоизвестные белковые токсины, вырабатываемые слюнными железами и обладающие иммобилизующими свойствами (Gonçalves, Costa, 2021).

Метаболиты морских водорослей: цимопол, авраминол и фрагиламид — продемонстрировали сильную антиоксидантную активность (Takamatsu et al., 2003), а наличие в них терпеноидов раскрывает широкий спектр применения от фармацевтики до биотоплива (Leal et al., 2012b). Отмечается, что терпеноиды являются наиболее частыми целями биопроспектинга в Арктике и Антарктике (Núñez-Pons et al., 2020).

Открытия морского биопроспектинга активно используются в косметической промышленности. В ряде продуктов косметики используется внеклеточный экстракт из мягких кораллов *Pseudopterogorgia elisabethae* (Gorgoniidae). Ряд продуктов этой отрасли содержит гликопротеины нового штамма бактерии *Pseudoalteromonas* sp., полученного в антарктических водах. Биопоиск новых функциональных биоактивных веществ из морских водорослей выявил активное вещество — сульфатированное полисахаридное соединение, выделенное из красной микроводоросли *Porphyridium* sp. Полисахарид действует как физический барьер, создавая толстый слой вокруг клетки и защищая ее в экстремальных условиях при-

лива. Кроме того, это вещество может активно защищать кожу от фотоповреждений, старения и микроистирания (Martins et al., 2014).

Наиболее важными целями биопроспектинга для фармацевтической индустрии являются следующие химические соединения: стерины, пиридины, пептиды, терпены, алкалоиды, эстрогены. Недавний анализ литературы за 2010–2019 гг. показал, что количество найденных компонентов, выявленных биопоиском из морских ресурсов, смещается от антивирусных, антибактериальных и противогрибковых к биомолекулам с противопухоловой активностью. В настоящее время на противовоспалительные и противоопухолевые, а также антисептические препараты приходится более 60% изысканий (Paul et al., 2021).

### МОРСКОЙ БИОПРОСПЕКТИНГ ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ДРУГИХ ОТРАСЛЕЙ

Последние два десятилетия общественные интересы все чаще требуют обращать внимание на проблему загрязнения окружающей среды, что вызвало поиск новых биологических способов очистки вод, расщепления ряда загрязняющих веществ и материалов. Экстремофильные бактерии — наиболее удачные кандидаты для этих отраслей (Uma et al., 2020). В качестве агентов биоремедиации пластика рассматриваются кишечные микроорганизмы (Francis et al., 2021).

Направлением промышленного биопроспектинга может являться поиск новых биомолекул для пищевой промышленности (желирующие агенты, эмульсии, пищевые красители, стабилизаторы и пр.). Так, из кишечника рыбы *Lutjanus campechanus* был выделен штамм морских дрожжей, который секретирует инулиназу — один из важных компонентов сбраживания в пищевой промышленности (Bharathi et al., 2011). Попутный интерес вызывают бактерии, разлагающие хитин (Dhole et al., 2021). Такой спектр возможного использования бактерий обусловлен как разнообразием их функций, так и способностью их функционирования при включении в различные технологии.

Важное место морской биопроспектинга занимает в промышленной экологии, где ведутся исследования свойств микроводорослей для разложения загрязнений, консорциев бактерий — биодеградантов загрязнений почвы и вод (Bohutskyi et al., 2015). Были предприняты попытки выделить и проверить галотолерантные морские бактерии на наличие ферментов, которые могут использоваться для обесцвечивания текстильных красителей и сточных вод. Биоразведка показала, что изолированные галотолерантные бактерии являются очень хорошими продуцентами внеклеточ-

ных ферментов с комбинированной способностью к биоремедиации (Vinothini et al., 2014).

Отрасль-“бенефициаром” биопроспектинга вполне может считаться энергетика: разработка технологий создания биоэтанола возможна на основе извлечения новых генов гидролазы из морских метагеномов (Ferrer et al., 2005). Тема биотоплива прослеживается в использовании микроводорослей (Khan et al., 2018), а также при изучении ферментов некоторых архей и термофильных бактерий, свойства которых могут открыть путь к разложению лигноцеллюлозы (Adegboye et al., 2021).

Биопроспектинг открывает перспективы и для других отраслей, демонстрируя широту охвата и возможности достижения новых целей (Zhang et al., 2022b). Примечателен пример с глубоководным брюхоногим моллюском *Crysmallon squamiferum*, у которого найдены абсолютно нетипичные черты армирования экзоскелета. Комбинация материалов и микроструктур в сочетании с геометрией поверхностей и определенной последовательностью слоев характеризуется уникальной прочностью на проникновение, диссипацией энергии, блокировкой трещин, минимальным обратным прогибом и устойчивостью к изгибам и растягивающей нагрузке (Yao et al., 2010). Водоросли интересны наличием свойств, которые могут использоваться при борьбе с обрастаниями (Pereira, Costa-Lotufu, 2012). Существенный потенциал имеется для поиска свойств новых материалов, которые можно позаимствовать при изучении структуры зубов, костей, мышц, защитных элементов у гидробионтов на нано-, микро-, мезоуровне (Meuers et al., 2008). К таковым можно отнести: устойчивость к разрушению, композиционность материалов, амортизационные эффекты, эластичность, остроту и твердость режущих поверхностей, способы прикрепления и движения, ступенчатость и многослойность конструкций, оптическую и сенсорную проводимость, кристаллографию, адаптивную колористику, адгезию (Meuers et al., 2011; Chen et al., 2012; Zhang et al., 2022b).

Поиск биосурфактантов – веществ, продуцируемых микроорганизмами и снижающих поверхностное и межфазное натяжения, – еще одно направление биопроспектинга для пищевой и медицинской отраслей (Silva et al., 2021).

Недавнее открытие “изменяемой геометрии” кожи акулы-мако *Isurus oxyrinchus* за счет особенностей структуры кожи и чешуи, которые позволяют представителям данного вида достигать больших скоростей (Zhang et al., 2022a), открывает перспективы использования результатов исследований на транспорте и в оборонной промышленности.

Перспективным выглядит изучение биологических структур для таких новых направлений

инженерной мысли, как топологическая оптимизация, параметрический дизайн применимых в строительстве и производстве деталей. Продолжается изучение оптических свойств и биологической роли GFP-подобных белков (green fluorescent protein) в морских организмах, их способности к передаче энергии, что может привести к разработке новых биосенсоров (Salih et al., 2004).

## МЕТОДОЛОГИЯ ПОИСКА: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

Биопроспектинг является продуктом, объединяющим ряд современных и классических биологических знаний со сложившейся методологией. Немалую роль в выявлении ряда свойств морских организмов принесли и исторические, традиционные знания (Demunshi, Chugh, 2010).

Классические знания в области ихтиологии, гидробиологии, океанологии, зоогеографии, морской экологии и функциональной физиологии заложили фундамент развития биопроспектинга и позволили разработать ключевые подходы к наиболее эффективному поиску новых организмов для биоактивных природных соединений, исследованию их экологической ниши, совершенствованию анализа генома, раскрывающего их потенциал, и др. Необходимо отметить, что для биопроспектинга, не связанного с фармацевтической индустрией, методы поиска имели даже большую широту привлекаемых знаний и, соответственно, научных дисциплин.

Краеугольной проблемой и ресурсом для биопроспектинга является видовое разнообразие: чем больше видовое разнообразие, тем выше вероятность нахождения требуемого биоматериала. Так, для биоинформатики, как важнейшего инструмента современной биологической науки, особенно большое значение имеют знания о таксономии и филогении морских организмов, для которых известны нуклеотидные последовательности (молекулярная филогенетика). Благодаря этим дисциплинам биоинформатика получает необходимый поисковый ключ (Goodfellow, Fiedler, 2010) к разработке экспериментальных подходов по оценке видового разнообразия бактерий (Stach et al., 2003). В общем виде схема распространения знаний между различными научными дисциплинами представлена на рис. 3.

Авангардом биопроспектинга являются такие современные науки, как геномика, протеомика, транскриптомика, метаболомика. Геномика, изучающая содержание и организацию геномов и способов реализации генетической информации, является ключевой фундаментальной ступенью для развития направления. Объединение таких областей биологических наук, как геномика, молекулярная биология, микробиология, молеку-

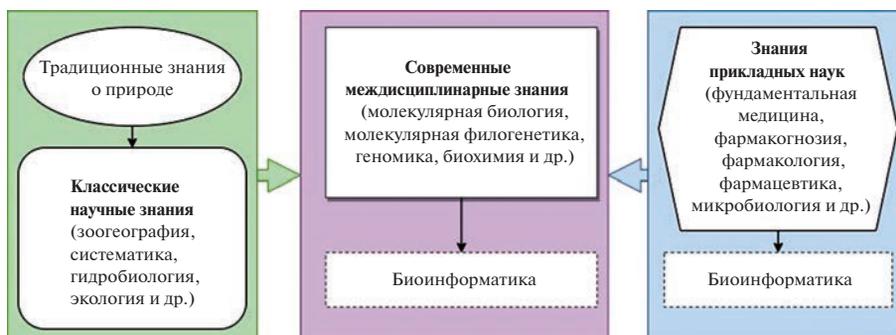


Рис. 3. Схема распространения знаний для целей биопроспектинга.

лярная генетика, создает мощный дополнительный подход к морской биопоисковой деятельности на основе знания белок-кодирующих генов и биосинтетических генных кластеров. Мощное влияние на исследования оказывает современная фундаментальная медицина, фактически модернизирующая все исследования биологов в биопоиске. Перечисленные дисциплины определяют стратегию и тактику биопроспектинга, обеспечивают последовательный поиск биологических веществ. В целом, организация биопроспектинга может быть представлена в виде четырех этапов (Bhatia, Chugh, 2015):

1. сбор образцов;
2. установление химической структуры, изоляция искоемых природных соединений, изучение характеристик и производство выделенных соединений;
3. фармакологический скрининг на предмет потенциальной активности, процедура подтверждения активности соединения;
4. разработка и коммерциализация продукта, включая патентование, испытания, продажи и маркетинг.

Основные проблемы биопроспектинга лежат в плоскости “добычи” генетических ресурсов и/или их воспроизводстве. Прогресс в обнаружении биоактивных веществ у морских организмов ограничивается рядом препятствий: сложными условиями поиска, неподходящими условиями культивирования, трудоемкими процессами очистки и дерепликации. Определенные трудности имеют при решении вопросов хранения, стабилизации и совместимости химических соединений морского геноза. Однако они преодолеваются благодаря новым техническим решениям в области “добычи” экстремофильных бактерий и глубоководных организмов. Решение проблемы доступности ресурсов видится в области аквакультуры, с помощью которой удается воспроизвести необходимый объем материала (Fajarningsih, 2012). Успехи в воспроизводстве достигнуты даже для таких сложных объектов, как коралловые во-

доросли (Leal et al., 2013). Экспериментальные работы расширяют возможности биопроспектинга. Так, при поиске оптимальных характеристик микроводорослей используются небольшие водоемы – пруды (Barten et al., 2020).

Ключевой метод биопроспектинга – это, прежде всего, лабораторный поиск на молекулярном уровне, в котором преимущественно используются способы извлечения информации из полученных образцов биоматериала – секвенирование генома организма, в свою очередь, включающее многочисленные модификации и приемы.

Выделение биомолекул происходит не только из клеток и тканей организмов, но и при запуске механизмов их саморегуляции. Новые способы секвенирования увеличили длину считывания информации генома, улучшили методы сортировки клеток, безусловно, расширили возможности для изучения некультивируемых микробов, какими являются, например, экстремофилы.

В контексте методологии биопроспектинга неразрывно с секвенированием необходимо рассматривать и биоинформатику – инструмент разработки алгоритмов анализа данных, последующего анализа свойств биомолекул (Несговорова, 2012). Важнейшим ресурсом биоинформатики являются геномные и транскриптомные библиотеки, получаемые в результате секвенирования геномов и экспериментальных исследований. На современном этапе биопроспектинга, характеризующемся увеличением данных, возникают сложности их использования и управления, что требует создания более дифференцированных, не избыточных библиотек морских микроорганизмов для высокопроизводительного скрининга активных соединений (Liu et al., 2010). Информационные базы организмов с уникальными свойствами и биотехнологическим потенциалом позволяют многократно обращаться к данным, а их постоянное пополнение только усиливает эффективность исследований. Различные базы данных, расположенные в нескольких странах, могут быть задействованы в

мета-анализе, перекрестном скрининге и в моделировании свойств препаратов.

С увеличением объемов информации о видовом разнообразии повышается потребность в компьютерном моделировании распределения видов и условий среды, способствующих возникновению очагов видообразования, для чего также требуется разработка или совершенствование программного обеспечения.

Существенная составляющая биоинформатики – программное обеспечение, позволяющее отыскивать и моделировать свойства молекул (Седых и др., 2009), в том числе и в новых направлениях, таких как метагеномика (Roumpeka et al., 2017). Метагеномика – относительно новая область науки, нацеленная на исследование генетической информации среди множества организмов: в ассоциациях и сообществах (Kodzius, Gobjogi, 2015). Исследование нового пространства функциональных последовательностей с помощью методов метагеномики, включая поиск неактивных (“молчащих”) кластеров биосинтетических генов, позволяет раскрыть их свойства. Молчащие кластеры генов являются своего рода *terra incognita* для выявления перспективных свойств организмов (Стоник, 2016). Совершенствование методов выявления экспрессии генов у морских бактерий (Johansen et al., 2010) также расширяет границы возможного в знаниях о свойствах живого.

Наиболее полно проблематика и результаты последних достижений биопроспектинга и методов, сопутствующих его успеху, публикуются в специализированных журналах. В условный топ 15 научных изданий, по нашей оценке, учитывающей уровень издателя и цитирования, входят следующие журналы: *Marine Biotechnology*, *Marine Drugs*, *Frontiers in Marine Science*, *FEMS Microbiology Ecology*, *Antonie van Leeuwenhoek*, *Journal of Natural Products*, *Marine Biology*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, *Frontiers in Microbiology*, *Journal of Industrial Microbiology*, *Microbiome*, *PLoS One*, *The ISME Journal*, *Marine Ecology Progress Series*, *Biomolecules*.

Передовые идеи в методологии биопроспектинга можно услышать на конференциях “International Symposium on Marine Natural Products” и “European Conference on Marine Natural Products”, которые проводятся уже более 20 лет.

## КОММЕРЦИАЛИЗАЦИЯ ПРОДУКТОВ МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА

Уже к 2003 г. из морских организмов было выделено более 14 000 новых химических соединений (Proksch et al., 2003) и выдано не менее 300 патентов на морские натуральные продукты (Kerr R., Kerr S., 1999). К 2012 г. были выделены и иденти-

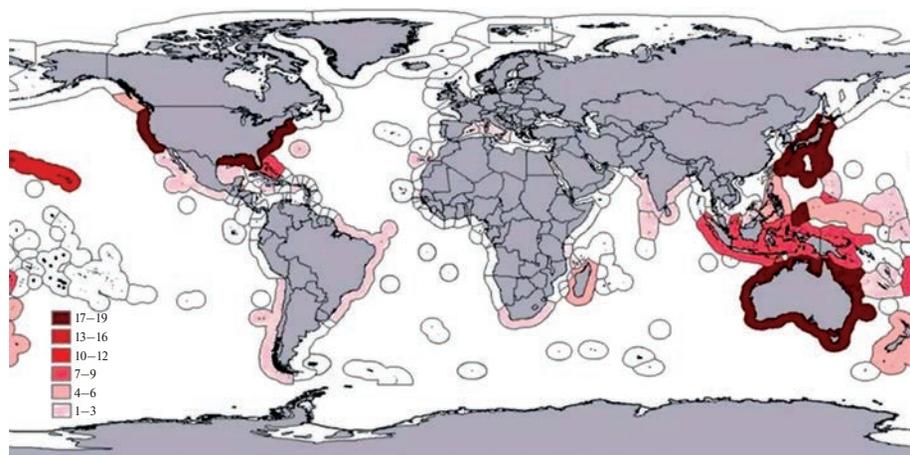
фицированы из различных морских организмов уже более 20000 природных соединений (Hu et al., 2011). Подтверждает эту восходящую динамику и отчет “World Intellectual Property Indicators 2020” Всемирной организации интеллектуальной собственности (WIPO), согласно данным которой количество патентов депонированных микроорганизмов за первые два десятилетия XXI в. увеличилось почти в 3 раза.

За регистрацией и выходом на рынок в 2004 г. первого полученного в результате поиска активных биомолекул из морских организмов значимого препарата Ziconitide последовал целый ряд других фармацевтических средств (Newman et al., 2003; Malve, 2016). Характерно, что большая часть таких препаратов: Citarabine, Vidarabine, Squalanine, Yondelis, Aplidin, Dorisoneone A, Bryostatin 20, Ecteinascidin 743, Pseudopterosin, Halycondrin, Paltellamide, Theopalauamide – была разработана небольшими, малоизвестными компаниями.

Вместе с тем экономические показатели, связанные с рынком “морских” продуктов, в силу коммерческой тайны и динамизма этого направления ограниченно затрагиваются в обзорах и публикациях по этой теме. Согласно отчету “Marine Derived Drugs Market Research”, размещенному в 2020 г. на сайте <https://www.marketresearchengine.com>, ожидается, что к 2025 г. мировой рынок лекарств, полученных из морской среды, составит около 3.268 млрд долларов США при среднем росте в течение данного периода на 9.1%.

Хорошей иллюстрацией коммерциализации продуктов, полученных в том числе и с помощью биопроспектинга, является косметическая отрасль (Martins et al., 2014). Определенные успехи достигнуты в коммерциализации биотоплива из микроводорослей (Su et al., 2017).

Анализ развития европейских биоинженерных компаний, связанных с морскими ресурсами, показывает, что путь к патентам и последующим продуктам весьма сложен и занимает 10–12 лет (Greco, Cinquegrani, 2016). Соответственно, и стоимость разработки лекарств весьма велика, а вероятность успеха остается низкой: в среднем лишь около 10% лекарств, подвергающихся клиническим исследованиям, доходят до регистрации. Поэтому на уровне компаний постоянно происходят трансформации в управлении, а в производстве востребованы технологические инновации. В этой связи уместно упомянуть принцип “pipeline”, известный для многих фармацевтических компаний, сочетающих исследования и производство (R&D – research and development), что позволяет на основе маркетинговых и технологических знаний максимально оптимизировать биоразведку, находить нужные биомолекулы, создавать продукты и выводить их на рынок (Schuhmacher et al., 2018).



**Рис. 4.** Распределение и количество известных новых природных соединений в ИЭЗ прибрежных государств (по: Hunt, Vincent, 2006). Число соединений показано различными градациями красного цвета.

Однако успехи коммерциализации биопроспектинга были бы невозможны без развития методов поиска свойств биологических молекул и разработки препаратов. К уже традиционным методам комбинаторной химии и методу QSPR (Quantitative Structure-Property Relationship – Количественные соотношения структура-свойство) на рубеже веков добавились новые подходы в разработке препаратов: рациональный драг-дизайн, виртуальный скрининг, компьютерное моделирование свойств молекул (Головки и др., 2008).

На современном этапе небольшие биотехнологические компании находятся в фазе конкретизации поиска, который нацелен на районы максимального видового многообразия, либо усиливают лабораторные исследования найденных свойств морских организмов. При этом все еще сохраняется тенденция разработки морских активных веществ за небольшими компаниями. Так, наиболее известные противоопухолевые препараты, полученные из морских беспозвоночных, выведены на рынок не самыми известными компаниями (Бочарова, Кравцова, 2018). Большинство же крупных биотехнологических компаний мира, таких как Abbott Laboratories (США), GlaxoSmithKline (Великобритания), Marine Polymer Technologies (США), Genzyme (США), Bayer Innovation (Германия), Takeda Oncology (Япония), продолжают придерживаться стратегии выбора и покупки зрелых биотехнологических стартапов. После открытия новых биологических образцов, как известно, неизбежен процесс их синтетического воспроизводства, на который (с минимальными издержками) способны только крупные компании.

Развитие биопроспектинга вызывает к жизни новую реальность и фактически ведет к переоценке стоимости биологических ресурсов как в исключительных экономических зонах (ИЭЗ)

прибрежных стран, так и в районах вне национальных юрисдикций. По версии Лири с соавторами (Leary et al., 2009), в 2006 г. эти ресурсы оценивались в 936 млрд долларов, включая потенциальные продукты для фармацевтики, пищевой промышленности и косметологии. Дальнейшее развитие биопроспектинга и, следовательно, коммерциализация результатов тесно увязываются с генной инженерией и синтетической биологией, что позволит получить новые штаммы с расширенными возможностями и устойчивостью к различным условиям (Kiran et al., 2018; Wang, 2021).

#### ПРАВОВЫЕ, СОЦИАЛЬНЫЕ И ИНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ РАЗВИТИЯ БИОПРОСПЕКТИНГА

Появление биопроспектинга вызвало в мировом научном сообществе на всех уровнях, включая и государственный, серьезные дискуссии о его роли и ключевых последствиях: массовое изъятие биоресурсов, уязвимость мест обитания морских организмов и их генофонда.

Интенсивность развития биопроспектинга предопределили разные возможности отдельных государств и степень богатства прибрежных вод. Так, наиболее интенсивный биопроспектинг в начале тысячелетия велся в ИЭЗ развитых стран (США, Австралия, Япония), а также в экваториальной части, где видовое разнообразие весьма значительно (Hunt, Vincent, 2006) (рис. 4).

Правовые нормы, предусмотренные Конвенцией ООН 1982 г. по морскому праву и Конвенцией о биологическом разнообразии 1992 г., не были предназначены для обеспечения режима защиты биологических ресурсов (в том числе генетических) в районах, расположенных за пределами национальных юрисдикций. Отчасти, правовую лагуну заполнил Нагойский протокол (2010 г.) о

доступе и совместном использовании выгод, возникающих в результате использования генетических ресурсов. Тем не менее полностью закрыть пробел в международно-правовом регулировании деятельности в отношении использования морских генетических ресурсов не удалось, что создает соответствующие правовые коллизии, требующие решения. Среди таковых – ключевая трактовка и определение морских биологических и генетических ресурсов (Шувалова, Афанасьев, 2016).

В зонах национальной юрисдикции в качестве эффективного средства развития биопроспектинга предлагается контрактная система (Bhatia, Chugh, 2015), которая может быть основана на взаимно согласованных условиях между ключевыми заинтересованными сторонами (государством, обладающим генетическими ресурсами, носителями традиционных знаний и морскими биопоисковиками). Другими словами, предлагается внедрение механизма справедливого распределения выгоды (прибыли), в основу которого заложен этический принцип, призванный уберечь от биопиратства развивающиеся страны и направленный в первую очередь на защиту местных сообществ, существование которых непосредственно зависит от состояния биологических ресурсов (Efferth et al., 2016). Примером внедрения подобной политики является Индонезия, где предложена модель эксплуатации ресурсов в балансе максимальной долгосрочной и текущих целей (Dewi et al., 2008). Такая концепция совместного использования выгод от биопроспектинга (при наличии соглашений между заинтересованными сторонами) предполагает получение местным населением множества выгод от использования генетических ресурсов, включая сохранение биоразнообразия, экотуризм, научную инфраструктуру, передачу технологий, получение образования и денежных отчислений.

Для регулирования биопроспектинга, касающегося генетических ресурсов Мирового океана вне зон национальных юрисдикций, предлагается подход, который обеспечит для биоресурсов океана статус общего наследия (Lucia, 2018). Однако он имеет и весомые контраргументы (Бекашев, 2019), в основе которых национальные интересы государств, в том числе прибрежных. Интерес к биопроспектингу усиливается и конкуренцией за ресурсы между странами. Этот фактор, возможно, будет иметь в будущем приоритетное значение в Антарктике и Арктике, где сталкиваются амбиции крупнейших экономических держав мира (He et al., 2021). В той же Антарктике исследования ведутся, как правило, частными компаниями, а их результаты редко становятся доступными научным органам Консультативного совещания Договора об Антарктике (КСДА) и Комиссии по сохранению морских живых ресурсов Антаркти-

ки (АНТКОМ), что находится в противоречии с Договором об Антарктике.

Принимая во внимание всю совокупность обстоятельств и признавая необходимость улучшения правового регулирования в сфере использования генетических ресурсов Мирового океана (Боброва, Боржиа, 2022), в 2016 г. в ООН был создан специальный Подготовительный комитет для уточнения и конкретизации целей, задач и сферы применения разрабатываемого им документа на базе Конвенции ООН по морскому праву 1982 г. Положения этого в будущем юридически обязывающего документа должны определить содержание термина “морские генетические ресурсы”, процедуры передачи технологии и ряд других правовых понятий (Бекашев, 2019). В связи с разработкой нового правового документа подчеркивается важность гармонизации его положений с имеющимися правовыми документами (например, Договор об Антарктике 1959 г.) (Nickels, 2020).

Среди прочих эффектов, вызываемых биопроспектингом, необходимо отметить образовательный и экологический. Морская фармакогнозия, опирающаяся на успехи морского биопроспектинга, получает новое осмысление в университетских программах обучения фармацевтов (Cahlíková et al., 2020). Развитие биопроспектинга может способствовать усилению охраны окружающей среды (Beattie et al., 2011) при условии информирования о потенциальных перспективах сырья и необходимости сохранения видов, как носителей уникальных геномов.

Таким образом, биопроспектинг, как явление, уже начал приводить к изменениям локальных сообществ, создавая новый взгляд на Мировой океан, влияя на внешнюю политику государств, социальную сферу и бизнес.

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МОРСКОГО БИОПРОСПЕКТИНГА В РОССИИ И ОПЫТ НОРВЕГИИ

Российские исследования в области биопроспектинга находятся на начальном этапе. Характерным эпизодом является так и не принятая российскими учеными дефиниция понятия “биопроспектинг” (биоразведка или биопоиск). Так, в известном учебном пособии “Биотехнология” (Сазыкин и др., 2011) понятия “биопроспектинг” или “биоразведка” как таковые отсутствуют. Слабая информированность о биопроспектинге в научных кругах зеркально отражается и в управлении научными исследованиями. На федеральном уровне до последнего времени отсутствовал документ, устанавливающий комплексный и межотраслевой характер взаимодействия научных учреждений, а также задачи единого управления.

Государственное управление и регулирование рассматриваемого направления было обозначено лишь в комплексной программе развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г. (утверждена Правительством РФ 24 апреля 2012 г. за № 1853п-П8). Однако документов на перспективу по развитию биотехнологий пока нет, при том что научное сообщество давно пытается определять цели и задачи развития биотехнологий (Прогноз..., 2014).

В этой связи уместно привести основные вехи “строительства” и опыта биопоиска соседней Норвегии (Svenson, 2013). Даже на европейском уровне Норвегия выделяется последовательными и масштабными исследованиями океана. Стратегия нового освоения биологических ресурсов в этой стране была разработана уже в середине 2000-х годов с учетом всех ранее проведенных проектов в области освоения биологических ресурсов. В 2007 г. создан центр инноваций в области поиска морских биопродуктивных элементов “MabSent”, в состав которого вошел банк морских данных и лабораторная высокотехнологичная платформа “Marbio”. К 2009 г. данное направление было закреплено в виде части национальной стратегии, которая включала ряд программ (в том числе и FUGE – Funksjonell genomforskning), направленных на коммерциализацию инноваций и исследований. Участниками проектов являлся ряд научных учреждений и научно-производственных и крупных национальных компаний, связанных с морской деятельностью (Гудимова и др., 2010). После 2013 г. на смену FUGE пришла программа BIOTEK 2021, посвященная развитию биотехнологий (Трофимов, 2014). На середину 2022 г. сведения о новой программе Норвегии в направлении морских биотехнологий отсутствуют, что вероятно характеризует недостаточную результативность BIOTEK 2021 и зависимость программы от государственной поддержки.

Российский опыт создания инфраструктуры и системы извлечения новых продуктов морского генеза невелик. Неким аналогом норвежской технологической платформы складывающейся российской системы биопроспектинга могут стать биоресурсные центры (БРЦ), предоставляющие услуги по хранению не только живых клеток, но также геномов и биоинформации, имеющей отношение к наследственности и функционированию биологических систем (Зиновьева и др., 2013). К 2022 г. интеграционные процессы коснулись не столько информационных, сколько функциональных сторон деятельности участников, которым мог бы быть интерес морской биопроспектинг. Примером такой интеграции, очевидно, является Межрегиональный научно-образовательный центр (МНОЦ) “МореАгроБиоТех”. Согласно релизам, в МНОЦ “МореАгроБиоТех” участвуют более 30 организаций и учреждений. Стратегиче-

ской целью центра является создание экосистемы опережающего инновационного развития, обеспечивающей разработку, производство и вывод на рынок глобально превосходящих и конкурентоспособных продуктов и технологий в морской сфере деятельности, освоение ресурсов Мирового океана и агробиотехнологий. МНОЦ имеет восемь проектов, которые синхронно определены в качестве приоритетных и в рамках Национальной технологической инициативы РФ.

Среди организаций и научных учреждений России крупнейшим центром исследования, заинтересованным в биопроспектинге, является ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, включающий Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН (ИНБИ РАН, Москва), Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского (ИНМИ РАН, Москва) и Институт биоинженерии им. К.Г. Скрыбина (ЦБ РАН, Москва).

Определенные успехи достигнуты в Национальном научном центре морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН (ННЦМБ ДВО РАН, Владивосток), где создан Центр коллективного пользования – Ресурсная коллекция (ЦКП РК) “Морской биобанк”. Целью этого ЦКП РК является обеспечение проведения научных исследований с использованием имеющихся коллекций и оборудования в соответствии с международными протоколами сбора, каталогизации, поддержания и хранения биологических образцов морского происхождения.

Примером комплексного исследования морских организмов может служить опыт Института биологии южных морей им. О.А. Ковалевского РАН (ИнБЮМ РАН, Севастополь), где созданы и одновременно функционируют лаборатория биоразнообразия и функциональной геномики, отдел биотехнологий и фиторесурсов, отдел аквакультуры и морской фармакологии. Фактически, структура биопоисковых направлений ИнБЮМ соответствует примерам аналогичных зарубежных морских лабораторий.

В Зоологическом институте (ЗИН РАН, Санкт-Петербург) функционирует лаборатория эволюционной геномики и палеогеномики. Морской биопроспектинг является частью научной и образовательной деятельности Института живых систем Балтийского федерального университета им. И. Канта (БФУ, Калининград). Понимание задачи освоения ресурсов океана существует и в рыбохозяйственной науке (Кивва и др., 2018). Лаборатория эволюционной экологии и геномики гидробионтов создана в декабре 2018 г. по инициативе Уральского отделения РАН на базе ФГБУН ФИЦКИА “Институт комплексных исследований Арктики” (Архангельск), где также в рамках проекта “Современная исследовательская ин-

фраструктура Российской Федерации” с 2015 г. действует Российский музей центров биоразнообразия.

Однако наиболее известным за рубежом российским исследовательским центром, полностью специализирующимся на морском биопроспектинге и работающим в этой области со дня основания, является Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова (ТИБОХ, Владивосток). Этот институт, специалисты которого сотрудничают с 15 НИИ Азии, Америки и Европы, успешно демонстрирует возможности международной коллаборации (Stonik, 2018).

Таким образом, во всех крупных приморских городах России созданы и функционируют научные коллективы университетской, академической и рыбохозяйственной наук, вовлеченных в разной степени в изыскания, связанные с морским биопроспектингом.

Инфраструктура биопроспектинга обязана включать наличие мощной информационной базы. Таковой, очевидно, является единственная в России биоресурсная коллекция морских микроорганизмов (КММ ТИБОХ ДВО РАН), генофонд которой представлен более 4000 штаммами гетеротрофных бактерий и более 1000 штаммами микроскопических грибов (Исаева, 2022). В контексте инфраструктуры направления можно упомянуть и Центр коллективного пользования “ГЕНОМ”, который был создан в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (ИМБ РАН, Москва) при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ). Ежегодно сотрудники ЦКП выполняют несколько тысяч анализов ДНК и геномных структур по заказу сторонних научных коллективов институтов РАН, РАМН, МГУ, Министерства Здравоохранения РФ и других организаций, участвующих в выполнении Федеральных целевых программ РФ и научных проектов РФФИ.

Научные мероприятия по продвижению морского биопроспектинга в России пока отсутствуют, а необходимость его выделения в отдельное направление в рамках общей темы изучения уникальных природных ресурсов пока не обеспечена достаточным количеством исследователей. Так, на Первом научном Форуме “Генетические ресурсы России”, прошедшем на базе ЗИН РАН в июне 2022 г., секции, посвященной ресурсам морей России, организовано не было. Тем не менее на этой же конференции весьма точно было замечено, что “важными критериями для инфраструктуры является стабильность деятельности, высокий научный, методический и технологический уровень работ, экономическая рациональность” (Синеокий, 2022, с. 14).

Явным недостатком для складывающейся российской модели освоения морских биологиче-

ских ресурсов является отсутствие к ним интереса со стороны российских фармацевтических компаний, а также отсутствие (за некоторым исключением) биоинженерных компаний в РФ. Усилия отечественной “фармы” направлены в первую очередь на создание российских аналогов наиболее известных, а следовательно, “коммерчески беспроигрышных” продуктов мировой фармацевтической отрасли, что объективно не позволяет прогнозировать интерес российских компаний к биоразведке в ближайшие годы.

Очевидно, что в условиях геополитических ограничений партнерами российских научных учреждений и консорциумов для коммерциализации результатов исследований и биопоиска в ближайшие годы должны стать компании из стран Юго-Восточной Азии и Ближнего Востока. Вместе с тем внутренние резервы для качественного рывка биопроспектинга в России видятся в создании партнерства и коллаборации между академической, прикладной, университетской наукой и бизнесом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Феномен морского биопроспектинга — не только явление, предопределенное развитием фармацевтической промышленности, но и часть технологического ответа на развитие общества и современной индустрии. Динамика развития этого направления имеет взрывной характер: количество публикаций, коммерциализация результатов биопоиска особенно значительны в последнее десятилетие, что говорит о вступлении его в активную фазу роста. Масштабы современной биоразведки охватили все районы Мирового океана и различные уровни организации живых организмов.

Преодолевая существенные проблемы в методологии, техническом обеспечении и информационной базе, морской биопроспектинг совершенствуется в качестве научного инструмента для последующей коммерциализации во многих направлениях фармакологии, а также в других отраслях. Следствием развития биопоиска стали социальные изменения прибрежных сообществ, поиск новых правовых концепций и определений в этике научных исследований. Очевидно также изменение мировоззрения людей по отношению к Мировому океану.

Российское научное сообщество находится лишь в начальной стадии формирования целей и задач биопроспектинга. Не существует устойчивой целостной организационной структуры, которая могла бы продвигать философию этого направления в России. Вместе с тем ряд отечественных научных учреждений смогли добиться определенных результатов в морском биопро-

спектинге, что позволяет надеяться на дальнейший прогресс российской науки в развитии данного направления в нашей стране.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы признательны анонимным рецензентам за высказанные ценные замечания и предложения, позволившие улучшить качество предлагаемого обзора.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ажгихин И.С., Шпаков Ю.Н., Кипиани Р.Е., Гандель В.Г.*, 1982. Морская фармация: Теория и практика нового направления в фармацевтической науке. Кишинев: Штиинца. 260 с.
- Бекляшев К.А.*, 2019. Будут ли морские генетические ресурсы объектом международно-правовой охраны? // *Рыбное хозяйство*. № 3. С. 48–54.
- Боброва Ю.В., Боржиа Ф.*, 2022. Проблемы международно-правового регулирования сохранения и устойчивого использования морского биоразнообразия в районах за пределами действия национальной юрисдикции // *Журн. зарубежного законодательства и сравнительного правоведения*. Т. 18. № 3. С. 37–47. <https://doi.org/10.12737/jflcl.2022.034>
- Бочарова Е.А., Крайцова В.Н.*, 2018. Лекарственные противоопухолевые препараты из морских организмов (обзор) // *Уч. зап. Крымского фед. ун-та им. В.И. Вернадского. Биология. Химия*. № 4 (70). С. 19–41.
- Головко Ю.С., Ивашкевич О.А., Головко А.С.*, 2012. Современные методы поиска новых лекарственных средств // *Вестн. БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География*. № 1. С. 7–15.
- Головко Ю.С., Ивашкевич О.А., Матулис В.Э., Гапоник П.Н.*, 2008. Основные направления компьютерного моделирования биологической активности молекул // *Химические проблемы создания новых материалов и технологий*. Минск: БГУ. С. 144–164.
- Гудимова Е.Н., Габриельсен Х.Л., Прищепина Б.Ф.*, 2010. Биопроспектинг и биотехнологии: подходы к освоению морских биологических ресурсов Арктики // *Рыбное хозяйство*. № 5. С. 31–35.
- Зиновьева Н.А., Фисинин В.И., Багиров В.А., Костюнина О.В., Гладырь Е.А.*, 2013. Биоресурсные центры как форма сохранения генетических ресурсов животных сельскохозяйственного назначения // *Достижения науки и техники АПК*. № 11. С. 40–41.
- Исаева М.П.*, 2022. Геномный биопроспектинг в изучении биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН: первые успехи и перспективы // *Генетические ресурсы России: Сб. тез. пленарных докл. I научн. форума, Санкт-Петербург, 21–24 июня 2022 г. М.: Изд-во “Перо”*. С. 15.
- Кивва К.К., Бобылев А.Б., Артемов Р.В., Мухин В.А., Мюге Н.С. и др.*, 2018. Наше видение будущего рыбохозяйственной науки // *Современные проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса. Мат-лы VI науч.-практ. конф. молодых учёных с междунар. участием. М.: ВНИРО*. С. 117–122.
- Кудрявцева Н.М., Телегина Г.Ф.*, 2020. Барвинок в современной фармакотерапии (обзор литературы) // *Педиатрический вестн. Южного Урала*. № 1. С. 111–115.
- Макарьева Т.Н., Сильченко А.С., Кича А.А., Ляхова Е.Г., Колесникова С.А. и др.*, 2014. Поиск и выделение новых природных соединений из морских беспозвоночных, исследования их структур и биологических активностей // *Вестн. ДВО РАН*. № 1. С. 135–141.
- Несговорова Г.П.*, 2012. Биоинформатика: пути развития и перспективы // *Информатика в науке и образовании*. Новосибирск: Ин-т систем информатики им. А.П. Ершова СО РАН. С. 71–89.
- Орлова Т.И., Булгакова В.Г., Полин А.Н.*, 2015. Вторичные метаболиты морских микроорганизмов. I. Вторичные метаболиты морских актиномицетов // *Антибиотики и химиотерапия*. Т. 60. № 7–8. С. 47–59.
- Прогноз научно-технологического развития России: 2030. Биотехнологии, 2014 / Под ред. Гохберга Л.М., Кирпичникова М.П. М.: Министерство образования и науки Российской Федерации, НИУ “Высшая школа экономики”. 48 с.
- Садовничий В.А., Акаев А.А., Коротаев А.В., Малков С.Ю.*, 2012. Моделирование и прогнозирование мировой динамики. М.: ИСПИ РАН. 359 с.
- Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н., Чакалева И.И., Катлинский А.В.* (ред.), 2008. Биотехнология. Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. 3-е изд., стер. М.: Академия. 256 с.
- Седых А.Е., Галкина И.В., Галкин В.И.*, 2009. Программа “Xchem” – использование фрагментов химической структуры для поиска и моделирования химических и биологических свойств // *Уч. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. Т. 151 (1). С. 80–92.
- Синеокий С.П.*, 2022. Развитие инфраструктуры в области микробных биоресурсов биотехнологического назначения // *Генетические ресурсы России: Сб. тез. пленарных докл. I научн. форума, Санкт-Петербург, 21–24 июня 2022 г. М.: Изд-во “Перо”*. С. 14.
- Стоник В.А.*, 2016. Некоторые результаты и тенденции развития исследований морских биологически активных метаболитов // *Тихоокеанский мед. журн.* № 4(66). С. 16–18.
- Трофимов Н.А.*, 2014. Исследование океана: перспективы морской биотехнологии // *Наука за рубежом*. № 28. С. 1–16.

- Шувалова Т.В., Афанасьев П.К., 2016. Международно-правовые проблемы определения режима доступа к морским генетическим ресурсам и распределения выгод от их использования // Рыбное хозяйство. № 3. С. 4–8.
- Abida H., Ruchaud S., Rios L., Humeau A., Probert I., et al., 2013. Bioprospecting marine plankton // *Mar. Drugs*. V. 11. P. 4594–4611. <https://doi.org/10.3390/md11114594>
- Adegboye M.F., Ojuederie O.B., Talia P.M., Babalola O.O., 2021. Bioprospecting of microbial strains for biofuel production: Metabolic engineering, applications, and challenges // *Biotechnol. Biofuels*. V. 14. Art. 5. <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01853-2>
- Amaro H.M., Guedes A.C., Malcata F.X., 2011. Antimicrobial activities of microalgae: An invited review // *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*. V. 2 / Ed. Méndez-Vilas A. Badajoz: Formatex Research Center. P. 1272–1284.
- Artuso A., 2002. Bioprospecting, benefit sharing, and biotechnological capacity building // *World Dev.* V. 30. № 8. P. 1355–1368.
- Barten R., Wijffels R.H., Barbosa M.J., 2020. Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire // *Algal Res.* V. 50. Art. 102008. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102008>
- Beattie A.J., Hay M., Magnusson B. et al., 2011. Ecology and bioprospecting // *Austral Ecol.* V. 36. P. 341–356. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2010.02170.x>
- Benkendorff K., Davis A.R., Bremner J.B., 2001. Chemical defense in the egg masses of benthic invertebrates: An assessment of antibacterial activity in 39 mollusks and 4 polychaetes // *J. Invertebr. Pathol.* V. 78. № 2. P. 109–118. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5047>
- Bharathi S., Saravanan D., Radhakrishnan M., Balagurunathan R., 2011. Bioprospecting of marine yeast with special reference to inulinase production // *Int. J. Chem-Tech Res.* V. 3. № 3. P. 1514–1519.
- Bhatia P., Chugh A., 2015. Role of marine bioprospecting contracts in developing access and benefit sharing mechanism for marine traditional knowledge holders in the pharmaceutical industry // *Glob. Ecol. Conserv.* V. 3. P. 176–187.
- Blunt J.W., Copp B.R., Keyzers R.A. et al., 2015. Marine natural products // *Nat. Prod. Rep.* V. 32. № 2. P. 116–211. <https://doi.org/10.1039/c4np00144c>
- Bohutskiy P., Liu K., Nasr L.K. et al., 2015. Bioprospecting of microalgae for integrated biomass production and phytoremediation of unsterilized wastewater and anaerobic digestion centrate // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 99. P. 6139–6154.
- Bolton J.J., Davies-Coleman M.T., Coyne V.E., 2013. Innovative processes and products involving marine organisms in South Africa // *Afr. J. Mar. Sci.* V. 35. № 3. P. 449–464. <https://doi.org/10.2989/1814232X.2013.830990>
- Brock T.D., Freeze H., 1969. *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a nonsporulating extreme thermophile // *J. Bacteriol.* V. 98. № 1. P. 289–297. <https://doi.org/10.1128/jb.98.1.289-297.1969>
- Bull A.T., Stach J.E.M., Ward A.C., Goodfellow M., 2005. Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions // *Antonie van Leeuwenhoek*. V. 87. P. 65–79. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6562-8>
- Cahlíková L., Šafratová M., Hošťálková A. et al., 2020. Pharmacognosy and its role in the system of profile disciplines in pharmacy // *Nat. Product Commun.* V. 15. № 9. <https://doi.org/10.1177/1934578X20945450>
- Capon R.J., 2001. Marine bioprospecting – Trawling for treasure and pleasure // *Eur. J. Org. Chem.* № 4. P. 633–645.
- Cappello E., Nieri P., 2021. From life in the sea to the clinic: The marine drugs approved and under clinical trial // *Life*. V. 11. Art. 1390. <https://doi.org/10.3390/life11121390>
- Casas S.M., Comesaca P., Cao A., Villalba A., 2011. Comparison of antibacterial activity in the hemolymph of marine bivalves from Galicia (NW Spain) // *J. Invertebr. Pathol.* V. 106. P. 343–345. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.11.007>
- Chen J., Xu L., Zhou Y., Han B., 2021. Natural products from actinomycetes associated with marine organisms // *Mar. Drugs*. V. 19. № 11. Art. 629. <https://doi.org/10.3390/md19110629>
- Chen P.-Y., McKittrick J., Meyers M.A., 2012. Biological materials: Functional adaptations and bioinspired designs // *Prog. Mater. Sci.* V. 57. P. 1492–1704.
- Cooper E.L., 2005. Bioprospecting: a CAM Frontier // *eCAM*. V. 2. № 1. P. 1–3. <https://doi.org/10.1093/ecam/neh062>
- Costello M.J., Chaudhary C., 2017. Marine biodiversity, biogeography, deep-sea gradients, and conservation // *Curr. Biol.* V. 27. № 11. P. R511–R527. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.04.060>
- Demunshi Y., Chugh A., 2010. Role of traditional knowledge in marine bioprospecting // *Biodivers. Conserv.* V. 19. P. 3015–3033. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9879-9>
- Dewi A.S., Tarman K., Uria A.R., Greifswald E., 2008. Marine natural products: Prospects and impacts on the sustainable development in Indonesia // *Proc. Indonesian Students' Scientific Meeting, Delft, The Netherlands, May 2008*. P. 54–63.
- Dhole N.P., Dar M.A., Pandit R.S., 2021. Recent advances in the bioprospection and applications of chitinolytic bacteria for valorization of waste chitin // *Arch. Microbiol.* V. 203. № 5. P. 1953–1969. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02234-5>
- Diggins F.W., 1999. The true history of the discovery of penicillin, with refutation of the misinformation in the literature // *Brit. J. Biomed. Sci.* V. 56. № 2. P. 83–93.
- Draaisma R.B., Wijffels R.H., Slegers P.E. et al., 2013. Food commodities from microalgae // *Curr. Opin. Biotechnol.* V. 24. P. 169–177.
- Duncan K., Haltli B., Gill K.A., Kerr R.G., 2014. Bioprospecting from marine sediments of New Brunswick, Canada: Exploring the relationship between total bacterial diversity and actinobacteria diversity // *Mar. Drugs*. V. 12. P. 899–925. <https://doi.org/10.3390/md12020899>

- Dutertre S., Lewis R.J.*, 2010. Use of venom peptides to probe ion channel structure and function // *J. Biol. Chem.* V. 285. P. 13315–13320.
- Efferth T., Banerjee M., Paul N.W. et al.*, 2016. Biopiracy of natural products and good bioprospecting practice // *Phytomed.* V. 23. № 2. P. 166–173.  
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.12.006>
- Egan S., Harder T., Burke C. et al.*, 2013. The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions // *FEMS Microbiol. Rev.* V. 37. № 3. P. 462–476.  
<https://doi.org/10.1111/1574-6976.12011>
- Elissawy A.M., Soleiman Dehkordi E., Mehdinezhad N. et al.*, 2021. Cytotoxic alkaloids derived from marine sponges: A comprehensive review // *Biomolecules.* V. 11. № 2. Art. 258.  
<https://doi.org/10.3390/biom11020258>
- Fajarningsih N.D.*, 2012. An emerging marine biotechnology: Marine drug discovery // *Squalen.* V. 7. № 2. P. 89–98.
- Feller G., Gerday C.*, 2003. Psychrophilic enzymes: Hot topics in cold adaptation // *Nat. Rev. Microbiol.* V. 1. P. 200–208.  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro773>
- Fenical W., Jensen P.*, 2006. Developing a new resource for drug discovery: Marine actinomycete bacteria // *Nat. Chem. Biol.* V. 2. P. 666–673.  
<https://doi.org/10.1038/nchembio841>
- Ferrer M., Golyshina O.V., Chernikova T.N. et al.*, 2005. Novel hydrolase diversity retrieved from a metagenome library of bovine rumen microflora // *Environ. Microbiol.* V. 7. P. 1996–2010.  
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00920.x>
- Francis S.C., Rebello S., Mathachan Aneesh E. et al.*, 2021. Bioprospecting of gut microflora for plastic biodegradation // *Bioengineered.* V. 12. № 1. P. 1040–1053.  
<https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1902173>
- Goodfellow M., Fiedler H.-P.*, 2010. A guide to successful bioprospecting: Informed by actinobacterial systematics // *Antonie van Leeuwenhoek.* V. 98. P. 119–142.  
<https://doi.org/10.1007/s10482-010-9460-2>
- Gonçalves C., Costa P.M.*, 2021. Cephalotoxins: A hotspot for marine bioprospecting? // *Front. Mar. Sci.* V. 8. Art. 647344.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.647344>
- Grant P., Mackie A.*, 1977. Drugs from the sea – fact or fantasy? // *Nature.* V. 267. P. 786–788.
- Greco G.R., Cinquegrani M.*, 2016. Firms plunge into the sea. Marine biotechnology industry, a first investigation // *Front. Mar. Sci.* V. 2. Art. 124.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2015.00124>
- Green D.W., Padula M.P., Santos J. et al.*, 2013. A therapeutic potential for marine skeletal proteins in bone regeneration // *Mar. Drugs.* V. 11. P. 1203–1220.  
<https://doi.org/10.3390/md11041203>
- Haefner B.*, 2003. Drugs from the deep: Marine natural products as drug candidates // *DDT.* V. 8. № 12. P. 536–544.
- Haque N., Parveen S., Tang T., Wei J., Huang Z.*, 2022. Marine natural products in clinical use // *Mar. Drugs.* V. 20. Art. 528.  
<https://doi.org/10.3390/md20080528>
- Harden-Davies H.*, 2016. Deep-sea genetic resources: New frontiers for science and stewardship in areas beyond national jurisdiction // *Deep-Sea Res. II. Top. Stud. Oceanogr.* V. 137. P. 504–513.  
<https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.05.005>
- Haug T., Kjuul A.K., Stensvåg K. et al.*, 2002. Antibacterial activity in four marine crustacean decapods // *Fish Shellfish Immunol.* V. 12. № 5. P. 371–385.  
<https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0378>
- He L., Chen J., Huang R., Huang Y.*, 2021. Legal challenges to the Antarctic Treaty System and the protection of China's basic rights and interests in Antarctica // *China Oceans L. Rev.* V. 39. P. 51–76.
- Hossain A., Dave D., Shahidi F.*, 2020. Northern sea cucumber (*Cucumaria frondosa*): A potential candidate for functional food, nutraceutical, and pharmaceutical sector // *Mar. Drugs.* V. 18. № 5. Art. 274.  
<https://doi.org/10.3390/md18050274>
- Hu G.P., Yuan J., Sun L. et al.*, 2011. Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008 // *Mar. Drugs.* V. 9. P. 514–525.
- Hunt B., Vincent A.C.J.*, 2006. Scale and sustainability of marine bioprospecting for pharmaceuticals // *J. Human Environ.* V. 35. № 2. P. 57–64.
- Innis M.A., Myambo K.B., Gelfand D.H., Brow M.A.*, 1988. DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA // *Proc. Natl. Acad. Sci.* V. 85. № 24. P. 9436–9440.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.85.24.9436>
- Ireland C.M., Copp B.R., Foster M.P. et al.*, 1993. Biomedical potential of marine natural products // *Pharmaceutical and Bioactive Natural Products* / Eds Attaway D.H., Zaborsky O.R. Boston: Springer. P. 1–43.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2391-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2391-2_1)
- Johansen S.D., Emblem A., Karlsen B.O., Okkenhaug S., Hansen H. et al.*, 2010. Approaching marine bioprospecting in hexacorals by RNA deep sequencing // *New Biotechnol.* V. 27. P. 267–275.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.02.019>
- Kalinin V.I., Silchenko A.S., Avilov S.A., Stonik V.A.*, 2021. Progress in the studies of triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothuroidea, Echinodermata) between 2017 and 2021 // *Nat. Prod. Commun.* V. 16. № 10. P. 1–24.  
<https://doi.org/10.1177/1934578X211053934>
- Kamyab E., Kellermann M.Y., Kunzmann A., Schupp P.J.*, 2020. Chemical biodiversity and bioactivities of saponins in Echinodermata with an emphasis on sea cucumbers (Holothuroidea) // *YOUMARES 9 – The Oceans: Our Research, Our Future* / Eds Jungblut S., Liebich V., Bode-Dalby M. Cham: Springer. P. 121–157.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-20389-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-20389-4_7)
- Kerr R.G., Kerr S.S.*, 1999. Marine natural products as therapeutic agents // *Expert Opin. Ther. Path.* V. 9. P. 1207–1222.
- Khan M.I., Shin J.H., Kim J.D.*, 2018. The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for bio-fuels, feed, and other products // *Microb. Cell Fact.*

- V. 17. № 1. Art. 36.  
<https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Kiran G.S., Ramasamy P., Sekar S. et al.*, 2018. Synthetic biology approaches: Towards sustainable exploitation of marine bioactive molecules // *Int. J. Biol. Macromol.* V. 112. P. 1278–1288.
- Kodzius R., Gojobori T.*, 2015. Marine metagenomics as a source for bioprospecting // *Mar. Genomics.* V. 24. Pt. 1. P. 21–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.margen.2015.07.001>
- Kubaneck J., Jensen P.R., Keifer P.A. et al.*, 2003. Seaweed resistance to microbial attack: A targeted chemical defense against marine fungi // *Proc. Natl. Acad. Sci.* V. 100. № 12. P. 6916–6921.
- Kumari M., Padhi S., Sharma S. et al.*, 2021. Biotechnological potential of psychrophilic microorganisms as the source of cold-active enzymes in food processing applications // *3 Biotech.* V. 11. Art. 479.  
<https://doi.org/10.1007/s13205-021-03008-y>
- Lalli C.M., Parsons T.R.*, 1997. Benthos // *Biological Oceanography: An Introduction.* Amsterdam: Elsevier. P. 177–195.  
<https://doi.org/10.1016/b978-075063384-0/50063-3>
- Lam K.S.*, 2006. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes // *Curr. Opin. Microbiol.* V. 9. P. 245–251.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.03.004>
- Leal M.C., Calado R., Sheridan C. et al.*, 2013. Coral aquaculture to support drug discovery // *Trends Biotechnol.* V. 31. № 10. P. 555–561.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.06.004>
- Leal M.C., Madeira C., Brandão C.A. et al.*, 2012a. Bioprospecting of marine invertebrates for new natural products – a chemical and zoogeographical perspective // *Molecules.* V. 17. P. 9842–9854.  
<https://doi.org/10.3390/molecules17089842>
- Leal M.C., Puga J., Serôdio J. et al.*, 2012b. Trends in the discovery of new marine natural products from invertebrates over the last two decades – where and what are we bioprospecting? // *PLoS One.* V. 7. № 1. Art. e30580.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030580>
- Leary D., Vierros M., Hamon G. et al.*, 2009. Marine genetic resources: A review of scientific and commercial interest // *Mar. Policy.* V. 33. № 2. P. 183–194.
- Liu X., Ashforth E., Ren B. et al.*, 2010. Bioprospecting microbial natural product libraries from the marine environment for drug discovery // *J. Antibiot.* V. 63. № 8. P. 415–422.  
<https://doi.org/10.1038/ja.2010.56>
- Lorenzo F.D., Palmigiano A., Paciello I. et al.*, 2017. The deep-sea polyextremophile *Halobacteroides lacunaris* TB21 rough-type LPS: Structure and inhibitory activity towards toxic LPS // *Mar. Drugs.* V. 15. № 7. Art. 201.  
<https://doi.org/10.3390/md15070201>
- Lucia V., de*, 2018. The concept of commons and marine genetic resources in areas beyond national jurisdiction // *Marit. Saf. Secur. Law J.* № 5. P. 1–21.
- Machida K., Abe T., Arai D. et al.*, 2014. Cinanthrenol A, an estrogenic steroid containing phenanthrene nucleus, from a marine sponge *Cinachyrella* sp. // *Org. Lett.* V. 16. P. 1539–1541.  
<https://doi.org/10.1021/ol5000023>
- Malve H.*, 2016. Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology // *J. Pharm. Bioall. Sci.* V. 8. P. 83–91.  
<https://doi.org/10.4103/0975-7406.171700>
- Martin D.F., Padilla G.M.*, 1973. *Marine Pharmacognosy: Action of Marine Biotoxins at the Cellular Level.* N.-Y.: Academic Press. 330 p.
- Martins A., Vieira H., Santos H.G.S.*, 2014. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmetic industries: Tips for success // *Mar. Drugs.* V. 12. P. 1066–1101.  
<https://doi.org/10.3390/md12021066>
- Mateo N., Nader W., Tamayo G.*, 2001. Bioprospecting // *Encyclopedia of Biodiversity.* V. 1. N.-Y.: Academic Press. P. 471–488.
- Meyers M.A., Chen P.-Y., Lin A.Y.-M., Seki Y.*, 2008. Biological materials: Structure and mechanical properties // *Prog. Mater. Sci.* V. 53. № 1. P. 1–206.
- Meyers M.A., Chen P.-Y., López M.I. et al.*, 2011. Biological materials: A materials science approach // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* V. 4. P. 626–657.
- Min Jou W., Haegeman G., Ysebaert M., Fiers W.*, 1972. Nucleotide sequence of the gene coding for the bacteriophage MS2 coat protein // *Nature.* V. 237. P. 82–88.  
<https://doi.org/10.1038/237082a0>
- Nadar V.M., Manivannan S., Chinnaiyan R. et al.*, 2022. Review on marine sponge alkaloid, aaptamine: A potential antibacterial and anticancer drug // *Chem. Biol. Drug Des.* V. 99. № 1. P. 103–110.  
<https://doi.org/10.1111/cbdd.13932>
- National Research Council, 2002. *Marine Biotechnology in the Twenty-First Century: Problems, Promise, and Products.* Washington: The National Academies Press. 130 p.  
<https://doi.org/10.17226/10340>
- Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M.*, 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002 // *J. Nat. Prod.* V. 66. P. 1022–1037.
- Nickels P.P.*, 2020. Revisiting bioprospecting in the Southern Ocean in the context of the BBNJ negotiations // *Ocean Dev. Int. Law.* V. 51. № 3. P. 193–216.  
<https://doi.org/10.1080/00908320.2020.1736773>
- Núñez-Pons L., Shilling A., Verde C. et al.*, 2020. Marine terpenoids from polar latitudes and their potential applications in biotechnology // *Mar. Drugs.* V. 18. Art. 401.  
<https://doi.org/10.3390/md18080401>
- Paul S.I., Majumdar B.C., Ehsan R. et al.*, 2021. Bioprospecting potential of marine microbial natural bioactive compounds // *J. Appl. Biotechnol. Rep.* V. 8. № 2. P. 96–108.  
<https://doi.org/10.30491/JABR.2020.233148.1232>
- Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S.*, 2010. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms // *Mar. Drugs.* V. 8. № 3. P. 438–459.  
<https://doi.org/10.3390/md8030438>
- Pereira C.R., Costa-Lotuf L.V.*, 2012. Bioprospecting for bioactives from seaweeds: Potential, obstacles and alternatives // *Braz. J. Pharmacogn.* V. 22. № 4. P. 894–905.  
<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000077>

- Proksch P., Edrada-Ebel R.A., Ebel R., 2003. Drugs from the sea – opportunities and obstacles // *Mar. Drugs*. V. 1. P. 5–17.
- Raja A., Prabakarana P., 2011. Actinomycetes and drug – an overview // *Am. J. Drug Disc. Devel.* V. 1. № 2. P. 75–84.
- Rizzo C., Lo Giudice A., 2020. The variety and inscrutability of polar environments as a resource of biotechnologically relevant molecules // *Microorganisms*. V. 8. № 9. Art. 1422.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8091422>
- Rotter A., Barbier M., Bertoni F. et al., 2021. The essentials of marine biotechnology // *Front. Mar. Sci.* V. 8. Art. 629629.  
<https://doi.org/10.3389/fmars.2021.629629>
- Roumpeka D.D., Wallace R.J., Escalettes F. et al., 2017. A review of bioinformatics tools for bio-prospecting from metagenomic sequence data // *Front. Genet.* V. 8. Art. 23.  
<https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00023>
- Salih A., Larkum A.W., Cronin T.W. et al., 2004. Biological properties of coral GFP-type proteins provide clues for engineering novel optical probes and biosensors // *Proc. SPIE: Genetically Engineered and Optical Probes for Biomedical Applications II*. V. 5329. P. 61–72.  
<https://doi.org/10.1117/12.548926>
- Santos-Gandelman J.F., Giambiagi-deMarval M., Oelemann W.M., Laport M.S., 2014. Biotechnological potential of sponge-associated bacteria // *Curr. Pharm. Biotechnol.* V. 15. № 2. P. 143–155.  
<https://doi.org/10.2174/1389201015666140711115033>
- Scannell J.W., Blanckley A., Boldon H., Warrington B., 2012. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency // *Nat. Rev. Drug Discov.* V. 11. P. 191–200.
- Schuhmacher A., Gassmann O., McCracken N., Hinder M., 2018. Open innovation and external sources of innovation. An opportunity to fuel the R&D pipeline and enhance decision making? // *J. Translat. Med.* V. 16. № 1. Art. 14.  
<https://doi.org/10.1186/s12967-018-1499-2>
- Silva A.F., da, Banat I.M., Giachini A.J., Robl D., 2021. Fungal biosurfactants, from nature to biotechnological product: Bioprospection, production and potential applications // *Bioproc. Biosyst. Engin.* V. 44. № 10. P. 2003–2034.  
<https://doi.org/10.1007/s00449-021-02597-5>
- Singh R.P., Reddy C.R., 2014. Seaweed-microbial interactions: Key functions of seaweed-associated bacteria // *FEMS Microbiol. Ecol.* V. 88. № 2. P. 213–230.  
<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12297>
- Smith W.L., Wheeler W.C., 2006. Venom evolution widespread in fishes: A phylogenetic road map for the bioprospecting of piscine venoms // *J. Hered.* V. 97. № 3. P. 206–217.  
<https://doi.org/10.1093/jhered/esj034>
- Stach J.E.M., Maldonado L.A., Masson D.G. et al., 2003. Statistical approaches for estimating actinobacterial diversity in marine sediments // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 69. P. 6189–6200.
- Stonik V.A., 2018. Some results of international collaboration of G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the Far-Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences // *Vestnik FEB RAS*. № 6S. P. 5–16.  
<https://doi.org/10.25808/08697698.2018.202.6S.001>
- Su Y., Song K., Zhang P. et al., 2017. Progress of microalgae biofuel's commercialization // *Renew. Sustain. Energy Rev.* V. 74. P. 402–411.
- Sudarshan S., Krishnaveni K.N., Karthik R., Aanand S., 2021. Bioprospecting life saving drugs from jellyfish venom // *Biotica Res. Today*. V. 3. № 10. P. 920–924.
- Svenson J., 2013. MabCent: Arctic marine bioprospecting in Norway // *Phytochem. Rev.* V. 12. P. 567–578.  
<https://doi.org/10.1007/s11101-012-9239-3>
- Synnes M., 2007. Bioprospecting of organisms from the deep sea: scientific and environmental aspects // *Clean Techn. Environ. Policy*. V. 9. P. 53–59.  
<https://doi.org/10.1007/s10098-006-0062-7>
- Sysoev M., Grötzinger S.W., Renn D. et al., 2021. Bioprospecting of novel extremozymes from prokaryotes – The advent of culture-independent methods // *Front. Microbiol.* V. 12. Art. 630013.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630013>
- Takamatsu S., Hodges T.W., Rajbhandari I. et al., 2003. Marine natural products as novel antioxidant prototypes // *J. Nat. Prod.* V. 66. P. 605–608.
- Tramper J., Battershill C., Brandenburg W. et al., 2003. What to do in marine biotechnology? // *Biomol. Eng.* V. 20. P. 467–471.  
[https://doi.org/10.1016/s1389-0344\(03\)00077-7](https://doi.org/10.1016/s1389-0344(03)00077-7)
- Uma G., Babu M.M., Prakash V.S.G. et al., 2020. Nature and bioprospecting of haloalkaliphilics: A review // *World J. Microbiol. Biotechnol.* V. 36. № 5. Art. 66.  
<https://doi.org/10.1007/s11274-020-02841-2>
- Urbarova I., Karlsen B.O., Okkenhaug S. et al., 2012. Digital marine bioprospecting: Mining new neurotoxin drug candidates from the transcriptomes of cold-water sea anemones // *Mar. Drugs*. V. 10. P. 2265–2279.  
<https://doi.org/10.3390/md10102265>
- Vinothini S., Hussain A.J., Jayaprakashvel M., 2014. Bioprospecting of halotolerant marine bacteria from the Kelambakkam and Marakkanam Salters, India for wastewater treatment of plant growth promotion // *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*. V. 11. P. 313–321.  
<https://doi.org/10.13005/bbra/1425>
- Wang X., 2021. Genetic engineering-based approach to explore the bioactive potential of *Pseudoalteromonas rubra* S4059, a prodigiosin-producing marine bacterium. PhD Thesis. Lyngby: DTU Bioengineering. 163 p.
- Wenter D.A., 2003. Part of the human genome sequence // *Science*. V. 299. P. 1183–1184.  
<https://doi.org/10.1126/science.299.5610.1183>
- Wright J., 1987. Drugs from the sea – A sunken treasure? // *OCEANS'87*. Halifax, Canada: IEEE. P. 923–928.  
<https://doi.org/10.1109/OCEANS.1987.1160707>
- Yao H., Dao M., Imholt T. et al., 2010. Protection mechanisms of the iron-plated armor of a deep-sea hydrothermal vent gastropod // *Proc. Natl. Acad. Sci.* V. 107. P. 987–992.
- Zhang C., Gao M., Liu G. et al., 2022a. Relationship between skin scales and the main flow field around the shortfin mako shark *Isurus oxyrinchus* // *Front. Bioeng. Biotechnol.* V. 10. Art. 742437.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.742437>
- Zhang H., Wu X., Quan L., Ao Q., 2022b. Characteristics of marine biomaterials and their applications in biomedicine // *Mar. Drugs*. V. 20. № 6. Art. 372.  
<https://doi.org/10.3390/md20060372>

## The phenomenon of marine bioprospecting

S. M. Rusyaev<sup>a</sup>, A. M. Orlov<sup>b, c, d, e, f, \*</sup>

<sup>a</sup>*Magadan Branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography  
st. Portovaya, 36/10, Magadan, 685000 Russia*

<sup>b</sup>*Shirshov Institute of Oceanology, RAS  
Nakhimovsky Ave., 36, Moscow, 117218 Russia*

<sup>c</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS  
Leninsky Ave., 33, Moscow, 119071 Russia*

<sup>d</sup>*Caspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Center, RAS  
st. M. Gadzhieva, 45, Makhachkala, 367000 Russia*

<sup>e</sup>*Dagestan State University  
st. M. Gadzhieva, 43-a, Makhachkala, 367000 Russia*

<sup>f</sup>*Tomsk State University  
Ave. Lenina, 36, Tomsk, 634050 Russia*

*\*e-mail: orlov@vniro.ru*

Bioprospecting (bioexploration or biosearch), which has taken shape since the end of the 90s of the last century, is developing rapidly. In recent decades, the dynamics of scientific publications on this topic has increased many times. Marine bioprospecting, as part of the general research direction, is characterized by an extremely wide range of studies, most of which are still in the phase of accumulating information about the genetic and biochemical diversity of biological material. In order to assess the potential of bioprospecting, a review of the results of the conducted studies was carried out. Within its framework, the periodization of the biosearch was carried out, the scale, the main factors, the problems, and the economic foundation of bioprospecting development are identified. The analysis and classification of methodological concepts is carried out. The role of information is revealed and the consequences of the development of bioprospecting are considered. The significant lag of the Russian marine bioprospecting requires taking serious steps toward the development of important and promising directions such as the creation of appropriate infrastructure and new forms of research organizations, the consolidation of the scientific community, the inclusion of business and government structures in the process.

УДК 598.2(476.7);574.42

## ДИНАМИКА НАСЕЛЕНИЯ ПТИЦ В ХОДЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ СУКЦЕССИИ СОСНЯКОВ МШИСТЫХ ЮГО-ЗАПАДНОЙ БЕЛАРУСИ

© 2023 г. И. В. Абрамова\*

*Брестский государственный университет им. А.С. Пушкина  
Бульвар космонавтов, 21, Брест, 224016 Беларусь*

*\*E-mail: iva.abramova@gmail.com*

Поступила в редакцию 11.09.2022 г.

После доработки 12.05.2023 г.

Принята к публикации 18.05.2023 г.

Нарушенные лесные экосистемы характеризуются значительными пространственными и временными изменениями. Цель работы – определить межгодовую динамику обилия видов птиц и оценить изменчивость численности отдельных видов в ходе вторичной сукцессии сосняков мшистых. Материал собран в 2000–2019 гг. Для учета птиц в экосистемах на разных стадиях сукцессии использовался метод линейных трансектов. Исполняли общепринятые методы статистической обработки материала. Установлено увеличение видового разнообразия птиц с 8 до 42 видов, суммарной численности от 171.7 до 587.1 особей/км<sup>2</sup> в течение сукцессии (шесть стадий, возраст от 1 года до 90 лет). Установлены численность видов (особей/км<sup>2</sup>) и межгодовая изменчивость в течение 11 сезонов. Коэффициент вариации (CV) был самым высоким (71.00–82.50%) у видов, численность которых не превышала 1.0 особей/км<sup>2</sup>. Средняя численность видов значительно варьировала, например, на стадии 80–90 лет среди воробьинообразных – от 1.1 (малая мухоловка) до 153.7 особей/км<sup>2</sup> (зяблик). Наиболее стабильно население видов с высоким обилием, например, у зяблика на последних двух стадиях сукцессии CV равняется 6.02 и 7.16%. У видов со средними показателями обилия изменчивость характеризуется как низкая или средняя (варьирует от 11.90 до 36.20%), у видов с низким обилием CV варьирует от 17.68 до 82.50%. Гнездящиеся перелетные птицы преобладают на всех шести стадиях сукцессии. На их долю приходится от 75.0% видов на первой стадии до 52.4% на пятой и шестой стадиях. Ближние и дальние мигранты составляют основу населения птиц на всех стадиях. Оседлые виды немногочисленны, их участие в суммарном обилии не превышает 24.4%. Население оседлых видов и дальних мигрантов является более стабильным, чем ближних мигрантов.

DOI: 10.31857/S004445962303003X, EDN: ZMLMUX

Нарушенные лесные экосистемы характеризуются значительными пространственно-временными изменениями. Смена населения птиц в лесах обусловлена последовательной сукцессией растительности, вызванной в первую очередь деятельностью человека (ведение лесного хозяйства, мелиорация прилегающих к лесам сельскохозяйственных угодий) (Иноземцев, 1987; Преображенская, 1998; Абрамова, 2007, 2022; Гриднева, Мельников, 2013; Perry et al., 2018; Abramova, 2021, и др.). Коренные изменения среды обитания птиц происходят в результате сплошных рубок на значительных площадях, в результате чего на смену дендрофильным видам (дятлам, дроздам, синицам) приходят птицы открытых пространств и опушек. Дальнейшие изменения в структуре орнитокомплексов в первую очередь определяются сменой видов-ценозообразователей, усложнением структуры сообщества, появлением новых экологических ниш. По мере развития растительности и изменения пространственной структуры фито-

ценозов значительно изменяется численность отдельных видов птиц.

Изменения населения птиц в процессе восстановительной сукцессии лесных экосистем умеренного пояса Северного полушария обсуждаются рядом авторов (Данилов, 1958; Głowaciński, 1975, 1979, 1981; Владышевский, 1980; Богуйский, Беднорз, 1982; Helle, 1985; Helle, Mönkkönen, 1986; Southwood et al., 1986; Иноземцев, 1987; Преображенская, Борисов, 1987; Annand, Thompson, 1997; Преображенская, 1998; Freedman, Johnson, 1999; Holmes, Sherry, 2001; DeGraaf, Yamasaki, 2003; Schlossberg, King, 2009; Гриднева, Мельников, 2013; Akresh et al., 2015, и др.). В большинстве работ отмечается, что разнообразие и плотность населения птиц увеличиваются от ранних стадий к более поздним. В ряде случаев при зарастании вырубок и гарей показатели возрастают от первой стадии (свежей лесосеки) к кустарникам и несомкнутым молоднякам, затем несколько снижаются, а к приспевающим и спелым лесам вновь

возрастают (Johnson, Odum, 1956; Данилов, 1958; Głowaciński, 1975; Преображенская, 1998; Гриднева, Мельников, 2013; Абрамова, 2017; Abramova, 2021). При возобновлении сосновых лесов на стадии молодняков максимум разнообразия и плотности населения птиц может не проследиваться или отмечаться только для одного из показателей (Naaranen, 1965, 1966; Głowaciński, 1979; Богуйский, Беднорз, 1982). В некоторых случаях отмечено снижение плотности населения птиц в климаксом лесу по сравнению с предыдущими стадиями (Helle, Mönkkönen, 1986; Преображенская, 1998).

Исследования сукцессий предоставляют большое количество данных, анализ которых позволяет прогнозировать и контролировать сообщества птиц в разных типах местообитаний. Орнитокомплексы, сменяющиеся в процессе сукцессии лесных экосистем, в разных регионах различаются, поэтому эта тема требует дальнейшего изучения.

В данном исследовании изучались основные характеристики сообществ птиц и особенности экологической структуры орнитокомплексов на разных стадиях демулационной сукцессии сосняков мшистых, а также изменчивость популяций отдельных видов птиц.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сбор материалов проводился в 2000–2019 гг. в Юго-Западной Беларуси (Брестский, Ивацевичский и Малоритский лесхозы, 52.0–52.5° с.ш., 23.6–25.5° в.д.). Данная территория расположена в подзонах широколиственно-сосновых (Бугско-Полесский округ) и грабово-дубово-темнохвойных лесов (Неманско-Предполесский округ) (Юркевич и др., 1979). Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*) – важнейшая лесообразующая порода Беларуси (49.7% лесопокрытой площади страны, 50.8% – в Бугско-Полесском округе, 52.3% – в Неманско-Предполесском округе) (Лабоха и др., 2020). В последние годы в Беларуси в целом отмечено уменьшение площади сосняков, в подзоне широколиственно-сосновых лесов она сократилась на 7.4%, что связано с проведением сплошных санитарных рубок в очагах короедного усыхания. В возрастной структуре преобладают средневозрастные леса (45.2–50.2%). Доля молодняков составляет 13.0–18.5%, припевающих насаждений – 26.4–27.8%, в то же время спелые и перестойные насаждения занимают всего 8.5–10.6%. Средний возраст сосняков в подзоне широколиственно-сосновых лесов – 61 год, в подзоне грабово-дубово-темнохвойных лесов – 65 лет, наиболее молодые насаждения в стране – в Бугско-Полесском округе (в среднем 59 лет) (Лабоха и др., 2020). В лесах, находящихся под управлением Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь, 39.9% лесопокрытых земель занимают искус-

ственно созданные насаждения сосны (Государственный лесной кадастр..., 2021).

Сосняк мшистый (*Pinetum pleurozium*) – преобладающий тип сосновых лесов, составляет 37.7% лесопокрытой площади сосняков в Бугско-Полесском округе, несколько выше его доля в Неманско-Предполесском округе – 42.4% (в Беларуси в среднем 37.9%). В древостое преобладает сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), в примеси к ней береза бородавчатая (*Betula pendula*) (до 30%), в подросте – сосна обыкновенная и дуб черешчатый (*Quercus robur*) (Ловчий, 2012). В подлеске произрастают рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*), крушина ломкая (*Frangula alnus*) и др. В кустарничково-травяном покрове фон составляют черника (*Vaccinium myrtillus*), брусника (*V. vitis-idaea*), марьянник лесной (*Melampyrum sylvaticum*), вереск обыкновенный (*Calluna vulgaris*) и др. В моховом ярусе господствуют *Pleurozium schreberi*, *Dicranum polysetum* и др.

В ряду демулационной сукцессии сосняков мшистых нами выделено шесть стадий развития растительности после сплошной рубки: 1–3 года – травянистая растительность лугового типа (свежая лесосека); 4–9 лет – поросль кустарников, саженцы березы и осины и молодые культуры сосны; 10–20 лет – сплошные заросли кустарников, поросли и подроста; 30–40 лет – молодняк; 60–70 лет – средневозрастной сосновый лес; 80–90 лет – высокоствольный спелый лес из сосны с примесью березы, дуба и других пород. В работах, посвященных изучению орнитокомплексов на разных стадиях сукцессии лесной растительности на месте вырубок или гарей, авторы чаще использовали три или четыре переходных стадии, которые соответствуют возрастным группам, принятым в лесохозяйственной деятельности (Helle, Mönkkönen, 1986; Southwood et al., 1986; Преображенская, 1998; Freedman, Johnson, 1999; Гриднева, Мельников, 2013, и др.), что было признано недостаточным для изучения смены орнитокомплексов (Naaranen, 1965; Głowaciński, 1975).

При изучении динамики населения птиц в сообществах, формирующихся на разных стадиях сукцессии сосняков мшистых на месте вырубок, применяли метод финских линейных трансектов (Равкин, 1967, 1984; Järvinen, Väisänen, 1976; Библи и др., 2000). Птиц учитывали на постоянных, но не строго фиксированных маршрутах путем регистрации всех обнаруженных в полосе учета птиц независимо от их удаленности с одновременным определением расстояния от учетчика до каждой из птиц в момент обнаружения. Учеты проводили в максимально однородных местообитаниях на маршрутах, которые были заложены в экосистемах с искусственным возобновлением путем посадки лесных культур, находящихся на разных стадиях сукцессионного ряда. Трансекты

располагались в центральных частях местообитаний, чтобы, насколько это возможно, устранить опушечный эффект. Первые три стадии сукцессии были прослежены на одних и тех же площадках, более поздние стадии – на участках с одинаковыми типами лесорастительных условий, различающихся только возрастом лесов. В течение периода исследования учеты на каждом маршруте проводили не менее 10 раз с 15.05 по 30.06, когда орнитокомплексы наиболее стабильны и птицы проявляют максимальное предпочтение местообитаниям. Длина трансекты на участках, находящихся на первых четырех стадиях сукцессии (от свежей лесосеки до возраста 10–20 лет), составляла около 1.5 км, в молодняках возраста 30–40 лет – 4 км, в средневозрастных и спелых лесах – 4.7–5.5 км. Ширина полосы учета – 50 м в обе стороны от линии трансекты. Птиц учитывали в ясную погоду в утреннее (спустя 1 ч после восхода) и вечернее (прекращали учет за 1–2 ч до захода солнца) время, когда птицы наиболее активны. Виды, которые регистрировались в ходе учетов менее чем в половине сезонов, были исключены из анализа. Перерасчет обилия птиц на единицу площади вели раздельно по средним дальностям обнаружения (голосу, визуально) (Равкин, 1967; Щеголев, 1977). Доминирующими по обилию считали те виды, доля которых в сообществе птиц составляет 10% и более (Кузякин, 1962). Рассчитывали индексы видового сходства, видового разнообразия и выравнинности (Одум, 1975):

### 1. Индекс сходства Жаккара:

$$I_j = \frac{C}{A+B} \times 100,$$

где  $A$  – число видов, имеющих только в первом списке,  $B$  – число видов, имеющих только во втором списке,  $C$  – число видов, общих для двух списков.

### 2. Индекс видового разнообразия Шеннона (Шеннона–Винера):

$$H = -\sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i,$$

где  $S$  – число видов,  $p_i$  – доля вида в суммарном обилии:  $p_i = \frac{n_i}{N}$ , где  $n_i$  – обилие данного вида,  $N$  – суммарное обилие орнитокомплекса.

3. Индекс выравнинности Пиелу:

$$e = \frac{H}{\log S},$$

где  $H$  – индекс Шеннона,  $S$  – число видов в биоценозе.

Данные по обилию видов птиц подвергали статистической обработке. Стабильность здесь понимается как в исследовании Ярвинена (Järvinen, 1979): постоянство структуры сообщества от года к году (например, общая плотность, разнообразие, плотность отдельных видов) из года в год. Для определения стабильности популяций от-

дельных видов использовали коэффициент вариации (CV, %) обилия:

$$CV = \frac{\sigma}{k} \times 100,$$

где  $\sigma$  – среднеквадратическое отклонение обилия вида в разные годы,  $k$  – среднее обилие вида.

Латинские названия птиц приведены по сводке The eBird/Clements checklist of birds of the world (Clements et al., 2022).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Лесное хозяйство Беларуси – одна из динамично развивающихся отраслей национальной экономики. С целью восстановления лесов на местах рубок в регионе в последние 50 лет осуществляется создание лесных культур, что значительно ускоряет сукцессию. При этом на месте сведенного древостоя обычно проводится посадка тех видов деревьев, которые были вырублены. Вырубки сосняков мшистых без лесохозяйственной деятельности возобновляются теми же фитоценозами. Естественное возобновление без мер содействия назначается на участках с наличием жизнеспособных семян главных пород (более 4 тыс. штук на 1 га), а также на участках с неблагоприятными условиями среды (например, избыточным увлажнением, выраженным микрорельефом), где применять иные методы лесовосстановления нецелесообразно. По данным лесоустройства, в Юго-Западной Беларуси под естественное возобновление за 2005–2014 гг. было отведено 0.2% площади вырубок сосновых лесов.

Формирование орнитокомплексов и их смена в лесных культурах отличаются от естественного возобновления ускоренными темпами протекания и более бедным населением животных (Иноземцев, 1987; Преображенская, 1998; Гріднева, Мельников, 2013; Абрамова, 2017, 2022, и др.). Смена сообществ птиц протекает параллельно с сукцессией растительности, которая сопровождается увеличением вертикальной стратификации среды обитания. Например, на свежей лесосеке имеется один ярус (травяно-кустарничковый), находящийся на стадии формирования, на второй стадии – сформированный травяно-кустарничковый ярус и два яруса в процессе развития (кустарничковый и древесный), начиная с четвертой стадии – все три яруса. Наиболее значительные изменения в структуре орнитокомплексов происходят при изменении состава видов-эдификаторов и увеличении возраста и высоты древесных растений, что сопровождается усложнением структуры сообщества и появлением новых экологических ниш.

В ходе исследования на разных стадиях сукцессии сосняков мшистых выявлено 52 вида птиц, относящихся к 10 отрядам (табл. 1). В насе-

**Таблица 1.** Участие представителей различных отрядов в видовом богатстве на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых

Отряд	Возраст сукцессии, лет					
	1–3	4–9	10–20	30–40	60–70	80–90
Курообразные	<u>12.5</u>	<u>6.7</u>	–	<u>4.2</u>	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	1.8	1.3	–	1.2	1.2	1.2
Аистообразные	–	–	–	–	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	–	0.1	0.2
Соколообразные	–	–	–	–	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	–	0.1	0.1
Ястребообразные	–	–	–	–	<u>9.5</u>	<u>9.5</u>
	–	–	–	–	0.8	0.9
Ржанкообразные	–	–	–	–	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	–	0.2	0.3
Голубеобразные	–	–	–	–	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	–	0.2	0.3
Кукушкообразные	–	–	–	–	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	–	0.2	0.2
Козодоеобразные	–	–	–	<u>4.2</u>	<u>2.4</u>	<u>2.4</u>
	–	–	–	0.5	0.2	0.3
Дятлообразные	–	–	–	<u>4.2</u>	<u>7.1</u>	<u>7.1</u>
	–	–	–	2.6	4.3	4.7
Воробьинообразные	<u>87.5</u>	<u>93.3</u>	<u>100.0</u>	<u>87.5</u>	<u>66.7</u>	<u>66.7</u>
	98.2	98.7	100.0	95.6	92.6	91.9

**Примечание.** Для каждого отряда: над чертой – доля от общего количества видов, под чертой – доля от суммарного обилия, %.

лении птиц доминируют представители отряда воробьинообразных (Passeriformes), доля которых на разных стадиях составляет 66.7–100.0% общего количества видов и 91.9–100.0% суммарного обилия (максимум на стадии возраста 10–20 лет). Отряд ястребообразные (Accipitriformes) представлен четырьмя видами, дятлообразные (Piciformes) – тремя видами, курообразные (Galliformes) – двумя видами. Остальные шесть отрядов представлены одним видом.

Виды, которые были зарегистрированы нами на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых, по обилию были разделены на три группы:

1) виды с высоким обилием (50 особей/км<sup>2</sup> и более);

2) виды со средним обилием (10–49 особей/км<sup>2</sup>);

3) виды, обилие которых составляет менее 10 особей/км<sup>2</sup>.

На местах сплошных рубок резко изменяются микроклимат, видовой состав травянистой растительности и беспозвоночных животных. На свежей вырубке было учтено всего восемь видов птиц (табл. 2, рис. 1). В освоении биотопа принимают участие птицы опушек и открытых про-

странств, при условии сохранения пней и наличия в них щелей и полостей здесь встречаются птицы-дуплогнездники, в качестве кормовых стадий вырубке используют дрозды, луговой лунь (*Circus pygargus*) и др. Суммарное обилие составляет  $171.7 \pm 4.16$  особей/км<sup>2</sup>, на долю доминирующих видов приходится 71.2% населения птиц и 37.5% видового состава. Доминантами по обилию являются лесной жаворонок (*Lullula arborea*) ( $30.6 \pm 2.15$  особей/км<sup>2</sup>), лесной конек (*Anthus trivialis*) ( $34.7 \pm 1.99$  особей/км<sup>2</sup>) и луговой чекан (*Saxicola rubetra*) ( $57.0 \pm 0.66$  особей/км<sup>2</sup>) (табл. 2, 3). Изменчивость обилия на первой стадии сукцессии высокая у 87.5% видов, только у одного вида – лесного конька – она характеризуется как средняя (CV = 19.02%). 75.0% видов, гнездящихся в данном биотопе, являются перелетными (из них пять видов – ближние мигранты, один вид – дальний мигрант), их доля в населении орнитокомплекса составляет 88.3%. Оседлый образ жизни ведут серая куропатка (*Perdix perdix*) и обыкновенная овсянка (*Emberiza citrinella*) (табл. 4).

На стадии молодых культур (4–9 лет) появляются птицы кустарниковых зарослей: серая славка (*Sylvia communis*), коноплянка (*Linaria cannabina*), обыкновенный жулан (*Lanius collurio*) и др.

Таблица 2. Параметры межгодовой динамики видов птиц сосняков мшистых на разных стадиях восстановительной сукцессии

Вид	Возраст сукцессии, лет											
	1–3		4–9		10–20		30–40		60–70		80–90	
	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV
Рябчик	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Серая куропатка	3.1 ± 0.41	45.48	2.2 ± 0.35	55.45	–	–	2.2 ± 0.26	45.00	6.4 ± 0.60	32.50	7.1 ± 0.57	27.75
Черный аист	–	–	–	–	–	–	–	–	0.8 ± 0.18	78.75	1.0 ± 0.22	75.00
Чеглок	–	–	–	–	–	–	–	–	0.6 ± 0.16	81.62	0.7 ± 0.17	82.50
Обыкновенный осоед	–	–	–	–	–	–	–	–	0.8 ± 0.19	82.50	1.0 ± 0.22	76.00
Перепелятник	–	–	–	–	–	–	–	–	1.4 ± 0.26	64.29	1.5 ± 0.30	68.80
Тетеревятник	–	–	–	–	–	–	–	–	1.2 ± 0.25	71.67	1.4 ± 0.25	62.14
Обыкновенный канюк	–	–	–	–	–	–	–	–	1.0 ± 0.18	62.00	1.3 ± 0.22	46.80
Вальшнеп	–	–	–	–	–	–	–	–	1.1 ± 0.22	70.60	1.5 ± 0.23	54.00
Клинтух	–	–	–	–	–	–	–	–	1.2 ± 0.19	55.83	1.7 ± 0.26	52.94
Обыкновенная кукушка	–	–	–	–	–	–	–	–	1.1 ± 0.22	68.18	1.2 ± 0.21	60.00
Обыкновенный козодой	–	–	–	–	–	–	1.0 ± 0.20	71.00	1.3 ± 0.22	59.23	1.6 ± 0.29	62.50
Вертишейка	–	–	–	–	–	–	–	–	2.3 ± 0.26	39.13	2.5 ± 0.29	40.81
Большой дятел	–	–	–	–	–	–	4.8 ± 0.43	28.80	20.0 ± 1.24	19.35	23.6 ± 1.47	17.96
Желна	–	–	–	–	–	–	–	–	1.1 ± 0.19	60.90	1.3 ± 0.21	56.15
Полевой жаворонок	16.5 ± 1.45	30.40	14.5 ± 1.40	33.45	–	–	–	–	–	–	–	–
Лесной жаворонок	30.6 ± 2.15	23.17	33.0 ± 2.17	19.72	10.2 ± 1.26	41.09	6.2 ± 0.79	42.23	12.4 ± 1.30	34.68	13.2 ± 1.28	31.58
Луговой конек	7.6 ± 0.87	37.37	5.0 ± 0.69	47.80	–	–	–	–	–	–	–	–
Лесной конек	38.7 ± 1.99	19.52	40.2 ± 2.27	19.52	30.0 ± 2.26	26.00	20.5 ± 1.64	27.68	61.0 ± 2.84	16.11	60.3 ± 2.79	16.00
Белая трясогузка	5.2 ± 0.60	40.00	4.3 ± 0.44	35.58	–	–	–	–	–	–	–	–
Крапивник	–	–	–	–	–	–	1.0 ± 0.21	74.00	3.7 ± 0.42	39.19	5.4 ± 0.47	30.18
Рябинник	–	–	–	–	–	–	–	–	6.9 ± 0.56	27.97	9.5 ± 0.68	23.89
Певчий дрозд	–	–	4.7 ± 0.44	30.84	8.0 ± 0.80	33.51	6.8 ± 0.68	33.46	16.3 ± 1.22	22.04	17.5 ± 1.14	25.69
Деряба	–	–	–	–	–	–	2.0 ± 0.34	59.00	2.9 ± 0.44	52.25	4.8 ± 0.45	32.70
Обыкновенная горихвостка	–	–	2.1 ± 0.36	59.52	2.6 ± 0.38	50.77	1.0 ± 0.22	77.00	3.8 ± 0.44	40.00	5.7 ± 0.57	34.74
Зарянка	–	–	5.8 ± 0.62	34.78	13.1 ± 1.28	32.00	19.0 ± 1.72	30.77	32.0 ± 1.91	19.76	32.6 ± 1.78	16.51
Луговой чекан	57.0 ± 0.66	35.22	14.2 ± 1.06	40.17	–	–	–	–	–	–	–	–
Серая мухоловка	–	–	–	–	–	–	5.6 ± 0.54	33.57	8.3 ± 0.73	30.21	9.0 ± 0.75	28.67
Мухоловка-пеструшка	–	–	–	–	–	–	1.9 ± 0.30	55.26	16.0 ± 1.28	27.25	20.0 ± 1.37	22.72

Таблица 2. Продолжение

Вид	Возраст сукцессии, лет											
	1-3		4-9		10-20		30-40		60-70		80-90	
	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV	$\bar{x} \pm x$	CV
Малая мухоловка	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Пеночка-весничка	—	—	—	—	4.0 ± 0.37	32.50	3.2 ± 0.36	38.43	1.0 ± 0.20	71.00	1.1 ± 0.23	72.73
Пеночка-теньковка	—	—	—	—	3.0 ± 0.45	30.72	3.9 ± 0.40	35.47	14.8 ± 1.27	27.27	17.5 ± 1.57	30.97
Пеночка-грещотка	—	—	—	—	2.2 ± 0.32	50.90	7.7 ± 0.70	31.43	39.4 ± 1.35	11.90	18.0 ± 1.37	25.30
Черноголовая славка	—	—	—	—	2.3 ± 0.28	42.12	3.4 ± 0.45	46.17	6.2 ± 0.75	41.94	40.5 ± 1.43	11.60
Серая славка	—	—	3.1 ± 0.44	45.03	8.3 ± 0.66	27.59	—	—	—	—	9.1 ± 0.89	34.06
Славка-мельничек	—	—	—	—	—	—	5.1 ± 0.57	38.62	5.6 ± 0.50	30.71	6.4 ± 0.49	25.31
Желтоголовый королек	—	—	—	—	—	—	—	—	3.0 ± 0.43	49.67	3.4 ± 0.41	41.47
Буроголовая гаичка	—	—	—	—	—	—	14.0 ± 0.96	22.23	39.0 ± 1.88	15.80	39.7 ± 1.91	15.93
Хохлатая синица	—	—	—	—	—	—	2.0 ± 0.32	56.00	4.7 ± 0.41	30.21	6.8 ± 0.49	25.00
Большая синица	—	—	—	—	—	—	14.8 ± 1.31	29.30	25.4 ± 1.40	18.10	25.7 ± 1.27	16.37
Обыкновенный поползень	—	—	—	—	—	—	3.0 ± 0.33	38.00	8.8 ± 0.58	17.68	10.9 ± 0.68	19.05
Обыкновенная пищуха	—	—	—	—	—	—	—	—	5.5 ± 0.43	26.90	5.7 ± 0.41	22.70
Обыкновенный жулан	—	—	2.4 ± 0.35	51.25	1.9 ± 0.36	65.26	—	—	—	—	—	—
Обыкновенная иволга	—	—	—	—	—	—	3.4 ± 0.44	45.00	5.8 ± 0.52	31.20	6.6 ± 0.58	33.67
Сойка	—	—	—	—	—	—	3.9 ± 0.37	32.56	4.6 ± 0.41	30.43	9.0 ± 0.67	25.67
Серая ворона	—	—	—	—	—	—	—	—	3.4 ± 0.36	36.18	4.9 ± 0.38	26.53
Ворон	—	—	2.1 ± 0.36	59.52	2.6 ± 0.38	50.77	1.0 ± 0.22	77.00	1.0 ± 0.21	71.00	1.5 ± 0.27	62.00
Зяблик	—	—	—	—	32.3 ± 1.71	17.80	47.0 ± 2.15	15.03	152.6 ± 2.79	6.02	153.7 ± 3.36	7.16
Зеленушка	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0 ± 0.21	71.60	1.2 ± 0.23	67.50
Черноголовый щегол	—	—	1.0 ± 0.21	71.08	2.1 ± 0.40	57.52	—	—	—	—	—	—
Коноплянка	—	—	3.8 ± 0.15	41.32	2.0 ± 0.37	63.50	—	—	—	—	—	—
Обыкновенная овсянка	17.0 ± 1.61	32.82	30.7 ± 1.88	21.52	16.5 ± 1.62	34.00	—	—	—	—	—	—
Количество видов	8		15		15		24		42		42	
Суммарное обилие, особей/км <sup>2</sup>	171.7 ± 4.16		167.0 ± 2.89		138.5 ± 3.53		183.4 ± 4.28		541.3 ± 6.12		587.1 ± 7.82	

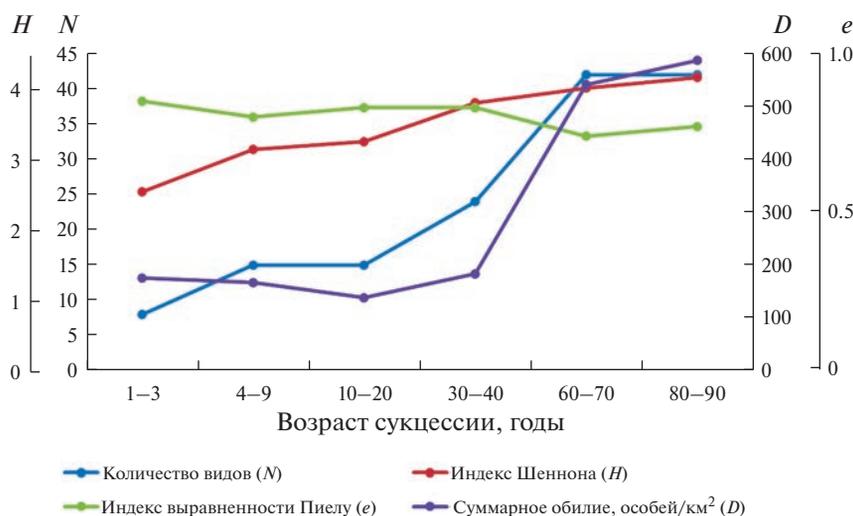


Рис. 1. Параметры орнитокомплексов на разных стадиях сукцессии сосняков мшистых.

(табл. 2, рис. 1). Количество видов возрастает до 15, суммарное обилие незначительно снижается и составляет  $167.0 \pm 2.89$  особей/км<sup>2</sup>. По-прежнему доминируют лесной конек ( $40.2 \pm 2.27$  особей/км<sup>2</sup>) и лесной жаворонок ( $33.0 \pm 2.17$  особей/км<sup>2</sup>), в группу доминирующих видов на этой стадии входит обыкновенная овсянка ( $30.7 \pm 1.88$  особей/км<sup>2</sup>) (табл. 2, 3). Доминирующие виды составляют 20.0% видового состава и 62.2% суммарного обилия птиц. У семи видов, обитающих на стадии молодых культур, отмечен высокий или очень высокий уровень вариации численности (CV от 41.32% у коноплянки до 71.8% у черноголового щегла (*Carduelis carduelis*)), все они относятся к группе видов с низким обилием. Низкая или средняя изменчивость показателя (17.16–22.36%) на этой стадии сукцессии характерна для доминирующих видов. Основу орнитокомплекса на стадии молодых культур составляют гнездящиеся перелетные птицы (66.7% видов, 74.6% суммарного обилия),

доля ближних мигрантов (40.0% видов) несколько больше, чем дальних (26.7% видов) (табл. 4).

В молодых культурах зарегистрировано 15 видов птиц (рис. 1). Из орнитокомплекса выпадает пять видов (серая куропатка, луговой чекан, луговой конек (*Anthus pratensis*), белая трясогузка (*Motacilla alba*), полевой жаворонок (*Alauda arvensis*)), связанных своей жизнедеятельностью с открытыми территориями. В составе орнитокомплекса впервые появляется пять дендрофильных видов: зяблик (*Fringilla coelebs*), славка-черноголовка (*Sylvia atricapilla*), пеночка-теньковка (*Phylloscopus collybita*) (ближние мигранты), пеночка-весничка (*Ph. trochilus*) и пеночка-трещотка (*Ph. sibilatrix*) (дальние мигранты). Суммарное обилие продолжает снижаться и достигает минимальных значений для сукцессионной серии –  $138.5 \pm 3.53$  особей/км<sup>2</sup>. На этой стадии доминируют три вида: лесной конек ( $30.0 \pm 2.26$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 24.30%), обыкновенная овсянка ( $16.5 \pm 1.62$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 34.00%) и зяблик

Таблица 3. Динамика доминирования видов птиц на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых летом (доля от суммарного обилия, %)

Вид	Возраст сукцессии, лет					
	1-3	4-9	10-20	30-40	60-70	80-90
Лесной конек	20.2	24.1	21.7	11.2	11.3	10.3
Луговой чекан	33.2	—	—	—	—	—
Лесной жаворонок	17.8	19.8	—	—	—	—
Обыкновенная овсянка	—	18.4	11.9	—	—	—
Зарянка	—	—	—	10.4	—	—
Зяблик	—	—	23.3	25.6	28.2	26.2
Всего	71.2	62.2	56.9	47.2	39.5	36.5

**Таблица 4.** Пространственно-временная динамика статуса гнездящихся видов птиц на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых

Статус	Доля, %	Возраст сукцессии, лет					
		1–3	4–9	10–20	30–40	60–70	80–90
Оседлые	От количества видов	25.0	20.0	13.3	29.2	31.0	31.0
	От суммарного обилия	11.7	20.3	13.4	24.4	22.9	24.0
Перелетные, частично зимующие	От количества видов	–	13.3	20.0	12.5	16.7	16.7
	От суммарного обилия	–	5.1	30.5	29.9	32.7	31.1
Перелетные	От количества видов	75.0	66.7	66.7	58.3	52.4	52.4
	От суммарного обилия	88.3	74.6	56.0	45.7	44.3	44.9
Ближние мигранты	От количества видов	62.5	40.0	20.0	16.7	16.7	16.7
	От суммарного обилия	55.1	61.6	38.5	26.0	21.6	20.9
Дальние мигранты	От количества видов	12.5	26.7	46.7	41.7	35.7	35.7
	От суммарного обилия	33.2	13.1	17.5	19.7	22.7	24.0

( $32.3 \pm 1.71$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 17.80%). Их доля в видовом составе равна 20.0%, в суммарном обилии – 56.9% (табл. 3). Наиболее высокие значения коэффициента вариации (42.12–65.26%) отмечены у видов с низкой численностью, обилие которых не превышает 2.0 особей/км<sup>2</sup> (табл. 2).

На стадии возраста 30–40 лет на месте вырубки развивается сосняк мшистый, в котором доминирует сосна с примесью березы, дуба и других пород. Увеличиваются видовое разнообразие сообщества (24 вида) и суммарное обилие (183.4 особей/км<sup>2</sup>) (рис. 1). В сообществе птиц растет представительство дендрофильных видов, здесь начинают регистрироваться деряба (*Turdus viscivorus*), славка-завирушка (*Sylvia curruca*), обыкновенный поползень (*Sitta europaea*), крапивник (*Troglodytes troglodytes*), большая синица (*Parus major*), хохлатая синица (*Lophophanes cristatus*), буроголовая гаичка (*Parus montanus*), серая мухоловка (*Muscicapa striata*), мухоловка-пеструшка (*Ficedula hypoleuca*), обыкновенная иволга (*Oriolus oriolus*), сойка (*Garrulus glandarius*), обыкновенный козодой (*Caprimulgus europaeus*), большой дятел (*Dendrocopos major*), рябчик (*Tetrastes bonasia*). Начиная со стадии молодняка перестают встречаться черноголовый шегол, коноплянка, обыкновенный жулан, обыкновенная овсянка и серая славка. На этой стадии доминируют три вида: зяблик ( $47.0 \pm 2.15$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 15.03%), лесной конек ( $20.5 \pm 1.64$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 25.83%) и зарянка (*Erithacus rubecula*) ( $19.0 \pm 1.72$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 30.77%); их доля в видовом составе равна 12.5%, в суммарном обилии – 47.2% (табл. 2, 3). В группу видов с низким обилием на этой стадии входят 19 видов, показатель изменчивости (CV) у них варьирует от 31.25 до 77.00%. Чем меньше обилие вида, тем большую роль играют стохастические вариации, например, у видов со средним обилием

1.0 особей/км<sup>2</sup> ( $n = 3$ ) CV изменяется от 71.00 до 77.00%. В орнитокомплексе преобладают гнездящиеся перелетные виды (58.3% общего количества видов, 45.7% суммарного обилия), 71.4% из них относятся к дальним мигрантам. На долю оседлых видов (обыкновенный поползень, большая синица, хохлатая синица, буроголовая гаичка, сойка, большой дятел, рябчик) приходится 29.2% разнообразия и 24.4% населения.

Значительное увеличение видового разнообразия и численности птиц отмечается на стадии соснового леса среднего возраста (60–70 лет): зарегистрировано 42 вида, суммарное обилие которых составляет  $541.3 \pm 6.12$  особей/км<sup>2</sup> (рост в 2.9 раза) (рис. 1). Орнитокомплекс приобретает характерный для данного типа леса облик, увеличивается разнообразие дятлообразных (желна (*Dryocopus martius*), вертишейка (*Jynx torquilla*)) и воробьинообразных (зеленушка (*Chloris chloris*), желтоголовый королек (*Regulus regulus*), обыкновенная пищуха (*Certhia familiaris*) и др.). Средневозрастные леса заселяют черный аист (*Ciconia nigra*) и дневные хищные птицы: тетеревиатник (*Accipiter gentilis*), перепелятник (*A. nisus*), обыкновенный канюк (*Buteo buteo*), чеглок (*Falco subbuteo*), обыкновенный осоед (*Pernis apivorus*). По обилию доминируют лесной конек ( $61.0 \pm 2.84$  особей/км<sup>2</sup>) и зяблик ( $250.0 \pm 6.51$  особей/км<sup>2</sup>), численность которого на этой стадии отличается высокой стабильностью (CV = 6.02%). У видов со средними показателями обилия ( $n = 10$ ) показатель изменчивости варьирует от 10.63 до 34.68%, у видов с обилием менее 10 особей/км<sup>2</sup> ( $n = 30$ ) – от 17.68 до 82.50%. Особенно велик показатель CV у редких видов (обилие ниже 1.0 особей/км<sup>2</sup>).

На стадии спелого соснового леса (80–90 лет) видовой состав орнитокомплекса не претерпевает изменений по сравнению с предыдущей стадией,

**Таблица 5.** Среднее обилие (особей/км<sup>2</sup>) и коэффициент изменчивости (CV, %) наиболее многочисленных видов, зарегистрированных на трех и более стадиях сукцессии. Приведены коэффициенты корреляции  $r$  между средней плотностью и коэффициентом изменчивости (критическое значение  $r$  при  $\alpha = 0.05$  и  $n = 3$  составляет 0.997, при  $n = 4 - 0.950$ , при  $n = 5 - 0.878$ , при  $n = 6 - 0.811$ )

Вид	Возраст сукцессии, лет												$r$
	1–3		4–9		10–20		30–40		60–70		80–90		
	обилие	CV	обилие	CV	обилие	CV	обилие	CV	обилие	CV	обилие	CV	
Большой дятел							4.8	29.80	20.0	19.35	23.6	17.96	–0.997
Лесной жаворонок	30.6	23.17	33.0	19.72	10.3	41.01	6.2	42.23	12.4	34.68	13.2	31.58	–0.962
Лесной конек	34.7	19.02	40.2	17.16	30.0	24.30	20.5	25.83	61.0	16.47	60.3	13.95	–0.917
Певчий дрозд			4.7	30.84	8.0	33.51	6.8	33.46	16.3	22.04	17.5	25.69	–0.862
Зарянка			5.8	34.78	13.1	32.00	19.0	30.77	32.0	19.76	32.6	16.51	–0.966
Мухоловка-пеструшка							1.9	52.26	16.0	27.25	20.0	22.72	–0.99
Пеночка-трещотка					2.2	50.90	7.70	31.43	39.4	11.90	40.5	11.60	–0.991
Буроголовая гаичка							14.0	22.23	39.0	15.80	39.7	15.93	–0.999
Большая синица							14.8	29.30	25.4	18.10	25.7	16.37	–0.965
Зяблик					32.3	17.80	47.0	15.03	152.6	6.02	153.7	7.16	–0.991
Обыкновенная овсянка	17.0	32.82	30.7	21.52	16.5	34.00							–0.999

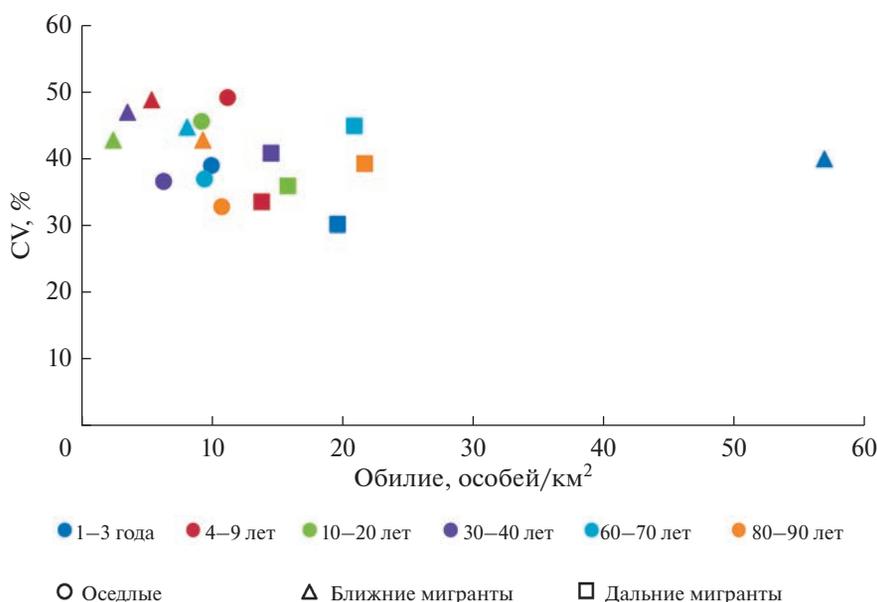
суммарное обилие достигает наибольшего значения –  $587.1 \pm 7.82$  особей/км<sup>2</sup> (табл. 2, рис. 1). В спелом сосновом лесу птицы заселяют все ярусы. Преобладают виды, которые гнездятся и добывают корм в дуплах и кронах деревьев, многие виды гнездятся и добывают корм на земле, на поваленных деревьях или валежнике, встречаются также и те, которые устраивают гнезда на кустарниках и в подлеске. Наиболее стабильно население доминирующих видов – зяблика ( $153.7 \pm 3.36$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 7.16%) и лесного конька ( $60.3 \pm 2.79$  особей/км<sup>2</sup>, CV = 13.95%). Коэффициент вариации видов со средней численностью ( $n = 11$ ) изменяется от 11.60 до 31.58%, изменчивость численности большинства видов с обилием менее 10.0 особей/км<sup>2</sup> ( $n = 29$ ) велика, как и на предыдущей стадии (например, у чеглока CV = 82.50%) (табл. 2). Установлено, что у наиболее многочисленных видов корреляция между средним обилием и коэффициентом вариации обилия на разных стадиях сукцессии является отрицательной для всех наиболее распространенных видов (табл. 5).

На последних двух стадиях преобладают гнездящиеся перелетные птицы (52.4% общего количества видов, 44.3–44.9% суммарного обилия). Увеличивается доля оседлых птиц – до 31.0% от общего количества видов, – среди которых есть как дуплогнездники, так и открыто гнездящиеся виды. К птицам, зарегистрированным на стадии молодняков, добавляются желтоголовый королек, обыкновенная пищуха, серая ворона, ворон, желна, тетеревиатник, перепелятник. Население оседлых видов и дальних мигрантов является более стабильным, чем ближних мигрантов (рис. 2).

В средневозрастных и спелых сосняках мшистых отмечены два вида птиц, включенных в Красную книгу Республики Беларусь (2015): черный аист и чеглок. Европейскую природоохранную значимость (SPEC – Species of European Conservation Concern) имеют 13 видов птиц, зарегистрированных в ходе исследования: черный аист, обыкновенный козодой, хохлатая синица, коноплянка, лесной жаворонок, пеночка-трещотка и обыкновенная горихвостка (*Phoenicurus phoenicurus*) отнесены ко второй категории, серая куропатка, вертишейка, вальдшнеп (*Scolopax rusticola*), полевой жаворонок, обыкновенный жулан и серая мухоловка – к третьей (European Birds..., 2017).

Изменение показателей орнитокомплексов, сменяющих друг друга в процессе сукцессии сосняков мшистых, указывает на существование двух фаз: относительно короткой фазы кустарниковых зарослей и более длинной фазы настоящего леса (рис. 1). Смена этих фаз происходит примерно с третьей стадии, когда в сообществе птиц появляются виды, тесно связанные с древесными насаждениями. С этого времени количество видов и суммарное обилие возрастают до достижения стадии спелого леса. Наиболее низкие значения индекса видового разнообразия  $H$  (2.54) характерны для первой стадии, по ходу сукцессии разнообразие орнитокомплексов увеличивается и достигает максимума на шестой стадии (4.16). Индекс выравненности, напротив, на двух последних стадиях сукцессии несколько снижается.

По ходу сукцессии изменяется распределение гнездящихся птиц по ярусам (табл. 6). На первой стадии представлены только наземно гнездящие-



**Рис. 2.** Взаимосвязь между средним обилием (особей/км<sup>2</sup>) и коэффициентом вариации обилия (%) у оседлых видов, ближних и дальних мигрантов.

ся виды. Начиная со второй стадии, их участие постепенно снижается, и на пятой и шестой стадиях доля этой группы в видовом разнообразии составляет 21.4%, в суммарном обилии – 32.8–34.0%. На второй–шестой стадиях сукцессии в орнитокомплексах регистрируются от трех до четырех видов птиц, гнездящихся на кустарниках. Количество видов, гнездящихся на деревьях, по мере увеличения возраста основной лесообразу-

**Таблица 6.** Распределение видов птиц по ярусам гнездования на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых

Возраст сукцессии, лет	Земля	Кустарники	Деревья
1–3	<u>100.0</u> 100.0	–	–
4–9	<u>60.0</u> 89.8	<u>20.0</u> 5.6	<u>20.0</u> 4.7
10–20	<u>46.7</u> 57.0	<u>26.7</u> 10.5	<u>26.7</u> 32.5
30–40	<u>33.3</u> 34.7	<u>12.5</u> 5.2	<u>54.2</u> 60.1
60–70	<u>21.4</u> 34.0	<u>9.5</u> 3.0	<u>69.0</u> 62.9
80–90	<u>21.4</u> 32.8	<u>9.5</u> 3.8	<u>69.0</u> 63.5

**Примечание.** Для каждой группы птиц: над чертой – доля от общего количества видов, под чертой – доля от суммарного обилия, %.

ющей породы растет и на последних двух стадиях достигает максимума – 29 видов (69.0% разнообразия, 62.9–63.5% суммарного обилия), в том числе 13 видов-дуплогнездников или полудуплогнездников.

Оценка сходства видового состава сообществ птиц на разных стадиях вторичной сукцессии сосняков мшистых показала, что наибольшее сходство отмечено между сообществами, формирующимися на первых двух стадиях сукцессии (69.6%) и трех последних стадиях (72.7–100.0%) (табл. 7).

В ряде источников литературы рассматриваются смены населения птиц в процессе вторичной сукцессии лесной растительности в других регионах. В сосняках черничных на территории Белорусского Полесья (Лельчицкий и Лунинецкий районы) учтено 11 видов певчих птиц суммарной численностью 2.21 пары на 1 га, в том числе пеночка-весничка 0.80, зяблик 0.37, серая мухоловка 0.22, иволга 0.14, мухоловка-пеструшка 0.14, остальные виды по 0.07 пары на 1 га (Долбик, 1974). Эти данные равны или значительно выше данных, указанных в работе Е.С. Равкина с соавторами (2001), по которым средняя суммарная плотность населения птиц для подкласса мелколиственных лесов равна 669 особей/км<sup>2</sup>.

В сосновых лесах на территории Польши по ходу возобновления после сплошной рубки (Богуйский, Беднорз, 1982) количество гнездящихся видов птиц возрастает с 2 до 30, обилие – с 2.3 до 62.9 пар на 10 га.

**Таблица 7.** Сходство видового богатства орнитокомплексов на разных стадиях восстановительной сукцессии сосняков мшистых по коэффициенту Жаккара, %

Возраст сукцессии, лет	1–3	4–9	10–20	30–40	60–70	80–90
1–3		69.6	34.8	18.8	12.0	12.0
4–9			66.7	25.6	17.5	17.5
10–20				51.3	35.1	35.1
30–40					72.7	72.7
60–70						100.0

В сосняках черничных Юго-Западной Беларуси на разных стадиях демутационной сукцессии на месте сплошных рубок (Абрамова, 2021) видовое разнообразие птиц увеличивается от 10 до 45 видов, суммарное обилие – от 159.2 до 687.0 особей/км<sup>2</sup>, что несколько выше по сравнению с сосняками мшистыми. Для смены орнитокомплексов в этих двух типа леса характерно, что суммарное обилие птиц на стадии молодых культур (10–20 лет) снижается по сравнению с предыдущей стадией, а к приспевающим и спелым лесам вновь возрастает. Отметим, что орнитокомплекс сосняков мшистых ГНП “Беловежская пуца” (Абрамова, 2007) отличается более высокими показателями по сравнению с вторичными сосняками (в спелом лесу отмечено 43 вида, их суммарное обилие 697.4 особей/км<sup>2</sup>).

В еловых лесах в ходе сукцессии от свежей рубки до возраста 90–100 лет видовое разнообразие птиц увеличивается от 10 до 59 видов, суммарное обилие – от 230.3 до 689.5 особей/км<sup>2</sup> (Абрамова, 2017). Основные экологические параметры населения птиц (видовое разнообразие, обилие, биомасса) прогрессивно возрастают от свежей вырубке до спелого леса. Исключение составляет стадия мелколиственного леса (20–30 лет), на которой основные характеристики орнитокомплекса меньше по сравнению с предыдущей и последующей стадиями.

В хвойных лесах южной тайги (Костромская обл.) смена населения птиц в ходе зарастания вырубок носит сходный характер. На вырубках обитает 5–8 фоновых видов с обилием более 0.1 пары на 10 га, на последующих стадиях сукцессии хвойных лесов эти показатели увеличиваются в 2–4 раза (Преображенская, Борисов, 1987). В процессе зарастания вырубок и гарей сосновых лесов были выявлены следующие закономерности: от ранних открытых стадий к поздним видовое богатство и общее разнообразие орнитокомплексов (индекс Шеннона) увеличиваются, а индекс выравненности (Пиелу) снижается (Преображенская, 1998).

Смена орнитокомплексов в ходе демутационной сукцессии на месте рубок прослежена в еловых

лесах Северо-Восточной Финляндии в 1982–1985 гг. (Helle, Mõnkkõnen, 1986). Плотность населения птиц снижается от первой стадии (возраст 8 лет) ко второй (насаждения возраста 25–30 лет), затем несколько возрастает на стадии приспевающего леса (70 лет), а к стадии спелого елового леса (150 лет) вновь снижается. У видов с высокой численностью в приспевающих еловых лесах коэффициент вариации колеблется от 23.9% у лесного конька до 77.1% у чижа, на стадии климакса – от 23.7% у лесного конька до 109.9% у обыкновенной чечетки. Выявлена отрицательная корреляция между изменчивостью и средней плотностью вида для многочисленных видов, у дальних мигрантов (как группы) изменчивость плотности была ниже, чем у ближних мигрантов или оседлых видов. Такие тенденции для изменчивости отдельных видов птиц были выявлены автором при изучении орнитокомплексов на разных стадиях сукцессии сосняков мшистых.

В подзоне средней тайги в Центральной Сибири были изучены изменения населения воробьиных птиц, сопутствующие аллювиальным и пирогенным сериям сукцессии бореальных хвойных лесов (Бурский, 2009). Показано, что в начале пирогенного ряда разнообразие птиц растет за счет добавления видов, характерных для гарей. На стадии мелколиственных молодняков отличия в населении птиц от спелых допозарных древостоев возрастают, с развитием хвойного полога население таежных видов птиц восстанавливается.

Таким образом, основные закономерности изменений населения птиц в ходе сукцессий растительности в изученных лесных экосистемах сходны во всех изученных регионах.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе вторичной сукцессии сосняков мшистых в Юго-Западной Беларуси выделено шесть стадий развития растительности от свежей вырубке до спелого леса 90-летнего возраста. Одновременно с сукцессией растительности протекает и смена орнитокомплексов, это характерно и для других типов леса в различных регионах Евразии.

зии. В ходе сукцессии сосняков мшистых видовое богатство птиц увеличивается от 8 до 42 видов, суммарное обилие — от 171.7 до 587.1 особей/км<sup>2</sup>. Установлены обилие видов и межгодовая изменчивость в течение 11 сезонов.

Среднее обилие видов варьирует в значительных пределах, например, на стадии возраста 80–90 лет среди воробьинообразных — от 1.1 (малая мухоловка) до 153.7 особей/км<sup>2</sup> (зяблик). В спелом лесу в группу видов с обилием менее 10 особей/км<sup>2</sup> входит 27 видов (64.2% общего количества), их общее обилие составляет 107.0 особей/км<sup>2</sup> (18.2% суммарного обилия). Низкое обилие характерно для дневных хищных птиц (от 0.7 особей/км<sup>2</sup> у чеглока до 1.4 особей/км<sup>2</sup> у тетеревятника), дятлообразных (1.3 особей/км<sup>2</sup> у желны и 2.5 особей/км<sup>2</sup> у вертишейки), клинтуха (1.7 особей/км<sup>2</sup>), обыкновенного козодоя (1.6 особей/км<sup>2</sup>), вальдшнепа (1.5 особей/км<sup>2</sup>), обыкновенной кукушки (1.2 особей/км<sup>2</sup>), черного аиста (1.0 особей/км<sup>2</sup>). Группу видов со средним обилием составляет 11 видов (26.1% общего количества): пеночка-трещотка, буроголовая гаичка, большая синица, зарянка, большой дятел и др. Их общее обилие составляет 259.2 особей/км<sup>2</sup> (44.2% суммарного обилия). Высокое обилие отмечено у двух видов: лесного конька и зяблика; их обилие составляет 36.5% суммарного обилия орнитокомплекса.

Наиболее стабильно население видов с высоким обилием, например, у зяблика на последних двух стадиях сукцессии СВ равняется 6.02 и 7.16%. У видов со средними показателями обилия изменчивость характеризуется как низкая или средняя (варьирует от 11.90 до 36.20%). Чем меньше обилие вида, тем большую роль играют стохастические процессы. У видов с низким обилием СВ варьирует от 17.68 до 82.50%, наиболее высокие значения коэффициента вариации (71.00–82.50%) у видов, обилие которых не превышает 1.0 особей/км<sup>2</sup>.

На всех шести стадиях сукцессии преобладают гнездящиеся перелетные птицы, на долю которых приходится от 75.0% видов на первой стадии до 52.4% на пятой и шестой стадиях. Основу населения птиц на всех стадиях составляют ближние и дальние мигранты, оседлые виды, как правило, немногочисленны, их участие в суммарном обилии не превышает 24.4%. Население оседлых видов и дальних мигрантов является более стабильным, чем население ближних мигрантов.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

В сборе материалов для данной работы помощь оказывал зоолог В.Е. Гайдук, за что автор выражает ему искреннюю благодарность.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием лабораторных животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абрамова И.В.*, 2007. Структура и динамика населения птиц экосистем юго-запада Беларуси. Брест: БрГУ. 208 с.
- Абрамова И.В.*, 2017. Сукцессия населения птиц в ходе восстановительной смены еловых лесов в юго-западной части Беларуси // Журн. Белорус. гос. унта. География. Геология. № 2. С. 31–39.
- Абрамова И.В.*, 2022. Динамика обилия видов птиц в ходе сукцессии дубовых лесов юго-западной Беларуси // Зоол. журн. Т. 101. № 11. С. 1232–1242.
- Бибби К., Джонс М., Мардсен С.*, 2000. Методы полевых экспедиционных исследований. Исследования и учеты птиц. М.: Союз охраны птиц России. 186 с.
- Богуйский З., Беднорз Я.*, 1982. Вторичная сукцессия сообществ птиц, гнездящихся в сухих сосновых лесах в Польше // XVIII Междунар. орнитол. конгресс: Тез. докл. М.: Наука. С. 134–135.
- Бурский О.В.*, 2009. Структура населения и динамика популяций воробьиных птиц в центральной Сибири. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. 30 с.
- Владышевский Д.В.*, 1980. Экология лесных птиц и зверей (кормодобывание и его биоценологическое значение). Новосибирск: Наука. 264 с.
- Государственный лесной кадастр Республики Беларусь по состоянию на 01.01.2021 г., 2021. Минск: Белгослес. 88 с.
- Гриднева В.В., Мельников В.Н.*, 2013. Динамика населения птиц в ходе сукцессионных изменений после рубок различного типа в Восточном Верхневолжье // Вестн. ТГУ. Т. 18. № 6. С. 3227–3230.
- Данилов Н.Н.*, 1958. Изменения в орнитофауне зарастающих вырубков на Среднем Урале // Зоол. журн. Т. 37. № 12. С. 1898–1903.
- Долбик М.С.*, 1974. Ландшафтная структура орнитофауны Белоруссии. Минск: Наука и техника. 312 с.
- Иноземцев А.А.*, 1987. Птицы и лес. М.: Агропромиздат. 302 с.
- Красная книга Республики Беларусь. Животные, 2015. Минск: Беларуская энцыклапедыя. 317 с.
- Кузякин А.П.*, 1962. Зоогеография СССР // Учен. зап. МОПИ им. Н.К. Крупской. Т. 109. Биогеография. Вып. 1. С. 3–182.

- Лабоха К.В., Луферов А.О., Карась А.Н., 2020. Современное состояние сосновых лесов Беларуси // Тр. БГТУ. Сер. 1. № 1. С. 28–38.
- Ловчий Н.Ф., 2012. Кадастр типов сосновых лесов Белорусского Полесья. Минск: Беларус. навука. 221 с.
- Одум Ю., 1975. Основы экологии. М.: Мир. 740 с.
- Преображенская Е.С., 1998. Экология воробьиных птиц Приветлужья. М.: КМК Scientific Press Ltd. 200 с.
- Преображенская Е.С., Борисов Б.И., 1987. Смены птичьего населения в ходе зарастания различных типов вырубок Приветлужья // Влияние антропогенной трансформации ландшафта на население наземных позвоночных животных: Тез. Всесоюз. совещ. Ч. 2. М.: Б. и. С. 157–158.
- Равкин Е.С., Бышнев И.И., Качанов С.К., Равкин Ю.С., Ануфриев В.М. и др., 2001. Пространственное разнообразие летнего населения птиц Восточно-Европейской и Западно-Сибирской равнин // Достижения и проблемы орнитологии Северной Евразии на рубеже веков: Тр. междунар. конф. "Актуальные проблемы изучения и охраны птиц Восточной Европы и Северной Азии". Казань: "Новое знание". С. 212–236.
- Равкин Ю.С., 1967. К методике учета птиц лесных ландшафтов // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. Новосибирск: Наука. С. 66–75.
- Равкин Ю.С., 1984. Пространственная организация населения птиц лесной зоны. Новосибирск: Наука. 264 с.
- Щеголев В.И., 1977. Количественный учет птиц в лесной зоне // Методики исследования продуктивности и структуры видов птиц в пределах их ареалов. Вильнюс: Мокслас. С. 95–102.
- Юркевич И.Д., Голод Д.С., Адерихо В.С., 1979. Растительность Белоруссии и ее картографирование, охрана и использование. Минск: Наука и техника. 248 с.
- Abramova I., 2021. Changes in bird communities throughout secondary bilberry pine forest succession in southwestern Belarus // Modern Problems and Solutions in Environmental Protection – 2021 Post-conference monograph. Białymstok: Wydawnictwo Uniwersytetu w Białymstoku. P. 163–178.
- Akresh M.E., King D.I., Brooks R.T., 2015. Demographic response of a shrubland bird to habitat creation, succession, and disturbance in a dynamic landscape // For. Ecol. Manag. V. 336. P. 72–80.
- Annand E.M., Thompson F.R., 1997. Forest bird response to regeneration practices in central hardwood forests // J. Wildl. Manag. V. 61. P. 159–171.
- Clements J.F., Schulenberg T.S., Iliff M.J., Fredericks T.A., Gerbracht J.A. et al., 2022. The eBird/Clements checklist of Birds of the World: v2022. <https://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/>.
- DeGraaf R.M., Yamasaki M., 2003. Options for managing early-successional forest and shrubland bird habitats in the northeastern United States // For. Ecol. Manag. V. 185. № 1–2. P. 179–191.
- European Birds of Conservation Concern: Populations, Trends and National Responsibilities, 2017. Cambridge: BirdLife International. 172 p.
- Freedman B., Johnson G., 1999. Selected studies of forestry and bird communities in Nova Scotia and New Brunswick // Biology and Conservation of Forest Birds. Fredericton: Society of Canadian Ornithologists. P. 65–72.
- Głowaciński Z., 1975. Succession of bird communities in the Niepolomice Forest (Southern Poland) // Ecol. Pol. V. 23. № 2. P. 231–263.
- Głowaciński Z., 1979. Some ecological parameters of avian communities in the succession series of a cultivated pine forest // Bull. Acad. Pol. Sci. V. 27. № 3. P. 169–177.
- Głowaciński Z., 1981. Stability in bird communities during the secondary succession of a forest ecosystem // Ecol. Pol. V. 29. № 1. P. 73–95.
- Haapanen A., 1965. Bird fauna of the Finnish forests in relation to forest succession: I // Ann. Zool. Fenn. V. 2. № 3. P. 153–196.
- Haapanen A., 1966. Bird fauna of the Finnish forests in relation to forest succession: II // Ann. Zool. Fenn. V. 3. № 3. P. 176–200.
- Helle P., 1985. Habitat selection of breeding birds in relation to forest succession in Northeastern Finland // Ornis Fenn. V. 62. P. 113–123.
- Helle P., Mönkkönen M., 1986. Annual fluctuations of land bird communities in different successional stages of boreal forest // Ann. Zool. Fenn. V. 23. P. 269–280.
- Holmes R.T., Sherry T.W., 2001. Thirty-year bird population trends in an unfragmented temperate deciduous forest: Importance of habitat change // Auk. V. 118. № 3. P. 589–609.
- Järvinen O., 1979. Geographical gradients of stability in European land bird communities // Oecologia. V. 38. P. 51–69.
- Järvinen O., Väisänen R., 1976. Finnish line transect censuses // Ornis Fenn. V. 53. № 4. P. 115–118.
- Johnson D.V., Odum E.P., 1956. Breeding bird populations in relation to plant succession on the piedmont of Georgia // Ecology. V. 37. P. 50–62.
- Perry R.W., Jenkins J.M.A., Thill R.E., Thompson F.R., 2018. Long-term effects of different forest regeneration methods on mature forest birds // For. Ecol. Manag. V. 408. P. 183–194.
- Schlossberg S., King D.I., 2009. Postlogging succession and habitat usage of shrubland birds // J. Wildl. Manag. V. 73. № 2. P. 226–231.
- Southwood T.R.E., Brown V.K., Reader P.M., Green E.E., 1986. The use of different stages of a secondary succession by birds // Bird Study. V. 33. № 3. P. 159–163.

## Bird population dynamics during the regenerative succession of mossy pine woodland in southwestern Belarus

I. V. Abramova\*

*Pushkin Brest State University  
Cosmonauts Boulevard, 21, Brest, 224016 Belarus*

*\*e-mail: iva.abramova@gmail.com*

Disturbed forest ecosystems are characterized by significant spatial and temporal changes. As a part of the study on bird communities, changes in bird abundance during the secondary succession of a cleared mossy pine woodland in southwestern Belarus were investigated. The purpose of the work was to determine the inter-annual dynamics of bird species abundance and to assess the variability of individual species abundance during the secondary succession of the mossy pine woodland. The material was collected in 2000–2019. Line transects were set to conduct bird counts in ecosystems at different stages of succession. For the data processing, generally accepted methods of statistical analysis were used. The species diversity of birds was found to increase from 8 to 42 species, the overall abundance from 171.7 to 587.1 birds/km<sup>2</sup> during the succession (6 stages, from 1 to 90 years in age). The abundance of species (birds/km<sup>2</sup>) and inter-annual variability during 11 seasons were determined. The coefficient of variation (CV) was the highest (71.00–82.50%) for species whose abundance did not exceed 1.0 birds/km<sup>2</sup>. The average abundance of species varied considerably, e.g., among passerines at the 80–90-year old stage from 1.1 birds/km<sup>2</sup> (Little Flycatcher) to 153.7 birds/km<sup>2</sup> (Chaffinch). Bird populations with high abundance turned out to be the most stable, for example at the last two successional stages the CV of the Chaffinch is 6.02 and 7.16%. For species with average abundance the variability is found to be low or medium (varies from 11.90 to 36.20%), for species with low abundance the CV varies from 17.68 to 82.50%. All six stages of succession were dominated by nesting migratory birds, which account for 75.0% of the species in the first stage of succession to 52.4% in the fifth and sixth stages. Near and distant migrants form the basis of the bird community at all stages. Populations of sedentary species and distant migrants are more stable than those of near migrants.

УДК 57.032+58.01

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА РОСТА ПОБЕГОВ У РАСТЕНИЙ *FORSYTHIA OVATA* NAKAI: РИТМИЧНОСТЬ АПИКАЛЬНОГО И РАДИАЛЬНОГО РОСТА

© 2023 г. С. А. Шавнин<sup>1</sup>, \*, А. А. Монтиле<sup>1</sup>, Л. А. Семкина<sup>1</sup>, А. И. Монтиле<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ботанический сад Уральского отделения РАН  
ул. 8 Марта, 202а, Екатеринбург, 620144 Россия

\*E-mail: sash@botgard.uran.ru

Поступила в редакцию 12.10.2022 г.

После доработки 13.02.2023 г.

Принята к публикации 26.02.2023 г.

Целью исследований являлось установить характер (линейный или нелинейный) и форму (наличие экстремумов и трендов) зависимостей от времени скоростей апикального и радиального видов роста побегов двух типов (ветвления и формирования) у древесных растений на примере интродуцированного на Среднем Урале декоративного раннецветущего вида кустарников – форзиции овальной (*Forsythia ovata* Nakai). Проведено изучение сезонных динамик морфометрических показателей отличающихся по интенсивности роста и происхождению (вырастающих из верхушечных и спящих почек скелетной ветви) побегов, а также сделана оценка их связи с температурой воздуха и количеством осадков. Оба вида роста сопровождаются колебаниями величин приростов, продолжительность отдельных фаз которых составляет около 7 и более дней, что позволяет отнести данное явление к инфрадианным ритмам роста. Слабая связь характеристик наблюдаемых колебаний с погодными условиями указывает на преимущественно эндогенную природу определяющих их морфогенетических процессов. Рост побегов формирования начинается на 4 нед. позже, чем побегов ветвления, что связано, по-видимому, с временем активации роста спящей почки. Сезонные динамики величин скоростей и ускорений апикального и радиального роста побегов имеют вид не наблюдавшихся ранее, затухающих по амплитуде и изменяющихся по продолжительности фаз колебаний, завершающихся за 1–2 мес. до наступления неблагоприятных для роста условий среды. Вызывающие изменения скорости роста побегов процессы связаны, по-видимому, с действием двух или более разнонаправленных факторов, определяющих особенности и темпоральные обусловленности увеличения объема в различных сегментах побега (в том числе различный вклад деления и растяжения клеток в изменение геометрических размеров доменов апикальной меристемы). У обоих типов побегов существуют отличия сезонных динамик величин апикального и радиального приростов по продолжительности роста (6–8 и 4 нед. соответственно), количеству экстремумов, амплитуде и длительности отдельных фаз колебаний. Кривые динамик скоростей апикального роста имеют два максимума, а радиального – один. Каждый из видов роста, несмотря на задержку его начала у побегов формирования, имеет у разных типов побегов одинаковую общую продолжительность, а формы кривых сезонных изменений величин скоростей и ускорений у разных типов побегов аналогичны. Сходство форм кривых сезонных динамик отдельных видов роста у разных типов побегов указывает на наличие у побегов одинаковых, обусловленных в конечном счете генотипом, “программ” регуляции роста, проявляющихся в наблюдаемых колебаниях. Ритмичность роста побегов обоих типов в течение сезона позволяет предполагать существование взаимосвязи во времени скоростей деления и роста отдельных клеток, находящихся в функционально отличающихся группах клеток зоны апекса. Отличия динамик у разных типов побегов заключаются в том, что у побегов формирования амплитуды колебаний выше, чем у побегов ветвления. Эта особенность объясняет известный факт более высоких величин их суммарных приростов.

DOI: 10.31857/S0044459623020057, EDN: RALCMZ

Изучение биологических ритмов относится к числу актуальных проблем биологии развития. Одним из ее важных аспектов является исследование периодических процессов роста древесных растений и их связи с образованием разных жизненных форм и ходом морфогенеза (Серебряков, 1962; Сабинин, 1963; Михалевская, 2008). Регуля-

ция этих процессов имеет преимущественно эндогенную природу, включая генетический контроль и гормональный статус, однако на их ход влияют также факторы среды, в том числе отмечаемые в ряде обзорных статей продолжительность светового дня и температура (Luttge, Hertel, 2009; Cooke et al., 2012; Singh et al., 2017, 2020).

Наибольшее количество исследований в этой области связано с изучением молекулярно-генетических и биохимических механизмов, а также моделированием ультрадианных (период колебаний менее 24 ч) и циркадных ритмов травянистых растений (McClung, 2006; Farre, 2012; Kim et al., 2017; Edwards et al., 2018; Mahmud et al., 2018, и др.). Проявления инфрадианных ритмов (период колебаний более 24 ч) и механизмов их возникновения изучены в меньшей степени. В годичном цикле древесных растений также наблюдается несколько ритмов, появление которых обусловлено действием в первую очередь эндогенных факторов на фоне влияния внешних условий среды, включая их сезонные изменения (Серебряков, 1952, 1962, 1966; Сабинин, 1963; Luttge, Hertel, 2009; Herrmann et al., 2015; Singh et al., 2017). Указания на ритмичность роста древесных растений связаны, как правило, с наличием внешних морфологических признаков изменений скорости роста на поверхности побега (расположение почечного кольца и зон междоузлий), позволяющих определить количество циклов роста и элементарных побегов (Михалевская, 2008). В этой обзорной работе обсуждаются полученные ранее данные о полимодальности кривых распределения элементарных побегов по числу метамеров (Михалевская, 1987), свидетельствующей о квантированности процесса роста у растений и объясняемой периодичностью активности апикальной меристемы на примере трех видов дуба. Кроме того, в статье указывается, что зависимость скорости видимого роста побега обычно имеет вид одновершинной кривой. Других примеров прямых измерений скоростей роста побегов в течение сезона вегетации в данной работе не приводится. Следует отметить, что наличие периодичности в сезонной динамике апикального роста свидетельствует о существовании инфрадианных ритмов изменения скорости роста побега.

Количественный подход к изучению проблемы морфогенеза растений является основой количественной морфогенетики (Магомедмирзаев, 1990) — научного направления, связанного с выявлением закономерностей морфогенеза биологических объектов с помощью математико-статистического анализа результатов, полученных путем прямых измерений. Его применение дополняет традиционные морфологические методы при решении задач, связанных с изучением проявлений действия генетической программы развития при формировании архитектоники растения в виде изменений морфологических признаков во времени. В рамках количественного подхода изучению сезонной динамики скоростей роста древесных растений до настоящего времени уделялось недостаточное внимание. В частности, несмотря на относительно хорошо изученные механизмы генетического контроля роста и анатомио-цитоло-

гическую организацию апикальной меристемы побега, конкретные связи определяющих рост побега процессов с его внешними проявлениями во времени установлены на уровне моделей только для циркадных и ультрадианных ритмов.

Метод количественного анализа морфогенеза был использован при исследовании апикального роста побегов ивы трехтычинковой (*Salix triandra*) (Афонин, 2019а, в, 2021) и ивы корзиночной (*S. viminalis*) (Афонин, 2019б). С его помощью на основе гармонического анализа данных была выявлена цикличность сезонной динамики апикальных приростов побегов, которая объясняется взаимодействием инфрадианных ритмов трех уровней. Соответствующие периоды колебаний составляют 9–18, 21–24 и 29–36 сут. На основании полученных результатов сделано заключение, что “цикличность сезонной динамики суточного прироста определяется синхронизаторами неизвестной природы”, а также высказано предположение об определяющей роли синхронизатора при “завершении развития ранних (преформированных) метамеров и начале развития поздних (примордиальных) метамеров” (Афонин, 2021, с. 4). В число предполагаемых синхронизаторов входят температурный и фотопериодический факторы. К сожалению, автором этого цикла работ возможная природа цикличности роста побегов на тканевом уровне не рассматривалась. Для получения более полного представления о механизмах инфрадианных колебаний, наблюдаемых при развитии апикальной меристемы, представляется важным определить, встречаются ли они у других видов растений (аналогичных работ найти не удалось). Кроме того, для дополнения феноменологии явления с целью углубления интерпретации данных необходимо изучить сезонную динамику радиального роста, так как вопрос о его взаимосвязи с апикальным до настоящего времени слабо изучен (Ding et al., 2021).

Перспективными объектами для изучения проявлений ритмичности роста и развития древесных растений, наряду с быстрорастущими ивами, являются виды, у которых активный рост побегов, несмотря на благоприятные условия среды, заканчивается уже в середине сезона вегетации. К их числу относится кустарник форзиция овальная (*Forsythia ovata* Nakai) (Семкина, Овсянникова, 1998). Раннее цветение и короткий период роста выделяет данный вид среди других при изучении биоритмов. При омоложении кустов древесных растений обрезкой скелетных ветвей из расположенных у основания ветвей спящих почек вырастают побеги формирования (ПФ) (Мазуренко, Хохряков, 1977). ПФ отличаются от побегов ветвления (ПВ) значительно большей величиной годичных апикальных и радиальных приростов, а у многих видов — размерами и количеством листьев. Эта особенность связана с изме-

нениями баланса концентраций ростовых гормонов (в первую очередь ауксинов и цитокининов) в частях стебля, расположенных на разном удалении от апекса (Aloni, 2007; Лутова и др., 2010; Творогова и др., 2012; Медведев, Шарова, 2014; Кулуев, Сафиуллина, 2015; Кулуев, 2017). Данное объяснение основано на преобладающей роли ауксинов в регуляции роста ПВ, а цитокининов — в пробуждении спящих почек после удаления скелетных ветвей и регуляции роста вырастающих из этих почек ПФ. В связи с этим сравнительный анализ морфологических проявлений апикального и радиального роста у разных типов побегов представляется перспективным для выявления сходства и различия между функционированием соответствующих регуляторных систем и выяснения механизмов их работы.

На основании анализа приведенных выше сведений нами были сформулированы следующие рабочие гипотезы: 1) у ПФ и ПВ форзиции овальной существуют инфрадианные ритмы апикального и радиального роста; 2) эти ритмы отличаются у ПВ и ПФ; 3) на ритмы апикального и радиального роста отдельных типов побегов, наряду с эндогенными факторами, оказывают влияние температура воздуха и количество осадков. В связи с проверкой выдвинутых гипотез целью исследований являлось установить характер (линейный или нелинейный) и форму (наличие экстремумов и трендов) сезонных зависимостей от времени скоростей апикального и радиального видов роста побегов двух типов (ветвления и формирования) у древесных растений на примере интродуцированного на Среднем Урале раннецветущего вида — форзиции овальной (*Forsythia ovata* Nakai). В число основных задач работы входило: 1) определение сезонных динамик скоростей и ускорений апикального и радиального роста отличающихся по интенсивности роста и происхождению побегов ветвления и формирования (вырастающих из верхушечных и спящих почек скелетной ветви соответственно); 2) сравнительный анализ характера и формы сезонных динамик морфометрических показателей роста побегов ветвления и формирования; 3) проведение оценки связи изучаемых морфометрических показателей роста побегов с температурой воздуха и количеством осадков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований являлась форзиция овальная (*Forsythia ovata* Nakai), жизненная форма которой — кустарник, обладающий высокой декоративностью благодаря раннему обильному цветению и раскидистой форме кроны, достигающей 2 м и более в диаметре. Ее происхождение — влажные субтропики (Юго-Восточная Азия, Корея). Несмотря на подмерзание верхней части побегов, этот вид интродуцирован и успешно размножается в

коллекции Ботанического сада Уральского отделения РАН (г. Екатеринбург, РФ) с 1962 г. Территория сада относится к южно-таежной подзоне Среднеуральской низкогорной провинции Уральской горно-лесной области (Колесников и др., 1974). В результате селекции была получена устойчивая к полному вымерзанию форма. Растения зацветают во второй декаде апреля и продолжают цвести в течение 3–4 нед. На ПВ и ПФ прошлого года распускаются одиночные (иногда 2–3 штуки) ярко-желтые цветки диаметром около 3 см. На последней неделе цветения из верхушечной почки, находящейся между двумя цветочными, развивается один ПВ первого порядка, интенсивный рост которого длится около 5 нед. Цветочные почки имеют заостренно-яйцевидную форму с плотно прилегающими темно-коричневыми чешуями. Ростовые почки небольшие, конусовидные, покрытые светло-коричневыми чешуями. К началу июля ПВ достигает длины 12–20 см и почти прекращают свой рост, закладывая цветочные и ростовые почки будущего года. На однолетних ПВ развивается 5–7 ярусов листьев, размеры которых незначительно изменяются в течение всей вегетации. ПФ образуются на нижней части скелетной ветви после гибели или удаления ее верхней части. За вегетационный период они могут достигать длины 60–170 см. На следующий год из почек в верхней части туриона развиваются ПВ. Растение легко переносит омоложение обрезкой скелетных ветвей, образующиеся при этом ПФ не изменяют общее состояние куста, и их появление не является результатом раневого роста. Созревание семян происходит в середине октября. Кусты достигают высоты 1.5–2 м и состоят из 5–7 скелетных ветвей. Основной рост куста осуществляется за счет ПВ и появления новых скелетных ветвей, формирующихся из спящих или адвентивных почек. Для наблюдений использовали 6 произрастающих в коллекции кустов. Возраст растений составляет около 15 лет.

В 2019 г. у каждого из исследуемых растений на высоте 100–150 см от поверхности были выбраны 16 ПВ, растущих из терминальных почек отдельных скелетных ветвей (2–3 ПВ на кусте). При этом на каждом кусте примерно за 1 мес. до начала цветения была произведена выборочная обрезка 1–2 скелетных ветвей под пень для получения ПФ из спящих почек, расположенных на высоте 3–5 см от поверхности почвы. После начала роста ПФ из них были выбраны 15 экземпляров для исследований (2–4 побега на кусте). У всех побегов определяли высоту (общая длина побега) и диаметр у основания побега. Измерения проводили у ПВ и ПФ с интервалом 6–10 дней в течение вегетационного периода — с начала роста ПВ в мае до начала сентября. Величина интервала была установлена с учетом предварительно определенного периода роста побегов (7–8 нед.). Длину побега

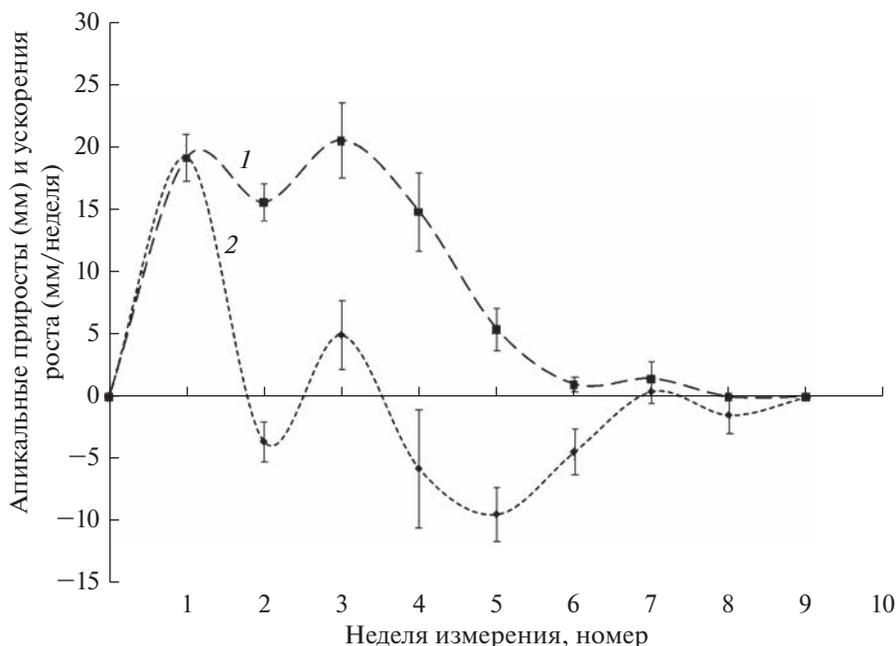


Рис. 1. Сезонная динамика апикального роста ПВ: 1 – приросты, 2 – ускорения.

измеряли от его основания с момента начала роста, а диаметр – у его базальной части с точностью 1 и 0.01 мм соответственно.

Обработку данных проводили в пакетах Excel (Microsoft, 2007) и Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007). Для построения графиков сезонных динамик средних приростов (апикальных и по радиусу) побегов форзиции данные за каждую дату измерения усредняли для ПВ и ПФ по отдельности и рассчитывали стандартные ошибки. Ускорения изменений приростов рассчитывали как разности между приростами за две смежные даты измерений, деленные на промежуток времени между ними по формуле  $\Delta V/\Delta t$ , где  $V$  – величина прироста,  $\Delta V = V_{t+1} - V_t$ ,  $\Delta t$  – время между измерениями, которое постоянно и равно одной неделе. На рисунках представлены стандартные сглаживающие кривые графиков, получаемые в пакете Excel. Ввиду того, что период измерений составлял одну неделю, а также с целью облегчения восприятия текста, на рисунках и в тексте приведены номера недель, начиная от начала измерений. Для выявления сезонных трендов роста отдельных побегов строилась аппроксимация ростовых кривых участком S-образной функции, имеющей вид

$$Y = \frac{(aX + b)}{\sqrt{1 + cX^2}}$$

Для установления влияния погодных условий вегетационного периода на приросты применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, в котором фактором выступала либо температура, либо уровень осадков, эффект фактора принимался

достоверным при уровне значимости  $p < 0.05$ . При выполнении анализа значения средних температур и осадков за неделю, предшествующую дате измерения приростов, были разбиты на уровни (градации фактора) с интервалом изменения  $2.5^\circ\text{C}$  для температуры и 2 мм для осадков. Реакцию на изменения уровня температурного фактора оценивали на основании анализа величин отклонений приростов от соответствующих значений на кривой сезонного роста (анализ на основе непосредственных величин приростов влияния температуры не выявил). Для каждого побега эту кривую строили посредством аппроксимации данных о его сезонном росте. При дисперсионном анализе влияния уровня осадков использовали непосредственно величины приростов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Рост ПВ начался в последнюю неделю цветения и продолжался около 5 нед. Рост ПФ начался на этапе завершения активного роста ПВ и продолжался также около 5 нед. Апикальный рост ПВ начался в период 16.05.19–23.05.19. Динамика зависимости приростов от времени (рис. 1) свидетельствует о быстром увеличении скорости роста в первую неделю, которая достигает максимальных за сезон значений. На второй неделе этот показатель снижается, а затем восстанавливается на третьей неделе.

В течение последующих 3 нед. происходит последовательное уменьшение скорости апикального роста ПВ до его полной остановки на 6–7-й неделе.

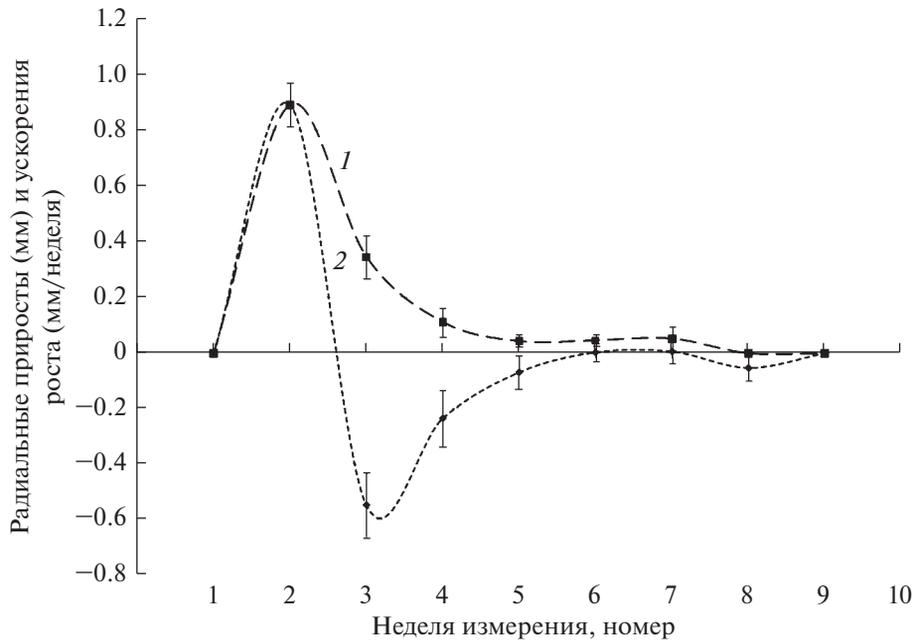


Рис. 2. Сезонная динамика радиального роста ПВ: 1 — приросты, 2 — ускорения.

Таким образом, сезонная динамика в целом имеет нелинейный характер. В ней наблюдается два максимума, а общая продолжительность интенсивного апикального роста ПВ составляет около 6 нед.

При дальнейшем анализе данных о зависимости скоростей апикального роста ПВ от времени с целью непосредственной оценки изменения скоростей роста были рассчитаны соответствующие значения средних ускорений роста. Анализ полученных результатов (рис. 1) показал, что ускорения изменяются волнообразно и их динамика во времени имеет вид уменьшающихся по амплитуде и изменяющихся по периоду колебаний, полностью затухающих на седьмой неделе. Первое полное колебание завершается через 2.5, а второе — через 4.5 нед. Таким образом, сопоставление данных о временных динамиках скоростей и ускорений апикального роста ПВ свидетельствует о колебательном характере данного процесса, который продолжается в течение 6–7 нед.

Радиальный рост ПВ начался позже апикального — на второй неделе проведения наблюдений (рис. 2). Его скорость сразу достигла максимальных значений, в последующие 3 нед. радиальные приросты постепенно уменьшаются до минимума, далее сохраняются на этом уровне еще 2 нед., после чего рост прекращается. Таким образом, зависимость радиальных приростов от времени имеет вид одновершинной кривой, общая продолжительность радиального роста ПВ составляет около 7 нед., а его наиболее интенсивной стадии — 4 нед.

При анализе ускорений радиального роста ПВ использовали подход, примененный ранее для апикального роста. Анализ полученных результатов (рис. 2) показал, что ускорения, как и в случае апикального роста ПВ, изменяются волнообразно. При этом наблюдается только одна волна, у которой с течением времени уменьшаются амплитуды и изменяются длительности отдельных последовательных фаз колебаний. Полное прекращение колебаний происходит на шестой неделе наблюдений. Сопоставление данных о динамике во времени скоростей и ускорений радиального роста ПВ позволяет заключить, что этот процесс, как и апикальный рост, имеет колебательный характер. Интенсивный рост продолжается около 4 нед., а общая продолжительность роста составляет 6–7 нед.

Апикальный рост ПФ начался на четвертой неделе периода наблюдений (29.05.19–06.06.19). В течение этой недели достигается максимальная скорость роста (рис. 3). На пятой неделе наблюдений приросты уменьшаются более чем на 80%, после чего на 2 нед. вновь увеличиваются (примерно до 40% от максимальных значений), а затем постепенно снижаются на протяжении следующих 5 нед. до полной остановки на 12–13-й неделе наблюдений. Следует отметить, что апикальный рост ПФ начинается на 4 нед. позже, чем у ПВ, а величины его максимальных приростов выше примерно в 15 раз. В целом сезонная динамика приростов характеризуется наличием двух максимумов, а общая продолжительность апикального роста ПФ составляет около 9 нед.

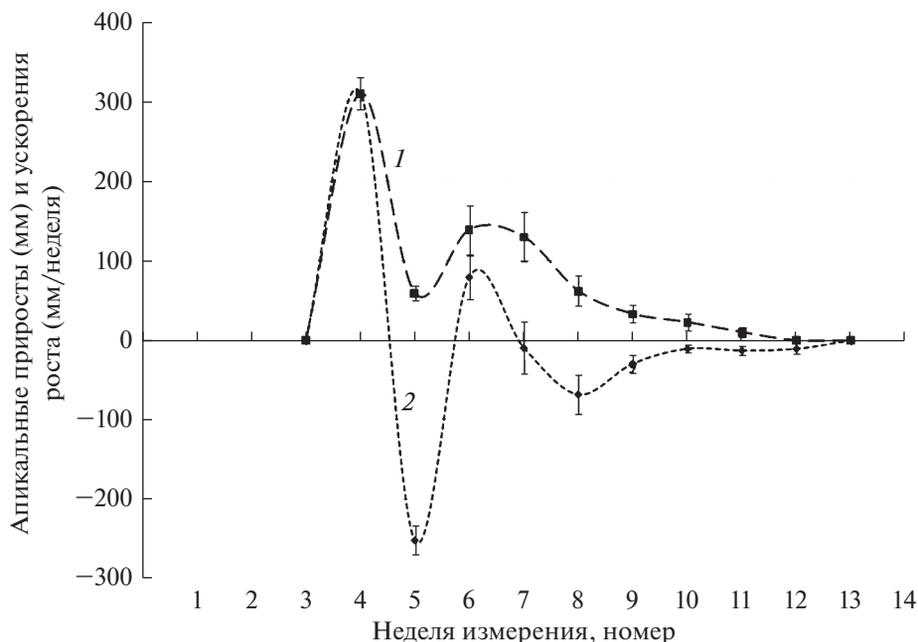


Рис. 3. Сезонная динамика апикального роста ПФ: 1 – приросты, 2 – ускорения.

Анализ величин ускорений апикального роста ПФ (рис. 3) показал, что кривая сезонных изменений этого показателя, как и описанных ранее, имеет вид уменьшающихся по амплитуде и изменяющихся по продолжительности отдельных фаз колебаний. Следует отметить, что продолжительности фаз изменяются в меньшей степени, чем у ростовых характеристик ПВ, и составляют 0.5–1 нед. Изменения ускорения прекращаются на 10–11-й неделе наблюдений. Первая полная волна длится около 2.5, а вторая – 4.5 нед. Процесс роста длится 6–7 нед.

Зависимость радиальных приростов от времени имеет вид двухвершинной кривой, на которой первый максимум значительно выше второго (рис. 4). Общая продолжительность радиального роста ПФ составляет около 8 нед., а активного роста – 4 нед. Анализ результатов расчета ускорений радиального роста ПФ наглядно свидетельствует о волнообразном характере изменений этого показателя. В его сезонной динамике наблюдается примерно 1.5 волны, у которых с течением времени уменьшаются амплитуды и остаются относительно неизменными длительности отдельных фаз колебаний. Полное прекращение роста произошло через 5 нед. после начала радиального роста. Сопоставление данных о сезонной динамике скоростей и ускорений радиального роста ПВ и ПФ позволяет заключить, что этот процесс представляет собой затухающее колебание.

Важной для описания инфрадианных ритмов апикального и радиального роста побегов особенностью является более высокая согласован-

ность (синхронность) фаз колебаний у разных ПФ по сравнению с ПВ. Этот факт продемонстрирован на примере сезонных динамик ускорений апикального роста отдельных изучавшихся ПФ и ПВ (рис. 5). Аналогичная закономерность наблюдается также у остальных исследованных характеристик.

Рост побегов связывают с температурой среды и фотопериодической регуляцией (Jackson, 2009; Triozzi et al., 2018; Miskolczi et al., 2019). Задержка начала роста ПФ по сравнению с ПВ составляет 4–5 нед. и свидетельствует о задержке процесса активации спящих почек по сравнению с терминальными у ПВ. Этот эффект является одним из проявлений “коррелятивной стимуляции”, заключающейся в активации роста побега растущим корнем, обеспечивающей “сбалансированность в развитии надземной и подземной частей растения” (Медведев, Шарова, 2014, с. 138).

Анализ полученных результатов позволяет предполагать, что нелинейный характер процессов роста связан с действием эндогенных и/или экзогенных (погодных) факторов. С целью оценки влияния факторов среды (сведения приведены в табл. 1) на изучаемые характеристики роста ПВ и ПФ были проведены корреляционный и дисперсионный ANOVA анализы. Корреляционный анализ не выявил статистически значимых (на уровне  $p = 0.05$ ) корреляций приростов ПФ и ПВ с температурой воздуха и количеством осадков. Результаты дисперсионного анализа свидетельствуют о том, что влияние температурного фактора на отклонения апикальных приростов от сезон-

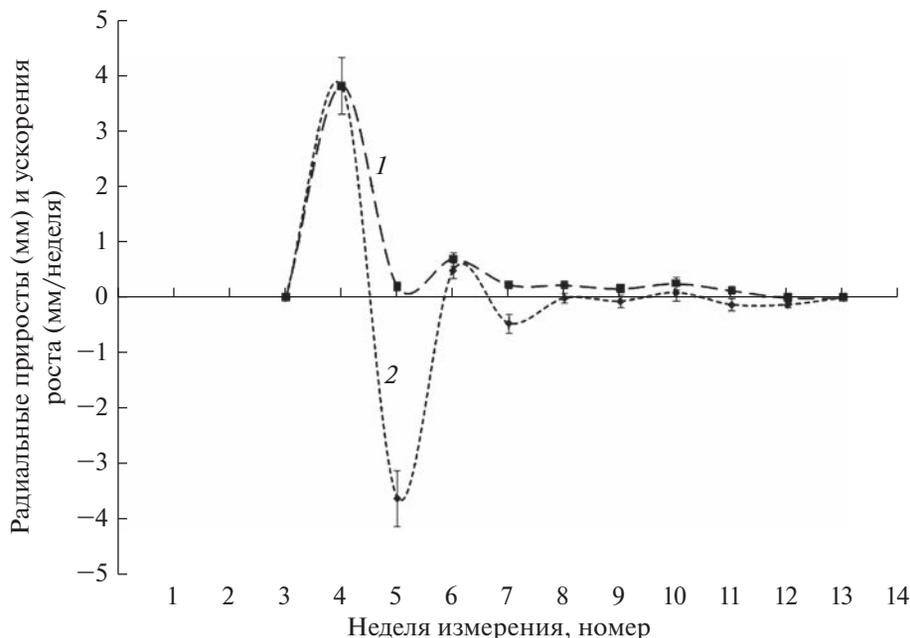


Рис. 4. Сезонная динамика радиального роста ПФ: 1 – приросты, 2 – ускорения.

ного тренда достоверно как для ПФ, так и для ПВ (табл. 2).

Изучение действия температурного фактора на радиальные приросты показало, что эффект влияния температуры статистически значим для ПФ и не достоверен для ПВ. Результаты, полу-

ченные с помощью ANOVA по фактору осадков для приростов ПФ и ПВ (табл. 2), свидетельствуют о том, что его действие на апикальные приросты статистически значимо только у ПФ, а действие на радиальные приросты ПВ и ПФ – недостоверно.

Таблица 1. Величины средних за предшествующую неделю температур и количества осадков в период проведения исследований (по данным метеостанции г. Екатеринбург (Булыгина и др., 2020))

Номера недель и даты измерений	Температура, °С	Осадки, мм	
1	16.05.2019	16.6	0.5
2	23.05.2019	7.0	3.3
3	29.05.2019	13.9	0.8
4	06.06.2019	15.6	2.6
5	14.06.2019	17.1	0.5
6	19.06.2019	13.8	0.9
7	28.06.2019	17.2	3.0
8	05.07.2019	18.1	3.5
9	12.07.2019	17.9	1.0
10	18.07.2019	22.8	0.1
11	25.07.2019	21.4	10.5
12	31.07.2019	16.2	5.7
13	09.08.2019	13.6	3.1
14	15.08.2019	18.6	0.4
15	20.08.2019	18.9	1.4
16	26.08.2019	13.2	4.6
17	05.09.2019	9.5	3.6

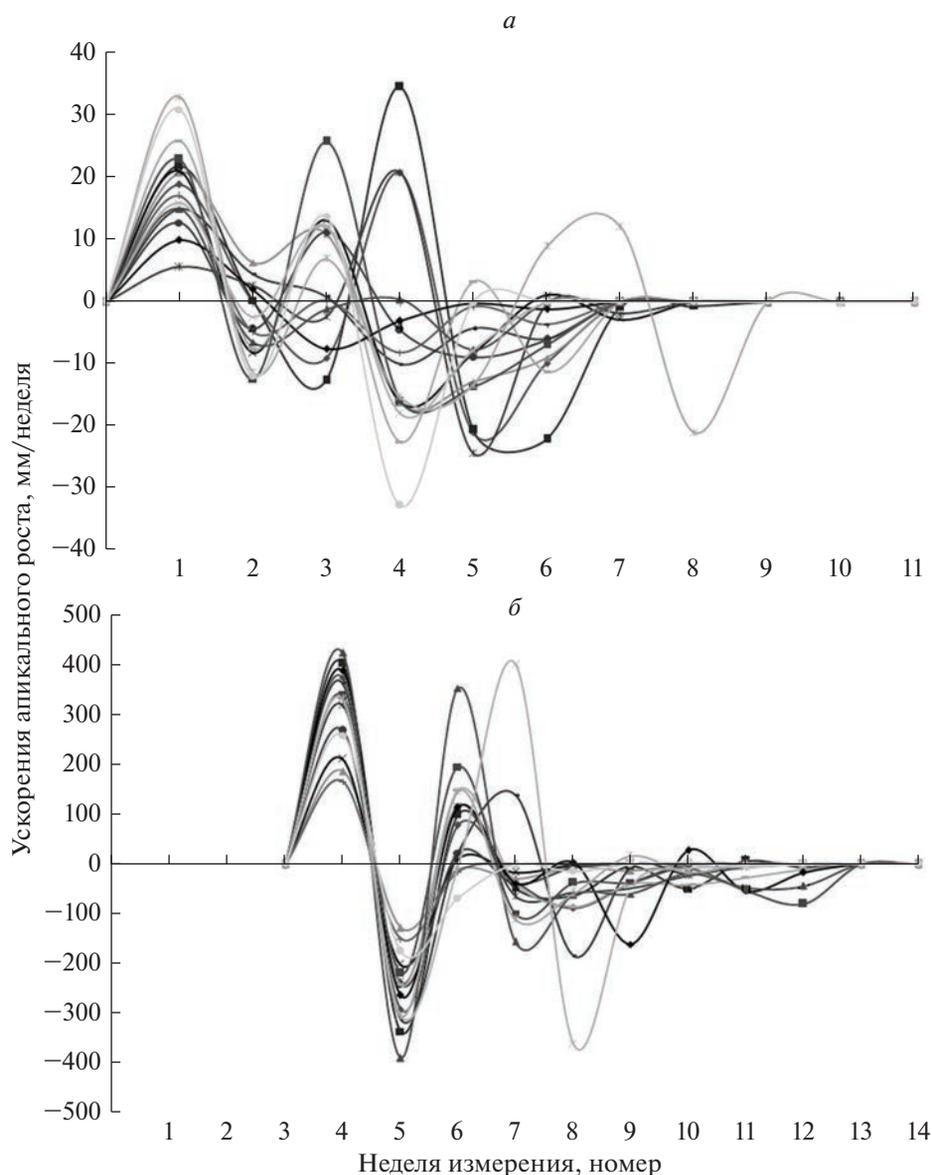


Рис. 5. Сезонные динамики ускорений апикального роста отдельных побегов ПВ (а) и ПФ (б).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ совокупности полученных данных свидетельствует о наличии у форзиции овальной инфрадианных ритмов роста ПФ и ПВ (колебаний скоростей и ускорений как апикального, так и радиального роста). В отличие от относительно устойчивых инфрадианных ритмов апикального роста побегов ив, наблюдаемых в течение всего периода вегетации (Афонин, 2021), изменения характеристик апикального роста ПВ и ПФ у форзиции овальной происходят в течение более короткого интервала времени и имеют аналогичный по форме вид затухающих по амплитуде колебаний. По-видимому, указанные отличия сезонных динамик роста между данными видами

связаны с особенностями их развития. У радиального роста ПФ и ПВ сезонные динамики также аналогичны, однако отличаются по форме кривых от динамик апикального роста, что объясняется отличием процессов развития апикального и базального участков апикальной меристемы. При этом динамики скоростей апикального и радиального роста имеют сходство в первые недели роста, а в дальнейшем они отличаются. Аналогичная закономерность (корреляция этих видов роста на начальной стадии) наблюдалась также в динамике количественных характеристик роста деревьев *Picea teyery* (Ding et al., 2021). Совпадение продолжительностей как апикального, так и радиального роста у ПФ и ПВ позволяет предполагать, что механизмы регуляции наблюдаемых

**Таблица 2.** Результаты дисперсионного анализа влияния температуры воздуха и количества осадков на апикальный и радиальный рост ПФ и ПВ

Фактор, вид роста	Оцениваемый параметр	Число степеней свободы	<i>SS</i>	Средняя дисперсия	<i>F</i> -критерий	<i>p</i> -значение
Температура, апикальный рост	ПФ					
	Влияние фактора	3	<b>102736.0</b>	<b>34245.34</b>	<b>27.255</b>	<b>0.0000</b>
	Случайная ошибка	81	101775.5	1256.49		
	ПВ					
	Влияние фактора	3	<b>203.941</b>	<b>67.980</b>	<b>2.8585</b>	<b>0.0413</b>
	Случайная ошибка	91	2164.178	23.782		
Температура, радиальный рост	ПФ					
	Влияние фактора	3	<b>2.339</b>	<b>0.7795</b>	<b>4.4683</b>	<b>0.0058</b>
	Случайная ошибка	85	14.828	0.174		
	ПВ					
	Влияние фактора	2	0.011	0.011	0.5231	0.4714
	Случайная ошибка	91	1.903	0.0209		
Уровень осадков, апикальный рост	ПФ					
	Влияние фактора	1	<b>241138</b>	<b>241138</b>	<b>19.7919</b>	<b>0.000025</b>
	Случайная ошибка	87	1059979	12184		
	ПВ					
	Влияние фактора	1	330.66	330.66	3.0998	0.0821
	Случайная ошибка	81	8640.35	106.67		
Уровень осадков, радиальный рост	ПФ					
	Влияние фактора	2	11.208	5.604	2.7323	0.0709
	Случайная ошибка	84	172.280	2.051		
	ПВ					
	Влияние фактора	1	0.330	0.330	2.0645	0.1561
	Случайная ошибка	58	9.272	0.1599		

**Примечание:** *SS* – дисперсия межгрупповая и внутригрупповая приведена для оценок влияния фактора и для случайной ошибки соответственно. Полужирным шрифтом отмечены случаи значимого эффекта влияния фактора на уровне  $p < 0.05$ .

инфраниантных ритмов включают также учет количества прошедшего с начала роста дней.

На ритмичность морфогенеза форзиции овальной указывают следующие факты: 1) наличие последовательной смены фаз развития (цветение–апикальный и радиальный рост ПВ); 2) волнообразность кривых зависимостей величин скоростей и ускорений апикального и радиального роста от времени; 3) затухающий характер и конечность продолжительностей колебаний у ПФ и ПВ; 4) согласованность времен окончания роста ПВ и начала роста ПФ (рост ПФ начинается на стадии завершения роста ПВ); 5) отличие продолжительностей интенсивного апикального и радиального роста побегов (6–8 и 4 нед. соответственно), несмотря на то, что условия среды в конце июля–августе не лимитируют ростовые

процессы; 6) одинаковость продолжительностей каждого из видов роста у ПФ и ПВ, в результате чего прекращение интенсивного роста у двух типов побегов происходит в разное время (в июне у ПВ и в июле у ПФ); 7) аналогичность форм кривых сезонных динамик у отдельных видов роста у ПФ и ПВ, при этом формы кривых колебаний апикального и радиального роста отличаются. Следует отметить, что радиальный рост ПВ начинается на одну неделю позже, чем апикальный, а у ПФ эти виды роста начинаются синхронно. Наблюдаемая более высокая синхронность фаз ритмов роста отдельных ПФ по сравнению с ПВ (рис. 5) объясняется, по-видимому, более простой (менее протяженной и разветвленной) системой транспорта гормонов и метаболитов к ростовым меристемам ПФ. Эта система у ПФ не связана с другими побегами и функционирует на основе значительных коли-

чество ростовых гормонов и накопленных ассимилятов в корнях, что обеспечивает меньшую зависимость действия этих регуляторов от дополнительных факторов. Таким образом, гипотезы 1 и 2 подтверждены.

Результаты корреляционного и дисперсионного анализов связей морфометрических характеристик роста побегов с погодными условиями среды указывают на слабое влияние температуры воздуха и почти полное отсутствие влияния количества осадков. Эти данные соответствуют известным представлениям о преимущественно эндогенной природе ритмичности роста побегов и второстепенном влиянии факторов среды, и гипотеза 3 подтверждена частично.

В основе представлений о ритмике роста растений лежат сведения о развитии апикальной меристемы побега, в которой выделяют центральную, подстилающую и периферическую зоны и примордий листа. Клетки этих частей апекса делятся периклинально и антиклинально, проходя последовательно этапы от вхождения в состав организующего центра до дифференцировки, и имеют разные длительности клеточных циклов. Например, клетки покоящегося центра (аналога организующего центра) в апексе корня у кукурузы делятся с периодичностью примерно 200 ч, а клетки проксимальной меристемы – 20 ч (Лутова и др., 2010). При этом регуляция развития апикальной меристемы находится под контролем системы генов и происходит с участием гормонов. В связи с приведенными сведениями, сходный характер сезонных динамик апикального (а также радиального) роста ПФ и ПВ позволяет предположить наличие у них одинаковых механизмов возникновения инфрадианных ритмов, в основе функционирования которых лежат собственная и относительная динамики процессов деления и роста клеток. При этом авторы считают, что на регуляцию ростовых процессов побега непосредственно влияют величины распределенных по объему концентраций фитогормонов, в первую очередь ауксинов и цитокининов, а также количество поступающих в меристемы ассимилятов. Сочетание концентраций различных фитогормонов и ассимилятов в конкретной “точке” обуславливает согласование клеточных циклов в разных зонах апикальной меристемы и ритмичность роста побега в целом. Ранее не описанный в известной нам литературе факт наличия инфрадианных сезонных изменений скоростей апикального роста ПВ и ПФ в форме затухающих псевдогармонических колебаний указывает на то, что они являются результатом взаимодействия как минимум двух факторов, происходящего в ходе вегетационного периода. В отличие от ив, у форзиции этот процесс приводит к завершению роста в течение нескольких недель. Эта особенность и приведенные выше факты ритмичности морфо-

генеза побегов форзиции овальной позволяют считать перспективной постановку задачи разработки качественной модели динамики роста побега.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ (ВЫВОДЫ)

1. В сезонной динамике роста побегов ветвления и побегов формирования растений *Forsythia ovata* Nakai наблюдаются колебания величин апикального и радиального приростов. Продолжительность отдельных фаз колебаний составляет около 7 и более дней, что позволяет отнести данное явление к инфрадианным ритмам роста. Слабая связь характеристик наблюдаемых колебаний с температурой воздуха и количеством осадков указывает на эндогенный характер определяющих их морфогенетических процессов.

2. На примере форзиции овальной впервые установлено, что сезонные динамики величин скоростей апикального и радиального роста побегов и их изменений (ускорений) могут иметь вид затухающих по амплитуде и изменяющихся по продолжительности фаз колебаний. Эти колебания не относятся к классу автоколебаний, а являются, по-видимому, результатом наложения действий как минимум двух факторов или процессов.

3. Как у побегов ветвления, так и у побегов формирования существуют отличия сезонных динамик величин апикального и радиального приростов по продолжительности роста (6–8 и 4 нед. соответственно) и по форме описывающих их кривых, включая количество экстремумов и величины амплитуд и длительностей отдельных фаз колебаний. Особенности сезонных динамик роста побегов указывают на отличия механизмов, вызывающих колебания величин апикальных и радиальных приростов у изучавшихся двух типов побегов.

4. У отдельных видов роста (апикального и радиального) их продолжительности одинаковы как у побегов ветвления, так и у побегов формирования, а формы кривых сезонных изменений величин скоростей и ускорений аналогичны, что указывает на единство механизма процессов, определяющего соответствующие виды роста у этих типов побегов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность магистру ФГБОУ ВО Уральского государственного лесотехнического университета К.А. Воронцовой за проведение квалифицированного сбора исходных данных, использованных при выполнении данного исследования.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания Ботанического сада Уральского отделения Российской академии наук на объектах Уникальной научной установки № USU\_673947 “Коллекции растений открытого и закрытого грунта Ботанического сада УрО РАН”.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Афонин А.А., 2019а. Ритмичность линейного прироста однолетних побегов ивы трехтычинковой // Со-времен. наука: актуальные проблемы теории и практики. Сер. Естеств. и техн. науки. № 1. С. 10–16.
- Афонин А.А., 2019б. Сезонная динамика нарастания побегов ивы корзиночной (*Salix viminalis*) // Изв. высших учебных заведений. Поволж. регион. Естеств. науки. № 4 (28). С. 26–34.  
<https://doi.org/10.21685/2307-9150-2019-4-3>
- Афонин А.А., 2019в. Структурный анализ ритмов развития однолетних побегов ивы трехтычинковой // Бюлл. науки и практики. Т. 5. № 1. С. 22–32.  
<https://doi.org/10.5281/zenodo.2539541>
- Афонин А.А., 2021. Инфраниантные ритмы динамики нарастания побегов в клонах ивы трехтычинковой (*Salix triandra*) // Аграр. вестн. Урала. Т. 205. № 2. С. 2–11.  
<https://doi.org/10.32417/1997-4868-2021-205-02-2-11>
- Булыгина О.Н., Разуваев В.Н., Александрова Т.М., 2020. Описание массива данных суточной температуры воздуха и количества осадков на метеорологических станциях России и бывшего СССР (ТТТТ). <http://meteo.ru/data/162-temperature-precipitation#описание-массива-данных>
- Колесников Б.П., Зубарева Р.С., Смолоногов Е.П., 1974. Лесорастительные условия и типы лесов Свердловской области. Свердловск: Изд-во УНЦ АН СССР. 176 с.
- Кулуев Б.Р., 2017. Регуляторы деления и пролиферации клеток в растениях // Биомика. Т. 9. № 2. С. 119–135.
- Кулуев Б.Р., Сафиуллина М.Г., 2015. Регуляция роста клеток растяжением в растениях // Успехи соврем. биологии. Т. 135. № 2. С. 148–163.
- Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А., 2010. Генетика развития растений: для биологических специальностей университетов. 2-е изд., перераб. и доп. СПб.: Изд-во Н-Л. 432 с.
- Магомедмирзаев В.А., 1990. Введение в количественную морфогенетику. М.: Наука. 229 с.
- Мазуренко М.Т., Хохряков А.П., 1977. Структура и морфогенез кустарников. М.: Наука. 160 с.
- Медведев С.С., Шарова Е.И., 2014. Биология развития растений. Т. 2. Рост и морфогенез. Учебник. Нижневартовск: Изд-во Нижневарт. гос. ун-та. 235 с.
- Михалевская О.Б., 1987. Ритмичность процессов роста и морфогенеза побегов в роде *Quercus* L. // Морфогенез и ритм развития высших растений. М.: Изд-во МГПИ. С. 33–38.
- Михалевская О.Б., 2008. Ритмы роста на разных этапах морфогенеза побега у древесных растений // Онтогенез. Т. 39. № 2. С. 85–93.
- Сабинин Д.А., 1963. Физиология развития растений. М.: Изд-во АН СССР. 196 с.
- Семкина Л.А., Овсянникова О.М., 1998. Морфобиологические особенности форзиции яйцевидной при интродукции на Среднем Урале // Экология и акклиматизация растений. Екатеринбург: Изд. УрО РАН. С. 113–119.
- Серебряков И.Г., 1952. Морфология вегетативных органов высших растений. М.: Сов. наука. 391 с.
- Серебряков И.Г., 1962. Экологическая морфология растений. М.: Высш. шк. 378 с.
- Серебряков И.Г., 1966. Соотношение внутренних и внешних факторов в годичном ритме развития растений // Бот. журн. Т. 41. № 7. С. 923–928.
- Творогова В.Е., Осипова М.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А., 2012. Взаимодействие транскрипционных факторов и фитогормонов в регуляции активности меристем у растений // Экол. генетика. Т. 10. № 3. С. 28–40.
- Aloni R., 2007. Phytohormonal mechanisms that control wood quality formation in young and mature trees // The Compromised Wood Workshop / Eds Entwistle K., Harris P., Walker J. Christchurch: The Wood Technology Research Centre, Univ. of Canterbury. P. 1–22.
- Cooke J.E.K., Eriksson M.E., Junttila O., 2012. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms // Plant Cell Environ. V. 35. № 10. P. 1707–1728.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02552.x>
- Ding X., Jiang Y., Xue F., Zhang Y., Wang M. et al., 2021. Intra-annual growth dynamics of *Picea meyeri* needles, shoots, and stems on Luya Mountain, North-central China // Trees. V. 35. № 2. P. 637–648.  
<https://doi.org/10.1007/s00468-020-02065-9>
- Edwards K.D., Takata N., Johansson M., Jurca M., Novak O. et al., 2018. Circadian clock components control daily growth activities by modulating cytokinin levels and cell division-associated gene expression in *Populus* trees // Plant Cell Environ. V. 41. № 6. P. 1468–1482.  
<https://doi.org/10.1111/pce.13185>
- Farre E.M., 2012. The regulation of plant growth by the circadian clock // Plant Biol. V. 14. № 3. P. 401–410.  
<https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00548.x>
- Herrmann S., Recht S., Boenn M., Feldhahn L., Angay O. et al., 2015. Endogenous rhythmic growth in oak trees is regulated by internal clocks rather than resource availability // J. Exp. Bot. V. 66. № 22. P. 7113–7127.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv408>

- Jackson S.D., 2009. Plant responses to photoperiod // *New Phytol.* V. 181. № 3. P. 517–531.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02681.x>
- Kim J.A., Kim H.-S., Choi S.-H., Jang J.-Y., Jeong M.-J., Lee S.I., 2017. The importance of the circadian clock in regulating plant metabolism // *Int. J. Mol. Sci.* V. 18. № 12.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18122680>
- Luttge U., Hertel B., 2009. Diurnal and annual rhythms in trees // *Trees.* V. 23. № 4. P. 683–700.  
<https://doi.org/10.1007/s00468-009-0324-1>
- Mahmud K.P., Holzapfel B.P., Guisard Y., Smith J.P., Nielsen S., Rogiers S.Y., 2018. Circadian regulation of grapevine root and shoot growth and their modulation by photoperiod and temperature // *J. Plant Physiol.* V. 222. P. 86–93.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.01.006>
- McClung C.R., 2006. Plant circadian rhythms. Historical perspective essay // *Plant Cell.* V. 18. № 4. P. 792–803.
- Miskolczi P., Singh R.K., Tylewicz S., Azeez A., Maurya J.P. et al., 2019. Long-range mobile signals mediate seasonal control of shoot growth // *PNAS.* V. 116. № 22. P. 10852–10857.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1902199116>
- Singh R.K., Bhalerao R.P., Eriksson M.E., 2020. Growing in time: Exploring the molecular mechanisms of tree growth // *Tree Physiol.* V. 41. № 4. P. 657–678.  
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpaa065>
- Singh R.K., Svystun T., Aldahmash B., Jonsson A.M., Bhalerao R.P., 2017. Photoperiod- and temperature-mediated control of phenology in trees – a molecular perspective // *New Phytol.* V. 213. № 2. P. 511–524.  
<https://doi.org/10.1111/nph.14346>
- Trionzi P.M., Ramos-Sanchez J.M., Hernandez-Verdeja T., Moreno-Cortes A., Allona I., Perales M., 2018. Photoperiodic regulation of shoot apical growth in poplar // *Front. Plant Sci.* V. 9. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01030>

## Seasonal dynamics of shoots growth in *Forsythia ovata* Nakai plants: Rhythmicity of apical and radial growth

S. A. Shavnin<sup>a, \*</sup>, A. A. Montile<sup>a</sup>, L. A. Semkina<sup>a</sup>, A. I. Montile<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute Botanic Garden, Ural Branch, RAS  
8 Marta str., 202a, Yekaterinburg, 62144 Russia*

\*e-mail: sash@botgard.uran.ru

The aim of the study was to establish the type (linear or non-linear) and shape (presence of extremes and trends) of the time dependences of apical and radial growth rates for shoots of two types (branching and formation) in woody plants. The object of the study was an introduced in the Middle Urals ornamental early-flowering shrub species *Forsythia ovata* Nakai. Seasonal dynamics of morphometric parameters of two types of shoots, which differ in intensity of growth and origin (developing from the apical or dormant buds of the skeletal branch respectively), was examined. Also, there was made an assessment of their relationship with air temperature and precipitation values. Apical and radial growth are accompanied by oscillations of increments. The duration of individual phases of oscillations is about 7 or more days, which makes it possible to attribute this phenomenon to infradian growth rhythms. The weak relationship between the characteristics of the observed oscillations and weather conditions indicates the predominantly endogenous nature of the observed morphogenetic processes. The growth of formation shoots begins 4 weeks later than branching shoots. This delay is apparently related to the time necessary for activation of dormant bud growth. Seasonal dynamics curves of rates and accelerations of the apical and radial shoot's growth have the shape of previously unobserved oscillations with phases fading in amplitude and changing in duration. The growth ends 1–2 months before the environmental conditions become unfavorable. The oscillations of the growth rate of shoots are apparently associated with the action of two or more differently directed factors, which determine the increase in volume of different segments of the shoot. These factors include the different contribution of cell division and elongation to the change in the geometric dimensions of the apical meristem domains. The main differences in the seasonal dynamics of the apical and radial increments for both types of shoots are: the duration of growth (6–8 and 4 weeks, respectively), the number of extremes, the amplitude and the duration of individual phases of oscillations. Higher amplitudes of the growth rate oscillations in shoots formation compared with branching shoots, cause bigger values of the formation shoots total increments. The dynamic curves of the apical growth rates have two maxima, while those of the radial growth have only one. Each type of growth, despite the delay in the onset of the formation shoots, has the same total duration. The shapes of curves of seasonal changes in speeds and accelerations of shoot growth values are also similar for different types of shoots. These similarities indicate that shoots have the same “programs” of growth regulation, ultimately determined by the genotype. The rhythmic growth of both types of shoots during the season suggests the existence of the relationship in time between the rates of division and growth of cells located in functionally different groups of cells in the apical meristem zone.