

СОДЕРЖАНИЕ

Том 82, номер 1, 2021

(Воспроизводится в журнале “Current Contents”)

Мезенхимные стромальные клетки менструальной крови как ресурс для регенеративной медицины <i>О. В. Паюшина, Д. А. Цомартова, Е. В. Черешнева, М. Ю. Иванова, Т. А. Ломановская, С. Л. Кузнецов</i>	3
Роль ретроэлементов в эволюции геномов животных <i>Л. Н. Нефедова, А. И. Ким</i>	13
Эволюция поведенческих стереотипов и представлений о них <i>Ж. И. Резникова, С. Н. Пантелеева, А. А. Новиковская, Я. В. Левенец</i>	26
Новые методы исследований в палеопалинологии <i>О. П. Тельнова, А. М. Кульков, Д. Е. А. Маршалл</i>	48
Миксотрофны ли альпийские растения из семейства Gentianaceae? <i>В. Г. Онипченко, Н. Г. Лавренов, А. В. Тиунов, М. И. Макаров, М. Й. А. Вергер, А. А. Ахметжанова, Т. Г. Елумеева, В. Э. Смирнов, Ван Цянь, У Янь</i>	57
Влияние фотопериода на рост и развитие лососевых Salmonidae северных широт <i>Н. С. Шульгина, М. В. Чурова, Н. Н. Немова</i>	68

Contents

Vol. 82, No. 1, 2021

(Indexed in “Current Contents”)

Menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells as a resource for regenerative medicine <i>O. V. Payushina, D. A. Tsomartova, E. V. Chereshneva, M. Yu. Ivanova, T. A. Lomanovskaya, S. L. Kuznetsov</i>	3
The role of retroelements in the evolution of animal genomes <i>L. N. Nefedova, A. I. Kim</i>	13
The evolution of behavioral stereotypes and ideas about them <i>Zh. I. Reznikova, S. N. Panteleeva, A. A. Novikovskaya, J. V. Levenets</i>	26
New methods of investigation in paleopalynology <i>O. P. Tel'nova, A. M. Kulkov, J. E. A. Marshall</i>	48
Are alpine Gentianaceae plants mixotrophic? <i>V. G. Onipchenko, N. G. Lavrenov, A. V. Tiunov, M. I. Makarov, M. J. A. Werger, A. A. Akhmetzhanova, T. G. Elumeeva, V. E. Smirnov, Wang Qian, Wu Yan</i>	57
Effect of the photoperiod on the growth and development of salmonids in northern latitudes <i>N. S. Shulgina, M. V. Churova, N. N. Nemova</i>	68

УДК 576.54:616-003.93:611.664

МЕЗЕНХИМНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ МЕНСТРУАЛЬНОЙ КРОВИ КАК РЕСУРС ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

© 2021 г. О. В. Паюшина¹, *, Д. А. Цомартова¹, Е. В. Черешнева¹, М. Ю. Иванова¹,
Т. А. Ломановская¹, С. Л. Кузнецов¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения РФ
Трубецкая ул., 8, стр. 2, Москва, 119991 Россия

*E-mail: payushina@mail.ru

Поступила в редакцию 22.06.2020 г.

После доработки 30.08.2020 г.

Принята к публикации 24.09.2020 г.

Развитие технологий регенеративной медицины порождает потребность в доступном источнике клеток для стимуляции восстановительных процессов в патологически измененных тканях и органах. Таким источником может служить менструальная кровь с фрагментами десквамированного эндометрия, которые содержат мезенхимные стромальные клетки (МСК), участвующие в регенерации функционального слоя эндометрия в ходе менструального цикла. Эти клетки фенотипически сходны с МСК из других клинически значимых источников (костного мозга, жировой ткани, зубной пульпы, тканей последа), способны к активному росту *in vitro*, обладают широким спектром потенций к дифференцировке. Секретируя паракринным образом различные биологически активные вещества, они стимулируют выживание и пролиферацию клеток поврежденных тканей, регулируют иммунные реакции и ангиогенез, предотвращают фиброз. В настоящее время активно исследуется возможность применения МСК из менструальной крови в различных областях медицины. В экспериментах на животных показана перспективность клеточной терапии с их использованием для лечения патологий сердечно-сосудистой, нервной и репродуктивной системы, кожных ран, миодистрофии, сахарного диабета, заболеваний печени, легких, кишечника и других органов. Однако для успешного внедрения МСК из менструальной крови в широкую медицинскую практику требуются дальнейшие исследования, направленные на оптимизацию протокола выделения клеток, оценку возможных рисков их введения пациенту, преодоление проблемы их низкой выживаемости в очаге поражения и выяснение клеточных и молекулярных механизмов оказываемого ими регенеративного эффекта.

DOI: 10.31857/S004445962101005X

Разработка клеточных технологий, направленных на структурное и функциональное восстановление патологически измененных тканей и органов, относится к приоритетным направлениям современной медицинской науки. Одним из наиболее перспективных ресурсов для клеточной терапии являются мезенхимные стромальные клетки (МСК), практически повсеместно распространенные по организму, способные к направленной миграции в зоны тканевых дефектов и комплексно воздействующие на различные аспекты восстановительного процесса, в первую очередь путем паракринной продукции биологически активных молекул. Секретируемые МСК цитокины, хемокины, факторы роста и прочие регуляторные молекулы оказывают митогенное, цитопротективное, иммуномодулирующее, проангиогенное и антифибротическое действие, обеспечивая полноценную регенерацию поврежденной

ткани (Samsonraj et al., 2017). Регенеративные эффекты МСК в значительной степени связаны с продукцией ими не только растворимых факторов, воздействующих на поверхностные рецепторы, но и внеклеточных везикул, способных передавать комплекс содержащихся в них биоактивных молекул непосредственно в цитоплазму клетки-мишени при слиянии с ее плазматической мембраной (Konala et al., 2016). Обладая широким спектром потенций к дифференцировке, которые, возможно, не ограничиваются образованием клеточных элементов тканей мезенхимного происхождения (Samsonraj et al., 2017), МСК могут также замещать в поврежденных тканях погибшие клетки путем дифференцировки в соответствующем направлении. В некоторых случаях показано также слияние МСК с клетками регенерирующей ткани (Freeman et al., 2015; Huda et al., 2016). Кроме того, МСК способны передавать поврежденным клет-

кам митохондрии, что приводит к восстановлению нарушенного энергетического обмена (Paliwal et al., 2018). Помимо сказанного, привлекательность МСК для использования в регенеративной медицине определяется легкостью их выделения и культивирования, несклонностью к злокачественной трансформации и низкой иммуногенностью, позволяющей проводить аллогенные трансплантации (Samsonraj et al., 2017).

При оценке перспектив клинического применения МСК встает вопрос о том, из каких тканевых источников их наиболее целесообразно выделять для последующей экспансии *in vitro* и трансплантации пациенту. Исторически первым и, как следствие, наиболее изученным источником МСК является костный мозг, стромальные клетки которого к настоящему времени всесторонне охарактеризованы и служат своего рода эталонной популяцией для сравнения свойств МСК различной тканевой принадлежности. Выделенные из него клетки обладают выраженными потенциальными к дифференцировке в основных свойственных МСК направлениях — остеогенном, адипогенном и хондрогенном (Li et al., 2015), что позволяет успешно использовать их для восстановления скелетных тканей. Однако процедура забора костного мозга достаточно травматична, а доля МСК среди его клеток крайне низка (Asatrian et al., 2015). Кроме того, численность МСК в костном мозге, а также их способность к пролиферации и дифференцировке снижаются с возрастом, что затрудняет получение клеток от пожилых пациентов (Charif et al., 2017). Значительно большее количество МСК содержится в стромально-сосудистой фракции жировой ткани, которая может быть получена в ходе абдоминопластической операции либо процедуры липосакции (Yoshimura et al., 2007; Schneider et al., 2017). МСК жировой ткани превосходят таковые из костного мозга по способности к пролиферации (Li et al., 2015) и адипогенезу (Xu et al., 2017), однако уступают им по потенциальности к остеогенезу и, по некоторым данным, к хондрогенезу (Li et al., 2015; Xu et al., 2017). Клетки со свойствами МСК, характеризующиеся более высокими, чем у клеток костного мозга, эффективностью клонирования и скоростью роста, могут быть выделены также из пульпы зубов (Ercal et al., 2018). Впрочем, их применение в клинике затруднено малым количеством пульпы в зубе, что требует длительной экспансии клеток в культуре (Asatrian et al., 2015). Еще одним источником МСК для клинического применения могут служить ткани последа — плацента и пуповина, из которых клетки могут быть выделены в большом количестве неинвазивным методом и сохранены для последующего использования. МСК из различных областей пуповины и плаценты, в зависимости от локализации, несколько различаются между собой по характеру роста и дифференци-

ровки (Beeravolu et al., 2017), но в целом уступают МСК из костного мозга по способности к адипогенезу (Jeon et al., 2016) и хондрогенезу (Bernardo et al., 2007).

Менструальная кровь, в которой также обнаружены клоногенные клетки с характерными для МСК антигенным фенотипом и потенциальными к дифференцировке (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008), имеет ряд преимуществ перед другими клинически значимыми источниками МСК. В частности, это возможность многократного получения материала от одного донора, неинвазивность процедуры его забора, легкость выделения клеток в культуру. В настоящем обзоре рассмотрены биологические характеристики МСК менструальной крови и возможности их использования в регенеративной медицине.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ МСК В ЭНДОМЕТРИИ

Как известно, на протяжении репродуктивного периода жизни женщины эндометрий многократно претерпевает циклические изменения, включающие десквамацию и регенерацию его функционального слоя, что предполагает наличие в нем стволовых и родоначальных клеток, обеспечивающих восстановление как эпителиального, так и стромального компонентов. Эпителиальные предшественники, ответственные за регенерацию маточных желез, локализуются, по видимому, в базальном слое эндометрия и, как следствие, в менструальной крови практически не обнаруживаются (Gargett et al., 2016). В то же время клетки с характерным для МСК поверхностным фенотипом, способные к клональному росту и дифференцировке в различные мезенхимные производные, могут быть выделены не только из ткани эндометрия, полученной при гистерэктомии (Darzi et al., 2016), но и из менструальной крови (Meng et al., 2007). При этом клетки, получаемые из обоих источников, сходны по морфологии и функциональным характеристикам (Rodrigues et al., 2016), что может свидетельствовать о происхождении МСК менструальной крови из функционального слоя эндометрия. Связь МСК с десквамированным функциональным слоем была прямо продемонстрирована в эксперименте по отдельному посеву в культуру различных фракций менструальной крови: большинство клоногенных клеток обнаруживались в присутствующих в ней тканевых фрагментах отторгнутого эндометрия (Liu et al., 2018).

Клетки с характеристиками МСК, способные к клональному росту, самоподдержанию *in vitro* и дифференцировке во множественных направлениях, могут быть выделены из ткани эндометрия путем сортировки по антигену SUSD2 либо по сочетанию маркеров CD140b и CD146. Как показыва-

ет гистохимическое окрашивание образцов эндометрия на эти маркеры, МСК локализуются вокруг сосудов базального и функционального слоев в положении перичитов и, возможно, также адвентициальных клеток (Darzi et al., 2016). Помимо этих клеток, строма эндометрия содержит фибробласты, которые отличаются от МСК профилем экспрессии генов, отсутствием клоногенности и более ограниченными потенциальными к дифференцировке (Gargett et al., 2016). Очевидно, при отторжении функционального слоя фибробласты, наряду с МСК, также попадают в менструальную кровь. Гетерогенность получаемой из нее популяции стромальных клеток следует учитывать при оценке их биологических характеристик и терапевтического потенциала.

О том, что резидентные МСК эндометрия играют ключевую роль в его росте и физиологической регенерации, может свидетельствовать их способность к формированию эндометриальной ткани при ксенотрансплантации под капсулу почки иммунодефицитных мышей (Cervelló et al., 2011), а также повышение процентной доли клоногенных стромальных клеток в эндометрии в пролиферативную фазу менструального цикла (Darzi et al., 2016). Предполагается, что недостаточность количества и/или нарушение функциональности МСК могут быть причиной таких патологических состояний, как тонкий дисфункциональный эндометрий, не отвечающий на стимуляцию эстрогенами и неспособный обеспечить имплантацию зародыша, и синдром Ашермана, характеризующийся замещением эндометрия фиброзной тканью и развитием спаечного процесса в матке (Gargett et al., 2016). Это предположение подтверждается результатами клинических испытаний, показавших значительное увеличение толщины эндометрия после трансплантации аутологичных МСК из менструальной крови пациенткам с синдромом Ашермана (Tan et al., 2016). При беременности МСК, вероятно, принимают участие в децидуализации эндометрия. Во всяком случае, показано, что эндометриальные МСК могут быть индуцированы к дифференцировке в децидуальные клетки *in vitro*, значительно превосходя по этой способности МСК из костного мозга и жировой ткани (Домнина и др., 2015), а их трансплантация в матку псевдобеременных крыс стимулирует развитие всех элементов децидуальной ткани (Domnina et al., 2013).

По-видимому, содержащиеся в эндометрии МСК играют важнейшую роль не только в нормальном функционировании этой ткани, но и в ее патологическом разрастании за пределами слизистой оболочки матки — эндометриозе. В качестве основной причины эндометриоза рассматривается ретроградная менструация, ведущая к проникновению в брюшную полость фрагментов десквамированного эндометрия со стволовыми

клетками (Xu et al., 2015; Gargett et al., 2016), однако показана также возможность гематогенного распространения МСК из областей эктопического разрастания эндометрия с образованием новых очагов заболевания (Li et al., 2018). Обсуждается также возможное участие МСК в развитии аденомиоза (Gargett et al., 2016) и рака эндометрия (Xu et al., 2015).

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МСК МЕНСТРУАЛЬНОЙ КРОВИ

МСК могут быть выделены из менструальной крови на протяжении всего периода менструации (Kovina et al., 2018). В связи с тем, что работа с менструальной кровью затруднена ее высокой вязкостью, а также присутствием сгустков и десквамированного эпителия, ряд авторов включают в протокол выделения МСК из этого источника центрифугирование в градиенте плотности с отбором фракции мононуклеарных клеток (Meng et al., 2007; Chen et al., 2015b; Mehrabani et al., 2016; Ren et al., 2016). Однако эффективность выделения МСК при этом оказывается значительно меньшей, чем при культивировании цельной крови (Dalirfardouei et al., 2018), так как МСК преимущественно содержатся во фрагментах эндометриальной ткани, которые при такой обработке теряются (Sun et al., 2019). В то же время при культивировании менструальной крови, не очищенной от эритроцитов, выходящий из них гемоглобин может оказывать токсическое действие на клетки (Kovina et al., 2018). Появившиеся в последние годы методики изоляции, включающие лизис эритроцитов в сочетании с центрифугированием в градиенте плотности (Kovina et al., 2018) или без него (Sun et al., 2019), позволяют получать МСК из менструальной крови с достаточно высокой эффективностью, однако оптимальный протокол их изоляции к настоящему времени еще не разработан.

По антигенному фенотипу клоногенные стромальные клетки, выделенные из менструальной крови, соответствуют критериям, предложенным Международным обществом клеточной терапии для идентификации мультипотентных МСК человека (Dominici et al., 2006): они экспрессируют поверхностные антигены CD73, CD90 и CD105 при отсутствии кроветворных маркеров CD45, CD34, CD14, CD19 и HLA-DR (Meng et al., 2007; Hu et al., 2014; Kovina et al., 2018; Liu et al., 2018). На их поверхности также обнаруживаются характерные для МСК антигены CD29 и CD44 (Meng et al., 2007; Ren et al., 2016; Sun et al., 2019). В целом по антигенному фенотипу МСК из менструальной крови сходны с таковыми из других клинически значимых источников, таких как костный мозг, пуповинная кровь, жировая ткань и пульпа зуба

(Domnina et al., 2013; Chen et al., 2015b; Ren et al., 2016). В то же время на их поверхности отсутствует антиген STRO-1, типичный для МСК из костного мозга (Gargett et al., 2016).

Сведения об экспрессии МСК менструальной крови маркеров, свойственных плюрипотентным клеткам, неоднозначны. В первых работах по характеристике клеток из этого источника сообщалось об экспрессии ими OCT-4 при отсутствии SSEA-4, SOX-2 и NANOG (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008), однако впоследствии SOX-2 и NANOG в них были выявлены (Sun et al., 2019). Некоторые авторы сообщают также о присутствии SSEA-4 по крайней мере на части клеток этой популяции (Земелько и др., 2011; Rossignoli et al., 2013; Sun et al., 2019), тогда как другие его не обнаруживают (Wu et al., 2014; Chen et al., 2015b). Противоречивыми остаются и данные об экспрессии этими клетками OCT-4: имеются сообщения как о наличии в них этого маркера (Wu et al., 2014; Khanjani et al., 2015), так и о его отсутствии (Земелько и др., 2011). Возможно, расхождения между данными разных авторов связаны с различиями в возрасте доноров, условиях выделения и культивирования клеток, а также использованных методах оценки антигенного фенотипа.

По оценкам разных авторов, при культивировании *in vitro* МСК менструальной крови способны пройти 18–27 пассажей (Meng et al., 2007; Rossignoli et al., 2013; Wu et al., 2014; Chen et al., 2015a, b; Liu et al., 2018) или не менее 45–68 удвоений популяции (Meng et al., 2007; Земелько и др., 2011), причем в ходе длительного пассирования их кариотип сохраняется стабильным (Meng et al., 2007; Земелько и др., 2011; Wu et al., 2014). Вероятно, высокий пролиферативный потенциал этих клеток связан с наличием в них теломеразы, активность которой остается достаточно высокой даже на поздних пассажах (Patel et al., 2008). Время удвоения популяции в ранние сроки культивирования составляет 20–27 ч (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008; Земелько и др., 2011; Rossignoli et al., 2013; Wu et al., 2014; Chen et al., 2015a, b; Kovina et al., 2018). По скорости роста МСК из менструальной крови превосходят таковые из костного мозга (Wu et al., 2014) и жировой ткани (Chen et al., 2015b; Kovina et al., 2018) и сопоставимы с клетками пульпы зуба (Ren et al., 2016), но уступают клеткам пуповинной крови (Chen et al., 2015b; Ren et al., 2016). При длительном пассировании пролиферация МСК из менструальной крови замедляется (Chen et al., 2015a; Ren et al., 2016; Liu et al., 2018). Отмечена также отрицательная корреляция скорости роста и пролиферативного потенциала МСК с возрастом донора менструальной крови (Chen et al., 2015a; Mehrabani et al., 2016; Liu et al., 2018).

МСК менструальной крови обладают широким спектром потенциалов к дифференцировке. Они могут быть индуцированы к дифференцировке *in vitro* в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях с приобретением соответствующих морфологических и цитохимических характеристик (Patel et al., 2008; Rossignoli et al., 2013; Wu et al., 2014; Liu et al., 2018), что подтверждает принадлежность этих клеток к категории мультипотентных МСК. В то же время по сравнению с МСК костного мозга клетки из менструальной крови менее способны к остеогенезу (Kovina et al., 2018; Lv et al., 2018) и, по некоторым данным, к адипогенезу (Khanmohammadi et al., 2014); по адипогенным потенциалам они уступают также МСК из пуповинной крови и пульпы зуба (Ren et al., 2016; Lv et al., 2018). Показана также способность МСК менструальной крови дифференцироваться в другие мезодермальные производные – кардиомиоциты (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008; Liu et al., 2018), эндотелий и миоциты (Meng et al., 2007). При сокультивировании с соответствующими зрелыми клетками они дифференцируются в теноциты сухожилия (Zheng et al., 2017) и клетки пульпозного ядра межпозвоночного диска (Hu et al., 2014). Имеются и сообщения о возможности дифференцировки МСК менструальной крови в производные энтодермы – гепатоциты (Meng et al., 2007; Khanjani et al., 2015), клетки поджелудочной железы и респираторного эпителия (Meng et al., 2007) – и эктодермы – глиальные и нейроноподобные клетки (Meng et al., 2007; Patel et al., 2008; Liu et al., 2018) и кератиноциты (Akhavan-Tavakoli et al., 2017). Более того, в одной из работ было продемонстрировано, что при культивировании МСК из менструальной крови в присутствии фолликулярной жидкости в культуре появляются клетки, экспрессирующие специфические маркеры ооцитов, а окружающие их клетки приобретают рецепторы к гонадотропным гормонам и способность к продукции эстрогена и прогестерона, что свойственно фолликулярным клеткам яичника (Lai et al., 2016).

Способность МСК менструальной крови к дифференцировке в производные всех трех зародышевых листков, а также, возможно, в половые клетки, наряду с экспрессией по крайней мере частью из них маркеров плюрипотентности (OCT-4, SSEA-4, SOX-2, NANOG), присутствием теломеразы и высоким пролиферативным потенциалом сближает их с эмбриональными стволовыми клетками. Однако, в отличие от эмбриональных стволовых клеток, клиническое использование которых затруднено риском образования опухолей (Земелько и др., 2011), они не обладают туморогенностью, что было продемонстрировано в экспериментах по их трансплантации иммунодефицитным мышам (Liu et al., 2018). Таким образом, обладая такими преимуществами, как быст-

рый рост, способность к длительной пролиферации и дифференцировке во многих направлениях, МСК менструальной крови представляются относительно безопасными для клеточной терапии, что подтверждается и имеющимися на сегодняшний день результатами их введения пациентам (Chen et al., 2019).

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МСК МЕНСТРУАЛЬНОЙ КРОВИ

При введении в организм реципиента МСК менструальной крови, подобно таковым из других источников, мигрируют в зоны повреждений, как это было продемонстрировано, например, на модели сахарного диабета I типа (Wu et al., 2014) и фиброза печени (Chen et al., 2017). В некоторых случаях они непосредственно участвуют в восстановлении ткани; в частности, показаны их дифференцировка в кардиомиоциты при экспериментальном инфаркте миокарда и слияние со скелетными миоцитами у мышей с миодистрофией Дюшенна (Анисимов и др., 2013). Однако основную роль в регенеративных эффектах МСК из менструальной крови играет их трофическое влияние на ткань, опосредуемое продуцируемыми ими цитокинами и другими биологически активными веществами. Они секретируют факторы роста сосудистого эндотелия, фибробластов, гепатоцитов, кератиноцитов, тромбоцитарный фактор роста PDGF-BB, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста β , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ангиогенин, ангиопоэтин-2, интерлейкин-6, интерлейкин-8, интерферон- γ (Meng et al., 2007; Jiang et al., 2013; Ren et al., 2016; Liu et al., 2018). Регенеративный эффект способны оказывать также продуцируемые этими клетками внеклеточные везикулы, содержащие некодирующие РНК и регуляторные белки (Chen et al., 2019).

В экспериментах на клеточных культурах и животных с моделями повреждений различных тканей и органов неоднократно была показана способность МСК из менструальной крови стимулировать пролиферацию и дифференцировку резидентных клеток, а также регулировать их выживаемость. Так, в поджелудочной железе мышей с диабетом МСК активируют дифференцировку эндогенных предшественников в β -клетки (Wu et al., 2014). Они стимулируют пролиферацию и предотвращают апоптоз кардиомиоцитов при совместном культивировании в условиях моделирующих ишемию; апоптотическая гибель кардиомиоцитов уменьшается также *in vivo* при введении МСК в область инфаркта миокарда (Jiang et al., 2013). МСК менструальной крови или их секреторные продукты подавляют индуцированный бактериальным липополисахаридом апоптоз гепатоцитов и клеток легочного эпителия и улуч-

шают выживание гранулезных клеток при преждевременной недостаточности яичников, однако апоптоз клеток эпителиального рака яичника под их влиянием, напротив, усиливается (Chen et al., 2019).

Иммunosuppressивные свойства МСК менструальной крови выражены слабее, чем у МСК из других тканей (Luz-Crawford et al., 2016; Yang et al., 2019). Тем не менее они способны подавлять избыточные иммунные реакции, ингибируя экспрессию в пораженной ткани провоспалительных факторов, таких как фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ , интерлейкин-2, интерлейкин-6, стимулируя секрецию оказывающих противовоспалительное действие интерлейкина-4 и интерлейкина-10, уменьшая инфильтрацию воспалительными клетками, а также способствуя повышению численности регуляторных Т-клеток и макрофагов противовоспалительного фенотипа M2 (Xu et al., 2015; Lv et al., 2018). Способность МСК менструальной крови уменьшать выраженность воспаления была показана на моделях язвенного колита (Xu et al., 2015), легочного фиброза (Zhao et al., 2018), имплантации полиамидной сетки для лечения пролапса тазовых органов (Gargett et al., 2016), болезни Альцгеймера и острого повреждения легких (Chen et al., 2019). Их иммуносупрессивные свойства позволили также индуцировать толерантность к аллотрансплантату сердца у экспериментальных мышей (Lv et al., 2018).

Антифибротическое действие этих клеток было продемонстрировано на моделях хронического токсического поражения печени (Chen et al., 2017), легочного фиброза (Zhao et al., 2018), а также инфаркта миокарда и преждевременной недостаточности яичников (Chen et al., 2019). МСК менструальной крови продуцируют матриксные металлопротеиназы – MMP-1, -3, -9, -10 (Meng et al., 2007; Liu et al., 2018; Zhao et al., 2018), с которыми и может быть связана их способность препятствовать избыточному накоплению внеклеточного матрикса. Кроме того, при поражении печени МСК снижают пролиферативную активность клеток Ито, играющих главную роль в фиброгенезе (Chen et al., 2017), а при инфаркте миокарда подавляют переход эндотелиальных клеток в мезенхимные и тем самым предотвращают прогрессирование фиброза, снижая численность сердечных фибробластов (Chen et al., 2019).

Еще один механизм регенеративного действия МСК менструальной крови связан с усилением роста кровеносных сосудов в пораженной ткани. Секретируя проангиогенные факторы, МСК стимулируют формирование сосудистых структур эндотелиальными клетками *in vitro* и способствуют повышению плотности сосудов в области инфаркта (Jiang et al., 2013), а также усиливают их

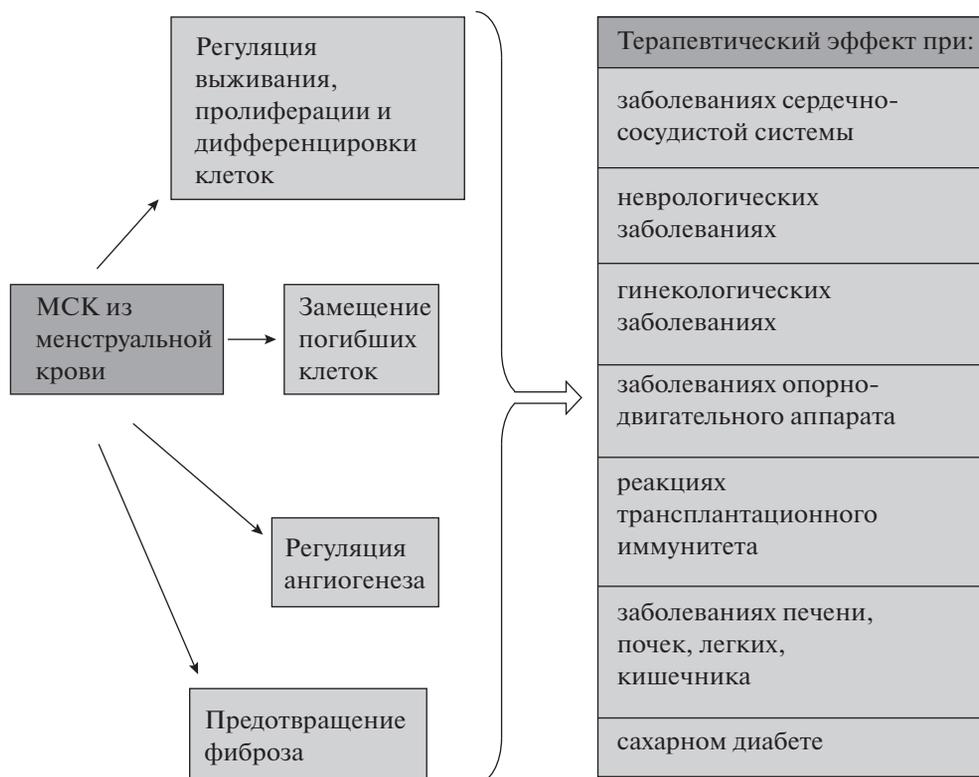


Рис. 1. Регенеративные эффекты МСК, выделенных из менструальной крови.

образование в кожных ранах (Chen et al., 2019). В то же время они способны подавлять патологический рост сосудов в опухоли, что приводит к замедлению ее роста, как было показано на примере глиомы (Lv et al., 2018). Сообщалось также об ингибирующем влиянии внеклеточных везикул, полученных от МСК менструальной крови, на проангиогенные свойства клеток рака простаты, тогда как везикулы от МСК костного мозга ангиогенез в данной экспериментальной системе, напротив, усиливали. Предполагается, что способность МСК из этого источника оказывать не только ангиогенный, но и ангиостатический эффект связана с их функциями в эндометрии, где они обеспечивают неодинаковое состояние сосудов функционального слоя в течение менструального цикла (Alcayaga-Miranda et al., 2016).

Помимо вышеуказанных патологических состояний, в экспериментах на животных МСК из менструальной крови продемонстрировали свою терапевтическую эффективность при ишемии нижних конечностей, болезни Паркинсона, аллергическом энцефалите (Rodrigues et al., 2016), ишемическом инсульте (Chen et al., 2019), повреждениях спинного мозга (Wu et al., 2018), периферических нервов (Farzamfar et al., 2017) и эндометрия (Hu et al., 2019), реакции трансплантат против хозяина (Luz-Crawford et al., 2016), ишемии-реперфузии почки (Sun et al., 2016), костно-хряще-

вых дефектах (Khanmohammadi et al., 2019). Первым случаем клинического применения этих клеток стала трансплантация четырем пациентам с множественным склерозом, показавшая безопасность их введения (Zhong et al., 2009). В дальнейшем обнадеживающие результаты были получены при трансплантации МСК менструальной крови больным с внутриматочными спайками, что привело к увеличению толщины эндометрия и позволило трем из семи пациенток забеременеть (Tan et al., 2016), а также больному с застойной сердечной недостаточностью, у которого после введения МСК наблюдалось длительное улучшение функциональных показателей сердца (Ichim et al., 2010). Однако на сегодняшний день количество клинических испытаний с использованием МСК из менструальной крови и число участвующих в них пациентов слишком малы для того, чтобы делать уверенные выводы о безопасности и эффективности терапевтического использования клеток из этого источника.

Механизмы терапевтических эффектов МСК из менструальной крови и возможности их применения в регенеративной медицине, на которые указывают имеющиеся в литературе результаты экспериментальных исследований, суммированы на рис. 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Присутствующие в менструальной крови клетки десквамированного эндометрия с характеристиками МСК являются ценным ресурсом для регенеративной медицины ввиду их способности улучшать состояние патологически измененных тканей, прежде всего за счет продукции регуляторных молекул, комплексно влияющих на различные аспекты восстановительного процесса. По своим биологическим свойствам и характеру влияния на тканевую регенерацию МСК из менструальной крови сходны с таковыми из других клинически значимых источников, таких как костный мозг, жировая ткань, пульпа зуба и ткани последа, при этом их несомненное преимущество состоит в большей доступности и возможности многократного получения путем неинвазивной процедуры. Ценными с точки зрения возможности клинического применения являются и такие особенности этих клеток, как широкий спектр потенциалов к дифференцировке, высокий пролиферативный потенциал, позволяющий быстро нарастить необходимое для трансплантации число клеток из малого количества исходного материала, и генетическая стабильность в ходе культивирования.

Следует отметить, что при всей перспективности МСК менструальной крови как источника клеток для регенеративной медицины их клиническое использование сопряжено с рядом проблем. В частности, гетерогенность популяции, содержащей не только мультипотентные клетки со свойствами стволовых, но и стромальные фибробласты, и отсутствие общепринятого протокола выделения МСК затрудняют стандартизацию клеточных препаратов, получаемых из менструальной крови. Кроме того, характеристики содержащихся в ней МСК зависят от возраста донора и, вероятно, от состояния его репродуктивной системы. Влияние этих параметров на регенеративный потенциал МСК к настоящему времени исследовано недостаточно. Нельзя также исключить различные неблагоприятные последствия введения МСК менструальной крови пациенту, такие как дифференцировка в нежелательном направлении, отторжение иммунной системой, образование опухоли. Хотя результаты экспериментов на животных и первых клинических испытаний свидетельствуют об отсутствии серьезных побочных эффектов клеточной терапии с их использованием, этот вопрос должен быть исследован более тщательно. Еще одна сложность связана с низкой выживаемостью трансплантированных МСК в очаге поражения, ограничивающей их терапевтический потенциал. Эта проблема может

быть отчасти преодолена путем генетической модификации клеток или их прекондиционирования культивированием в стрессовых условиях. Кроме того, преимущественно паракринный механизм регуляторного действия МСК, в том числе и из менструальной крови, на поврежденные ткани делает возможным терапевтическое применение не самих клеток, а их секреторных продуктов, в частности, внеклеточных везикул, что связано с меньшими техническими трудностями и меньшим риском для пациента. Наконец, необходимо дальнейшее исследование клеточных и молекулярных механизмов, посредством которых МСК из менструальной крови оказывают благотворное влияние на тканевую регенерацию, и сравнение их с таковыми для МСК из других, более изученных источников. Полученные знания станут теоретической основой применения этих клеток в медицине и определяют спектр заболеваний, при которых их трансплантация позволит достичь оптимальных результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимов С.В., Земелько В.И., Гринчук Т.М., Никольский Н.Н.*, 2013. Стволовые клетки менструальной крови как потенциальный субстрат клеточной терапии // *Цитология*. Т. 55. № 1. С. 5–9.
- Домнина А.П., Новикова П.В., Фридлянская И.И., Шилина М.А., Зенин В.В. и др.*, 2015. Индукция децидуальной дифференцировки в эндометриальных мезенхимных стволовых клетках // *Цитология*. Т. 57. № 12. С. 880–884.
- Земелько В.И., Гринчук Т.М., Домнина А.П., Арцыбашева И.В., Зенин В.В. и др.*, 2011. Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки десквамированного эндометрия. Выделение, характеристика и использование в качестве фидерного слоя для культивирования эмбриональных стволовых линий человека // *Цитология*. Т. 53. № 12. С. 919–929.
- Akhavan-Tavakoli M., Fard M., Khanjani S., Zare S., Edalatkhah H. et al.*, 2017. *In vitro* differentiation of menstrual blood stem cells into keratinocytes: A potential approach for management of wound healing // *Biologicals*. V. 48. P. 66–73.
- Alcayaga-Miranda F., González P.L., Lopez-Verrilli A., Varas-Godoy M., Aguila-Díaz C. et al.*, 2016. Prostate tumor-induced angiogenesis is blocked by exosomes derived from menstrual stem cells through the inhibition of reactive oxygen species // *Oncotarget*. V. 7. № 28. P. 44462–44477.
- Asatrian G., Pham D., Hardy W.R., James A.W., Peault B.*, 2015. Stem cell technology for bone regeneration: current status and potential applications // *Stem Cells Cloning*. V. 8. P. 39–48.
- Beeravolu N., McKee C., Alamri A., Mikhael S., Brown C. et al.*, 2017. Isolation and characterization of mesenchymal

- stromal cells from human umbilical cord and fetal placenta // *J. Vis. Exp.* № 122. P. 55224.
- Bernardo M.E., Emons J.A., Karperien M., Nauta A.J., Willemze R. et al., 2007. Human mesenchymal stem cells derived from bone marrow display a better chondrogenic differentiation compared with other sources // *Connect. Tissue Res.* V. 48. № 3. P. 132–140.
- Cervelló I., Mas A., Gil-Sanchis C., Peris L., Faus A. et al., 2011. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines // *PLoS One.* V. 6. № 6. P. e21221.
- Charif N., Li Y.Y., Targa L., Zhang L., Ye J.S. et al., 2017. Aging of bone marrow mesenchymal stromal/stem cells: Implications on autologous regenerative medicine // *Biomed. Mater. Eng.* V. 28. Suppl. 1. P. S57–S63.
- Chen J., Du X., Chen Q., Xiang C., 2015a. Effects of donors' age and passage number on the biological characteristics of menstrual blood-derived stem cells // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* V. 8. № 11. P. 14584–14595.
- Chen J.Y., Mou X.Z., Du X.C., Xiang C., 2015b. Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins // *Asian Pac. J. Trop. Med.* V. 8. № 9. P. 739–746.
- Chen L., Jingjing Q., Xiang C., 2019. The multi-functional roles of menstrual blood-derived stem cells in regenerative medicine // *Stem Cell Res. Ther.* V. 10. № 1. P. 1.
- Chen L., Zhang C., Chen L., Wang X., Xiang B. et al., 2017. Human menstrual blood-derived stem cells ameliorate liver fibrosis in mice by targeting hepatic stellate cells via paracrine mediators // *Stem Cells Transl. Med.* V. 6. № 1. P. 272–284.
- Dalirfardouei R., Jamialahmadi K., Mahdipour E., 2018. A feasible method for the isolation of mesenchymal stem cells from menstrual blood and their exosomes // *Tissue Cell.* V. 55. P. 53–62.
- Darzi S., Werkmeister J.A., Deane J.A., Gargett C.E., 2016. Identification and characterization of human endometrial mesenchymal stem/stromal cells and their potential for cellular therapy // *Stem Cells Transl. Med.* V. 5. P. 1127–1132.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F. et al., 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy.* V. 8. № 4. P. 315–317.
- Domnina A.P., Zemelko V.I., Mikhailov V.M., Nikolsky N.N., 2013. Stimulation of decidua development by transplantation of endometrial stem cells // *J. Biomed. Sci. Eng.* V. 6. P. 59–65.
- Ercal P., Pekozer G.G., Kose G.T., 2018. Dental stem cells in bone tissue engineering: Current overview and challenges // *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 1107. P. 113–127.
- Farzamfar S., Naseri-Nosar M., Ghanavatinejad A., Vaez A., Zarnani A.H. et al., 2017. Sciatic nerve regeneration by transplantation of menstrual blood-derived stem cells // *Mol. Biol. Rep.* V. 44. № 5. P. 407–412.
- Freeman B.T., Kouris N.A., Ogle B.M., 2015. Tracking fusion of human mesenchymal stem cells after transplantation to the heart // *Stem Cells Transl. Med.* V. 4. № 6. P. 685–694.
- Gargett C.E., Schwab K.E., Deane J.A., 2016. Endometrial stem/progenitor cells: The first 10 years // *Hum. Reprod. Update.* V. 22. № 2. P. 137–163.
- Hu J., Song K., Zhang J., Zhang Y., Tan B.Z., 2019. Effects of menstrual blood derived stem cells on endometrial injury repair // *Mol. Med. Rep.* V. 19. № 2. P. 813–820.
- Hu X., Zhou Y., Zheng X., Tian N., Xu C. et al., 2014. Differentiation of menstrual blood-derived stem cells toward nucleus pulposus-like cells in a coculture system with nucleus pulposus cells // *Spine.* V. 39. № 9. P. 754–760.
- Huda F., Fan Y., Suzuki M., Konno A., Matsuzaki Y. et al., 2016. Fusion of human fetal mesenchymal stem cells with “degenerating” cerebellar neurons in spinocerebellar ataxia type 1 model mice // *PLoS One.* V. 11. № 11. P. e0164202.
- Ichim T.E., Solano F., Lara F., Rodriguez J.P., Cristea O. et al., 2010. Combination stem cell therapy for heart failure // *Int. Arch. Med.* V. 3. № 1. P. 5.
- Jeon Y.J., Kim J., Cho J.H., Chung H.M., Chae J.I., 2016. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, placenta, and adipose tissue as sources of cell therapy // *J. Cell. Biochem.* V. 117. № 5. P. 1112–1125.
- Jiang Z., Hu X., Yu H., Xu Y., Wang L. et al., 2013. Human endometrial stem cells confer enhanced myocardial salvage and regeneration by paracrine mechanisms // *J. Cell. Mol. Med.* V. 17. № 10. P. 1247–1260.
- Khanjani S., Khanmohammadi M., Zarnani A.H., Talebi S., Edalatkhah H. et al., 2015. Efficient generation of functional hepatocyte-like cells from menstrual blood-derived stem cells // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* V. 9. № 11. P. E124–E134.
- Khanmohammadi M., Khanjani S., Edalatkhah H., Zarnani A.H., Heidari-Vala H. et al., 2014. Modified protocol for improvement of differentiation potential of menstrual blood-derived stem cells into adipogenic lineage // *Cell Prolif.* V. 47. № 6. P. 615–623.
- Khanmohammadi M., Golshahi H., Saffarian Z., Montazeri S., Khorasani S. et al., 2019. Repair of osteochondral defects in rabbit knee using menstrual blood stem cells encapsulated in fibrin glue: A good stem cell candidate for the treatment of osteochondral defects // *Tissue Eng. Regen. Med.* V. 16. № 3. P. 311–324.
- Konala V.B.R., Mamidi M.K., Bhonde R., Das A.K., Pochampally R. et al., 2016. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration // *Cytotherapy.* V. 18. № 1. P. 13–24.
- Kovina M.V., Krashennikov M.E., Dyuzheva T.G., Danilevsky M.I., Klabukov I.D. et al., 2018. Human endometrial stem cells: High-yield isolation and characterization // *Cytotherapy.* V. 20. № 3. P. 361–374.
- Lai D., Guo Y., Zhang Q., Chen Y., Xiang C., 2016. Differentiation of human menstrual blood-derived endometrial

- mesenchymal stem cells into oocyte-like cells // *Acta Biochim. Biophys. Sin.* V. 48. № 11. P. 998–1005.
- Li C.Y., Wu X.Y., Tong J.B., Yang X.X., Zhao J.L. et al., 2015. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xenofree conditions for cell therapy // *Stem Cell Res. Ther.* V. 6. P. 55.
- Li F., Alderman M.H. 3rd, Tal A., Mamillapalli R., Coolidge A. et al., 2018. Hematogenous dissemination of mesenchymal stem cells from endometriosis // *Stem Cells.* V. 36. № 6. P. 881–890.
- Liu Y., Niu R., Yang F., Yan Y., Liang S. et al., 2018. Biological characteristics of human menstrual blood-derived endometrial stem cells // *J. Cell. Mol. Med.* V. 22. № 3. P. 1627–1639.
- Luz-Crawford P., Torres M.J., Noël D., Fernandez A., Toupet K. et al., 2016. The immunosuppressive signature of menstrual blood mesenchymal stem cells entails opposite effects on experimental arthritis and graft versus host diseases // *Stem Cells.* V. 34. № 2. P. 456–469.
- Lv H., Hu Y., Cui Z., Jia H., 2018. Human menstrual blood: A renewable and sustainable source of stem cells for regenerative medicine // *Stem Cell Res. Ther.* V. 9. № 1. P. 325.
- Mehrabani D., Nazarabadi R.B., Kasraeian M., Tamadon A., Dianatpour M. et al., 2016. Growth kinetics, characterization, and plasticity of human menstrual blood stem cells // *Iran J. Med. Sci.* V. 41. № 2. P. 132–139.
- Meng X., Ichim T.E., Zhong J., Rogers A., Yin Z. et al., 2007. Endometrial regenerative cells: A novel stem cell population // *J. Transl. Med.* V. 5. P. 57.
- Paliwal S., Chaudhuri R., Agrawal A., Mohanty S., 2018. Regenerative abilities of mesenchymal stem cells through mitochondrial transfer // *J. Biomed. Sci.* V. 25. P. 31.
- Patel A.N., Park E., Kuzman M., Benetti F., Silva F.J. et al., 2008. Multipotent menstrual blood stromal stem cells: Isolation, characterization, and differentiation // *Cell Transplant.* V. 17. № 3. P. 303–311.
- Ren H., Sang Y., Zhang F., Liu Z., Qi N. et al., 2016. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from umbilical cord, dental pulp, and menstrual blood as sources for cell therapy // *Stem Cells Int.* V. 2016. P. 3516574.
- Rodrigues M.C., Lippert T., Nguyen H., Kaelber S., Sanberg P.R. et al., 2016. Menstrual blood-derived stem cells: *In vitro* and *in vivo* characterization of functional effects // *Adv. Exp. Med. Biol.* V. 951. P. 111–121.
- Rossignoli F., Caselli A., Grisendi G., Piccinno S., Burns J.S. et al., 2013. Isolation, characterization, and transduction of endometrial decidual tissue multipotent mesenchymal stromal/stem cells from menstrual blood // *Biomed. Res. Int.* V. 2013. P. 901821.
- Samsonraj R.M., Raghunath M., Nurcombe V., Hui J.H., Wijnen A.J., van, et al., 2017. Concise review: Multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine // *Stem Cells Transl. Med.* V. 6. № 12. P. 2173–2185.
- Schneider S., Unger M., Griensven M., van, Balmayor E.R., 2017. Adipose-derived mesenchymal stem cells from liposuction and resected fat are feasible sources for regenerative medicine // *Eur. J. Med. Res.* V. 22. № 1. P. 17.
- Sun P., Liu J., Li W., Xu X., Gu X. et al., 2016. Human endometrial regenerative cells attenuate renal ischemia reperfusion injury in mice // *J. Transl. Med.* V. 14. P. 28.
- Sun Y., Ren Y., Yang F., He Y., Liang S. et al., 2019. High-yield isolation of menstrual blood-derived endometrial stem cells by direct red blood cell lysis treatment // *Biol. Open.* V. 8. № 5. P. bio038885.
- Tan J., Li P., Wang Q., Li Y., Li X. et al., 2016. Autologous menstrual blood-derived stromal cells transplantation for severe Asherman's syndrome // *Hum. Reprod.* V. 31. № 12. P. 2723–2729.
- Wu Q., Wang Q., Li Z., Li X., Zang J. et al., 2018. Human menstrual blood-derived stem cells promote functional recovery in a rat spinal cord hemisection model // *Cell Death Dis.* V. 9. № 9. P. 882.
- Wu X., Luo Y., Chen J., Pan R., Xiang B. et al., 2014. Transplantation of human menstrual blood progenitor cells improves hyperglycemia by promoting endogenous progenitor differentiation in type 1 diabetic mice // *Stem Cells Dev.* V. 23. № 11. P. 1245–1257.
- Xu L., Liu Y., Sun Y., Wang B., Xiong Y. et al., 2017. Tissue source determines the differentiation potentials of mesenchymal stem cells: A comparative study of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue // *Stem Cell Res. Ther.* V. 8. № 1. P. 275.
- Xu Y., Zhu H., Zhao D., Tan J., 2015. Endometrial stem cells: Clinical application and pathological roles // *Int. J. Clin. Exp. Med.* V. 8. № 12. P. 22039–22044.
- Yang X., Devianti M., Yang Y.H., Ong Y.R., Tan K.S. et al., 2019. Endometrial mesenchymal stem/stromal cell modulation of T cell proliferation // *Reproduction.* V. 157. № 1. P. 43–52.
- Yoshimura H., Muneta T., Nimura A., Yokoyama A., Koga H. et al., 2007. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle // *Cell Tissue Res.* V. 327. № 3. P. 449–462.
- Zhao Y., Lan X., Wang Y., Xu X., Lu S. et al., 2018. Human endometrial regenerative cells attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice // *Stem Cells Int.* V. 2018. P. 3475137.
- Zheng Y., Zhou Y., Zhang X., Chen Y., Zheng X. et al., 2017. Effects of hypoxia on differentiation of menstrual blood stromal stem cells towards tenogenic cells in a co-culture system with Achilles tendon cells // *Exp. Ther. Med.* V. 13. № 6. P. 3195–3202.
- Zhong Z., Patel A.N., Ichim T.E., Riordan N.H., Wang H. et al., 2009. Feasibility investigation of allogeneic endometrial regenerative cells // *J. Transl. Med.* V. 7. P. 15.

Menstrual blood-derived mesenchymal stromal cells as a resource for regenerative medicine

**O. V. Payushina^{a, *}, D. A. Tsomartova^a, E. V. Cheresheva^a, M. Yu. Ivanova^a,
T. A. Lomanovskaya^a, S. L. Kuznetsov^a**

*^aSechenov First Moscow Medical University, Ministry of Health of the RF
Trubetskaya, 8, bld. 2, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: payushina@mail.ru*

Development of regenerative medicine creates the need for an accessible source of cells for stimulation of the recovery processes in pathologically altered tissues and organs. Such a source can be menstrual blood with fragments of the desquamated endometrium containing mesenchymal stromal cells (MSCs) that are involved in the regeneration of endometrial functional layer during the menstrual cycle. These cells are phenotypically similar to MSCs from other clinically relevant sources (bone marrow, adipose tissue, dental pulp, placenta) capable of active growth *in vitro*, have a wide differentiation potential. They secrete various biologically active substances in a paracrine manner and thereby stimulate survival and proliferation of cells in affected tissues, regulate immune responses and angiogenesis, and prevent fibrosis. Currently, the possibility to use menstrual blood-derived MSCs in various fields of medicine is being actively researched. Experiments on animals demonstrated the prospects of cell therapy with these cells for the treatment of pathologies of the cardiovascular, nervous, reproductive systems, skin wounds, myodystrophy, diabetes mellitus, diseases of the liver, lungs, intestines and other organs. However, in order to successfully implement menstrual blood-derived MSCs in medical practice, further research is required to optimize protocols for cells isolation, assess possible risks of their transplantation, overcoming the problem of their low survival in the lesion focus and clarify the cellular and molecular mechanisms of their regenerative effect.

УДК 575.822

РОЛЬ РЕТРОЭЛЕМЕНТОВ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ ЖИВОТНЫХ

© 2021 г. Л. Н. Нефедова¹, *, А. И. Ким¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра генетики
Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234 Россия

*E-mail: lidia_nefedova@mail.ru

Поступила в редакцию 12.06.2020 г.

После доработки 26.08.2020 г.

Принята к публикации 28.09.2020 г.

Ретроэлементы (ретротранспозоны и эндогенные ретровирусы) представляют собой класс мобильных генетических элементов, широко представленный у различных групп эукариот. Считается, что большинство ретроэлементов, присутствующих в геноме, не оказывает значительного влияния на организм хозяина, который в процессе коэволюции с ретроэлементами вырабатывает различные механизмы контроля их транспозиции. Но даже лишённые транспозиционной активности ретроэлементы могут играть существенную роль в эволюции, способствуя формированию новых адаптивных механизмов, обусловленных, в свою очередь, формированием новых генетических сетей. Процесс, в котором организм адаптирует отдельные последовательности ретроэлементов, называется молекулярной доместикацией. Экзаптация подразумевает формирование новых генетических структур и функций, как правило, появившихся в результате продолжительной эволюции доместичированных последовательностей мобильных элементов. Для трех ключевых генов ретротранспозонов/эндогенных ретровирусов (*gag*, *pol* и *env*) известны случаи доместикации. Феномен доместикации/экзаптации свидетельствует о фундаментальной роли, которую играют ретроэлементы в процессе эволюции генома, и значительной эволюционной выгоде присутствия в геноме ретроэлементов, несмотря на то, что их транспозиционная активность может сопровождаться негативными эффектами на уровне индивидуального организма.

DOI: 10.31857/S0044459621010036

Ретроэлементы (ретротранспозоны и эндогенные ретровирусы) представляют собой класс мобильных элементов, широко представленный в геномах различных групп эукариот. Они занимают около 10% генома нематоды *Caenorhabditis elegans*, 15% генома дрозофилы, 35% генома мыши и 40% генома человека (Chénais et al., 2012). Очевидно, что ретроэлементы – весомый компонент, который не может не влиять на функционирование и эволюцию генома в целом.

Считается, что подавляющее большинство копий ретроэлементов, присутствующих в геноме, не оказывают значительного влияния на организм хозяина, поскольку они утратили функциональную активность. Кроме того, в процессе совместной коэволюции генома с его мобильным компонентом сформировались защитные генетические механизмы, эффективно подавляющие транспозицию (Goodier, 2016). Эти механизмы связаны главным образом с РНК-интерференцией и эпигенетической регуляцией. У позвоночных активируются различные типы чувствительных к вирусной нуклеиновой кислоте рецепторов, включая Toll-подобные рецепторы, RIG-I/MDA5,

IFI16, cGAS и другие (Hornung, 2014). У млекопитающих в инактивации ретроэлементов значительную роль играют РНК- и ДНК-редактирующие ферменты семейств ADAR (adenosine deaminase acting on RNA) (Samuel, 2011) и APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide) (Cullen, 2006). Дезаминазы ADAR1 и ADAR2 участвуют в редактировании РНК большого количества вирусов, в том числе ретровирусов, при этом ADAR может модифицировать вирусную РНК сайт-специфически, как это происходит, например, у вируса гепатита дельта и ВИЧ, а может вызывать летальное гиперредактирование, редактируя множество аденозинов (Samuel, 2011). APOBEC3G проявляет антиретровирусную иммунную активность против ретровирусов: он способен проникать внутрь вирусной частицы и дезаминировать одноцепочечную ДНК, обратнотранскрибированную с РНК вируса (Cullen, 2006). Однако лентивирусы, в том числе ВИЧ, в ходе эволюции приобрели ген фактора вирусной инфекционности Vif, который способен взаимодействовать с APOBEC3G и запускать убиквити-

нирование и деградацию APOBEC3G через про-теасомный путь (Cullen, 2006).

В ряде исследований показана связь между активностью ретроэлементов и патологиями, снижающими жизнеспособность организма. Выявлены заболевания, обусловленные интеграцией ретроэлементов в гены или их регуляторные последовательности. У человека это различные типы гемофилии и анемии, рак молочной железы, мышечная дистрофия, нейрофиброматоз и аутоиммунные заболевания (Kaer, Speek, 2013).

Активация транспозиции чаще всего происходит в том случае, когда вирус или мобильный элемент попадает в организм впервые, и механизмы контроля его транспозиции еще не выработаны, или в том случае, когда имеющиеся механизмы нарушаются (Goodier, 2016). Факторами, нарушающими механизмы контроля мобильных элементов, могут служить мутации в контролирующих генах, а также различные стрессовые факторы (Li, Schmid, 2001). Нарушение контроля транспозиции приводит к геномной нестабильности, выражающейся в значительном повышении темпов мутационного процесса (Vela et al., 2014). Увеличение числа копий ретроэлементов в геноме приводит, в свою очередь, к увеличению частоты рекомбинационных событий и к геномным перестройкам, в том числе к дупликациям последовательностей (Kazazian, 2014). Дупликации могут происходить не только за счет рекомбинации, но и за счет активности обратной транскриптазы ретроэлементов, с которой связывают процесс образования процессированных псевдогенов. Так, в геноме человека насчитывается около восьми тысяч процессированных псевдогенов, 10% из которых транскрипционно активны (Kazazian, 2014). Дупликации, связанные с L1-транскрипциями, составляют более 1% генома человека (Pickeral et al., 2000). Таким образом, ретроэлементы способствуют дупликации генов – одному из основных факторов, способствующих эволюционному процессу и приобретению организмом новых функций (Kaessmann et al., 2009).

Но даже лишенные транспозиционной активности, ретроэлементы могут играть значимую роль в эволюции, способствуя формированию новых адаптивных механизмов. Процесс, в котором организм адаптирует последовательности мобильных элементов для собственной пользы, называют молекулярной доместиацией. Термин был предложен Миллером в 1997 г., чтобы описать эти явления (Miller et al., 1997).

Существует множество примеров, в которых доместиация мобильных элементов привела к формированию новых фундаментальных биологических функций. Наиболее известные из них – адаптация к участию в удлинении теломер ретро-транспозонов *HeT-A*, *TAHRE* и *TART* у *Drosophila*

(Silva-Sousa et al., 2012), а также *SART* и *TRAS* у *Bombyx mori* (Fujiwara et al., 2005); доместиация транспозазы транспозона *piggyBac*, участвующей в геномных перестройках у *Paramecium* при образовании соматического макронуклеуса (Baudry et al., 2009); доместиация транспозазы мобильного элемента *Transib* и появление гена *RAG1*, который необходим для рекомбинации V(D)J-сегментов генов иммуноглобулинов (Huang et al., 2016).

Важнейшее понятие, применимое к эволюционной роли последовательностей мобильных элементов, – “экзаптация”. Экзаптация подразумевает формирование новых генетических структур и функций, как правило, появившихся в результате продолжительной эволюции доместичированных последовательностей мобильных элементов (Schrader, Schmitz, 2019).

В настоящем обзоре будут рассмотрены случаи доместикации последовательностей ретроэлементов, которые сопровождались экзаптацией и привели к появлению новых регуляторных последовательностей и генов с адаптивными функциями у животных.

СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО ДКП-РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ И РЕТРОВИРУСОВ СВИДЕТЕЛЬСТВУЕТ ОБ ИХ ОБЩЕМ ПРОИСХОЖДЕНИИ

В настоящее время ретроэлементы делят на четыре группы: ретроэлементы с длинными концевыми повторами (ДКП) – ДКП-ретротранспозоны, ретроэлементы без ДКП, ретроэлементы с доменной тирозиновой рекомбиназой (YR-элементы) и *Penelope* (Eickbush, Jamburuthugoda, 2008). Некоторые ДКП-ретротранспозоны имеют три открытые рамки считывания (ОРС), гомологичные ретровирусным генам *gag*, *pol* и *env*, и проявляют удивительное сходство по строению с интегрированными в геном копиями ретровирусов – про-вирусами.

И ДКП-ретротранспозоны, и интегрированные копии ретровирусов содержат на концах полностью идентичные друг другу ДКП, образующиеся в процессе обратной транскрипции, и имеют довольно консервативную структуру (что свидетельствует об их однократном появлении в процессе эволюции ретроэлементов) и варьирующую обычно в пределах нескольких сотен нуклеотидов длину (Benachenhou et al., 2013). Почти все ДКП-ретротранспозоны имеют сложно устроенные промоторные области, включающие в себя базальные промоторные элементы, отстоящие на несколько пар нуклеотидов от старта транскрипции, и дистальные промоторные элементы (энхансеры и сайленсеры), влияющие на базальный уровень транскрипции. При этом действие последних может быть тканеспецифично и может

изменяться в зависимости от стадии развития организма (Trizzino et al., 2018). Сравнение нуклеотидных последовательностей двух ДКП одного ретроэлемента может дать информацию о “возрасте” интегрированной копии (Bowen, McDonald, 2001): абсолютная идентичность двух ДКП одной копии ретроэлемента свидетельствует о ее недавней интеграции; чем больше нуклеотидных замен (мутаций) накапливают ДКП, тем дальше они находятся в данном сайте генома.

Кодирующую часть ДКП-ретротранспозонов обычно составляют две открытые рамки считывания (ОРС), гомологичные ретровирусным генам *gag* и *pol*, а у некоторых ДКП-ретротранспозонов имеется еще и ОРС3, гомологичная гену *env* ретровирусов (Kim et al., 1994). Помимо генов *gag*, *pol* и *env*, в геноме ретровирусов (лентивирусов) могут содержаться дополнительные гены – *vif*, *vpr*, *vpu*, *tat*, *rev* и *nef*, продукты которых необходимы для репликации и участвуют в регуляции синтеза и созревания вирусной РНК (Robertson, 2016).

Основной функцией ОРС1 (*gag*) является формирование нуклеопротеиновых комплексов – вирусоподобных частиц (ВПЧ), сходных с вирусными частицами ретровирусов. ВПЧ осуществляют транспорт обратных транскриптов к ядру. Кроме того, образование ВПЧ способствует изоляции обратной транскриптазы и других кодируемых ретроэлементами ферментов, что уменьшает вероятность образования процессированных псевдогенов.

Продукт ОРС2 (*pol*) обычно синтезируется в результате сдвига рибосомы на –1 нуклеотид при трансляции транскрипта *gag-pol*, но у некоторых ретроэлементов встречается сдвиг на +1 нуклеотид (Farabaugh, 1996) и механизм трансляционной супрессии (Yoshinaka et al., 1985). ОРС2 кодирует протеазу, обратную транскриптазу, РНКазу Н и интегразу, которые синтезируются как единый полипептид, процессируемый протеазой. Обратная транскриптаза образует кДНК-копию РНК ретроэлемента, РНКазы Н удаляет скопированную РНК из образующегося гетеродуплекса РНК-ДНК, а интеграса осуществляет встраивание обратного транскрипта в геном хозяина.

Продукт третьей ОРС (*env*) образуется с помощью сплайсинга основного транскрипта. Ген *env* ретровирусов кодирует компоненты, которые ответственны за взаимодействие вирусной частицы с мембранными рецепторами клетки, в результате чего вирус проникает в нее. Раньше считали, что ретровирусы есть только у позвоночных, и основным различием ретровирусов и ретроэлемента является именно наличие у первых гена *env*. Однако были найдены несколько семейств ДКП-ретротранспозонов с функциональной ОРС3 и получены экспериментальные доказательства того,

что некоторые ДКП-ретротранспозоны беспозвоночных (*Drosophila melanogaster*) являются истинными ретровирусами (Kim et al., 1994). В связи с этим классификация ретровирусов была пересмотрена.

Современная классификация ретровирусов включает ретроэлементы и базируется на сходстве последовательностей обратных транскриптаз и интеграз. Ретровирусы и родственные им ДКП-ретротранспозоны объединены в порядок вирусов *Ortervirales*, включающий пять семейств: *Pseudoviridae*, *Belpaoviridae*, *Caulimoviridae*, *Metaviridae* и *Retroviridae* (Krupovic et al., 2018). К сем. *Pseudoviridae* относят ДКП-ретроэлементы группы *Ty1/copia*. Оно включает три рода: *Pseudovirus* (элемент *Ty1* у *Saccharomyces cerevisiae*), *Hemivirus* (элемент *copia* у *D. melanogaster*) и *Sirevirus* (*SIRE*-элементы у хвойных и цветковых растений). Сем. *Belpaoviridae* включает ДКП-ретроэлементы группы *Bel/Pao* (р. *Semotivirus*). К сем. *Caulimoviridae* относят вирусы растений с необычным жизненным циклом (дцДНК-вирусы с обратной транскрипцией, в отличие от ретровирусов, являющихся оц(+)РНК-вирусами с обратной транскрипцией). Вирусы этого семейства утратили интегразный домен и длинные концевые повторы, но по остальным свойствам близки к ретровирусам. Примечательно, что каулимовирусы формируют огромные семейства эндогенных вирусных элементов – эндогенные параретровирусы (Chabannes, Iskra-Caruana, 2013). Сем. *Metaviridae* включает ДКП-ретроэлементы группы *Ty3/gypsy*. В него входит два рода: *Metavirus* (элементы *Ty3* у *S. cerevisiae*) и *Errantivirus* (элемент *gypsy* у *D. melanogaster* и близких видов). К сем. *Retroviridae* относятся собственно ретровирусы, как инфекционные (экзогенные), так и неинфекционные (эндогенные).

Таким образом, отличия ретровируса и ДКП-ретротранспозона носят формальный характер и заключаются главным образом в наличии/отсутствии инфекционных свойств, которые во многом определяются функциональным геном *env*. Гена *env* нет у многих ДКП-ретротранспозонов, например у ДКП-ретротранспозонов с двумя генами *gag* и *pol*. Но это не означает, что они не могут воспользоваться функцией гена *env* других ДКП-ретротранспозонов или ретровирусов. В то же время существуют “неполноценные” ретровирусы (например, вирусы сарком – *Ha-MSV*, *MoMSV*, *SSV*), не имеющие собственных генов *env* и *pol*. Такие ретровирусы проявляют инфекционные свойства только при коинфекции с другими ретровирусами (дефектный ретровирус использует капсид и ферменты репликации полноценного ретровируса), что мало отличает их от многих ДКП-ретротранспозонов (Horie, Tomonaga, 2011). Процесс эндогенизации является ключевым в переходе от ретровируса к ДКП-ретротранспозону

и заключается в интеграции вируса в геном клеток на ранней эмбриональной стадии и деградации последовательности, отвечающей за инфекционные свойства вируса. Рекомбинация может приводить к обратному переходу ДКП-ретротранспозона в ретровирус.

НЕКОДИРУЮЩИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ РЕТРОТРОЭЛЕМЕНТОВ УЧАСТВУЮТ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ХОЗЯЙСКИХ ГЕНОВ

Ретроэлементы составляют значительную часть генома эукариот и неизбежно оказывают влияние на структуру и функционирование генома организма-хозяина. Очевидно, что интегрированные копии ретроэлементов или их фрагменты, находящиеся рядом с какими-либо регуляторными последовательностями генов, иногда внутри них или даже сами по себе, могут изменять экспрессию генов.

Последовательности ретроэлемента, интегрированные в интроны генов, могут влиять на сплайсинг, предоставляя новые донорные или акцепторные сайты сплайсинга, а также могут служить донорами новых экзонов (Sela et al., 2010). Так, установлено, что около 4% кодирующих последовательностей белок-кодирующих генов человека включают экзонизированные последовательности Alu и L1 (Nekrutenko, Li, 2001). Кроме того, описан процесс “интронизации” с участием ретроэлементов (Sela et al., 2007). С-концевой экзон рецептора лептина 219.1 происходит от составного неавтономного элемента SVA (из его последовательности, гомологичной эндогенному ретровирусу HERV-K), в результате на С-конце белка добавляется последовательность из 67 аминокислот (Damert et al., 2004).

В геноме человека содержание неДКП-ретроэлементов составляет около 35%. Из-за наличия в их последовательностях полиА-трактов неДКП-ретротранспозоны служат источником микросателлитных повторов во многих локусах генома: около 20% всех микросателлитных повторов, включая 50% мононуклеотидных микросателлитов, находятся внутри Alu-элементов (Kelkar et al., 2008). Ретроэлементы L1 и Alu могут также служить источником внутригенных сигналов полиаденилирования (Roy-Engel et al., 2005). Анализ различных типов альтернативных сайтов полиаденилирования в последовательностях генов человека, мыши, крысы и курицы показал, что все они происходят из последовательностей ретроэлементов (Lee et al., 2008).

Помимо полиА-трактов, последовательности неДКП-ретротранспозонов обогащены CpG-повторами, служащими островками метилирования,

одна треть всех сайтов CpG человека содержится в последовательностях Alu (Rubin et al., 1994). Поскольку элементы L1, Alu и SVA часто обнаруживаются в генах или рядом с ними, образование и распространение гетерохроматина, опосредованное ретроэлементами, может репрессировать транскрипцию близлежащих генов (Xing et al., 2004).

Ретроэлементы несут сайты связывания факторов транскрипции, которые могут служить для модуляции экспрессии близлежащих генов (Polak, Domany, 2006). Почти 25% промоторных областей человека содержат последовательности, производные от мобильных элементов, в основном SINE (Santangelo et al., 2007). Существует множество примеров участия ДКП эндогенных ретровирусов, функционирующих в качестве новых промоторов или сайтов связывания факторов транскрипции для генов, и теперь стали известны примеры формирования регуляторных длинных некодирующих РНК из последовательностей эндогенных ретровирусов (Kapusta et al., 2013; Deng et al., 2019).

Ретроэлементы для генома человека стали донорами около 28% локализаций хроматиновых меток активных энхансеров – H3K4me1 (Nikitin et al., 2019) – и 20–30% локализаций хроматиновых меток промоторов, активного хроматина и гетерохроматина – H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3, H3K9me3 (Igolkina et al., 2019).

Ретроэлементы могут также служить источником энхансерных последовательностей. Таким примером является регуляция экспрессии гена *Pparg*, одного из компонентов сигнального пути адипогенеза (развития жировой ткани) у человека и животных. Транскрипция гена *Pparg* управляется энхансером, находящимся вблизи *Pparg* и обладающим особой структурой. Этот энхансер состоит из нескольких видоизмененных последовательностей ретроэлемента *LINE1* и служит местом посадки белков ZFP30 и KAP1. ZFP30 является транскрипционным фактором семейства KRAB-ZF, обычно подавляющим транскрипцию генов-мишеней. Однако в случае *Pparg* ZFP30 действует как активатор транскрипции, связываясь с *LINE*-подобной последовательностью энхансера и привлекая коактиватор KAP1 (что прямо противоположно “основной” функции ZFP30 и KAP1) (Chen et al., 2019).

У человека описана длинная некодирующая РНК PRLH1, транскрибируемая с копий последовательностей эндогенного ретровируса ERV-9 (не содержащих в себе функциональных OРС) и участвующая в репарации двуниевых разрывов. Транскрипция этой РНК стимулируется белком p53 (одним из важнейших эффекторов консервативного сигнального пути, реагирующего на двуниевые разрывы). Получившаяся молекула РНК связывается с RNF169, стабилизируя его, а также

привлекая дополнительные белки. Благодаря этому активируется репарация двунитевых разрывов по пути гомологичной рекомбинации (но не по пути NHEJ) (Deng et al., 2019). У ряда других транскриптов ERV-9 выявлена регуляторная функция: они стимулируют транскрипцию ниже лежащих генов, связываясь с ДНК ERV-9 и способствуя сборке энхансерных белковых комплексов. По такому механизму, в частности, регулируется транскрипция генов бета-глобинового кластера у человека (Hu et al., 2017).

В геноме домашней лошади идентифицирована новая микроРНК (обозначенная как *esa-miR-1804*), образовавшаяся в ходе эволюции из ДКП ретроэлемента E_qERV-E1. Авторы предполагают, что ДКП E_qERV-E1 стал источником микроРНК, которая экспрессируется тканеспецифично (Jo et al., 2019).

Недавние работы выявили активацию ретроэлементов в клетках мозга человека (Frank et al., 2005), фундаментальную роль экспрессии определенных ретроэлементов в предимплантационный период развития эмбриона (Grow et al., 2015), роль эндогенных ретровирусов в поддержании плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток (Tanaka et al., 2012). Эти работы ярко демонстрируют участие регуляторных последовательностей ретроэлементов в регуляции функционирования генома, и значение такой регуляции еще предстоит выяснить.

В последнее время появилось несколько свидетельств того, что эндогенные ретровирусы могут способствовать согласованной эволюции наборов генов, экспрессия которых регулируется согласованно в составе геной регуляторной сети (Chuong et al., 2016). Скоординированная регуляция экспрессии генов обусловлена наличием большого количества последовательностей цис-действующих регуляторных последовательностей, происходящих из ретроэлементов, а полиморфизм таких регуляторных последовательностей может быть источником фенотипических вариантов транскриптомов (Carroll, 2008).

Реструктуризация генома, опосредованная активностью ретроэлементов, может играть важную роль в ответе хозяина на стресс, облегчая адаптацию популяций и видов к изменяющимся условиям среды. Инсерции мобильных элементов в определенные сайты генома происходят с высокой частотой, что может указывать на селективное преимущество инсерционных мутаций (Chung et al., 2007). Примером может служить ген *Syp6g1*, кодирующий цитохром, участвующий в детоксикации инсектицидов. Некоторые лабораторные линии *D. melanogaster* несут инсерцию ДКП-ретротранспозона *Accord* в 5'-некодирующую область гена *Syp6g1*, что вызывает его повышенную экспрессию и приводит к инсектицидной устойчивости у

этих линий (Chung et al., 2007). Эти исследования, проведенные на лабораторных линиях, полностью коррелируют с исследованиями на природных популяциях, собранных по всему миру, где также была показана прямая корреляция между резистентностью к инсектициду и наличием инсерции *Accord* (Catania et al., 2004).

Устойчивость к фосфорорганическим инсектицидам в первую очередь обусловлена сверхэкспрессией генов неспецифических эстераз, что наблюдается у многих устойчивых видов, например *Culex quinquefasciatus*, что обусловлено присутствием элемента *LINE* вблизи локуса *Est-2* (Mouches et al., 1990). Наконец, для естественной популяции *C. pipiens* показано, что встраивание мобильного элемента в кодирующую последовательность рецептора токсина кишечника вызывает событие альтернативного сплайсинга новой мРНК, которое вызывает экспрессию измененного мембранного белка, не способного взаимодействовать с бинарным токсином *Bacillus sphaericus* (Bt) (Darboux et al., 2007).

Корреляция между условиями окружающей среды и эволюцией последовательности мобильных элементов у позвоночных все еще остается неизученной областью. К немногочисленным свидетельствам участия ретроэлементов в адаптации к условиям окружающей среды можно отнести работу Кардуччи с соавт. (Carducci et al., 2019). Ретроэлемент *Rex3*, относящийся к неДКП-ретротранспозонам, широко распространен у костистых рыб. Сравнительный анализ последовательностей *Rex3* у 39 различных видов рыб, адаптированных к разным температурным условиям, показал, что определенные структурные особенности последовательности *Rex3* строго коррелируют с условиями обитания видов (Carducci et al., 2019).

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДОМЕСТИКАЦИЯ ГЕНОВ РЕТРОЭЛЕМЕНТОВ

Важным путем приобретения новых полезных признаков является “заимствование” последовательностей генов ретроэлементов и их модификация для собственных нужд организма-хозяина — процесс, названный молекулярной доместикацией (Miller et al., 1997). Этот процесс начинается с интеграции новой копии ретроэлемента в геном (рис. 1). В некоторых случаях возможна интеграция не целой последовательности ДНК-копии ретроэлемента, а ее отдельных ОРС. Это происходит тогда, когда обратно транскрибируется и затем интегрируется в геном не полноразмерная копия ретроэлемента, а ее слайсированные формы, например ген *env*. Если интеграция последовательности ретроэлемента произошла в герминальных клетках, то она будет передана следующим поколениям, т.е. закрепится в геноме.

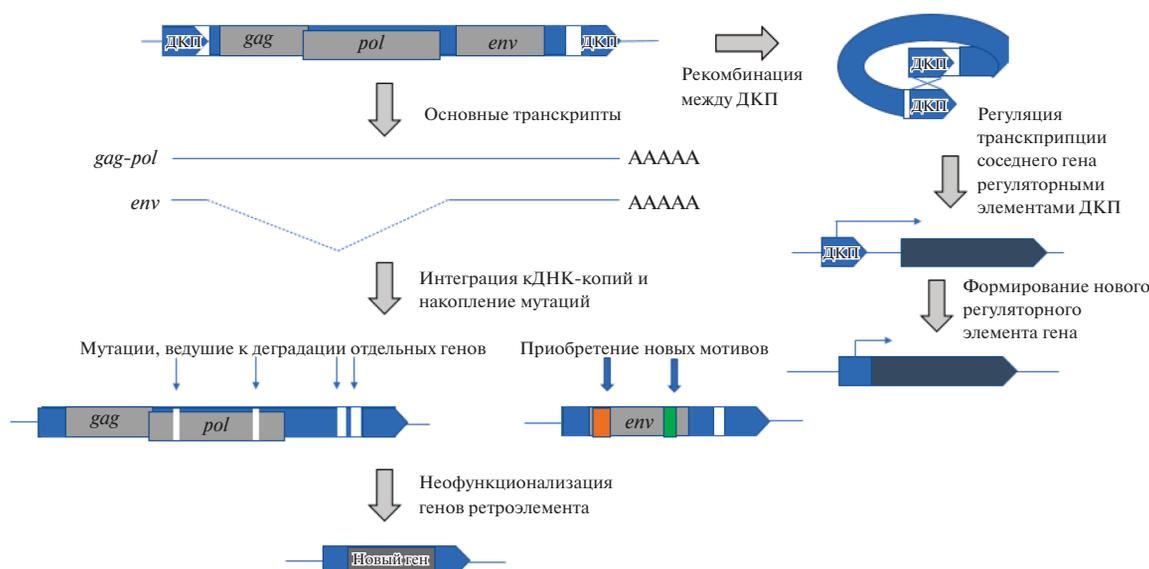


Рис. 1. Процесс доместикиции последовательностей ретроэлементов.

В ходе эволюции интегрированная последовательность ретроэлемента накапливает мутации, как и другие последовательности генома, и вскоре утрачивает функциональность, так как отбор не поддерживает ее сохранение в геноме. Однако в некоторых случаях отдельные последовательности ретроэлемента могут сохраняться отбором. Сохраняться могут как отдельные гены, так и отдельные последовательности генов. Более того, в процессе эволюции отдельные последовательности внутри доместицированного гена могут находиться под давлением движущего отбора, что приводит к формированию мотивов, не характерных для родительских генов. Появление таких мотивов и ведет к неофункционализации гена ретроэлемента — его экзаптации (рис. 1).

Процесс доместикиции может быть ускорен рекомбинацией между ДКП, в результате чего в геноме останется единственный ДКП, включающий регуляторные последовательности. Если расположение ДКП окажется "удачным", его регуляторные мотивы могут быть "использованы" соседним геном, что впоследствии приведет к адаптивному изменению регуляции гена — образованию нового регуляторного элемента.

Чаще всего доместикиция происходит в тех случаях, когда последовательности ретроэлемента потенциально имеют адаптивное значение и могут оказаться полезными геному. Адаптация может обеспечить приспособляемость организма в условиях конкретного местообитания, устойчивость к воздействию факторов абиотического и биологического характера и др. В частности, доместицированный ген ретровируса может быть использован для защиты от инфекции его "прародителем" (Nair, Rein, 2014; Yap et al., 2014). Это очевидное

применение свойств ретроэлемента. Ниже мы рассмотрим известные случаи доместикиции генов *gag*, *pol* и *env*, которые подразумевают более широкое применение потенциала ретроэлементов в геноме хозяина.

Молекулярная доместикиция гена *gag*

Самые многочисленные семейства генов, появившихся в результате доместикиции гена *gag*, — это семейства *MART* (Mammalian Retrotransposon), оно же *SIRH* (Sushi-Ichi Retrotransposon Homologue), *PNMA* (Paraneoplastic M antigens) и *SCAN* (Schradler, Schmitz, 2019) (рис. 2). Семейства генов *MART* (*SIRH*) и *PNMA* обнаружены только у млекопитающих и возникли в результате независимых доместикиций ДКП-ретротранспозонов *sushi-ichi* и ДКП-ретротранспозонов группы *Ty3/gypsy* соответственно (Ono et al., 2011; Kokosar, Kordis, 2013). Семейство генов *SCAN* обнаружено у наземных позвоночных и возникло в результате доместикиции ДКП-ретротранспозона *Gmr1* группы *Ty3/gypsy* (Emerson, Thomas, 2011).

Семейство *MART* включает не менее 11 гомологичных генов у плацентарных млекопитающих и еще несколько генов у сумчатых, локализованных чаще всего на X-хромосоме (Ono et al., 2011). Многие из них произошли, по-видимому, в результате дупликации исходного доместицированного варианта. Тем не менее считается, что доместикиция ретроэлемента *sushi-ichi* могла происходить независимо и многократно.

Гены семейства *MART* являются примером молекулярной экзаптации — ДКП-ретротранспозоны утратили ДКП, необходимые для транспозиции, но сохранили ОРС, гомологичные *gag*,

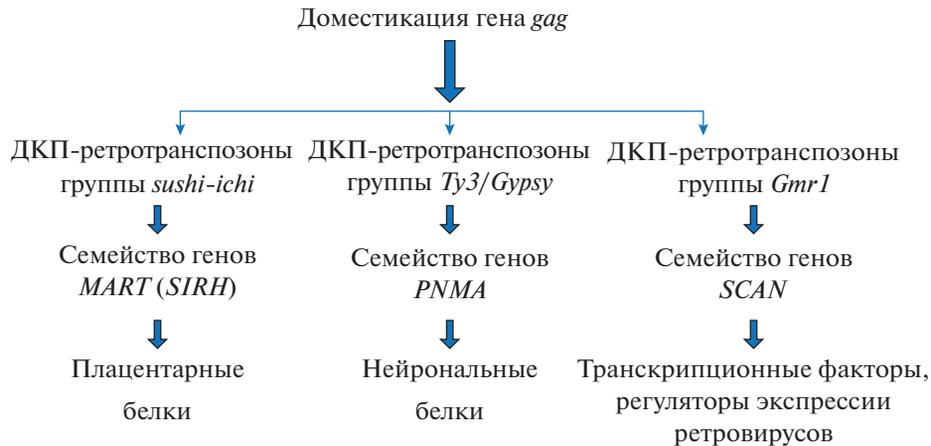


Рис. 2. Молекулярная доместикация гена *gag* у млекопитающих.

которые приобрели в процессе эволюции новые функции у млекопитающих (Henke et al., 2015) (рис. 1). Некоторые из генов семейства *MART* сохранили последовательность, гомологичную *pol*, и используют сдвиг рамки считывания при трансляции полипротеина-предшественника *gag-pol*, что характерно для ретроэлементов и ретровирусов (Clark et al., 2007). Многие из генов семейства *MART* экспрессируются в плаценте, и по крайней мере три из них необходимы на ранних стадиях формирования плаценты и ее развития (Henke et al., 2015). Наиболее изученные гены этого семейства у человека – *LDOC1* и *PEG10*.

Возникновение генов семейства *PNMA* также происходило в ходе эволюции неоднократно в результате доместикации разных ДКП-ретротранспозонов группы *Ty3/gypsy* (Kokosar, Kordis, 2013). Известно 12 генов этого семейства у мыши и 15 у человека, большинство из них расположены на X-хромосоме, многие гены семейства образовались в результате дупликаций (Kokosar, Kordis, 2013). Функции этих генов *PNMA* связаны с работой мозга. Аналогично некоторым генам семейства *MART* часть генов семейства *PNMA* сохранили последовательность, гомологичную *pol*, и используют сдвиг рамки считывания, характерный для ДКП-ретротранспозонов и ретровирусов.

Примером одной из наиболее успешных доместикаций последовательности ДКП-ретротранспозонов являются последовательности, кодирующие домен *SCAN*. Этот домен локализован в N-концевой части ряда транскрипционных факторов млекопитающих. Помимо домена *SCAN*, такие транскрипционные факторы всегда содержат *KRAB*-домен (тандемы цинковых пальцев). Домен *SCAN* гомологичен C-концевой части белка *gag* ДКП-ретротранспозона *Gmr1* группы *Ty3/gypsy* (Emerson, Thomas, 2011). Предполагается, что эта область была приобретена ранними амниотами в результате инсерции последовательности *gag* в

ген семейства *KRAB-ZF*, с последующей потерей (делецией) области, кодирующей N-конец белка *gag*. Доказательством тому служит тот факт, что у ящерицы *Anolis* в геноме присутствуют как гены *KRAB-ZF*, содержащие домен *SCAN*, так и гены *KRAB-ZF*, содержащие полноразмерный *gag*-предшественник (Emerson, Thomas, 2011).

Несмотря на дальнейшую потерю ретроэлементами *Gmr1* некоторыми группами амниот, в том числе млекопитающими, *SCAN*-домен сохраняется у продуктов многих *ZF*-генов. Геном мыши содержит около 40 таких генов, геном человека – около 70 (Emerson, Thomas, 2013). Многие из них являются транскрипционными факторами, контролирующими разнообразные биологические процессы – эмбриональное развитие, гемопоэз, метаболизм и др. (Schrader, Schmitz, 2019). При этом конкретная функция *SCAN*-домена неизвестна. Существует множество экспериментальных свидетельств его роли в качестве посредника белок-белковых взаимодействий, однако доказательства специфического связывания ограничиваются несколькими примерами.

В недавних исследованиях показано участие *SCAN*-содержащих белков в подавлении транскрипции эндогенных (Matsui et al., 2010; Rowe et al., 2010) и экзогенных ретровирусов (Barde et al., 2009). В то же время важная роль в подавлении транскрипции ретровирусов принадлежит домену *KRAB* (Wolf, Goff, 2009). Так, показано, что белки, содержащие *KRAB*-домен, способны подавлять интеграцию ВИЧ-1 (Allouch et al., 2011).

Наиболее известным примером, демонстрирующим участие доместичированных генов ретроэлементов в защите от экзогенной ретровирусной инфекции, является ген *Fv1* мышей (Best et al., 1996), который обеспечивает устойчивость к вирусу MLV120. *Fv1* произошел от гена *gag* эндогенного ретровируса *MERV* (Yap et al., 2014). Белок

Fv1 блокирует жизненный цикл ретровируса после стадии обратной транскрипции, взаимодействуя с белком капсида ретровируса и препятствуя его интеграции в геном хозяина. У мыши Fv1 способен предотвращать или задерживать спонтанные или экспериментально индуцированные вирусные опухоли (Nair, Rein, 2014).

Ортологи *Fv1* были идентифицированы у многих видов грызунов, и предполагаемое время внедрения составляет 45–50 млн лет назад (Boso et al., 2018). Некоторые ортологи *Fv1* ограничивают не только инфекцию MLV124, но и других ретровирусов, что, как предполагается, связано с тем, что *Fv1* не распознает консервативные аминокислотные мотивы, но вместо этого может обнаруживать структурно консервативные пространственные паттерны в гексамерной решетке, типичные для ядер ретровирусного капсида (Boso et al., 2018).

Локус EnJS56A1 домашних овец (*Ovis aries*) также кодирует белок Gag, который может действовать как ингибитор родственного экзогенного ретровируса овцы Jaagsiekte (JSRV) (Arnaud et al., 2007). В отличие от Fv1, который блокирует репликацию MLV вскоре после проникновения, EnJS56A1 действует на поздней стадии цикла репликации JSRV, блокируя транспортировку и сборку вирионов (Arnaud et al., 2007).

Gag-опосредованные противовирусные функции эндогенных ретровирусов человека не описаны, хотя было показано, что Gag HERV-K (HML2) ингибирует ВИЧ-1 в культуре клеток (Monde et al., 2012). Пока не известно, проявляется ли этот эффект *in vivo*.

Примером доместикиации *gag* у беспозвоночных служит ген дрозофилы *Gagr* (Gag-related protein), который представляет собой геномный гомолог гена *gag* ДКП-ретротранспозонов группы *gypsy*. Гомологи этого гена также обнаруживаются во всех секвенированных геномах видов р. *Drosophila* и обладают высокой консервативностью последовательности (Nefedova et al., 2014). Для гена *Gagr* проведен ряд исследований, указывающих на его участие в ответе на стресс различного происхождения (Graveley et al., 2011; Kemp et al., 2013; Makhnovskii et al., 2020).

Молекулярная доместикиация гена *pol*

Самым известным примером доместикиации гена *pol* является теломераза эукариот, которая произошла от обратной транскриптазы ретро-транспозонов и служит для удлинения концов линейных хромосом (Belfort et al., 2011).

Частично происходит от последовательности *pol*, кодирующей интегразу, ген млекопитающих *CGIN1*, гомологи которого имеются и у других групп позвоночных. Считается, что ген *CGIN1*

произошел от слияния фрагмента *pol*, кодирующего интегразу, с одним из генов хозяина около 150 млн лет назад. Предполагается, что функция этого гена у млекопитающих связана с защитой от ретровирусов (Chalopin et al., 2012).

Консервативным геном всех млекопитающих является ген кожной аспарагиновой протеазы, которая произошла от ретровирусной аспарагиновой протеазы. Она играет ключевую роль в процессах регенерации, а также в определении текстуры кожи путем модуляции степени гидратации (Bernard et al., 2005).

Молекулярная доместикиация гена *env*

Ярким примером доместикиации гена *env* является семейство синцитинов (*Syncytins*) (рис. 3). Синцитины – это группа генов, которые появились у плацентарных млекопитающих в результате нескольких независимых актов доместикиации гена *env* эндогенных ретровирусов. У приматов известно два таких гена – *Syncytin-1* и *Syncytin-2*, которые происходят от гена *env* разных эндогенных ретровирусов – HERV-W и HERV-FRD, интегрированных 25 и более 40 млн лет назад соответственно (Mallet et al., 2004). Геном мыши также содержит два гена этой группы – *Syncytin-A* и *Syncytin-B*, произошедшие от ретровирусов семейства HERV-F/H примерно 20 млн лет назад. Оба они проявляют специфическую для плаценты экспрессию и фузогенные свойства. Нокаут гена *Syncytin-A* приводит к эмбриональной смерти (Dupressoir et al., 2005).

Синцитины экспрессируются в слое синцитиотрофобласта, структуры, образующей самый внешний компонент плаценты. Этот слой важен для взаимодействия между матерью и плодом. Синцитины способствуют слиянию трофобластов, что приводит к образованию синцитиотрофобласта. Некоторые синцитины обладают иммуносупрессорными свойствами, которые способствуют защите тканей плода от материнской иммунной системы. У человека, помимо образования плаценты, *Syncytin-1* может участвовать в слиянии миобластов (Frese et al., 2015), остеокластов (Soe et al., 2011) и может также регулировать нейровоспаление при рассеянном склерозе (Antonou et al., 2007). Кроме грызунов и приматов, синцитины были также идентифицированы у других млекопитающих – зайцеобразных (Heidmann et al., 2009), хищников, парнокопытных и афросорицид (Cornelis et al., 2013, 2014). Все эти гены произошли в результате независимых инсерций эндогенных ретровирусов в зародышевую линию клеток, что указывает на рецидивную конвергентную доместикиацию *env*-последовательностей в гены группы синцитинов. Другой человеческий плацентарный белок, полученный из HERV – *Suppressyn*, ингибирует слияние трофоб-

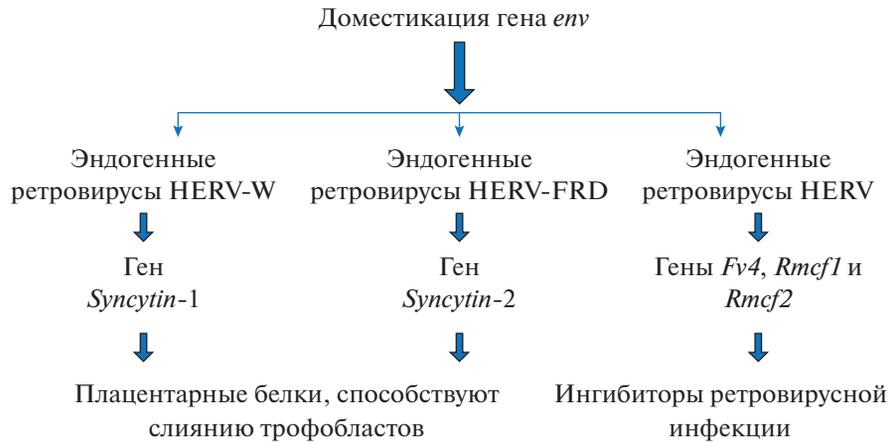


Рис. 3. Молекулярная доместикация гена *env* у млекопитающих.

ластов, конкурируя с Syncytin-1, тем самым контролируя его функцию в плаценте (Sugimoto et al., 2013).

Для доместицированных генов *env*, как и для доместицированных генов *gag*, показана и противовирусная активность.

В 1981 г. было показано, что три эндогенных локуса кур (EV3, EV6 и EV9) блокируют начальную стадию инфицирования вирусом лейкоза птиц, наиболее вероятно за счет интерференции рецепторов (Meyerson, Sawyer, 2011). Авторы исследования предсказали, что аналогичные функции будут обнаружены у других видов, которые содержат эндогенные ретровирусы.

Геном мыши содержит противовирусные гены — *Fv4*, *Rmcf1* и *Rmcf2*, которые представляют собой полноразмерные интактные гены *env* разных ретровирусов (Malfavon-Vorja, Feschotte, 2015). Эти гены контролируют восприимчивость к инфекции экотропного вируса лейкоза мыши (MuLV) (Takeda, Matano, 2007).

В результате доместикации генов *env* эндогенных бета-ретровирусов овец JSRV сформировались факторы, ограничивающие инфекцию экзогенными JSRVs (Varela et al., 2009). Примечательно, что некоторые эндогенные JSRV участвуют в развитии плаценты (Arnaud et al., 2007).

Интересно, что инфицирование CD4+ Т-клеток человека ВИЧ-1 индуцирует экспрессию локусов HERV-K (HML2) (Young et al., 2018). Некоторые локусы HERV-K (HML2) кодируют интактные гены *env*, и экспрессия по крайней мере одного из них в лабораторных клеточных линиях привела к ингибированию инфекции ВИЧ-1 (Terry et al., 2017). Показано, что такое ингибирование происходит не из-за интерференции рецепторов, что указывает на существование нового, еще не изученного механизма.

Самыми древними интактными генами *env* эндогенных ретровирусов считаются ген *percomorf* лучеперых рыб (Henzy et al., 2017) и ген *HEMO* приматов (Heidmann et al., 2017). Показано, что эти гены находятся под действием стабилизирующего отбора более 100 млн лет. И тот, и другой сохранили фузогенную функцию и могут действовать в качестве рецепторов. Гомолог *HEMO* обнаружен в геноме человека и экспрессируется как полноразмерный белок Env, который расщепляется неизвестной клеточной протеазой с высвобождением усеченной внеклеточной формы (Heidmann et al., 2017). Секретируемая форма обнаруживается в крови беременных женщин, а также в крови и тканях плаценты, но ее функции остаются неизвестными.

У беспозвоночных явление молекулярной доместикации генов *env* ретроэлементов изучено слабо. Ген *Iris* представляет собой геномный гомолог гена *env* ретровирусов у *D. melanogaster*. Гомологи гена *Iris* обнаружены в геномах всех видов подрода *Sophophora* (в том числе у группы видов *melanogaster* и *obscura*), для которых проводился их поиск (Malik et al., 2000). У этих видов наблюдается высокая консервативность последовательности гена *Iris*. Анализ гомологии последовательности *Iris* с геном *env* различных ретровирусов и ретротранспозонов насекомых показал, что наиболее близкими последовательностями являются *env* эррантивирусов Kanga. Кроме этого, *Iris* обладает достаточной гомологией с геном *env* ДКП-ретротранспозонов группы *gypsy* и геном *f* бакуловирусов (Malik et al., 2000). У взрослых особей экспрессия *Iris* значительно подавляется при холодной акклиматизации (6°C) (MacMillan et al., 2016). В популяционных исследованиях показано, что экспрессия гена *Iris* зависит от географической широты, на которой обитает дикая популяция (Juneja et al., 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доместикация ретроэлементов и их белок-кодирующих последовательностей имеет большое значение в эволюции эукариот. На сегодняшний день у млекопитающих молекулярная доместикация привела к появлению нескольких семейств генов, которые играют важную роль в эмбриогенезе и формировании плаценты. Другим примером успешной доместикации ретроэлементов являются последовательности, кодирующие домен SCAN, многие из которых являются транскрипционными факторами, контролирующими разнообразные биологические процессы – эмбриональное развитие, гемопоэз и метаболизм. Молекулярная доместикация ретроэлементов у млекопитающих привела к появлению ряда генов со специфической противовирусной функцией.

К неразрешенным вопросам эволюции ретроэлементов можно отнести вопросы об их происхождении и распространении в геномах высших эукариот. Каким образом ретроэлементы появились в геномах высших эукариот? Были ли это процессы инфекции или горизонтального переноса? Почему именно ретроэлементы, а не другие типы мобильных элементов, например транспозоны, оккупировали геномы высших эукариот?

Процесс молекулярной доместикации ретроэлементов также поднимает много вопросов. Один из основных – почему процессы доместикации некоторых генов ретроэлементов происходили независимо и многократно? Очевидно одно – ретроэлементы обладают значительным потенциалом в процессе генообразования и регуляции функций генов и служат своеобразным резервуаром для эволюционных преобразований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-14-50415 “Экспансия”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Allouch A., Di Primio C., Alpi E., Lusic M., Arosio D. et al., 2011. The TRIM family protein KAP1 inhibits HIV-1 integration // *Cell Host Microbe*. V. 9. 16. P. 484–495.
- Antony J.M., Ellestad K.K., Hammond R., Imaizumi K., Mallet F. et al., 2007. The human endogenous retrovirus envelope glycoprotein, syncytin-1, regulates neuroinflammation and its receptor expression in multiple sclerosis: A role for endoplasmic reticulum chaperones in astrocytes // *J. Immunol.* V. 179. № 2. P. 1210–1224.
- Arnaud F., Caporale M., Varela M., Biek R., Chessa B. et al., 2007. Mechanisms of late restriction induced by an endogenous retrovirus // *J. Virol.* V. 81. P. 11441–11451.
- Barde I., Laurenti E., Verp S., Groner A.C., Towne C. et al., 2009. Regulation of episomal gene expression by KRAB/KAP1-mediated histone modifications // *J. Virol.* V. 83. № 11. P. 5574–5580.
- Baudry C., Malinsky S., Restituito M., Kapusta A., Rosa S. et al., 2009. PiggyMac, a domesticated *piggyBac* transposase involved in programmed genome rearrangements in the ciliate *Paramecium tetraurelia* // *Genes Dev.* V. 23. № 21. P. 2478–2483.
- Belfort M., Curcio M.J., Lue N.F., 2011. Telomerase and retrotransposons: Reverse transcriptases that shaped genomes // *PNAS*. V. 108. № 51. P. 20304–20310.
- Benachenhou F., Sperber G.O., Bongcam-Rudloff E., Anderson G., Boeke J.D., Blomberg J., 2013. Conserved structure and inferred evolutionary history of long terminal repeats (LTRs) // *Mob. DNA*. V. 4. № 1. P. 5.
- Bernard D., Mehul B., Thomas-Collignon A., Delattre C., Donovan M., Schmidt R., 2005. Identification and characterization of a novel retroviral-like aspartic protease specifically expressed in human epidermis // *J. Invest. Dermatol.* V. 25. № 2. P. 278–287.
- Best S., Le Tissier P., Towers G., Stoye J.P., 1996. Positional cloning of the mouse retrovirus restriction gene *Fv1* // *Nature*. V. 382. P. 826–829.
- Boso G., Buckler-White A., Kozak C.A., 2018. Ancient evolutionary origin and positive selection of the retroviral restriction factor *Fv1* in murid rodents // *J. Virol.* V. 92. P. e00850-18.
- Bowen N.J., McDonald J.F., 2001. Drosophila euchromatic LTR retrotransposons are much younger than the host species in which they reside // *Genome Res.* V. 11. № 9. P. 1527–1540.
- Carducci F., Biscotti M.A., Forconi M., Barucca M., Canapa A., 2019. An intriguing relationship between teleost Rex3 retroelement and environmental temperature // *Biol. Lett.* V. 15. № 9. P. 20190279.
- Carroll S.B., 2008. Evo-devo and an expanding evolutionary synthesis: A genetic theory of morphological evolution // *Cell*. V. 134. P. 25–36.
- Catania F., Kauer M.O., Daborn P.J., Yen J.L., Ffrench-Constant R.H., Schlotterer C., 2004. World-wide survey of an *Accord* insertion and its association with DDT resistance in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Ecol.* V. 13. P. 2491–2504.
- Chabannes M., Iskra-Caruana M.-L., 2013. Endogenous pararetroviruses – a reservoir of virus infection in plants // *Curr. Opin. Virol.* V. 3. № 6. P. 615–620.
- Chalopin D., Galiana D., Volff J.-N., 2012. Genetic innovation in vertebrates: gypsy integrase genes and other genes derived from transposable elements // *Int. J. Evol. Biol.* V. 2012. P. 724519.
- Chen W., Schwalie P.C., Pankevich E.V., Gubelmann C., Raghav S.K. et al., 2019. ZFP30 promotes adipogenesis through the KAP1-mediated activation of a retrotransposon-derived *Pparg2* enhancer // *Nat. Commun.* V. 10. № 1. P. 1809.
- Chénaïs B., Caruso A., Hiard S., Casse N., 2012. The impact of transposable elements on eukaryotic genomes: From genome size increase to genetic adaptation to stressful environments // *Gene*. V. 509. № 1. P. 7–15.
- Chung H., Bogwitz M.R., McCart C., Andrianopoulos A., Ffrench-Constant R.H. et al., 2007. Cis-regulatory elements in the *Accord* retrotransposon result in tissue-specific expression of the *Drosophila melanogaster* insecticide resistance gene *Cyp6g1* // *Genetics*. V. 175. P. 1071–1077.

- Chuong E.B., Elde N.C., Feschotte C., 2016. Regulatory evolution of innate immunity through co-option of endogenous retroviruses // *Science*. V. 351. P. 1083–1087.
- Clark M.B., Janicke M., Gottesbuhren U., Kleffmann T., Legge M. et al., 2007. Mammalian gene *PEG10* expresses two reading frames by high efficiency –1 frameshifting in embryonic-associated tissues // *J. Biol. Chem.* V. 282. № 52. P. 37359–37369.
- Cornelis G., Heidmann O., Degrelle S.A., Vernochet C., Lavalie C. et al., 2013. Captured retroviral envelope syncytin gene associated with the unique placental structure of higher ruminants // *PNAS*. V. 110. № 9. P. E828–E837.
- Cornelis G., Vernochet C., Malicorne S., Souquere S., Tzika A.C. et al., 2014. Retroviral envelope syncytin capture in an ancestrally diverged mammalian clade for placentation in the primitive Afrotherian tenrecs // *PNAS*. V. 111. № 41. P. E4332–E4341.
- Cullen B.R., 2006. Role and mechanism of action of the APOBEC3 family of antiretroviral resistance factors // *J. Virol.* V. 80. P. 1067–1076.
- Damert A., Lower J., Lower R., 2004. Leptin receptor isoform 219.1: An example of protein evolution by LINE-1-mediated human-specific retrotransposition of a coding SVA element // *Mol. Biol. Evol.* V. 21. P. 647–651.
- Darboux I., Charles J.F., Pauchet Y., Warot S., Pauron D., 2007. Transposon-mediated resistance to *Bacillus sphaericus* in a field-evolved population of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) // *Cell. Microbiol.* V. 9. P. 2022–2029.
- Deng B., Xu W., Wang Z., Liu C., Lin P. et al., 2019. An LTR retrotransposon-derived lncRNA interacts with RNF169 to promote homologous recombination // *EMBO Rep.* V. 20. № 11. P. e47650.
- Dupressoir A., Marceau G., Vernochet C., Bénit L., Kanellopoulos C. et al., 2005. *Syncytin-A* and *syncytin-B*, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in *Muridae* // *PNAS*. V. 102. № 3. P. 725–730.
- Eickbush T.H., Jamburuthugoda V.K., 2008. The diversity of retrotransposons and the properties of their reverse transcriptases // *Virus Res.* V. 134. № 1–2. P. 221–234.
- Emerson R.O., Thomas J.H., 2011. Gypsy and the birth of the SCAN domain // *J. Virol.* V. 85. № 22. P. 12043–12052.
- Farabaugh P.J., 1996. Programmed translational frameshifting // *Annu. Rev. Genet.* V. 30. P. 507–528.
- Frank O., Giehl M., Zheng C., Hehlmann R., Leib-Mösch C., Seifarth W., 2005. Human endogenous retrovirus expression profiles in samples from brains of patients with schizophrenia and bipolar disorders // *J. Virol.* V. 79. № 17. P. 10890–10901.
- Frese S., Ruebner M., Suhr F., Konou T.M., Tappe K.A. et al., 2015. Long-term endurance exercise in humans stimulates cell fusion of myoblasts along with fusogenic endogenous retroviral genes *in vivo* // *PLoS One*. V. 10. № 7. P. e0132099.
- Fujiwara H., Osanai M., Matsumoto T., Kojima K.K., 2005. Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori* // *Chromosome Res.* V. 13. № 5. P. 455–467.
- Goodier J.L., 2016. Restricting retrotransposons: A review // *Mob. DNA*. V. 7. P. 16.
- Graveley B.R., May G., Brooks A.N., Carlson J.W., Chervas L. et al., 2011. The *D. melanogaster* transcriptome: modENCODE RNA-Seq data for differing treatment conditions. <http://www.modencode.org/celniker/>
- Grow E.J., Flynn R.A., Chavez S.L., Bayless N.L., Wossidlo M. et al., 2015. Intrinsic retroviral reactivation in human preimplantation embryos and pluripotent cells // *Nature*. V. 522. P. 221–225.
- Heidmann O., Vernochet C., Dupressoir A., Heidmann T., 2009. Identification of an endogenous retroviral envelope gene with fusogenic activity and placenta-specific expression in the rabbit: A new “syncytin” in a third order of mammals // *Retrovirology*. V. 6. P. 107.
- Heidmann O., Béguin A., Paternina J., Berthier R., Deloger M. et al., 2017. HEMO, an ancestral endogenous retroviral envelope protein shed in the blood of pregnant women and expressed in pluripotent stem cells and tumors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. V. 114. P. E6642–E6651.
- Henke C., Strissel P.L., Schubert M.-T., Mitchell M., Stolt C.C. et al., 2015. Selective expression of sense and antisense transcripts of the sushi-ichi-related retrotransposon-derived family during mouse placentogenesis // *Retrovirology*. V. 12. P. 9.
- Henry J.E., Gifford R.J., Kenaley C.P., Johnson W.E., 2017. An intact retroviral gene conserved in Spiny-rayed fishes for over 100 My // *Mol. Biol. Evol.* V. 34. P. 634–639.
- Horie M., Tomonaga K., 2011. Non-retroviral fossils in vertebrate genomes // *Viruses*. V. 3. № 10. P. 1836–1848.
- Hornung V., 2014. SnapShot: Nucleic acid immune sensors // *Immunity*. V. 41. № 5. P. 868.e1.
- Hu T., Pi W., Zhu X., Yu M., Ha H. et al., 2017. Long non-coding RNAs transcribed by ERV-9 LTR retrotransposon act in cis to modulate long-range LTR enhancer function // *Nucleic Acids Res.* V. 45. № 8. P. 4479–4492.
- Huang S., Tao X., Yuan S., Zhang Y., Li P. et al., 2016. Discovery of an active RAG transposon illuminates the origins of V(D)J recombination // *Cell*. V. 166. № 1. P. 102–114.
- Igolkina A.A., Zinkevich A., Karandasheva K.O., Popov A.A., Selifanova M.V. et al., 2019. H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3 and H3K9me3 histone tags suggest distinct regulatory evolution of open and condensed chromatin landmarks // *Cells*. V. 8. № 9. P. 1034.
- Jo A., Lee H.E., Kim H.S., 2019. Identification and expression analysis of a novel miRNA derived from ERV-E1 LTR in *Equus caballus* // *Gene*. V. 687. P. 238–245.
- Juneja P., Quinn A., Jiggins F.M., 2016. Latitudinal clines in gene expression and cis-regulatory element variation in *Drosophila melanogaster* // *BMC Genomics*. V. 17. № 1. P. 981.
- Kaer K., Speek M., 2013. Retroelements in human disease // *Gene*. V. 518. № 2. P. 231–241.
- Kaessmann H., Vinckenbosch N., Long M., 2009. RNA-based gene duplication: Mechanistic and evolutionary insights // *Nat. Rev. Genet.* V. 10. P. 19–31.
- Kapusta A., Kronenberg Z., Lynch V.J., Zhuo X., Ramsay L.A. et al., 2013. Transposable elements are major contribu-

- tors to the origin, diversification, and regulation of vertebrate long noncoding RNAs // *PLoS Genet.* V. 9. P. e1003470.
- Kazanian H.H., 2014. Processed pseudogene insertions in somatic cells // *Mob. DNA.* V. 5. P. 20.
- Kelkar Y.D., Tyekucheveva S., Chiaromonte F., Makova K.D., 2008. The genome-wide determinants of human and chimpanzee microsatellite evolution // *Genome Res.* V. 18. P. 30–38.
- Kemp C., Mueller S., Goto A., Barbier V., Paro S. et al., 2013. Affiliations expand Broad RNA interference-mediated antiviral immunity and virus-specific inducible responses in *Drosophila* // *J. Immunol.* V. 190. № 2. P. 650–658.
- Kim A., Terzian C., Santamaria P., Pélisson A., Purd'homme N., Bucheton A., 1994. Retroviruses in invertebrates: The gypsy retrotransposon is apparently an infectious retrovirus of *Drosophila melanogaster* // *PNAS.* V. 91. P. 1285–1289.
- Kokosar J., Kordis D., 2013. Genesis and regulatory wiring of retroelement-derived domesticated genes: A phylogenomic perspective // *Mol. Biol. Evol.* V. 30. № 5. P. 1015–1031.
- Krupovic M., Blomberg J., Coffin J.M., Dasgupta I., Fan H. et al., 2018. Ortervirales: New virus order unifying five families of reverse-transcribing viruses // *J. Virol.* V. 92. № 12. P. e00515–18.
- Lee J.Y., Ji Z., Tian B., 2008. Phylogenetic analysis of mRNA polyadenylation sites reveals. A role of transposable elements in evolution of the 3'-end of genes // *Nucleic Acids Res.* V. 6. P. 5581–5590.
- Li T.H., Schmid C.W., 2001. Differential stress induction of individual Alu loci: Implications for transcription and retrotransposition // *Gene.* V. 276. P. 135–141.
- MacMillan H.A., Knee J.M., Dennis A.B., Udaka H., Marshall K.E. et al., 2016. Cold acclimation wholly reorganizes the *Drosophila melanogaster* transcriptome and metabolome // *Sci. Rep.* V. 6. P. 28999.
- Makhnovskii P., Balakireva Y., Nefedova L., Lavrenov A., Kuzmin I., Kim A., 2020. Domesticated gag gene of *Drosophila* LTR retrotransposons is involved in response to oxidative stress // *Genes.* V. 11. № 4. P. 396.
- Malfavon-Borja R., Feschotte C., 2015. Fighting fire with fire: Endogenous retrovirus envelopes as restriction factors // *J. Virol.* V. 89. № 8. P. 4047–4050.
- Malik H.S., Henikoff S., Eickbush T.H., 2000. Poised for contagion: Evolutionary origins of the infectious abilities of invertebrate retroviruses // *Genome Res.* V. 10. № 9. P. 1307–1318.
- Mallet F., Bouton O., Prudhomme S., Cheynet V., Oriol G. et al., 2004. The endogenous retroviral locus ERVWE1 is a bona fide gene involved in hominoid placental physiology // *PNAS.* V. 101. № 6. P. 1731–1736.
- Matsui T., Leung D., Miyashita H., Maksakova I.A., Miyachi H. et al., 2010. Proviral silencing in embryonic stem cells requires the histone methyltransferase ESET // *Nature.* V. 464. № 7290. P. 927–931.
- Meyerson N.R., Sawyer S.L., 2011. Two-stepping through time: Mammals and viruses // *Trends Microbiol.* V. 19. P. 286–294.
- Miller W.J., McDonald J.F., Pinsker W., 1997. Molecular domestication of mobile elements // *Genetica.* V. 100. № 1–3. P. 261–270.
- Monde K., Contreras-Galindo R., Kaplan M.H., Markovitz D.M., Ono A., 2012. Human endogenous retrovirus K Gag co-assembles with HIV-1 Gag and reduces the release efficiency and infectivity of HIV-1 // *J. Virol.* V. 86. P. 11194–11208.
- Mouches C., Pauplin Y., Agarwal M., Lemieux L., Herzog M. et al., 1990. Characterization of amplification core and esterase B1 gene responsible for insecticide resistance in *Culex* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 87. P. 2574–2578.
- Nair S., Rein A., 2014. Antiretroviral restriction factors in mice // *Virus Res.* V. 193. P. 130–134.
- Nefedova L.N., Kuzmin I.V., Makhnovskii P.A., Kim A.I., 2014. Domesticated retroviral GAG gene in *Drosophila*: New functions for an old gene // *Virology.* V. 450–451. P. 196–204.
- Nekrutenko A., Li W.H., 2001. Transposable elements are found in a large number of human protein-coding genes // *Trends Genet.* V. 17. P. 619–621.
- Nikitin D., Kolosov N., Murzina A., Pats K., Zamyatin A. et al., 2019. Retroelement-linked H3K4me1 histone tags uncover regulatory evolution trends of gene enhancers and feature quickly evolving molecular processes in human physiology // *Cells.* V. 8. № 10. P. 1219.
- Ono R., Kuroki Y., Naruse M., Ishii M., Iwasaki S. et al., 2011. Identification of tammar wallaby SIRH12, derived from a marsupial-specific retrotransposition event // *DNA Res.* V. 18. № 4. P. 211–219.
- Pickeral O.K., Makalowski W., Boguski M.S., Boeke J.D., 2000. Frequent human genomic DNA transduction driven by LINE-1 retrotransposition // *Genome Res.* V. 10. № 4. P. 411–415.
- Polak P., Domany E., 2006. Alu elements contain many binding sites for transcription factors and may play a role in regulation of developmental processes // *BMC Genomics.* V. 7. P. 133.
- Robertson D.S., 2016. Origin and activities of human lentivirus particles // *Biomed. Pharmacother.* V. 83. P. 1311–1314.
- Rowe H.M., Jakobsson J., Mesnard D., Rougemont J., Reynard S. et al., 2010. KAP1 controls endogenous retroviruses in embryonic stem cells // *Nature.* V. 463. № 7278. P. 237–240.
- Roy-Engel A.M., El-Sawy M., Farooq L., Odom G.L., Perpelitsa-Belancio V. et al., 2005. Human retroelements may introduce intragenic polyadenylation signals // *Cytogenet. Genome Res.* V. 110. P. 365–371.
- Rubin C.M., VandeVoort C.A., Teplitz R.L., Schmid C.W., 1994. Alu repeated DNAs are differentially methylated in primate germ cells // *Nucleic Acids Res.* V. 22. P. 5121–5127.
- Samuel C.E., 2011. Adenosine deaminases acting on RNA (ADARs) are both antiviral and proviral // *Virology.* V. 411. P. 180–193.
- Santangelo A.M., Souza F.S., de Franchini L.F., Bumashny V.F., Low M.J., Rubinstein M., 2007. Ancient exaptation of a CORE-SINE retroposon into a highly conserved mammalian neuronal enhancer of the proopiomelanocortin gene // *PLoS Genet.* V. 3. P. 1813–1826.

- Schrader L., Schmitz J.*, 2019. The impact of transposable elements in adaptive evolution // *Mol. Ecol.* V. 28. № 6. P. 1537–1549.
- Sela N., Mersch B., Hotz-Wagenblatt A., Ast G.*, 2010. Characteristics of transposable element exonization within human and mouse // *PLoS One.* V. 5. P. e10907.
- Sela N., Mersch B., Gal-Mark N., Lev-Maor G., Hotz-Wagenblatt A., Ast G.*, 2007. Comparative analysis of transposed element insertion within human and mouse genomes reveals Alu's unique role in shaping the human transcriptome // *Genome Biol.* V. 8. № 6. P. R127.
- Silva-Sousa R., López-Panadés E., Casacuberta E.*, 2012. *Drosophila* telomeres: An example of co-evolution with transposable elements // *Genome Dyn.* V. 7. P. 46–67.
- Soe K., Andersen T.L., Hobolt-Pedersen A.S., Bjerregaard B., Larsson L.I., Delaissé J.M.*, 2011. Involvement of human endogenous retroviral syncytin-1 in human osteoclast fusion // *Bone.* V. 48. № 4. P. 837–846.
- Sugimoto J., Sugimoto M., Bernstein H., Jinno Y., Schust D.*, 2013. A novel human endogenous retroviral protein inhibits cell-cell fusion // *Sci. Rep.* V. 3. P. 1462.
- Takeda A., Matano T.*, 2007. Inhibition of infectious murine leukemia virus production by Fv-4 *env* gene products exerting dominant negative effect on viral envelope glycoprotein // *Microbes Infect.* V. 9. № 14–15. P. 1590–1596.
- Tanaka Y., Chung L., Park I.H.*, 2012. Impact of retrotransposons in pluripotent stem cells // *Mol. Cells.* V. 34. № 6. P. 509–516.
- Terry S.N., Manganaro L., Cuesta-Dominguez A., Brinzevich D., Simon V., Mulder L.C.*, 2017. Expression of HERV-K108 envelope interferes with HIV-1 production // *Virology.* V. 509. P. 52–59.
- Trizzino M., Kapusta A., Brown C.D.*, 2018. Transposable elements generate regulatory novelty in a tissue-specific fashion // *BMC Genomics.* V. 19. P. 468.
- Varela M., Spencer T.E., Palmarini M., Arnaud F.*, 2009. Friendly viruses: The special relationship between endogenous retroviruses and their host // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* V. 1178. P. 157–172.
- Vela D., Fontdevila A., Vieira C., García Guerreiro M.P.*, 2014. A genome-wide survey of genetic instability by transposition in *Drosophila* hybrids // *PLoS One.* V. 9. № 2. P. e88992.
- Wolf D., Goff S.P.*, 2009. Embryonic stem cells use ZFP809 to silence retroviral DNAs // *Nature.* V. 458. № 7242. P. 1201–1204.
- Xing J., Hedges D.J., Han K., Wang H., Cordaux R., Batzer M.A.*, 2004. Alu element mutation spectra: Molecular clocks and the effect of DNA methylation // *J. Mol. Biol.* V. 344. P. 675–682.
- Yap M.W., Colbeck E., Ellis S.A., Stoye J.P.*, 2014. Evolution of the retroviral restriction gene *FvI*: Inhibition of non-MLV retroviruses // *PLoS Pathog.* V. 10. № 3. P. e1003968.
- Yoshinaka Y., Katoh I., Copeland T.D., Oroszlan S.*, 1985. Murine leukemia virus protease is encoded by the gene and is synthesized through suppression of an amber termination codon // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 82. P. 1618–1622.
- Young G.R., Terry S.N., Manganaro L., Cuesta-Dominguez A., Deikus G. et al.*, 2018. Mulder HIV-1 infection of primary CD4+ T cells regulates the expression of specific human endogenous retrovirus HERV-K (HML-2) elements // *J. Virol.* V. 92. P. e01507-17.

The role of retroelements in the evolution of animal genomes

L. N. Nefedova^a, *, A. I. Kim^a

^aLomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Genetics
Leninskiye Gory, 1/12, Moscow, 119234 Russia

*e-mail: lidia_nefedova@mail.ru

Retroelements (retrotransposons and endogenous retroviruses) are a class of mobile genetic elements that is widely represented in various groups of eukaryotes. It is believed that most of the retroelements present in the genome do not significantly affect the host organism, which, in the process of co-evolution with retroelements, produces various mechanisms for controlling their transposition. But even retroelements deprived of transpositional activity can play a significant role in evolution, contributing to the formation of new adaptive mechanisms, which, in turn, are caused by the formation of new genetic networks. The process in which the body adapts individual sequences of retroelements is called molecular domestication. Exaptation implies the formation of new genetic structures and functions, which, as a rule, appear as a result of the long evolution of domesticated sequences of mobile elements. For three key genes of retrotransposons/endogenous retroviruses (*gag*, *pol*, and *env*), cases of domestication are known. The phenomenon of domestication/exaptation testifies to the fundamental role that retroelements play in the evolution of the genome and the significant evolutionary benefit of the presence of retroelements in the genome despite the fact that their transposition activity can be accompanied by negative effects at the level of an individual organism.

УДК 57.025;57.026

ЭВОЛЮЦИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ СТЕРЕОТИПОВ И ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О НИХ

© 2021 г. Ж. И. Резникова^{1,2,*}, С. Н. Пантелеева^{1,2}, А. А. Новиковская¹, Я. В. Левенец¹

¹Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН
ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, 630091 Россия

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
ул. Пирогова, 1, Новосибирск, 630090 Россия

*E-mail: zhanna@reznikova.net

Поступила в редакцию 08.07.2020 г.

После доработки 07.09.2020 г.

Принята к публикации 23.10.2020 г.

Развитие когнитивной этологии и появление новых экспериментальных методов, способствующих раскрытию возможностей интеллекта животных, привели к недооценке роли врожденных стереотипов в поведенческом репертуаре, поскольку исследователи склонны видеть в действиях животных прежде всего когнитивно-емкие феномены. На примере муравьев и грызунов, используя экспериментальную модель взаимодействия с добычей, выявлены относительно гибкие фрагменты врожденных стереотипов, подверженные рекомбинации или выпадению. Мы полагаем, что изменчивость отдельных фрагментов стереотипов лежит в основе формирования видоспецифичного охотничьего поведения. Сочетание врожденной фрагментированности поведенческих стереотипов и простых форм социального обучения может обуславливать формирование некоторых поведенческих традиций в сообществах и популяциях. В обзоре представлены итоги работы научного коллектива и рассмотрены перспективы предложенного нами направления исследований, основанного на детальном анализе поведенческих стереотипов.

DOI: 10.31857/S0044459621010061

Пожалуй, Шекспир был первым, кто поставил вопрос о соотношении природы и воспитания (nature and nurture) в одной из своих последних и самых загадочных пьес “Буря”: “A Devil, a born Devil on whose nature, nurture can never stick, on whom my pain, humanly taken, all lost, quite lost...” (“Черт, по рождению черт. Его природы не воспитать. Уж сколько я трудов благих потратил, — все пропало даром”; перевод М.А. Кузмина). До сих пор вопрос о соотношении гибкого и стереотипного поведения животных является одним из фундаментальных вопросов этологии и эволюционной биологии в целом. Стоит отметить, что во времена Шекспира этологами (от греческого “этос” — нрав, характер) называли бродячих актеров, которые разыгрывали на улицах и площадях пьесы с отчетливо обозначенными характерами персонажей. Этология как научная биологическая дисциплина, опирающаяся на эволюционные истоки поведения, зародилась в середине XX в. Ее основатели — Лоренц (Lorenz, 1937, 1950) и Тинберген (Tinbergen, 1942, 1951) — разделили в 1973 г. с Фришем (Frisch, 1923, 1947) Нобелевскую премию по физиологии и медицине за открытия, связанные с выявлением моделей индивидуаль-

ного и группового поведения животных. Вслед за своим учителем Хайнротом (Heinroth, 1911), который предложил использовать фрагменты поведенческих стереотипов птиц для определения различий между видами, Лоренц (Lorenz, 1935) привлек внимание исследователей к изучению врожденных моделей поведения. А.Н. Промптов (1940), исследуя поведение птиц, ввел понятие о видотипическом стереотипе, который включает элементы поведения не только врожденного, но и основанного на приобретенном опыте. В поведении животных эти элементы могут тесно переплетаться. Поскольку члены одной популяции вступают, как правило, в однотипные “диалоги” со средой, их видотипические стереотипы могут быть мало изменчивы. При этом выученные цепочки действий могут быть настолько рутинными и повторяющимся, что кажутся генетически закрепленными, и отличить их от врожденного поведения можно только на основании экспериментов (Lorenz, 1952). В то же время при изучении поведения животных в их естественных местообитаниях, как это и принято в этологии, для наблюдения значительного разнообразия сочетаний накопленного индивидуального и соци-

ального опыта, уровня сообразительности и других психофизиологических характеристик нередко бывает достаточно простого, основанного на знании биологии вида приема — вставленного в лоток дуплянки мухоловок-пеструшек бумажной трубки (Благосклонов, 1974) или предложения воронам или чайкам пищи в нестандартной ситуации (Obozova et al., 2011; Зорина, 2017).

К настоящему времени этологическая литература включает сотни работ, выполненных на широком спектре видов и основанных на этограммах — функционально систематизированных описаниях поведения животных в пространстве и во времени. При этом произошло размывание первоначального значения терминов и понятий. Развитие когнитивной этологии и появление новых экспериментальных методов исследования интеллекта (обзоры: Резникова, 2005, 2015) привели к недооценке роли врожденных стереотипов поведения: исследователи склонны видеть в действиях животных прежде всего когнитивно-емкие феномены, такие как формирование “культурных традиций” в сообществах. Интересных и новых данных о “высших формах” поведения, в частности об “очагах культуры” в популяциях приматов, врановых, китообразных и других животных, обладающих способностью к сложной социальной и психической деятельности, в последние десятилетия так много (обзоры: Резникова, Пантелеева, 2015; Veans, 2017), что врожденные поведенческие стереотипы стали считаться чем-то вроде “поведения второго сорта”. Между тем врожденные стереотипы составляют основную часть “айсберга” с вершиной из когнитивных достижений; представить картину эволюции поведения биологических видов невозможно без изучения разнообразия врожденных поведенческих моделей (Lorenz, 1952; Reznikova, 2007; Зорина и др., 2013). Популярное в последние годы направление исследований, связанное с нейробиологическими и молекулярными механизмами так называемого многокомпонентного (или многоцелевого) поведения (Rook et al., 2020), также далеко от этологического подхода.

Видотипическое стереотипное поведение обычно представляется стабильным и цельным. Между тем в некоторых естественных ситуациях иногда удается пронаблюдать “перепутывание”, а иногда и выпадение отдельных частей стереотипа. Например, впервые рожающая собака может сначала подталкивать щенка к соскам и лишь затем перегрызть пуповину (и таким образом навредить щенку), может “забыть” съесть послед или начать вылизывать щенка в неподходящее время. Можно наблюдать и вклинивание в процесс родов фрагментов постороннего стереотипа — реакции “чужой в гнезде”, направленной на собственного щенка, которому придется доживать жизнь с разорванным ухом.

Понятие о фрагментировании стереотипов до сих пор носило интуитивный характер и не было экспериментально подтверждено на естественных поведенческих моделях. Мы понимаем под фрагментированностью поведенческих стереотипов рекомбинацию или выпадение отдельных частей. Нам удалось найти поведенческую модель, позволяющую впервые экспериментально исследовать естественную фрагментированность стереотипов — факультативное охотничье поведение муравьев и грызунов (Reznikova, Panteleeva, 2008; Резникова, Пантелеева, 2015; Reznikova et al., 2017; Пантелеева и др., 2019). В отличие от облигатных моделей поведения (таких как брачные ритуалы, ключевые моменты взаимодействия родителей и потомков, криптические реакции), которые подвержены жесткому давлению отбора и потому мало изменчивы, факультативные стереотипы проявляются с определенной степенью индивидуальной и популяционной изменчивости. Как известно, в ряде случаев стереотипное поведение может служить основанием для формирования эволюционно стабильных стратегий (Maynard Smith, Price, 1973). Примером эволюционно стабильных стратегий, основанных на облигатных стереотипах, может служить наличие в популяциях группировок с устойчиво отклоняющимися сексуальными предпочтениями, когда брачные стереотипы адресуются не конспецификам противоположного пола и репродуктивного возраста, а представителям иных фракций (Ryabko, Reznikova, 2015). Примером факультативных стереотипов, лежащих в основании эволюционно стабильных стратегий, является переключение на разные источники пищи, сопровождающееся у отдельных фракций популяции стойкими изменениями в поведении (Пантелеева и др., 2019). Применение к анализу этограмм, представленных в виде “биологических текстов”, метода сжатия данных, основанного на сочетании идей колмогоровской сложности и классических фишеровских методов статистического тестирования гипотез (Ryabko et al., 2013; Reznikova et al., 2017, 2019; Levenets et al., 2020), а также количественное сравнение соотношения, порядка и встречаемости элементов поведения привели нас к гипотезе, что фрагментированность поведенческих стереотипов является их естественным состоянием в популяции, выпадение и рекомбинация отдельных фрагментов может служить источником эволюционных преобразований. Исследование факультативного охотничьего поведения грызунов и муравьев позволило нам количественно оценить гибкость отдельных фрагментов в стереотипах и по-новому взглянуть на механизмы эволюции поведения, а также на возможные пути становления “культурных традиций” в популяциях.

ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

История изучения поведенческих стереотипов уходит корнями в психиатрию и сравнительную психологию. Британский психиатр Джон Лэнгдон Даун (Down, 1887) классифицировал поведенческие стереотипы, характерные для идиотов разных этнических групп (“монголоидные” стереотипы описаны как “синдром Дауна”). Одна из характеристик, общая для расстройств аутического спектра, состоит в крайней ритуализации действий (Bishop et al., 2006). Стереотипизация поведения, которая для человека может быть показателем патологии, для животных является составляющей видового репертуара. Мы понимаем под *поведенческими стереотипами* поведенческие последовательности, состоящие из устойчиво повторяющихся элементов (Пантелеева и др., 2010; Reznikova et al., 2012, 2019). От стереотипов отличаются *стереотипии* – повторяющиеся неизменные формы поведения без очевидной цели и функции, такие как кружение или хождение на месте (Mason, 1991). Стереотипии (но не стереотипы) указывают на патологию в поведении как людей, так и животных. Стереотипии не встречаются у животных в естественной среде и характерны либо для специально выведенных генетических линий (Francis et al., 2003; Ryan et al., 2010), либо для особей в неволе, причем они настолько явно свидетельствуют о существенных недостатках в содержании, что нередко используются как диагностический признак (Broom, Johnson, 1993; Garner, 2005). Стереотипы, в отличие от стереотипий, адаптивны, и они не повторяются циклически; поведенческая цепочка имеет начало и завершение (Reznikova et al., 2012, 2019). Проявление стереотипов в поведении животных носит вероятностный характер: отдельные элементы могут выпадать или, наоборот, повторяться, они могут быть “разбавлены” элементами поведения, не относящимися к данному стереотипу. В качестве элементарных единиц, из которых состоит поведенческий стереотип, мы рассматриваем *элементы поведения*, т.е. элементарные двигательные акты и позы (Tinbergen, 1951). Так, стереотип охотничьего поведения может включать элементы, связанные с преследованием добычи, атакой, умерщвлением и обработкой жертвы. Поведенческий элемент считается врожденным, если при первых же взаимодействиях со стимулом он полностью проявляется (Дьюсбери, 1981). Поведенческий стереотип может включать в себя в виде составной части *фиксированный комплекс действий* (ФКД; fixed action pattern – FAP sensu Lorenz, Tinbergen, 1938) – генетически обусловленную последовательность поведенческих элементов, постоянных по составу и по порядку совершения. Примерами могут служить ФКД захвата добычи, спаривания, чистки тела. Стартуя по принципу “спускового крючка” в ответ на воз-

действие ключевого стимула, ФКД разворачивается как единая серия действий, вплоть до завершения акта, и является неделимым: если старт состоялся, то ФКД дойдет до конца (обзор: Зорина и др., 2013). Например, умывание мордочки у грызунов включает до 25 движений передних конечностей, шеи и головы, следующих в строго определенном “синтаксическом” (включающем иерархически соподчиненные элементы) порядке (Berridge, 1990; Berridge et al., 2005). Этот комплекс действий проявляется в раннем возрасте, в дальнейшем не меняется, и действия не прерываются, даже если воспрепятствовать контакту конечностей с телом, что как раз и является надежным признаком ФКД (Golani, Fentress, 1985; Dixon et al., 2008). В стереотип охотничьего поведения у разных животных в качестве ФКД входит атака, включающая бросок на добычу и ее схватывание. Стоит отметить, что в современной этологической литературе “pattern” используется в более общем смысле, как “модель поведения” – неважно, фиксированная или нет, врожденная или приобретенная в результате научения. Термин “стереотип” практически вышел из употребления, и мы в своих работах стараемся придать ему конкретный смысл, рассматривая его как последовательность устойчиво повторяющихся поведенческих элементов.

ЧТО ИЗВЕСТНО О ФРАГМЕНТИРОВАНИИ ПОВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

В литературе фрагментированное поведение отмечалось у животных в состоянии клинически моделированного стресса (Ivy et al., 2008), при серьезных эмоциональных и физических нарушениях (Eilam et al., 2006; Szechtman et al., 2017), а также под воздействием медикаментов (Santangelo et al., 2018). Так, у молодых волков изоляция от сородичей в раннем возрасте приводила к фрагментированию социального поведения (MacDonald, Ginsburg, 1981; Frank H., Frank M., 1982). В стрессовых ситуациях, таких как временное перемещение в незнакомую обстановку или на ярко освещенную арену, у лабораторных крыс наблюдается фрагментирование груминга: отдельные элементы пропускаются, их последовательность может изменяться и нередко остается незавершенной (Kalueff et al., 2007). У лишенных подстилки кормящих самок крыс проявляется хаотичность и фрагментированность элементов материнского поведения: крыса, не закончив кормить, начинает вылизывать еще голодного крысенка, а потом, не завершив чистку, начинает перетаскивать его или снова приступает к кормлению (Molet et al., 2016).

Красноречивые примеры фрагментированного поведения дают исследования гибридов. Сравнительный анализ поведения гибридов и родитель-

ских форм, начиная со второй половины XX в., является одним из основных методов генетики поведения (Alcock, 1979). В некоторых случаях гибриды демонстрируют промежуточные варианты стереотипов родителей. Например, проявление агрессии у койотов включает горизонтальное положение хвоста, у собак породы бигль – вертикальное, а у их гибридов F1 и F2 наряду с родительскими вариантами наблюдались и промежуточные положения хвоста между вертикальным и горизонтальным (Fox, 1975). Выявлена сложность наследования врожденных паттернов коммуникации у гибридов койотов и биглей (Moon-Fanelli, 2011). Во время слабо выраженной угрозы койоты могут рычать, как и собаки. При явно выраженной угрозе видотипичный паттерн койотов – это “зевок”: рот открыт, губы отведены, животное шипит, голова и хвост опущены, а спина максимально выгнута, при этом может наблюдаться семенящая походка. Этот паттерн демонстрируется койотами в таких же коммуникативных ситуациях, что и рычание у собак. Гибриды в том же социальном контексте демонстрировали набор реакций от полного до частичного проявления “зевака”, например, могли шипеть, слегка выгнув спину и не полностью открывая рот. В ставших классическими исследованиях Дилгера (Dilger, 1962) гибриды маскового неразлучника *Agapornis personatus*, который переносит гнездовой материал (в эксперименте – бумажные полоски) в клюве, и розово-щекого неразлучника *A. roseicollis*, который засовывает полоски между перьев, демонстрировали различные сочетания фрагментов поведения родительских видов. Гибриды пауков-волков *Schizocosa ocreata* и *S. royneri* переклювались с последовательностей поз и звуков, характерных для брачного поведения одного родительского вида, на соответствующие последовательности другого вида; кроме того, самцы-гибриды совершали в процессе ухаживания двойные “поклоны” вместо одиночных. Были выявлены единичные гены, контролирующие ритуалы ухаживания у пауков-волков и отвечающие за поведенческие механизмы репродуктивной изоляции (Stratton, Uetz, 1986). Интересно отметить, что, хотя ритуальное поведение ухаживания подвержено строгому давлению отбора, самцы дрозофил с отсутствующим геном, отвечающим за важные детали брачного поведения, могут обучиться элементам этого поведения при содержании в группе, что приводит к успешному спариванию (Pan, Baker, 2014).

В естественной ситуации, насколько нам известно, фрагментированное поведение исследовалось лишь в игровом поведении животных. К этому интересно и перспективно направлению неоднократно обращались многие этологи и зоопсихологи (Хайнд, 1975; Фабри, 1976; Зорина, 1998; Bekoff, Wyers, 1998, и др.). Классические описания игр шимпанзе и их сравнение с игрой

ребенка принадлежат перу Н.Н. Ладыгиной-Котс (1935). В играх животных фрагментированность принимает форму прерванных последовательностей, в которые могут “вклиниваться” элементы другого поведения, а отдельные элементы поведенческой цепочки могут повторяться или менять порядок (обзоры: Klinger, 1969; Bekoff, 1976; Lancy, 1980; Spinka et al., 2001; Vanderschuren, Trezza, 2013). У детенышей черных медведей *Ursus americanus* игровая борьба включает отдельные элементы сексуального поведения, чего никогда не замечалось в агонистическом поведении взрослых животных (Henry, Herrero, 1974). У неполовозрелых крыс (Poole, Fish, 1976; Smith, 1982) и сусликов *Spermophilus beldingi* (Nunes et al., 2004) социальная игра является переупорядоченным набором элементов агонистического поведения взрослых самцов. Гренландские киты *Balaena mysticetus* во время игры с бревнами демонстрируют элементы предкопулятивного и материнского поведения, а афалины *Tursiops truncatus*, играя с живыми рыбами, демонстрируют элементы охотничьего поведения, но при этом не ловят своих жертв (Paulos et al., 2010). Играющие с различными объектами крокодиловые демонстрируют элементы охотничьего и сексуального поведения: например, самец кубинского крокодила *Crocodylus rhombifer*, играя с мячом, совершал как атакующие движения, так и приближался к игрушке, выдувая пузыри, что является частью ритуала ухаживания этого вида, а детеныши черного каймана *Melanosuchus niger*, играя, совершали частые и короткие кружения друг за другом, как делают взрослые кайманы во время гона (Dinets, 2015). Обыкновенные осьминоги *Octopus vulgaris*, играя с различными объектами, демонстрируют отдельные элементы охотничьего и запасающего поведения, совершая попытки унести понравившиеся им игрушки в свои логова (Kuba et al., 2003, 2006).

“МУРАВЬИНАЯ КУЛЬТУРА” ИЛИ “СПЯЩИЕ” ФРАГМЕНТЫ СТЕРЕОТИПА? РОЖДЕНИЕ ГИПОТЕЗЫ

Наблюдая за муравьями *Myrmica rubra*, которые неожиданно умело охотились на прыгающих ногохвосток *Tomocerus sibiricus* (Collembola), мы столкнулись с ситуацией, описанной Лемом в фантастическом рассказе “Формула Лимфатера”: там муравьи, привезенные из джунглей Амазонки, случайно оказавшись на пустынных скалах, сразу стали сооружать ловушки для никогда прежде ими не виденных мелких прыгающих клещиков. Откуда муравьи “знали”, что и как надо делать? Наша ситуация поначалу, казалось бы, отклоняется от фантастического сюжета. Члены семей *M. rubra*, обитающих в местах, где ногохвостки не водятся, в полевых экспериментах не реагировали на предложенную им прыгающую

добычу. Зато в местах, богатых ногохвостками, муравьи сноровисто добывали их, одну за другой. Исследование состава добычи, приносимой фуражирами в гнезда, показало, что доля ногохвосток может достигать 100%, т.е. муравьи могут полностью на них переключаться. В полевых экспериментах встречи с жертвами были организованы вблизи гнезд муравьев, в стеклянных контейнерах, вкопанных в почву и содержащих прозрачный субстрат (пластиковую соломку) для облегчения наблюдения. Сходные эксперименты, проведенные в лаборатории, позволяли фиксировать все действия насекомых с помощью видеосъемки. Коллемболы снабжены прыгательной вилкой и могут быстро менять направление движения, являясь, таким образом, не совсем легкой для поимки добычей. До наших исследований (Резникова, Пантелеева, 2001, 2003) охота муравьев на подвижных ногохвосток рассматривалась в ряду экзотических феноменов. Известно, что специализированными охотниками на коллембол и других мелких прыгающих насекомых являются обитающие в тропиках и субтропиках муравьи трибы *Dacetini*, обладающие захлопывающимися мандибулами — “ловушками” (Длусский, 1993). У *Myrmica* ничего подобного нет, и муравьи применяют для поимки прыгающей добычи довольно сложный поведенческий стереотип, который мы назвали “атака наскакком”: обнаружение добычи, быстрый “наскок” на нее сверху, схватывание жвалами с возможным “перехватом поудобнее” и, наконец, умерщвляющий удар жалом. Почему члены одних семей “знают”, как надо охотиться, а другие игнорируют потенциальную жертву?

Для того чтобы проверить различные гипотезы на этот счет, мы поместили в лабораторию несколько семей и создали группы “наивных” особей, которые вышли из куколок в лаборатории и никогда не встречались ни с потенциальной добычей, ни со своими “взрослыми” сородичами. Таким образом, мы применили к муравьям классическую технику “Каспар-Хаузер” экспериментов (Manning, 2005), названных так в этологии по имени юноши, воспитанного в изоляции, героя исторических легенд и литературных произведений. Подобные эксперименты позволяют вычлени в поведении животных врожденную компоненту, лишенную влияния приобретенного опыта (Резникова, 2011).

В экспериментальных исследованиях на муравьях *M. rubra* (Резникова, Пантелеева, 2015) мы проверили три гипотезы: 1) “жертва как релизер”, 2) “муравьиная культура” (распространение навыка путем подражания) и 3) распределенное социальное обучение (подробнее см. ниже). Первая гипотеза основана на том, что сенсорные стимулы, исходящие от потенциальной жертвы, могут пробуждать охотничье поведение, направленное

именно на данный, специфический для испытуемого молодого хищника, тип добычи. В основе такой реакции лежит врожденный “шаблон восприятия” (Guerra, Amici, 2018; Reznikova, 2018). Нередко для реализации охотничьего поведения необходим кумулятивный эффект от нескольких встреч (Резникова, 2019). Постепенное “включение” последовательности поведенческих актов на основе получаемых стимулов известно не только для охотничьего стереотипа, но и для других форм поведения животных (Зорина и др., 2013). Мы сравнили эффективность охоты у “наивных” физиологически зрелых муравьев и у членов контрольной (“дикий”) семьи. Последние демонстрировали высокую эффективность: из 214 тестов 116 закончились поимкой ногохвостки уже в первые пять минут, а в остальных случаях муравьи по крайней мере совершали охотничьи выпады. “Наивные” муравьи вели себя совершенно иначе. Они относились к ногохвосткам так же мирно, как и к членам своей семьи, ощупывали их и даже вступали в антеннальные контакты, что у насекомых функционально соответствует опознавательному поведению собак, обнюхивающих друг друга под хвостом. В отдельных сериях опытов “наивные” муравьи либо имели возможность неограниченного доступа к контейнеру с ногохвостками, либо помещались в него на 20 часов. Несмотря на сотни наблюдаемых контактов каждой особи с потенциальной добычей, ни одна из них не продемонстрировала охотничьего поведения. Итак, стимулы, получаемые от ногохвосток, не пробуждают охотничьего поведения у “наивных” муравьев. Эти экспериментальные муравьи вышли в лаборатории из куколок, взятых в местообитаниях, богатых ногохвостками, и на стадии личинок, возможно, были вскормлены гемолимфой этих животных (напомним, что ногохвостки составляют до 100% добычи муравьев, и эта добыча предназначена для выкармливания молоди). Таким образом, мы констатировали отсутствие видового шаблона восприятия коллембол как добычи у *M. rubra*, что позволило отвергнуть гипотезу “жертва как релизер”.

Вторая гипотеза (“обучение путем подражания”) была основана на том, что в местообитаниях, богатых ногохвостками, муравьи освоили процесс охоты, часто наблюдая за более удачливыми сородичами. На пути проверки этого предположения “Формула Лимфатера” неожиданно напомнила о себе. В рассказе Лема подсказка для создателя думающей машины заключалась в процентной доле муравьев, “догадавшихся” строить ловушки: 0.2–0.4%. Подобно добросовестному вымышленному мирмекологу, мы тоже протестировали сотни “наивных” муравьев и получили неожиданно сходный результат: в одной из “наивных” семей 7 особей из 123 при первой же встрече с ногохвосткой продемонстрировали весь стереотип

охотничьего поведения по принципу “все и сразу”. В следующей серии экспериментов мы отбирали самых активных среди “наивных” муравьев, увеличив таким образом их концентрацию, и сравнивали их охотничье поведение с поведением членов естественной семьи. Пристальное внимание к проявлению стереотипов позволило классифицировать их, выделив среди “наивных” муравьев “прирожденных охотников”, а также обладателей как полных стереотипов, так и незавершенных, состоящих лишь из отдельных фрагментов и потому неэффективных. Оказалось, что если сравнивать только полные стереотипы, то у “наивных” охотников они достоверно короче, чем у членов естественных семей (“диких” муравьев). В стереотипах “наивных природенных охотников” с большей частотой встречаются ключевые элементы (т.е. такие, без которых совершение стереотипа невозможно) и с меньшей — необязательные, составляющие “шум”. Анализ поведенческих последовательностей муравьев как “биологических текстов” с применением метода сжатия данных, реализованного в программах-архиваторах (Ryabko et al., 2013), показал, что сложность охотничьих стереотипов у “наивных” муравьев существенно меньше. Это означает, что полные стереотипы у “наивных природенных охотников” более лаконичны и целенаправленны, чем у членов естественных семей (Пантелеева и др., 2010). Этот подход, по нашему мнению, может применяться для разделения врожденных и приобретенных форм поведения и помочь избежать весьма громоздких “Каспар-Хаузер” (изоляция) экспериментов. Даже если бы мы обнаружили только одну особь, демонстрирующую стереотип охотничьего поведения по отношению к прыгающей добыче по принципу “все и сразу”, то и в этом случае можно было бы предполагать наличие генетически зафиксированной целостной последовательности поведенческих актов. Полученные нами данные позволяют предположить, что в семье муравьев, при отсутствии видового шаблона восприятия прыгающей добычи, есть немногочисленные индивидуумы, обладающие таким шаблоном и врожденной программой стереотипа “атака наскоком”. У таких “прирожденных охотников” встреча со специфической потенциальной жертвой служит пусковым механизмом для проявления целостного стереотипа. Выявленные нами обладатели неполных стереотипов, т.е. лишь отдельных фрагментов охотничьего поведения, по видимому, способны их достроить до полных, подражая действиям “прирожденных охотников”. В местах, богатых потенциальной добычей, это может происходить достаточно часто, и, вероятно, имеет место кумулятивный эффект. Для формирования подражания в этой ситуации достаточно самой простой формы социального обучения

— так называемого “социального облегчения”, когда выполнение инстинктивной цепочки действий одним индивидуумом служит релизером для активации такого же поведения у наблюдателей (Galef, 1998; Резникова, 2004, 2009). Таким образом, мы пришли к смежной с гипотезой “культуры” гипотезе распределенного социального обучения: для распространения в популяции сложных поведенческих стереотипов достаточно присутствия в ней немногочисленных носителей целостных стереотипов, если остальные животные являются носителями неполных генетических программ, запускающих эти стереотипы (Reznikova, Panteleeva, 2008; Резникова, Пантелеева, 2015). Возможно, что большинство известных “культурных традиций” у животных формировалось по принципу распределенного социального обучения, однако это предположение еще далеко от принятия научным сообществом. Современные теории “культуры у животных” основаны не на действии фрагментов врожденных программ, как предложенная нами гипотеза распределенного социального обучения, а на лидирующей роли когнитивных механизмов и сложных форм социального обучения (подражание и “учительство”) (Lotem et al., 2017). Экспериментально проверить гипотезу распределенного социального обучения мы решили на социальных видах грызунов. За 12 лет исследований нам удалось обнаружить, во-первых, таких же “прирожденных охотников”, как специализированные хищники-хомячки, среди зерноядных и зеленоядных видов грызунов, а во-вторых, как и в опытах с муравьями, особей, которые демонстрировали неполные стереотипы охотничьего поведения. Выявленная нами подвижность отдельных фрагментов в стереотипах охотничьего поведения у грызунов навела нас на мысль о возможных путях его эволюции.

ГРЫЗУНЫ — НЕОЖИДАННЫЕ ОХОТНИКИ

Грызуны — разнообразная и процветающая группа, составляющая около 40% млекопитающих по числу видов и обладающая, помимо морфологических и физиологических особенностей, целым рядом как специфических поведенческих адаптаций, так и познавательных способностей. Грызуны населяют разнообразные биотопы, нередко обитают в высоко изменчивой среде и служат добычей для многих хищников. Все это требует от них высоко развитой исследовательской активности (Котенкова и др., 1989; Kotenkova et al., 1994), быстрой реакции на опасность и разнообразия тактик защиты (Rabi et al., 2017). Это невозможно без хорошей памяти, тонкого различения стимулов и способности к обучению (Panteleeva et al., 2013; Reznikova et al., 2019). Обязательные поведенческие стереотипы, такие как последова-

тельности действий при сексуальном поведении, обеспечивающие видовую изоляцию (Васильева и др., 2017; Ambaryan et al., 2019), и криптические реакции, необходимые для выживания (Rabi et al., 2017), у грызунов фиксированы. Факультативные поведенческие стереотипы у грызунов исследованы главным образом на примере территориального и социального поведения (Randall et al., 2005; Громов, 2008) и систем спаривания и ухода за потомством (Потапов и др., 2010, 2012; Tchabovsky et al., 2019). Интересным направлением в этой области является исследование действия нейрофизиологических механизмов, обеспечивающих эпигенетическое программирование социального поведения и появление новых наследуемых модификаций фенотипа, служащих материалом для естественного отбора (Громов, 2020; Gromov, 2020). Охотничье поведение грызунов ранее исследовалось в основном как облигатное у специализированных хищников (обзор: Левенец и др., 2019), а межвидовая и внутривидовая изменчивость реакций на добычу не изучались.

Для многих грызунов отмечено включение в рацион беспозвоночных и даже мелких позвоночных (Landry, 1970). Однако сведения о животной пище грызунов получены на основе анализа желудков и фекалий (Левенец и др., 2016). Наблюдения за поимкой добычи даже у тех видов, которые известны как специализированные охотники, производились у зверьков, отловленных в естественных условиях и помещенных в лабораторию (Rowe A., Rowe M., 2006). Отдельные наблюдения за охотой на беспозвоночных (саранчовые и бабочки) в природе известны лишь для хомячка Кэмпбелла (Левенец и др., 2019). Процесс охоты на подвижную добычу в лабораторных условиях до недавнего времени исследовался лишь на примере нескольких видов: хищного кузнечикового хомячка *Onychomys torridus*, всеядных белоногого и оленьего хомячков *Peromyscus leucopus* и *P. maniculatus* (Kreiter, Timberlake, 1988; Timberlake, Washburne, 1989; Rowe A., Rowe M., 2006), сирийского хомячка *Mesocricetus auratus* (Polsky, 1977; Langley, 1986), а также серой крысы *Rattus norvegicus* (Haug, Johnson, 1991). На примере хомячков была выявлена роль индивидуальных навыков: кузнечиковые хомячки уже при первой встрече с потенциальной жертвой проявляют охотничье поведение во всех деталях, тогда как у белоногого и оленьего хомячков эффективное взаимодействие с добычей требует накопления опыта (Kreiter, Timberlake, 1988). Это дает основание полагать, что у разных видов грызунов степень наследственно закрепленной координации моторных актов при охотничьем поведении различна. Представители рода кузнечиковых хомячков *Onychomys*, как специализированные охотники, обладают морфологическими и физиологическими адаптациями к взаимодействию с подвижной до-

бычей, в том числе такой опасной, как скорпионы (Sarko et al., 2011).

Мелкие млекопитающие в естественных условиях лесной зоны постоянно взаимодействуют с рыжими лесными муравьями. Такие взаимодействия включают конкуренцию за пространство, синойкию и трофические отношения (Пантелеева и др., 2016). В лабораторных экспериментах нам впервые удалось наблюдать активную охоту полевых мышей *Apodemus agrarius* на подвижных насекомых, в том числе таких многочисленных, агрессивных и опасных, как рыжие лесные муравьи. Полевые мыши, не боясь укусов и брызг муравьиной кислоты, направленных им в глаза, убивали до 40 муравьев подряд и поедали их целиком, включая антенны и ноги (Пантелеева и др., 2011). В экспериментах, где полевым мышам предлагали на выбор прозрачные контейнеры с различным количеством подвижных и агрессивных муравьев, выяснилось, что эти грызуны способны оценивать количество единиц опасной добычи и выбирать меньшее, обеспечивая себе таким образом условия для более комфортной охоты (Panteleeva et al., 2013). В отличие от хищных кузнечиковых хомячков, обладающих рядом физиологических адаптаций к взаимодействию с опасной добычей (Sarko et al., 2011), полевые мыши “вооружены” только эффективным стереотипом охотничьего поведения (Reznikova et al., 2017) и когнитивными способностями, позволяющими им оптимизировать взаимодействие с опасными насекомыми (Panteleeva et al., 2013).

Применяя единую схему лабораторных экспериментов, мы исследовали охотничье поведение по отношению к подвижным насекомым у грызунов с разными типами питания и различной социальной организацией. Всего было исследовано 133 особи серых крыс *R. norvegicus*, 26 полевых мышей *A. agrarius*, 19 хомячков Кэмпбелла *Phodopus campbelli*, 30 джунгарских хомячков *P. sungorus*, 8 хомячков Эверсманна *Allocricetulus evermanni*, 13 монгольских хомячков *Al. curtatus*, 46 узкочерепных полевков *Lasiopodomys gregalis*, 22 восточноевропейские полевки *Microtus levis*, 53 тувинские полевки *Alticola tuvinicus*, 104 ольхонские полевки *Alt. olchonensis*, 72 плоскочерепные полевки *Alt. strelzowi*, 61 когтистая песчанка *Meriones unguiculatus*, 21 жирнохвостая песчанка *Pachyuromys duprasi*.

Для сравнения охотничьей активности грызунов с действиями специализированного охотника мы выбрали насекомоядный вид — обыкновенную бурозубку *Sorex araneus*. Хотя строение ротового аппарата и конечностей землеройковых отличается от таковых у грызунов, нас интересовало сравнение с поведением активного и подвижного специализированного хищника, сходного с грызунами по размерам. Немаловажным фактором

является сходство современных представителей отряда Soricomorpha с ранними млекопитающими — не только размерами тела и мозга, но, по-видимому, и поведенческими возможностями (Kielan-Jaworowska, 2004; Catania, Henry, 2006). Это позволяет представить эволюционные тенденции поведенческих адаптаций, которые способствуют охотничьей деятельности (Langley, 1994). Этологические и физиологические аспекты охоты на подвижных насекомых (сверчков) были детально исследованы на примере этрусской землеройки *Suncus etruscus* (обзор: Brecht et al., 2011). Это один из самых быстрых и эффективных специализированных хищников, способный обнаружить сверчка, едва соприкоснувшись с ним одной из вибрисс, моментально атаковать и умертвить. В качестве потенциальной жертвы мы в своих экспериментах, как и многие исследователи охотничьей деятельности грызунов, выбрали разводных в культуре мраморных тараканов (средняя длина тела 26 мм). Эти насекомые очень подвижны, обладают высокой пищевой привлекательностью для грызунов и в то же время безопасны и не вызывают у зверьков защитных реакций (Santos et al., 2012). Для сравнения с поведением грызунов по отношению к малоподвижной добыче использовались личинки мучного хрущака (средняя длина 25 мм). Происхождение и возраст животных, соотношение самцов и самок, детали содержания в лаборатории и методики экспериментов подробно описаны в конкретных публикациях (Reznikova et al., 2017, 2019; Левенец и др., 2019; Пантелеева и др., 2019, 2020). Важно отметить, что исследуемые грызуны были “наивны” по отношению к подвижной добыче, т.е. по условиям содержания они ранее не сталкивались с имаго насекомых. Жирнохвостые песчанки в зоопарке получали личинок мучного хрущака и зофобаса, остальные зверьки получали различные белковые добавки к кормам, в том числе сухих беспозвоночных. Отметим, что нас интересовали именно детали поведения грызунов при взаимодействии с подвижными насекомыми, а не пищевые предпочтения.

Эксперименты были организованы по единой схеме для всех видов: животные помещались по одному в прозрачную арену, куда сверху опускали насекомое. Взаимодействие зверька и потенциальной добычи фиксировали с помощью видеокамеры. Видеозаписи обрабатывали в программе The Observer при замедлении скорости воспроизведения и составляли “словарь” элементов поведения (всего их оказалось 19), обозначая их буквами. Например, W — захват добычи зубами (укус), E — схватывание добычи лапами, Q — преследование добычи бегом, R — перехват добычи лапами и т.д. Последовательность совершаемых элементов поведения, без учета их длительности, записывалась в виде “текстов” (например, SEWENSWE-

HSEWWEHR, QWEWER и т.п.). Для примера, QWEWER означает следующую последовательность действий: преследование бегом (Q), укус (W), схватывание насекомого лапами (E), еще один укус (W), опять схватывание (E), перехват объекта лапами (R). Начало поедания добычи соответствовало окончанию охотничьего стереотипа. Количественное сравнение характеристик текстовых файлов разных видов и оценка сложности этограмм, записанных как “биологические тексты”, путем сжатия их архиваторами (Ryabko et al., 2013; Reznikova et al., 2019; Levenets et al., 2020) позволили нам выявить определенные закономерности в характере охотничьего поведения разных видов. В основе примененного нами метода сжатия данных (Ryabko et al., 2013) лежит способность программ-архиваторов находить в текстах любые закономерности. Чем больше в тексте повторяющихся фрагментов, тем он лучше сжимается (и, таким образом, будет считаться менее сложным), и наоборот.

Оказалось, что не только зерноядные полевые мыши и хомячки, но и зеленоядные полевки демонстрируют целенаправленное взаимодействие с подвижной добычей по типу “хищник—жертва”. У насекомоядной бурозубки охотничий стереотип проявляется облигатно. Столь же “сто процентными” охотниками среди исследованных видов оказались хомячки Эверсмманна, монгольские хомячки и жирнохвостые песчанки. У остальных видов охотничье поведение проявлялось факультативно: так, охотников оказалось около 70% среди полевых мышей и тувинских полевков, более половины (50–60%) у серых крыс, хомячков Кэмпбелла, восточноевропейских, плоскочерепных и ольхонских полевков, а у джунгарских хомячков и узкочерепных полевков — 25 и 35% соответственно. Мы полагаем, что лабораторные эксперименты отражают соотношение охотников и особей, равнодушных к насекомым, в естественных популяциях. В данном случае мы, как и в описанной выше ситуации с муравьями, имеем в виду количество носителей эффективного и целенаправленного охотничьего стереотипа, проявляющегося по отношению к подвижной жертве по принципу “все и сразу” в экспериментальных условиях.

У разных видов мы сравнили успешность охоты: соотношение количества успешных атак, заканчивающихся поимкой добычи, и неуспешных, когда насекомым удавалось убежать. Этот показатель составил у восточноевропейской и узкочерепной полевков 11 и 27% соответственно, у хомячка Эверсмманна 46%, у серой крысы, хомячка Кэмпбелла, когтистой и жирнохвостой песчанки, плоскочерепной и тувинской полевков от 50 до 60%, у джунгарского хомячка и полевой мыши 67–68%, у ольхонской полевки 75%, у монгольского хомячка 81%. У бурозубки успешность охо-

ты составила 64% (Левенец и др., 2019; Reznikova et al., 2019; Пантелеева и др., 2020). Успешность охоты на подвижных насекомых у грызунов не связана с долей охотников в популяциях. Так, у джунгарских хомячков особей, интересующихся добычей, всего 25%, а показатель успешности охоты один из самых высоких. Как мы увидим ниже, успешность охоты не связана и с относительными размерами исследуемых грызунов и насекомых. Интересно отметить, что у южных кузнечиковых хомячков (*O. torridus*) успешность охоты в экспериментах, сходных с нашими, составляла 73% (Langley, 1986), т.е. многие исследованные нами виды по этому показателю близки к специализированному хищному грызуну. Для сравнения, в естественных условиях у крупных хищных млекопитающих успешность охоты составляет обычно около 50% (Vermeij, 1982). Так, у гепарда из 38 случаев охоты поимка добычи состоялась в 19 (Bissett, Bernard, 2007). Важным показателем охотничьей активности, по нашему мнению, является скорость атаки — интервал времени между последовательно совершаемыми элементами “захват зубами” и “захват лапами” (в любом порядке). Высокая скорость атаки у всех видов в наших экспериментах (в среднем 0.16 с) говорит о скоординированности стереотипных действий.

Охотничье поведение грызунов с разными типами питания оказалось не беспорядочным, а организованным в стереотип, включающий обнаружение, преследование, атаку и обработку добычи — как это описано для специализированных хищников (обзор: Резникова, 2019). Атака, как часть охотничьего стереотипа, включает бросок на добычу и ее захват и может рассматриваться как ФКД. Количественный анализ поведенческих последовательностей показал, что структура охотничьего стереотипа универсальна у исследованных видов, независимо от их пищевой специализации, но соотношение элементов поведения, вероятность перехода между ними и специфика некоторых из них могут варьировать. Эти особенности охотничьего стереотипа направлены на успешный захват, обездвиживание и обработку добычи. Полевые мыши и узкочерепные полевки, как и бурозубки, повреждают насекомое серией быстрых укусов (“искусывают насмерть”). Узкочерепные полевки реже манипулируют добычей, количество “перехватов” у них меньше, чем у других видов. Это придает им некоторую неуверенность в обработке добычи и, хотя и незначительно, влияет на результативность охоты. У всех трех видов скальных полевек охотничий стереотип подобен таковому у эверсманновых хомячков, которые повреждают добычу быстрыми одиночными укусами. У эверсманновых хомячков быстрый захват добычи и повреждение ее точными укусами дополняется действиями передними конечностями, что увеличивает эффективность

повреждения насекомого. Хомячки Кэмпбелла, захватив добычу, быстро обездвиживают ее, держа в лапах, ловко поворачивая и откусывая конечности, что, по-видимому, является своеобразной поведенческой адаптацией. Джунгарский хомячок демонстрирует наиболее простой охотничий стереотип: догнать, схватить зубами и сразу начать есть, редко прибегая к манипуляциям.

Врожденное проявление охотничьего поведения было отмечено нами у представителей всех исследованных видов: у каждого вида среди особей, которые никогда не видели живых насекомых, обнаруживались “прирожденные охотники”, стереотип которых не требовал дотройки. Оптимизация движений при повторных встречах с добычей отмечена лишь у некоторых особей джунгарского хомячка, подобно тому как это было ранее описано для белоногого и оленьего хомячков (Kreiter, Timberlake, 1988). На примере серой крысы мы исследовали вопрос об онтогенезе охотничьего поведения подробно, протестировав 81 взрослую особь и 52 месячных крысенка, выращенных в лаборатории (Reznikova et al., 2019). Проявление стереотипа у этого вида факультативное: примерно у половины особей. При этом те особи, у которых стереотип есть, проявляют его в полной мере с первого же столкновения с подвижным насекомым в возрасте 30 дней. Именно у крысы охотничье поведение оказалось наиболее сложным по сравнению с остальными видами: их манипуляции с добычей изменчивы, переходы от одного элемента к другому мало предсказуемы. Это соответствует высокому показателю сложности этограммы как “текста” (Ryabko et al., 2013): архиватор, предназначенный для нахождения закономерностей в “тексте”, легко находит их в этограммах остальных видов, а у крысы делает это с трудом. Охотничьи стереотипы полевых мышей, хомячков и даже зеленоядных полевек оказались столь же лаконичными, целенаправленными и хорошо предсказуемыми, как у специализированных охотников на насекомых — бурозубок (Reznikova et al., 2019). Можно сказать, что в поведенческом репертуаре целого ряда видов грызунов содержится “насекомоядность”, проявляющаяся вне зависимости от количества охотников в популяциях. Существенное отличие в организации охотничьего стереотипа крысы, по-видимому, вызвано ее экологической спецификой: этот вид, в отличие от остальных исследованных нами грызунов (зерноядных, зеленоядных и со смешанным питанием), является “широчайшим генералистом” (Modlinska, Pisula, 2020), предпочитая в естественных условиях самые разные виды живой добычи. Все особенности функциональной организации и высокий уровень сложности стереотипов, в полной мере проявившиеся у крыс в возрасте 30 дней, со временем не меняются. Отметим, что размер у месячного крысенка такой же, как у исследованных

нами трех видов скальных полевок, поэтому особенности охотничьего поведения крыс объясняются их видовой спецификой, а не размерами. На второстепенную роль размеров в функциональной организации охотничьего поведения разных видов указывает не только сходство охотничьих стереотипов взрослых крыс и детенышей, но и сопоставление размеров добычи и взрослых зверьков разных видов (Reznikova et al., 2019): длина тела таракана составляет 12% от длины тела крыс, 15% от длины эверсманновых хомячков, 23% от длины полевой мыши и исследованных нами видов полевок и 30% от длины тел двух видов мохноногих хомячков и бурозубки. Этой “линейке” совершенно не соответствуют показатели успешности охоты: как уже отмечалось выше, этот показатель самый высокий у монгольского и джунгарского хомячков, полевой мыши и ольхонской полевки (от 67 до 81%); у тувинской и плоскочерепной полевок успешных атак от 50 до 60%, а у восточноевропейской и узкочерепной полевок – 11 и 27% соответственно (Reznikova et al., 2019; Пантелеева и др., 2020). Размеры монгольского хомячка и хомячка Эверсмана одинаковы, при этом показатели успешности охоты у них различаются почти вдвое: 81 и 46% соответственно (Левенец и др., 2019).

Можно полагать, что наличие носителей эффективного охотничьего стереотипа в популяциях хищных видов грызунов является эволюционно-стабильной стратегией, позволяющей расширять пищевой спектр за счет подвижных насекомых (Пантелеева и др., 2019). Теория эволюционно-стабильных стратегий (ЭСС) была предложена Мэйнардом Смитом и Прайсом (Maynard Smith, Price, 1973) для объяснения сосуществования в популяциях групп индивидуумов с альтернативными стратегиями разрешения конфликтов (классическим примером являются стратегии “голубя” и “ястреба”). Доля носителей определенного типа поведения, по-видимому, может при определенных условиях возрастать, не захватывая популяцию полностью. О потенциале охотничьего поведения грызунов в популяциях говорят эксперименты с целенаправленным отбором охотников у зерно-зеленоядного вида – рыжей полевки *Myodes glareolus* (Konczal et al., 2016). После 13 поколений такого отбора доля полевок, демонстрирующих охотничье поведение по отношению к сверчкам, в экспериментальных линиях зверьков была в 5 раз выше, чем в контрольных группах. Это означает, что при изменении условий достаточно нескольких поколений для увеличения доли охотников в популяциях, если естественный отбор будет им благоприятствовать. В наших экспериментах особей, проявляющих охотничье поведение, было от 25 до 100% у разных видов, т.е. в популяциях поддерживается полиморфизм по этому признаку. Характер охот-

ничьего поведения грызунов до нашей работы в деталях не исследовался, и для изучения сравнительной “конкурентоспособности” различающихся стереотипов в условиях целенаправленного отбора нужны специальные эксперименты.

РОЛЬ ПЕРЕДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ В ОХОТНИЧЬЕМ ПОВЕДЕНИИ ГРЫЗУНОВ

У грызунов степень вовлеченности лап в процесс охоты существенно варьирует у разных видов, что дает богатый материал для сравнительно-эволюционного анализа (Пантелеева и др., 2019; Reznikova et al., 2019). Умение грызунов манипулировать кистями и пальцами в последние годы привлекает все больше внимания (Karl, Whishaw, 2013; Nagano, Aoyama, 2017). Появление новых методов нейробиологического анализа, таких как оптическая визуализация и оптогенетика, позволяет, с одной стороны, более точно судить об эволюционных путях формирования “умелости” передних конечностей, а с другой – развивать на модельных генетических линиях крыс и мышей прикладные направления, связанные с медикаментозной помощью при поражениях отделов мозга, отвечающих за тонкие манипуляции у людей (Whishaw et al., 2017).

Ранее сравнительные исследования были проведены на примере 10 видов грызунов (морские свинки, лабораторные крысы и мыши, сирийские хомячки, серые и рыжие белки, луговые собачки, суслики, когтистые песчанки, бобры), которым предоставляли в распоряжение сухие макароны и семена подсолнечника (Whishaw et al., 1998). Выявлена общая для грызунов схема движений при захвате пищевых объектов: принюхивание, сближение головы и предмета, захват зубами, усаживание на задние лапы, захват передними конечностями, перехваты в удобную позицию. Морские свинки не задействовали лапы, а просто хватали еду зубами (Whishaw et al., 1998). Авторы считают, что речь, возможно, идет о деградации поведенческого признака. Были отмечены особенности манипуляций с пищевыми объектами: песчанки и бобры не только поднимали предметы челюстями, но и хватали и подтягивали их лапами. Луговые собачки и суслики, хватая пищу зубами, затем могут удерживать ее одной лапой. Отмечено, что крысы, поедая семечки, больше используют лапы, а мыши – движения головы; хомячки, сдирая шелуху, поворачивают семя, сгрызая с него оболочку, а песчанки расщелкивают резцами и, единственные среди изученных видов, лапой отбрасывают шелуху в сторону. Эти наблюдения говорят о видоспецифических различиях в действиях грызунов с семенами, подобно тому как мы отметили их в действиях с подвижными насекомыми.

В последние годы на примере лабораторных линий мышей исследован “синтаксис” их манипуляций пищевыми объектами (Whishaw et al., 2017). Особый интерес в этом плане представляет подход, при котором животному фиксируют голову в неподвижном положении, имитируя паралич людей с поражением мозга (инсульт, болезнь Паркинсона и другие). Это позволяет на животных моделях изучать последствия лечения. Захваты кусочков сухих макарон у таких мышей разделили на поддерживающие и направляющие, при этом мыши совершают больше поддерживающих захватов левой лапой, а направляющих — правой. Поведение мыши, поедающей макаронины, организовано в стереотип, состоящий из повторяющихся эпизодов откусывания, включающего движения лапами, и жевания; захваты лапами включают перехваты обеими конечностями, так, чтобы расположить объект поудобнее для укуса. Одна лапа держит объект, а вторая направляет его в рот. Множественные направляющие движения совершаются, по-видимому, без прямого контроля мозга.

В целом же сложные движения передних конечностей при манипуляциях предметами, вероятно, указывают на развитие этих элементов поведения у общего предка грызунов и приматов (Whishaw et al., 1998). В эволюции манипуляторной активности приматов основную роль сыграла, по-видимому, охота на насекомых при древесно-лазающем образе жизни (Cartmill, 1974). В последние годы выяснено, что движения протягивания передних конечностей и акты схватывания имеют разное эволюционное происхождение и контролируются разными нейронными путями, а интегральный визуальный контроль появился именно у приматов. У них развилась уникальная способность “мысленно” подготвить руку к конфигурации схватываемого объекта еще до прикосновения к нему (Karl, Whishaw, 2013).

Как отмечалось выше, особенности поведения грызунов при поимке подвижной добычи исследованы главным образом на примере хомячков, в особенности специализированных хищных видов. Было показано, что, атакуя жертву, они схватывают ее лапами (Langley, 1986; Timberlake, Washburne, 1989; Rowe A., Rowe M., 2006). Крысы способны хватать подвижных сверчков с помощью одной лапы: прижимать и затем кусать; они также могут зажимать добычу между большим пальцем и остальной кистью или между мизинцем и безымянным пальцем (Ivanco et al., 1996). В недавних исследованиях было экспериментально продемонстрировано умение крыс манипулировать орудием (лопаточкой), держа ее передними лапами, чтобы подтягивать к себе кусочки пищи (Nagano, Aoyama, 2017). Экспериментальные исследования нейронных механизмов взаимодей-

ствия лабораторных линий мышей с подвижной добычей выявили существенный вклад зрения в процесс манипуляций, сопровождающих охотничью активность (Hou et al., 2016). Однако, ссылаясь на недостаток этологических исследований, авторы полагают, что у других видов грызунов механизмы взаимодействия с добычей могут существенно отличаться. Наши данные частично восполняют этот пробел. В исследованиях фрагментирования охотничьих стереотипов у разных видов грызунов мы обратили особое внимание на соотношение действий с помощью зубов и лап.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА ФРАГМЕНТИРОВАНИЯ СТЕРЕОТИПОВ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ ОХОТНИЧЬЕГО ПОВЕДЕНИЯ ГРЫЗУНОВ

Эксперименты, которые послужили основой для гипотезы о фрагментировании охотничьих стереотипов, мы проводили в 2014–2019 гг. по описанной выше схеме на девяти видах: когтистой песчанке, жирнохвостой песчанке, восточноевропейской полевке, узкочерепной полевке, джунгарском хомячке, хомячке Кэмпбелла и трех видах скальных полевок р. *Alticola*: тувинской, ольхонской и плоскочерепной. По результатам многократных наблюдений за процессом охоты сравнивали у разных видов соотношение успешных и неуспешных охотничьих стереотипов и анализировали количественный состав разных элементов в них. Для получения и сравнения схем охотничьих стереотипов разных видов составляли матрицы вероятностей перехода одного элемента в другой (Casagubea et al., 2008) и отображали их затем графически (Espejo, Mir, 1993; Cavarero et al., 2013).

Сравнение результативности охоты у грызунов позволило нам, по аналогии с исследованием охоты муравьев на прыгающую добычу (Reznikova, Panteleeva, 2008), разделить всех протестированных животных на три группы: “природных охотников”, которые успешно ловили подвижное насекомое при первой же встрече с ним, “не охотящихся” особей, которые совсем не интересовались подвижной добычей, и “не природных охотников”, которые ловили добычу, но не с первого раза, а после нескольких неудач (их бывало до 10 в повторяющихся тестах). Чтобы избежать влияния псевдорепликаций, мы рандомизировали данные (табл. 1). Можно полагать, что у таких особей при повторных встречах с потенциальной жертвой происходила достройка врожденного стереотипа (Фабри, 1976; Зорина и др., 2013). Недавно на примере лабораторных мышей были выявлены нейронные механизмы интеграции паттерна охоты при взаимодействии с добычей, которые, возможно, лежат в основе такой достройки (Hou et al., 2016). Наибольшая доля “природных

Таблица 1. Доли стереотипов с различными комбинациями элементов “захват добычи лапами” (E) и “захват зубами” (W)

	Доля стереотипов, в которых выпадал элемент “захват лапами”		Доля стереотипов, в которых выпадал элемент “захват зубами”		Доля атак, начавшихся с захвата зубами	
	успешные	неуспешные	успешные	неуспешные	полные	неполные
Когтистая песчанка (<i>n</i> = 37)	0.0% а (0 из 58)	0.0% а	8.6% а (5 из 58)	68.6% а (35 из 51)	11.4% а (21 из 184)	–
Жирнохвостая песчанка (<i>n</i> = 21)	0.0% а (0 из 38)	0.0% а, б (0 из 15)	31.6% б (12 из 38)	13.3% б, в (2 из 15)	13.4% а (9 из 67)	–
Тувинская полевка (<i>n</i> = 54)	0.0% а (0 из 90)	20.8% б (15 из 72)	0.0% а, в (0 из 90)	1.4% в (1 из 72)	98.9% б (175 из 177)	100.0% а (16 из 16)
Плоскочерепная полевка (<i>n</i> = 47)	0.0% а (0 из 66)	35.8% б (19 из 53)	0.0% а, в (0 из 66)	0.0% в (из 53)	100.0% б (127 из 127)	100.0% а (20 из 20)
Ольхонская полевка (<i>n</i> = 71)	0.0% а (0 из 196)	34.7% б (25 из 72)	0.0% в (0 из 196)	0.0% в (0 из 72)	100.0% б (348 из 348)	100.0% а (34 из 34)
Восточноевропейская полевка (<i>n</i> = 13)	0.0% а (0 из 8)	15.6% б (13 из 83)	0.0% а, в (0 из 8)	2.4% в (2 из 83)	96.1% б (149 из 155)	90.0% а (20 из 22)
Узкочерепная полевка (<i>n</i> = 19)	0.0% а (0 из 15)	28.9% б (13 из 45)	0.0% а, в (0 из 15)	0.0% в (0 из 45)	98.0% б (99 из 101)	100.0% а (14 из 14)
Хомячок Кэмпбелла (<i>n</i> = 12)	0.0% а (0 из 26)	5.3% а, б (1 из 19)	0.0% а, в (0 из 26)	21.1% б, в (4 из 19)	68.4% в (91 из 133)	20.0% б (1 из 5)
Джунгарский хомячок (<i>n</i> = 16)	0.0% а (0 из 48)	12.5% а, б (3 из 24)	0.0% а, в (0 из 48)	29.2% б (7 из 24)	32.1% г (50 из 156)	25.0% б (3 из 12)

Примечание. Разные буквы (а, б, в, г) внутри каждого столбца указывают на значимые различия в соответствии с точным критерием Фишера с поправкой Бонферрони, $p < 0.05$; неполных стереотипов у обоих видов песчанок не выявлено. Данные в таблице получены в результате рандомизации с 50%-ной аппроксимацией всего пула стереотипов, полученных для каждого вида. *n* – общее количество охотившихся животных.

ных охотников” оказалась у жирнохвостой песчанки и ольхонской полевки (более половины зверьков), а также у когтистой песчанки (немногом менее половины). Меньше всего – у хомячка Кэмпбелла (2 особи из 19), узкочерепной (4 из 46) и восточноевропейской полевки (1 из 22). Как и в ситуации с муравьями – охотниками на ногохвосток, – даже одной особи, проявляющей полный стереотип по принципу “все и сразу” достаточно для того, чтобы заключить, что в популяции такой стереотип доступен. “Не-охотников” у жирнохвостой песчанки не было совсем, у остальных видов особи, равнодушные к добыче, составляли от 32% у тувинской полевки до 75% у джунгарского хомячка и 65% у узкочерепной полевки. Как уже отмечалось выше, оценка успешности охоты показала, что среди видов, для которых исследовалось фрагментирование охотничьих стереотипов, самыми неудачливыми ловцами были узкочерепная и восточноевропейская полевки, а наиболее успешными – ольхонская полевка и жирнохвостая песчанка. Напомним, что все исследуемые зверьки никогда не встречались с подвижными

насекомыми имаго. Стоит отметить, что если для жирнохвостой песчанки “насекомоядный” образ жизни был известен (Felt et al., 2008; Hoath, 2009), и в рационе когтистой песчанки также отмечалось включение животной пищи (Kanarek et al., 1977; Snipes, 1982), то скальные полевки известны как преимущественно зеленоядные виды (Литвинов и др., 2013; Пантелеева и др., 2020), хотя остатки насекомых отмечались в запасах ольхонской (Литвинов, 1982) и плоскочерепной полевки (Капитонов, 1965). Столь высокие показатели охотничьей активности ольхонской полевки и не намного отстающей от нее тувинской (на уровне специализированных хищных хомячков) кажутся удивительными.

Анализируя структуру стереотипа охотничьего поведения, мы рассматриваем элементы “захват зубами” (W) и “захват лапами” (E) (связанные с атакой на жертву) как ключевые, поскольку именно они важны для поимки подвижной добычи. Интервал между этими элементами (независимо от порядка их совершения) во время атаки составляет у всех исследованных видов доли се-

кунды (от 0.04 у хомячка Кэмпбелла и 0.07 у ольхонской полевки до в среднем 0.2 секунды у остальных видов). Это говорит о стремительности и целенаправленности атак у всех охотящихся зверьков. Все наблюдаемые стереотипы мы разделили на полные, содержащие все ключевые элементы, и неполные, в составе которых хотя бы один ключевой элемент отсутствовал (“выпадал”). Таким образом, охотничьи стереотипы могут быть “полные и успешные”, “полные и неуспешные” и “неполные и неуспешные”.

“Захват лапами” (E) оказался необходимым элементом для всех успешных стереотипов у всех исследуемых видов. В неуспешных стереотипах именно этот элемент может “выпадать”. Чаще всего элемент “E” отсутствует в неуспешных стереотипах ольхонской и плоскочерепной полевок, менее часто у тувинской и узкочерепной полевок, существенно реже у двух видов хомячков, и никогда у обоих видов песчанок. Элемент “захват зубами” (W) оказался необходимым элементом для всех успешных стереотипов хомячков и полевок, но не песчанок. Как видно из табл. 1, доля успешных стереотипов, из которых “выпадает” элемент “W”, составляет 8.6% у когтистых песчанок и 31.6% у жирнохвостых. Это означает, что, атакуя добычу, песчанкам не обязательно действовать челюстями и для успешного захвата жертвы им достаточно оперировать лапами. Таким образом, элемент “укус” не критичен для охотничьего стереотипа песчанок. Мы можем рассматривать стереотипы, в которых этот элемент отсутствует, как полные для песчанок, и, таким образом, неполных стереотипов у них нет, а ключевой элемент получается только один. Если проанализировать неуспешные стереотипы у всех видов, то оказывается, что элемент “W” “выпадает” чаще всего у когтистых песчанок (68.6% от всех случаев), что достоверно отличает их от жирнохвостых песчанок и двух видов хомячков (доля таких стереотипов у них от 21.1 до 29.2%).

Кроме ключевых элементов охотничьих стереотипов, составляющих первую группу, мы рассмотрели еще две группы элементов: дополнительные и “шумовые”. Дополнительные элементы связаны с преследованием и обработкой добычи (всего 7): преследование добычи (S), обнюхивание (D), перенос добычи в зубах (G), перехват объекта лапами поудобнее (R), обкусывание ног насекомого (H) и др. Группа “шумовых” включает элементы, которые никак не влияют на выполнение стереотипа (всего 10), такие как разворот на 180° (B), груминг (X), прыжок на месте (J) и др. Некоторые из дополнительных и “шумовых” элементов были отмечены у одних видов и отсутствовали у других. Так, только восточноевропейские полевки откусывали у таракана не только ноги, но и крылья (в разных сочетаниях), а также встряхивались во время атаки (что может быть показателем дис-

комфорта у этих в целом неудачливых охотников; Handley, Singh, 1986), а джунгарские хомячки никогда не переносили насекомое в зубах.

Успешные охотничьи стереотипы начинаются со сближения с потенциальной жертвой и приноживания. Песчанки и джунгарские хомячки в большинстве случаев схватывают насекомое лапами, полевки делают это зубами, а хомячки Кэмпбелла чаще начинают атаку с захвата зубами и реже — с захвата лапами. Когда таракан пойман, зверьки могут перенести его в зубах и опять схватить в лапы, после чего вероятны манипуляции, включающие перехваты объекта, обкусывание ног или крыльев. Обычно пойманное насекомое поедается, но нередко животные ограничиваются обездвиживанием таракана и бросают его. У скальных полевок мы впервые выявили элементы поведения, связанные с попытками “складирования” живой добычи, не встречавшиеся у ранее исследованных видов (Пантелеева и др., 2020). Убежавшего таракана зверьки ловили и пытались “запастись” снова. Эти реакции проявлялись как у взрослых особей, так и у 30–35-дневных детенышей. Для всех исследуемых нами видов р. *Alticola* описано запасание травы и сушка ее в стожках (Литвинов и др., 2013; Пантелеева и др., 2020). Попытки “складирования” живых тараканов можно, на наш взгляд, расценить как проявление стереотипа запасания растительного корма. Хотя запасают и сушат траву в природе все три вида скальных полевок, запасание тараканов было характерно только для тувинской полевки (в экспериментальной арене добычу запасали 13 из 52 животных, а у остальных двух видов отмечены лишь единичные случаи).

Мы проанализировали случаи “выпадения” элементов из охотничьих стереотипов разных видов и обнаружили подвижные фрагменты в ключевой связке элементов “укус–захват–перехват”. Как отмечалось выше, захват добычи лапами оказался необходимым элементом успешного выполнения стереотипа охотничьего поведения у всех исследованных видов грызунов. В отличие от бурозубки, которая поедает пойманную добычу, прижимая ее к земле, грызуны всегда поднимают ее ко рту и затем манипулируют ею в той же манере, как это описано для мышей, поедающих макароны (Whishaw et al., 2017). В случаях неуспешных стереотипов элемент “захват лапами” “выпадал” примерно в четверти случаев у пяти видов полевок, но очень редко у хомячков и никогда у песчанок. Таким образом, для охотничьего поведения песчанок захват лапами необходим всегда. Песчанки в большинстве случаев начинают атаку со схватывания объекта лапами (более 80% случаев у обоих видов). Напротив, почти все полевки и некоторые особи обоих видов хомячков начинают атаку с захвата насекомого зубами. Наличие этого элемента (W), как уже отмечалось, оказалось не-

обходимым для успешной охоты всех полевок и хомячков, тогда как у песчанок он может “выпадать” даже в случае успешной охоты. Как у песчанок, так и у хомячков подвижным фрагментом охотничьего стереотипа оказалась пара элементов “захват зубами” и “захват лапами”. Хомячки, в отличие от полевок и подобно песчанкам, часто начинают атаку с захвата лапами: 33 и 62% полных, 90 и 77% неполных стереотипов у джунгарского хомячка и хомячка Кэмпбелла соответственно. Однако, в противоположность песчанкам, у хомячков атаки, начинающиеся с захвата лапами, но не включающие действия зубами, всегда неудачны.

Картина возможного фрагментирования стереотипов позволяет уточнить представления об их эволюции у грызунов. Лэнгли (Langley, 1987, 1994) детально исследовал стереотипы охоты на беспозвоночных у специализированных хищных грызунов и грызунов-эврифагов: кузнечиковых хомячков, оленьего, белоногого и сирийского хомячков. Опираясь на модель эволюции охотничьего поведения, предложенную Эйзенбергом и Лейхаузенем (Eisenberg, Leyhausen, 1972), в которой наиболее прогрессивным считается захват лапами и “смертельный укус” кошачьих, Лэнгли классифицировал охотничье поведение грызунов и показал, что неспециализированные грызуны-эврифаги в большинстве случаев начинают атаку на добычу с захвата зубами, а затем, удерживая ее в зубах, перехватывают лапами. Принципиально иным образом действуют специализированные хищные кузнечиковые хомячки, которые чаще всего в начале атаки захватывают добычу в лапы и лишь затем умерщвляют ее одним или несколькими укусами. Истинные насекомоядные (землеройковые *Soricidae*, ежовые *Erinaceidae*), а также тенрековые (*Tenrecidae*) атакуют добычу только сериями укусов, демонстрируя наиболее примитивный тип атаки (Eisenberg, Leyhausen, 1972). Как отмечалось выше, в наших экспериментах (Reznikova et al., 2019) бурозубки активно использовали передние конечности, но только для прижимания и удерживания добычи, а не для манипуляций ею. При этом ясно, что морфологическое строение конечностей и ротового аппарата насекомоядных таково, что им удобнее использовать зубы для атаки на добычу. Мы проследили тренд “от зубов к лапам” у исследованных нами представителей отряда грызунов. Суммировав данные, полученные на 15 видах грызунов с разными типами питания, и следуя схеме, предложенной Лэнгли, мы видим, что разные виды полевок и полевые мыши, атакуя добычу, демонстрируют наиболее примитивную схему охотничьего стереотипа: сближение с жертвой, захват зубами и умерщвление множественными укусами. Затем (в отличие от насекомоядных) они перехватывают жертву передними лапами, усаживаются на задние лапы,

подносят ее ко рту и умерщвляют зубами, иногда сопровождая эти действия манипуляциями лапами. Хомячки, как отмечалось выше, могли начать атаку на жертву с действий лапами, но без дальнейшего захвата зубами такие атаки не были успешными. Дальнейшие их действия, как и у мышей и полевок, связаны с манипуляциями добычей с помощью как передних конечностей, так и зубов. В этой фазе охоты действия некоторых видов хомячков носят характер специализации: как отмечалось выше, различаются способы обездвиживания и умерщвления насекомого. Песчанки могут успешно использовать как более примитивный стереотип, так и “продвинутый”, основанный на атаке с помощью лап. Следует отметить, что выявленная нами картина разнообразия охотничьего поведения разных видов грызунов относится только к их атакам на подвижную добычу. На примере когтистой песчанки мы проследили взаимодействие зверьков с малоподвижными личинками мучного хрущака (Reznikova и др., 2017). Такую добычу песчанки не схватывают лапами, а подбирают зубами и сразу начинают есть, помогая себе передними конечностями. Сходное поведение отмечалось у хищных кузнечиковых хомячков: они подбирали с земли семена и личинок мучного хрущака зубами, а подвижную добычу атаквали, хватая ее лапами (Langley, 1994).

Анализируя поведение грызунов с разными типами питания по отношению к подвижной добыче, мы видим, что факультативные (относительно скрытые) стереотипы охотничьего поведения проявляются – в различных пропорциях – устойчиво у разных видов (Пантелеева и др., 2019). Разнообразие форм атак на добычу у разных видов представлено в наших исследованиях впервые и в целом позволяет отобразить эволюционные тренды охотничьего поведения грызунов. Ранее картина эволюционного перехода грызунов к хищническому образу жизни была прослежена на примере хомячков, принадлежащих к роду *Onychomys* (кузнечиковые хомячки) и *Peromyscus* (оленьи хомячки) (Langley, 1987, 1994; Kreiter, Timberlake, 1988). Кузнечиковые хомячки отделились от оленьих хомячков, приняв свой нынешний облик в плейстоцене (McCarty, 1978). Характер зубной системы ископаемых подвидов *Onychomys*, первоначально адаптированной к всеядному образу жизни, в плейстоцене заметно изменился в сторону схождения с насекомоядными (Carleton, Eshelman, 1979). Предполагается, что предки кузнечиковых хомячков, принадлежащие к роду оленьих хомячков, обладали охотничьим поведением (Langley, 1987, 1994; Kreiter, Timberlake, 1988). Переходу части грызунов от всеядного к хищническому образу жизни, по-видимому, способствовала конкуренция за растительные ресурсы, сопряженная с опустыниванием восточной части Северной Америки в позднем миоцене

(Riddle, 1995). Нам кажется примечательным, что у филогенетически далеких видов с разными типами питания, обитающих в различных биотопах и природных зонах, сохраняются охотничьи стереотипы, построенные в целом по универсальной схеме и сравнимые со стереотипами специализированных хищников (Reznikova et al., 2019). У зеленоядных скальных полевок, обитающих в засушливых местообитаниях, отмечается сочетание весьма высоких показателей охотничьей активности: доля охотников составляет у плоскочерепных, тувинских и ольхонских полевок 56–68%, а показатель успешности охоты 60–75%, на уровне кузнечиковых хомячков. Видимо, конкуренция за растительные ресурсы способствует поддержанию устойчиво выраженных стереотипов охотничьего поведения. Эволюцию хищнического поведения грызунов еще предстоит исследовать. На основании этологического анализа мы полагаем, что в целом дивергенция и специализация охотничьего поведения в различных систематических группах грызунов может быть основана на фрагментировании “исходного” стереотипа, т.е. на рекомбинации и/или редукции отдельных поведенческих элементов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Используя взаимодействие с добычей как экспериментальную поведенческую модель, мы на примере муравьев и грызунов выявили отдельные фрагменты поведенческих последовательностей, рекомбинация или выпадение которых могут формировать свойственные виду или группе видов стереотипы охотничьего поведения. Мы полагаем, что фрагментированность является естественным состоянием факультативных поведенческих стереотипов в популяциях и сообществах. К настоящему времени есть уже немало работ, посвященных экспрессии отдельных генов, ответственных за проявление тех или иных форм поведения у разных организмов. Не исключено, что стабильная и подвижная части стереотипа охотничьего поведения у грызунов регулируются различными генами. Это предположение подкрепляется работами, посвященными молекулярно-генетическим механизмам их охотничьего поведения. На примере лабораторных мышей и крыс было выяснено, что за охотничью активность отвечает регуляция активности гена *c-Fos* в хвостатом ядре и скорлупе мозга (Comoli et al., 2005). У крыс, которым блокировали передачу нервных сигналов в этой области мозга, наблюдалась реверсия действия как раз в исследуемой нами связке “зубы–лапы” (Santos et al., 2012). В отличие от членов контрольной группы мышей, которые, так же как и крысы, полевые мыши, полевки и хомячки в наших экспериментах (Reznikova et al., 2017, 2019), эффективно схваты-

вали добычу зубами и потом удерживали и перехватывали ее лапами, чтобы умертвить укусами и съесть, экспериментальные животные, действовали крайне неуклюже: эта часть стереотипа у них как бы выворачивалась наизнанку. Члены экспериментальной группы пытались схватить насекомое не зубами, а лапами, и удержать не лапами, а зубами, и во всех случаях упускали жертву. В недавних нейрофизиологических исследованиях с применением методов оптогенетики (Han et al., 2017) у лабораторных мышей дикого типа нервные пути от миндалевидного тела к ретикулярной формации повреждали с помощью искусственно сконструированных вирусов, регулирующих экспрессию отдельных генов. Такие мыши, как и в предыдущем исследовании, пытались схватить сверчка лапами без помощи зубов, как это делают песчанки. Однако, даже успешно ухватив насекомое, они не могли умертвить его зубами и упустили. Похоже, что у них наблюдалось такое же выпадение элемента “захват зубами”, как в случаях неуспешных стереотипов у зверьков в наших экспериментах. Как мы выяснили, элемент “захват зубами” не является ключевым для песчанок, и среди исследованных нами видов только они могут схватить добычу лапами без помощи челюстей, но для хомячков, полевок и мышей атака без участия зубов всегда будет безуспешной. Генетические механизмы, лежащие в основе фенотипической вариабельности, выражающейся в фрагментированности поведенческих стереотипов, еще предстоит исследовать.

Фрагментированность охотничьего поведения, по-видимому, не случайно проявилась именно у общественных видов грызунов: когтистых песчанок, пространственно-этологическая структура популяций которых описана как структурированные семейные группировки (Громов, 2008), жирнохвостых песчанок, селящихся небольшими группами (Osborn, Helmy, 1980), и трех видов скальных полевок, общественный образ жизни которых выявлен недавно (Литвинов и др., 2013; Пантелеева и др., 2019). Это не означает, что у одиночных видов фрагментированность стереотипов охотничьего поведения невозможна. Но можно предполагать, что у социальных видов это явление более частое и востребованное. Дело в том, что фрагментирование охотничьего поведения, по-видимому, лежит в основе распределенного социального обучения в сообществах, а такой способ распространения необходимых стереотипов “дешевле”, чем поддержание полных стереотипов у всех или у большинства особей. Гипотеза распределенного социального обучения, сформулированная нами на основе исследования муравьев – носителей полных и незавершенных стереотипов охоты на трудноуловимую добычу (прыгающих ногохвосток), основана на предположении, что неполные стереотипы могут быть

“спящими”, ждущими подходящего момента (Reznikova, Panteleeva, 2008; Резникова, Пантелеева, 2015). Этот момент наступает при изменении условий, когда добыча становится настолько массовой, что в разы увеличивается вероятность встречи потенциальной жертвы и носителя полного стереотипа, и невольные наблюдения за удачливыми охотниками становятся частыми для носителей “спящих” фрагментов стереотипа (Резникова, Пантелеева, 2001, 2003). Мы полагаем, что достроить фрагменты до полного успешного стереотипа на основе такой простой формы социального обучения, как “социальное облегчение” (Galef, 1998; Резникова, 2004, 2009), значительно легче, чем учиться сложному охотничьему поведению “с нуля”, и поэтому количество успешных охотников на прыгающую добычу быстро возрастает (Резникова, Пантелеева, 2015). Не исключено, что упомянутые выше мутантные самцы дрозофил, “обучающиеся” ритуальному поведению ухаживания (Pan, Vaker, 2014), также “достраивали” его на основе имеющихся в репертуаре “спящих” фрагментов.

Наличие в популяциях грызунов (как общественных, так и одиночных) определенной доли носителей полного стереотипа охотничьего поведения позволяет им в случае колебаний внешних условий существенно расширять рацион за счет включения в него насекомых (Пантелеева и др., 2019). По-видимому, не случайно, что у исследованных нами скальных полевков наблюдаются столь высокие показатели охотничьей активности: сказывается обитание этих зеленоядных видов в засушливых биотопах, где растительные ресурсы не всегда доступны (Литвинов и др., 2013; Пантелеева и др., 2020).

Наше предположение, что “спящие” фрагменты стереотипов охотничьего поведения могут у социальных видов грызунов достраиваться до полных при наблюдении за взаимодействием сородичей с подвижными насекомыми, было основано на наблюдениях за песчанками (Резникова, Пантелеева, 2011; Резникова и др., 2017). Проверка этой гипотезы требует специальных экспериментов, организованных по типу “актер—зритель”, и пока мы располагаем лишь предварительными данными. В экспериментах с когнитивными песчанками два зверька из четырех, ранее демонстрировавшие лишь неуспешные стереотипы охотничьего поведения, после наблюдений за удачливыми охотниками показали успешные атаки на таракана. Проверка гипотезы распределенного социального обучения на примере как муравьев, так и социальных видов грызунов требует дальнейших экспериментов. Возможно, подобные эксперименты стоило бы организовать в будущем с помощью роботов-имитаторов, способствующих “социальному облегчению” у животных-зрителей (обзор: Patricelli, 2010). Стоит отметить, что уже

сейчас полученные данные существенно меняют наши представления о становлении “культурных традиций” в популяциях.

Охотничье поведение грызунов проявляется настолько ярко, что может быть включено как один из важных параметров в состав комплексной характеристики поведения на основе батареи тестов. В последние десятилетия сформировался комплексный подход к исследованию индивидуальной изменчивости поведения животных, основанный на анализе относительно устойчивых поведенческих характеристик, которые проявляются в разном возрасте, в разных ситуациях и контекстах (Eaves et al., 1990; Budaev, Zworykin, 2002). Наличие в популяции устойчивых связей между такими характеристиками (например, смелостью и агрессивностью) обозначают как “поведенческий синдром” (Sih et al., 2004; Bell, 2007). Когнитивные способности, основанные на накоплении, обработке и применении полученной информации, являются у большинства биологических видов, как уже отмечалось выше, своеобразной “вершиной айсберга”, массивное основание которого составляет репертуар наследственно обусловленных поведенческих моделей (Reznikova, 2007). Включение когнитивных характеристик в общую картину поведенческого синдрома интенсивно обсуждается в последние годы (Sih, Del Giudice, 2012), и данные о связи способностей с другими характеристиками пока противоречивы (Schuster et al., 2017). В недавней работе, основанной на множественной искусственной селекции рыжей полевки (Maiti et al., 2019), представители “хищной” линии, отобранные в соответствии с высокими показателями охотничьей активности по отношению к сверчкам, обладали такими чертами поведенческого синдрома, как смелость, повышенный уровень исследовательской активности, склонность передвигаться в открытом поле быстрее и по более спрямленным траекториям. Представители “травоядной” линии двигались медленнее, а уровень их исследовательской активности был значительно ниже.

Поскольку об охотничьей деятельности грызунов в естественных условиях до сих пор практически ничего не известно, то нет и исследований связи этой формы поведения с когнитивными способностями. Нам кажется показательным, что наиболее активные и результативные охотники среди исследованных нами видов — полевые мыши (Пантелеева и др., 2011; Reznikova et al., 2017) — в экспериментах проявили способность к точным оценкам количества визуальных стимулов на уровне приматов, в частности умение отличать 8 от 9 и 5 от 6 (Reznikova et al., 2019). Именно точность оценок (accuracy) отмечается как критический параметр в проявлениях когнитивных способностей животных (Chittka et al., 2009). У грызунов такая способность может быть связана с

необходимостью замечать малейшие изменения в визуальной обстановке, жизненно необходимой для видов, являвшихся одновременно потенциальными жертвами и маленькими охотниками на подвижную добычу. Связь между когнитивными характеристиками грызунов и показателями их охотничьей активности — задача для дальнейших исследований.

Детальное внимание к элементам стереотипа охотничьего поведения и новые сведения о подвижности кистей и пальцев у грызунов могут иметь не только фундаментальное значение для формирования представлений об эволюции стереотипов, но и быть полезными в прикладных медицинских исследованиях. Как отмечалось выше, исследования “синтаксиса” тонких движений передних конечностей и пальцев у лабораторных мышей с искусственно ограниченной подвижностью головы дают возможность моделировать последствия лечения у людей с поражением мозга (Whishaw et al., 2017). Область компетенции таких экспериментальных моделей ограничена тем, что в их основе лежат исследования взаимодействия грызунов с неподвижными пищевыми объектами. Меж тем комплекс действий при атаке на подвижную добычу требует совсем иного уровня координации движений и существенно отличается не только от действий с растительным объектом, но и от реакций на малоподвижное насекомое. Личинку мучного хрущака песчанки хватают зубами, перехватывают передними лапами и поедают (Резникова и др., 2017). В последние годы появились исследования, посвященные нейронным механизмам координации движений лабораторных мышей при атаке на подвижное насекомое (Ной et al., 2016; Хан et al., 2017). Наши данные о стереотипах охотничьего поведения у разных видов грызунов могут помочь в исследованиях координированной работы рук и интактного и пораженного мозга у человека в условиях сложных двигательных задач.

В целом наши результаты, полученные с помощью экспериментальной модели факультативного охотничьего поведения муравьев и грызунов, могут существенно дополнить и во многом изменить представления о путях эволюции поведенческих стереотипов. Предложенный путь детального анализа поведенческих стереотипов животных может быть использован в прикладных биомедицинских исследованиях и в робототехнике.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (№ 19-14-50033, “Экспансия”). Авторы благодарны Ю.Н. Литвинову и Н.В. Лопатиной (ИСиЭЖ СО РАН), Н.Ю. Феоктистовой, А.В. Суорову и А.В. Гуреевой (ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова) и О.Г. Ильченко (Московский зоопарк) за возможность работы с живыми коллекциями и содействие в исследованиях. Авторы благодарны

рецензенту и научному редактору за тщательный анализ работы и замечания, которые позволили существенно улучшить статью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Благосклонов К.Н., 1974. Индивидуальность в обучении мухоловок-пеструшек // Экологические и эволюционные аспекты поведения животных. М.: Наука. С. 119–126.
- Васильева Н.Ю., Шекарова О.Н., Хрущова А.М., Роговин К.А., 2017. Выбор полового партнера самкой, конкуренция самцов и половые признаки. Экспериментальное исследование направленности механизмов полового отбора у хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli* Thomas 1905) // Журн. общ. биологии. Т. 78. № 2. С. 14–31.
- Громов В.С., 2008. Пространственно-этологическая структура популяций грызунов. М.: КМК. 584 с.
- Громов В.С., 2020. Эпигенетическое программирование фенотипических различий в поведении и эволюция социальности у грызунов // Успехи соврем. биологии. Т. 140. № 1. С. 58–72.
- Длусский Г.М., 1993. Муравьи (Hymenoptera, Formicidae) Фиджи, Тонга и Самоа и проблема формирования островных фаун // Зоол. журн. Т. 72. № 6. С. 52–65.
- Дьюсбери Д.М., 1981. Поведение животных: Сравнительные аспекты. М.: Мир. 480 с.
- Зорина З.А., 1998. Игры животных // Мир психологии. Т. 4. С. 95–117.
- Зорина З.А., 2017. “Разумная предусмотрительность” и другие особенности поведения врановых // Природа. № 4. С. 14–26.
- Зорина З.А., Полетаева И.И., Резникова Ж.И., 2013. Основы этологии и генетики поведения: учебник. 3-е изд., испр. и доп. М.: Изд-во МГУ. 384 с.
- Капитонов В.И., 1965. Плоскочерепная полевка на севере Казахского нагорья // Мат-лы науч. конф. по природной очаговости и профилактике чумы. Алма-Ата. 668 с.
- Котенкова Е.В., Мешкова Н.Н., Шутова М.И., 1989. О крысах и мышах. М.: Наука. 278 с.
- Ладыгина-Котс Н.Н., 1935. Дитя шимпанзе и дитя человека. М.: Изд. ГДМ. 122 с.
- Левенец Я.В., Пантелева С.Н., Резникова Ж.И., 2016. Экспериментальное исследование питания насекомыми у грызунов // Евразийский энтомолог. журн. Т. 15. № 6. С. 550–554.
- Левенец Я.В., Пантелева С.Н., Резникова Ж.И., Гуреева А.В., Феоктистова Н.Ю. и др., 2019. Экспериментальный сравнительный анализ охотничьего поведения четырех видов хомячков подсемейства Cricetinae // Зоол. журн. Т. 98. № 6. С. 673–683.
- Литвинов Н.И., 1982. Фауна островов Байкала (наземные позвоночные животные). Иркутск: ИГУ. 132 с.
- Литвинов Ю.Н., Абрамов С.А., Лопатина Н.В., Чертилина О.В., 2013. Сообщества грызунов горнотепных ландшафтов юга Сибири (фауно-экологический анализ) // Зоол. журн. Т. 92. № 1. С. 99–105.

- Пантелеева С.Н., Данзанов Ж.А., Резникова Ж.И., 2010. Оценка сложности поведенческих стереотипов у муравьев на примере анализа охотничьего поведения *Murmica rubra* (Hymenoptera, Formicidae) // Зоол. журн. Т. 89. № 12. С. 500–509.
- Пантелеева С.Н., Выгоняйлова О.Б., Резникова Ж.И., 2011. Рыжие лесные муравьи как потенциальная массовая добыча полевых мышей: результаты лабораторных экспериментов // Евразийский энтомолог. журн. Т. 10. № 1. С. 99–103.
- Пантелеева С.Н., Резникова Ж.И., Синькова О.Б., 2016. Пространственно-этологические аспекты взаимодействия мелких млекопитающих с рыжими лесными муравьями // Журн. общ. биологии. Т. 77. № 5. С. 329–341.
- Пантелеева С.Н., Левенец Я.В., Резникова Ж.И., 2019. Факультативное охотничье поведение грызунов как возможная эволюционно стабильная стратегия // Журн. общ. биологии. Т. 80. № 4. С. 286–296.
- Пантелеева С.Н., Левенец Я.В., Новиковская А.А., Резникова Ж.И., Лопатина Н.В. и др., 2020. Экспериментальное исследование охотничьего поведения скальных полевок *Altiticola strelzowi* и *Altiticola tuvinicus* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. Т. 99. № 1. С. 113–120.
- Потапов М.А., Задубровская И.В., Задубровский П.А., Потапова О.Ф., Евсиков В.И., 2012. Системы брачных отношений у степной пеструшки (*Lagurus lagurus*) и узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*) из Северной Кулунды // Экология. Т. 43. № 1. С. 43–47.
- Потапов М.А., Потапова О.Ф., Задубровская И.В., Задубровский П.А., Кокеннова Г.Т. и др., 2010. Половая привлекательность самцов и их агрессивность у грызунов с разными системами спаривания // Сиб. экол. журн. Т. 17. № 5. С. 813–818.
- Промптов А.Н., 1940. Видовой стереотип поведения и его формирование у диких птиц // ДАН СССР. Т. 27. № 2. С. 240–244.
- Резникова Ж.И., 2004. Сравнительный анализ различных форм социального обучения у животных // Журн. общ. биологии. Т. 65. № 2. С. 136–152.
- Резникова Ж.И., 2005. Интеллект и язык животных и человека. Основы когнитивной этологии: учебник для вузов. М.: ИКЦ “Академкнига”. 518 с.
- Резникова Ж.И., 2009. Социальное обучение у животных // Природа. Т. 5. С. 3–12.
- Резникова Ж.И., 2011. Когнитивное поведение животных и его развитие в онтогенезе // Теория развития. М.: Языки славянских культур. С. 279–315.
- Резникова Ж.И., 2015. Сравнительно-психологические аспекты онтогенетического развития поведения: экспериментальные исследования // Эксперим. психология. Т. 8. № 2. С. 77–104.
- Резникова Ж.И., 2019. Экология, этология, эволюция. Межвидовые отношения животных: учебник для вузов в 2 ч. М.: Изд-во Юрайт. 288 с.
- Резникова Ж.И., Пантелеева С.Н., 2001. Взаимодействие муравьев *Murmica rubra* и ногохвосток *Collembola* как охотников и массовой добычи // ДАН. Т. 380. № 4. С. 567–569.
- Резникова Ж.И., Пантелеева С.Н., 2003. Экспериментальное исследование этологических аспектов хищничества у муравьев // Успехи соврем. биологии. Т. 123. № 3. С. 234–242.
- Резникова Ж.И., Пантелеева С.Н., 2011. “Культура у животных”: факторы наследственности // Наука в России. № 6. С. 26–34.
- Резникова Ж.И., Пантелеева С.Н., 2015. Возможные эволюционные механизмы “культуры” у животных: гипотеза распределенного социального обучения // Журн. общ. биологии. Т. 76. № 4. С. 309–323.
- Резникова Ж.И., Пантелеева С.Н., Новиковская А.А., 2017. Фрагментарность поведенческих стереотипов как возможная основа распределенного социального обучения в популяциях и сообществах // Мат-лы III Междунар. конф. “Современные проблемы биологической эволюции”. М.: ГДМ. С. 57–60.
- Фабри К.Э., 1976. Основы зоопсихологии: учебное пособие для студентов ун-тов. М.: Изд-во МГУ. 288 с.
- Хайнд Р., 1975. Поведение животных. Синтез этологии и сравнительной психологии. М.: Мир. 855 с.
- Alcock J., 1979. The evolution of intraspecific diversity in male reproductive strategies in some bees and wasps // Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects. N.Y.: Academic Press. P. 381–402.
- Ambaryan A.V., Voznessenskaya V.V., Kotenkova E.V., 2019. Mating behavior differences in monogamous and polygamous sympatric closely related species *Mus musculus* and *Mus spicilegus* and their role in behavioral pre-copulatory isolation // Russ. J. Theriol. V. 18. № 2. P. 67–79.
- Beans C., 2017. News Feature: Can animal culture drive evolution? // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 114. № 30. P. 7734–7737.
- Bekoff M., 1976. Animal play: Problems and perspectives // Perspectives in Ethology. Boston: Springer. P. 165–188.
- Bekoff M., Byers J.A., 1998. Animal Play: Evolutionary, Comparative and Ecological Perspectives. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 292 p.
- Bell A.M., 2007. Future directions in behavioural syndromes research // Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci. V. 274. № 1611. P. 755–761.
- Berridge K.C., 1990. Comparative fine structure of action: Rules of form and sequence in the grooming patterns of six rodent species // Behaviour. V. 113. № 1–2. P. 21–56.
- Berridge K.C., Aldridge J.W., Houchard K.R., Zhuang X., 2005. Sequential super-stereotypy of an instinctive fixed action pattern in hyper-dopaminergic mutant mice: A model of obsessive compulsive disorder and Tourette’s // BMC Biology. V. 3. № 1. P. 4.
- Bishop S.L., Richler J., Lord C., 2006. Association between restricted and repetitive behaviors and nonverbal IQ in children with autism spectrum disorders // Child Neuropsychol. V. 12. № 4–5. P. 247–267.
- Bissett C., Bernard R.T.F., 2007. Habitat selection and feeding ecology of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) in thicket vegetation: Is the cheetah a savanna specialist? // J. Zool. V. 271. № 3. P. 310–317.

- Brecht M., Naumann R., Anjum F., Wolfe J., Munz M. et al., 2011. The neurobiology of Etruscan shrew active touch // Phil. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci. V. 366. № 1581. P. 3026–3036.
- Broom D.M., Johnson K.G., 1993. Stress and Animal Welfare. L.: Chapman & Hall. 993 p.
- Budaev S., Zworykin D., 2002. Individuality in fish behavior: Ecology and comparative psychology // J. Ichthyol. V. 42. P. S189–S195.
- Carleton M.D., Eshelman R.E., 1979. A synopsis of fossil grasshopper mice, genus *Onychomys* and their relationship to recent species / Papers on Paleontology № 21. Ann Arbor: Museum of Paleontology, Univ. Michigan. P. 45–47.
- Cartmill M., 1974. Rethinking primate origins // Science. V. 184. № 4135. P. 436–443.
- Casarrubea M., Sorbera F., Crescimanno G., 2008. Multivariate analysis of the modifications induced by an environmental acoustic cue on rat exploratory behavior // Physiol. Behav. V. 93. № 4. P. 687–696.
- Catania K.C., Henry E.C., 2006. Touching on somatosensory specializations in mammals // Curr. Opin. Neurobiol. V. 16. № 4. P. 467–473.
- Cavraro F., Torricelli P., Malavasi S., 2013. Quantitative ethogram of male reproductive behavior in the South European toothcarp *Aphanius fasciatus* // Biol. Bull. V. 225. № 2. P. 71–78.
- Chittka L., Skorupski P., Raine N.E., 2009. Speed-accuracy tradeoffs in animal decision making // Trends Ecol. Evol. V. 24. № 7. P. 400–407.
- Comoli E., Ribeiro-Barbosa E.R., Negrao N., Goto M., Canteras N.S., 2005. Functional mapping of the prosencephalic systems involved in organizing predatory behavior in rats // Neuroscience. V. 130. № 4. P. 1055–1067.
- Dilger W.C., 1962. The behavior of lovebirds // Sci. Am. V. 206. № 1. P. 88–99.
- Dinets V., 2015. Play behavior in crocodylians // Anim. Behav. Cogn. V. 2. № 1. P. 49–55.
- Dixon L.M., Duncan I.J.H., Mason G., 2008. What's in a peck? Using fixed action pattern morphology to identify the motivational basis of abnormal feather-pecking behaviour // Anim. Behav. V. 76. № 3. P. 1035–1042.
- Down J.L., 1887. Lettsomian lectures on some of the mental affections of childhood and youth // Br. Med. J. V. 1. № 1362. P. 256–259.
- Eaves L.J., Martin N.G., Heath A.C., Hewitt J.K., Neale M.C., 1990. Personality and reproductive fitness // Behav. Genet. V. 20. № 5. P. 563–568.
- Eilam D., Zor R., Szechtman H., Hermesh H., 2006. Rituals, stereotypy and compulsive behavior in animals and humans // Neurosci. Biobehav. Rev. V. 30. № 4. P. 456–471.
- Eisenberg J.F., Leyhausen P., 1972. The phylogenesis of predatory behavior in mammals // Z. Tierpsychol. V. 30. № 1. P. 59–93.
- Espejo E.F., Mir D., 1993. Structure of the rat's behaviour in the hot plate test // Behav. Brain Res. V. 56. № 2. P. 171–176.
- Felt S.A., Hussein H.I., Helmy I.H.M., 2008. Biology, breeding, husbandry and diseases of the captive Egyptian fat-tailed jird (*Pachyuromys duprasi natronensis*) // Lab Animal. V. 37. P. 256–261.
- Fox M.W., 1975. Behavior genetics of F1 and F2 coyote-dog hybrids // Appl. Anim. Ethol. V. 1. № 2. P. 185–195.
- Francis D.D., Szegda K., Campbell G., Martin W.D., Insel T., 2003. Epigenetic sources of behavioral differences in mice // Nat. Neurosci. V. 6. № 5. P. 445–446.
- Frank H., Frank M.G., 1982. On the effects of domestication on canine social development and behavior // Appl. Anim. Ethol. V. 8. № 6. P. 507–525.
- Frisch K., 1923. Über die Sprache der Bienen // Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. Physiol. Tiere. V. 40. P. 1–186.
- Frisch K., 1947. The dances of the honey bee // Bull. Anim. Behav. V. 5. № 1. P. 1–32.
- Galef B.G., Jr., 1998. Recent progress in studies of imitation and social learning in animals // Adv. Psychol. Sci. V. 2. P. 275–300.
- Garner J.P., 2005. Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes // ILAR J. V. 46. № 2. P. 106–117.
- Golani I., Fentress J.C., 1985. Early ontogeny of face grooming in mice // Dev. Psychobiol. V. 18. № 6. P. 529–544.
- Gromov V.S., 2020. Paternal care in rodents: Ultimate causation and proximate mechanisms // Russ. J. Theriol. V. 19. № 1. P. 1–20.
- Guerra N.B., Amici F., 2018. Introduction. The concept of Umwelt in experimental animal cognition // Field and Laboratory Methods in Animal Cognition: A Comparative Guide. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P. 1–7.
- Han W., Tellez L.A., Rangel M.J., Jr., Motta S.C., Zhang X., et al., 2017. Integrated control of predatory hunting by the central nucleus of the amygdala // Cell. V. 168. № 1–2. P. 311–324.
- Handley S.L., Singh L., 1986. Neurotransmitters and shaking behavior – more than a 'gut-bath' for the brain? // Trends Pharmacol. Sci. V. 7. P. 324–328.
- Haug M., Johnson F., 1991. Environmental and biological incidences over predatory aggression in rodents // Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol. V. 99. № 3. P. 285–293.
- Heinroth O., 1911. Beiträge zur Biologie: Namentlich Ethologie und Psychologie der Anatiden. Berlin: Verhandlungen des V. Internationalen Ornithologen Kongresses. P. 589–702.
- Henry J.D., Herrero S.M., 1974. Social play in the American black bear: Its similarity to canid social play and an examination of its identifying characteristics // Am. Zool. V. 14. № 1. P. 371–389.
- Hoath R., 2009. A Field Guide to the Mammals of Egypt. N.Y.: Amer. Univ. in Cairo Press. 320 p.
- Hoy J.L., Yavorska I., Wehr M., Niell C.M., 2016. Vision drives accurate approach behavior during prey capture in laboratory mice // Curr. Biol. V. 26. № 22. P. 3046–3052.
- Ivanco T.L., Pellis S.M., Whishaw I.Q., 1996. Skilled forelimb movements in prey catching and in reaching by rats (*Rattus norvegicus*) and opossums (*Monodelphis domestica*): Relations to anatomical differences in motor systems // Behav. Brain Res. V. 79. № 1–2. P. 163–181.

- Ivy A.S., Brunson K.L., Sandman C., Baram T.Z., 2008. Dysfunctional nurturing behavior in rat dams with limited access to nesting material: A clinically relevant model for early-life stress // *Neuroscience*. V. 154. № 3. P. 1132–1142.
- Kalujeff A.V., Aldridge J.W., LaPorte J.L., Murphy D.L., Tuohimaa P., 2007. Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments // *Nat. Protoc.* V. 2. № 10. P. 2538–2544.
- Kanarek R.B., Ogilby J.D., Mayer J., 1977. Effects of dietary caloric density on feeding behavior in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) // *Physiol. Behav.* V. 19. № 4. P. 497–501.
- Karl J.M., Whishaw I.Q., 2013. Different evolutionary origins for the reach and the grasp: An explanation for dual visuomotor channels in primate parietofrontal cortex // *Front. Neurol.* V. 4. P. 208.
- Kielan-Jaworowska Z., 2004 *Mammals from the Age of Dinosaurs: Origins, Evolution, and Structure*. N.Y.: Columbia Univ. Press. 569 p.
- Klinger E., 1969. Development of imaginative behavior: Implications of play for a theory of fantasy // *Psychol. Bull.* V. 72. № 4. P. 277–298.
- Konczal M., Koteja P., Orłowska-Feuer P., Radwan J., Sadowska E.T. et al., 2016. Genomic response to selection for predatory behavior in a mammalian model of adaptive radiation // *Mol. Biol. Evol.* V. 33. № 9. P. 2429–2440.
- Kotenkova E., Meshkova N., Zagoruiko N., 1994. *Exploratory behaviour* in synanthropic and outdoor mice of superspecies complex *Mus musculus* // *Pol. Ecol. Stud.* V. 20. P. 375–381.
- Kreiter N., Timberlake W., 1988. Form and development of predation on crickets in adults of *Peromyscus maniculatus bairdi* and *P. leucopus noveboracensis* // *J. Comp. Psychol.* V. 102. № 3. P. 269–278.
- Kuba M.J., Byrne R.A., Meisel D.V., Mather J.A., 2006. When do octopuses play? Effects of repeated testing, object type, age, and food deprivation on object play in *Octopus vulgaris* // *J. Comp. Psychol.* V. 120. № 3. P. 184–190.
- Kuba M., Meisel D.V., Byrne R.A., Griebel U., Mather J.A., 2003. Looking at play in *Octopus vulgaris* // *Berliner Paläontol. Abh.* V. 3. P. 163–169.
- Lancy D.F., 1980. Play in species adaptation // *Annu. Rev. Anthropol.* V. 9. № 1. P. 471–495.
- Landry S.O., 1970. The Rodentia as omnivores // *Q. Rev. Biol.* V. 45. P. 351–372.
- Langley W.M., 1986. Development of predatory behavioral in the southern grasshopper mouse (*Onychomys torridus*) // *Behaviour*. V. 99. P. 275–295.
- Langley W.M., 1987. Specializations in the predatory behavior of grasshopper mice (*Onychomys leucogaster* and *O. torridus*): A comparison with the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) // *J. Comp. Physiol. Psychol.* V. 101. P. 322–327.
- Langley W.M., 1994. Comparison of predatory behaviors of deer mice (*Peromyscus maniculatus*) and grasshopper mice (*Onychomys leucogaster*) // *J. Comp. Psychol.* V. 108. № 4. P. 394–400.
- Levenets J., Novikovskaya A., Panteleeva S., Reznikova Z., Ryabko B., 2020. Using data-compressors for classification hunting behavioral sequences in rodents as “ethological texts” // *Mathematics*. V. 8. № 4. P. 579.
- Lorenz K., 1935. Der Kumpfen in der Umwelt des Vogels. Der Artgenosse als auslösendes Moment sozialer Verhaltensweisen // *J. Ornithol.* V. 83. P. 137–213.
- Lorenz K., 1937. On the formation of the concept of instinct // *Nat. Sci.* V. 25. № 19. P. 289–300.
- Lorenz K., 1950. The comparative method in studying innate behaviour patterns // *Symp. Soc. Exp. Biol.* V. 4. P. 221–268.
- Lorenz K., 1952. The past twelve years in the comparative study of behavior // *Instinctive Behavior. The Development of a Modern Concept*. N.Y.: Int. Univ. Press. P. 288–310.
- Lorenz K., Tinbergen N., 1938. Taxis und Instinkthandlung in der Eirollbewegung der Graugans // *Z. Tierpsychol.* V. 2. P. 1–29.
- Lotem A., Halpern J.Y., Edelman S., Kolodny O., 2017. The evolution of cognitive mechanisms in response to cultural innovations // *Proc. Natl. Acad. Sci.* V. 114. № 30. P. 7915–7922.
- MacDonald K.B., Ginsburg B.E., 1981. Induction of normal prepubertal behavior in wolves with restricted rearing // *Behav. Neural Biol.* V. 33. № 2. P. 133–162.
- Maiti U., Sadowska E.T., Chrzęścik K.M., Koteja P., 2019. Experimental evolution of personality traits: Open-field exploration in bank voles from a multidirectional selection experiment // *Curr. Zool.* V. 65. № 4. P. 375–384.
- Manning A., 2005. Four decades on from the ‘four questions’ // *Anim. Biol.* V. 55. № 4. P. 287–296.
- Mason G.J., 1991. Stereotypies: A critical review // *Anim. Behav.* V. 41. P. 1015–1037.
- Maynard Smith J., Price G.R., 1973. The logic of animal conflict // *Nature*. V. 246. № 5427. P. 15–18.
- McCarty R., 1978. *Onychomys leucogaster* // *Mamm. Species*. V. 87. P. 1–6.
- Modlińska K., Pisula W., 2020. The Norway rat, from an obnoxious pest to a laboratory pet // *eLife*. V. 9. P. e50651.
- Molet J., Heins K., Zhuo X., Mei Y.T., Regev L. et al., 2016. Fragmentation and high entropy of neonatal experience predict adolescent emotional outcome // *Transl. Psychiatry*. V. 6. № 1. P. e702.
- Moon-Fanelli A., 2011. The ontogeny of expression of communicative genes in Coyote–Beagle hybrids // *Behav. Genet.* V. 41. № 6. P. 858.
- Nagano A., Aoyama K., 2017. Tool manipulation by rats (*Rattus norvegicus*) according to the position of food // *Sci. Rep.* V. 7. № 1. P. 1–11.
- Nunes S., Muecke E.M., Sanchez Z., Hoffmeier R.R., Lancaster L.T., 2004. Play behavior and motor development in juvenile Belding’s ground squirrels (*Spermophilus beldingi*) // *Behav. Ecol. Sociobiol.* V. 56. № 2. P. 97–105.
- Obozova T.A., Smirnova A.A., Zorina Z.A., 2011. Observational learning in a Glaucous-winged Gull natural colony // *Int. J. Comp. Psychol.* V. 24. № 2. P. 226–234.
- Osborn D.J., Helmy I., 1980. *The Contemporary Land Mammals of Egypt (Including Sinai)*. Chicago: Field Mus. Nat. Hist. 579 p.

- Pan Y., Baker B.S., 2014. Genetic identification and separation of innate and experience-dependent courtship behaviors in *Drosophila* // Cell. V. 156. № 1–2. P. 236–248.
- Panteleeva S., Reznikova Z., Vygoniyailova O., 2013. Quantity judgments in the context of risk/reward decision making in striped field mice: First “count”, then hunt // Front. Psychol. V. 4. P. 53.
- Patricelli G.L., 2010. Robotics in the study of animal behavior // Encyclopedia of Animal Behavior. L.: Elsevier Science & Technology, Academic Press Inc. P. 91–99.
- Paulos R.D., Trone M., Kuczaj I.I., Stan A., 2010. Play in wild and captive cetaceans // Int. J. Comp. Psychol. V. 23. № 4. P. 701–722.
- Polsky R.H., 1977. The ontogeny of predatory behaviour in the golden hamster (*Mesocricetus a. auratus*): I. The influence of age and experience // Behaviour. V. 61. P. 26–57.
- Poole T.B., Fish J., 1976. An investigation of individual, age and sexual differences in the play of *Rattus norvegicus* (Mammalia: Rodentia) // J. Zool. V. 179. № 2. P. 249–259.
- Rabi C., Zadicario P., Mazon Y., Wagner N., Eilam D., 2017. The response of social and non-social rodents to owl attack // Behav. Ecol. Sociobiol. V. 71. № 9. P. 131.
- Randall J.A., Rogovin K., Parker P.G., Eimes J.A., 2005. Flexible social structure of a desert rodent, *Rhombomys opimus*: Philopatry, kinship, and ecological constraints // Behav. Ecol. V. 16. № 6. C. 961–973.
- Reznikova Z., 2007. Animal Intelligence: From Individual to Social Cognition. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 488 p.
- Reznikova Z., 2018. Ants – individual and social cognition // Field and Laboratory Methods in Animal Cognition. A Comparative Guide. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P. 8–30.
- Reznikova Z., Panteleeva S., 2008. An ant’s eye view of culture: Propagation of new traditions through triggering dormant behavioural patterns // Acta Ethol. V. 11. № 2. P. 73–80.
- Reznikova Z., Panteleeva S., Danzanov Z., 2012. A new method for evaluating the complexity of animal behavioural patterns based on the notion of Kolmogorov complexity, with ants’ hunting behavior as an example // Neurocomputing. V. 84. P. 58–64.
- Reznikova Z., Panteleeva S., Vorobyeva N., 2019. Precise relative-quantity judgement in the striped field mouse *Apodemus agrarius* Pallas // Anim. Cogn. V. 22. № 2. P. 277–289.
- Reznikova Z., Levenets J., Panteleeva S., Ryabko B., 2017. Studying hunting behaviour in the striped field mouse using data compression // Acta Ethol. V. 20. № 2. P. 165–173.
- Reznikova Z., Levenets J., Panteleeva S., Novikovskaya A., Ryabko B. et al., 2019. Using the data-compression method for studying hunting behavior in small mammals // Entropy. V. 21. № 4. P. 368.
- Riddle B.R., 1995. Molecular biogeography in the pocket mice (*Perognathus* and *Chaetodipus*) and grasshopper mice (*Onychomys*): The late cenozoic development of a North American aridlands rodent guild // J. Mammal. V. 76. № 2. P. 283–301.
- Rook N., Letzner S., Packheiser J., Güntürkün O., Beste C., 2020. Immediate early gene fingerprints of multi-component behaviour // Sci. Rep. V. 10. № 1. P. 1–13.
- Rowe A.H., Rowe M.P., 2006. Risk assessment by grasshopper mice (*Onychomys* spp.) feeding on neurotoxic prey (*Centruroides* spp.) // Anim. Behav. V. 71. № 3. P. 725–734.
- Ryabko B., Reznikova Z., Druzyaka A., Panteleeva S., 2013. Using ideas of Kolmogorov complexity for studying biological texts // Theory Comput. Syst. V. 52. № 1. P. 133–147.
- Ryabko D., Reznikova Z., 2015. On the evolutionary origins of differences in sexual preferences // Front. Psychol. V. 6. P. 628.
- Ryan B.C., Young N.B., Crawley J.N., Bodfish J.W., Moy S.S., 2010. Social deficits, stereotypy and early emergence of repetitive behavior in the C58/J inbred mouse strain // Behav. Brain Res. V. 208. № 1. P. 178–188.
- Santangelo A., Bortolato M., Mosher L.J., Crescimanno G., Giovanni G., di, et al., 2018. Behavioral fragmentation in the D1CT-7 mouse model of Tourette’s syndrome // CNS Neurosci. Ther. V. 24. № 8. P. 703–711.
- Santos L.M., dos, Boschen S.L., Bortolanza M., Oliveira W.F., de, Furigo I.C. et al., 2012. The role of the ventrolateral caudoputamen in predatory hunting // Physiol. Behav. V. 105. № 3. P. 893–898.
- Sarko D.K., Leitch D.B., Girard I., Sikes R.S., Catania K.C., 2011. Organization of somatosensory cortex in the Northern grasshopper mouse (*Onychomys leucogaster*), a predatory rodent // J. Comp. Neurol. V. 519. № 1. P. 64–74.
- Schuster A.C., Zimmermann U., Hauer C., Foerster K., 2017. A behavioural syndrome, but less evidence for a relationship with cognitive traits in a spatial orientation context // Front. Zool. V. 14. № 19. P. 1–14.
- Sih A., Del Giudice M., 2012. Linking behavioural syndromes and cognition: A behavioural ecology perspective // Phil. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci. V. 367. № 1603. P. 2762–2772.
- Sih A., Bell A.M., Johnson J.C., Ziemba R.E., 2004. Behavioral syndromes: An integrative overview // Q. Rev. Biol. V. 79. № 3. P. 241–277.
- Smith P.K., 1982. Does play matter? Functional and evolutionary aspects of animal and human play // Behav. Brain Sci. V. 5. № 1. P. 139–155.
- Snipes R.L., 1982. Anatomy of the cecum of the gerbil *Meriones unguiculatus* (Mammalia, Rodentia, Cricetidae) // Zoomorphology. V. 100. № 3. P. 189–202.
- Spinka M., Newberry R.C., Bekoff M., 2001. Mammalian play: Training for the unexpected // Q. Rev. Biol. V. 76. № 2. P. 141–168.
- Stratton G.E., Uetz G.W., 1986. The inheritance of courtship behavior and its role as a reproductive isolating mechanism in two species of *Schizocosa* wolf spiders (Araneae: Lycosidae) // Evolution. V. 40. № 1. P. 129–141.
- Szechtman H., Ahmari S.E., Beninger R.J., Eilam D., Harvey B.H. et al., 2017. Obsessive-compulsive disorder: Insights from animal models // Neurosci. Biobehav. Rev. V. 76. P. 254–279.
- Tchabovsky A.V., Savinetskaya L.E., Ovchinnikova N.L., Safoanova A., Ilchenko O.N. et al., 2019. Sociability and

- pair-bonding in gerbils: A comparative experimental study // *Curr. Zool.* V. 65. № 4. P. 363–373.
- Timberlake W., Washburne D.L.*, 1989. Feeding ecology and laboratory predatory behavior toward live and artificial moving prey in seven rodent species // *Anim. Learn. Behav.* V. 17. № 1. P. 2–11.
- Tinbergen N.*, 1942. An objectivistic study of the innate behavior of animals // *Bibliotheca Biotheoretica.* V. 1. P. 37–98.
- Tinbergen N.*, 1951. *The Study of Instinct.* L.: Oxford Univ. Press. 228 p.
- Vanderschuren L.J.M.J., Trezza V.*, 2013. What the laboratory rat has taught us about social play behavior: Role in behavioral development and neural mechanisms // *The Neurobiology of Childhood.* Berlin: Springer. P. 189–212.
- Vermeij G.J.*, 1982. Unsuccessful predation and evolution // *Am. Nat.* V. 120. № 6. P. 701–720.
- Whishaw I.Q., Sarna J.R., Pellis S.M.*, 1998. Evidence for rodent-common and species-typical limb and digit use in eating, derived from a comparative analysis of ten rodent species // *Behav. Brain Res.* V. 96. № 1–2. P. 79–91.
- Whishaw I.Q., Faraji J., Kuntz J.R., Agha B.M., Metz G.A.*, 2017. The syntactic organization of pasta-eating and the structure of reach movements in the head-fixed mouse // *Sci. Rep.* V. 7. № 1. P. 1–14.

The evolution of behavioral stereotypes and ideas about them

Zh. I. Reznikova^{a, b, *}, S. N. Panteleeva^{a, b}, A. A. Novikovskaya^a, J. V. Levenets^a

^a*Institute of Animal Systematics and Ecology, Siberian Branch of RAS
Frunze, 11, Novosibirsk, 630091 Russia*

^b*Novosibirsk State University
Pirogova, 1, Novosibirsk, 630090 Russia*

*e-mail: zhanna@reznikova.net

The development of cognitive ethology and new experimental methods of studying animal intelligence has led to an underestimation of the role of innate stereotypes in the behavioral repertoire. Researchers tend to see cognitive phenomena in animal actions, such as the formation of cultural traditions in communities. On the example of ants and rodents, using an experimental model of interaction with prey, we identified relatively flexible fragments of innate stereotypes prone to recombination or loss. We suggest that the variability of individual fragments of stereotypes underlies the formation of species-specific hunting behavior. The combination of innate fragmentation of behavioral stereotypes and simple forms of social learning may lead to certain behavioral traditions within communities and populations. The review presents the results of the research team's studies and considers the prospects of the proposed direction of investigations, based on a detailed analysis of behavioral stereotypes.

УДК 561.31

НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПАЛЕОПАЛИНОЛОГИИ

© 2021 г. О. П. Тельнова^{1,2,*}, А. М. Кульков^{3,**}, Д. Е. А. Маршалл^{4,***}

¹ФИЦ Институт геологии Коми НЦ УрО РАН
Первомайская ул., 54, Сыктывкар, 167928 Россия

²Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина
Октябрьский пр., 55, Сыктывкар, 167928 Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет
Ульяновская ул., 1, Санкт-Петербург, 198504 Россия

⁴Школа изучения Океана и Земли, Саутгемптонский университет,
Национальный океанографический центр
Саутгемптон, SO14 3ZH, Великобритания

*E-mail: telnova@geo.komisc.ru

**E-mail: aguacrystals@yandex.ru

***E-mail: jeam@noc.soton.ac.uk

Поступила в редакцию 23.04.2018 г.

После доработки 23.07.2020 г.

Принята к публикации 16.10.2020 г.

Выявление таксономических признаков спор в различных филогенетических линиях палеозойских растений добавляет необходимую информацию в реконструкциях древних растительных сообществ Земли и должно учитываться в других палеорекострукциях (климатических, географических и др.). Особое значение в этом контексте приобретает внедрение в палеопалинологические работы современного инструментария и разработка новых методик исследований. В дополнение к традиционным методам световой, электронной сканирующей и трансмиссионной микроскопии сегодня для изучения палеопалинологических объектов могут быть использованы томографы, атомно-силовой микроскоп, а также дополненные новыми функциональными возможностями сканирующие электронные микроскопы (СЭМ). Развивается метод хемосистематики, основанный на биохимических характеристиках эволюционного развития организмов. Метод реализуется путем синтеза результатов комплекса химических и физических методик исследований.

DOI: 10.31857/S0044459621010085

Для реконструкции филогенетических отношений в растительном мире и выявления направлений их эволюции важным является изучение ультраструктуры спородермы современных и ископаемых растений. Спородерма — оболочка пыльцевых зерен и спор — состоит из двух слоев: внешнего (экзины) и внутреннего (интины). У некоторых растений, например мхов, хвощей, папоротников, образуется еще один, самый наружный слой — перина, или периспорий. У семенных растений это поленкит (пыльцевой клей) и трифина. Установлено, что состав, строение и происхождение этих слоев различны. В ископаемых спородермах сохраняются только споропол-ленит-содержащие слои (экзина и перина). Спородерма несет в себе таксономические признаки не только видов и родов, но и таксонов более высокого ранга. Изучение ультратонкого строения спор *in situ* в различных филогенетических линиях палеозойских растений и сравнение с дисперс-

ными спорами дают необходимую информацию в реконструкциях растительных сообществ прошлого Земли и применяется в других палеорекострукциях (климатических, фациальных, географических и др.).

Длительное время в арсенале палинологов было три метода микроскопии: световой (СМ), электронный сканирующий (СЭМ) и трансмиссионный (ТЭМ). Для палиностратиграфических работ (биостратиграфический метод в геологии, позволяющий определять относительный возраст горных пород) достаточно определения таксономической принадлежности дисперсных спор в СМ. Однако палиностратиграфическим назначением возможности СМ не ограничиваются. Еще в прошлом веке П.А. Никитин (1934) и Аллен (Allen, 1965) продемонстрировали верх технического мастерства и возможностей СМ — они приготовили (без ультрамикротомы) тонкие срезы некоторых девонских спор и сфотографировали их. Увеличе-

ние и, соответственно, разрешение деталей у световой микроскопии значительно ниже, чем при электронной микроскопии, но результаты даже стандартных светооптических исследований могут быть использованы при интерпретации различий в толщине экзины (в ископаемом состоянии чаще всего сохраняется только экзина), количества слоев в ней.

С помощью СЭМ проводятся более детальные морфологические исследования с целью описания новых таксонов или при уточнении диагноза уже известных. Для изучения внутреннего строения спородермы с помощью СЭМ применяются методы сколов спородермы, химического и ионного травления. Первый метод имеет много ограничений: он подходит только для крупных палинологических объектов, таких как мегаспоры, одноклеточные водоросли, некоторые акритархи; скол нельзя сориентировать в необходимом направлении; нельзя выполнить точные измерения толщины спородермы и отдельных ее слоев; разрешающая способность СЭМ меньше ТЭМ; и метод является разрушающим.

В методе химического травления используется прожигающий эффект ряда химических реагентов, например, калиевой соли марганцовой кислоты (перманганат калия). Экзина, на которую воздействовали перманганатом калия, послойно изучалась в СЭМ (Claugher, 1986). Известно, что экзина в основном состоит из спорополленина (высокомолекулярный биополимер, придающий ей прочность и химическую устойчивость). Характер отложения спорополленина определяется фибриллярным матриксом, состоящим из углеводов и белков, который формируется на поверхности гликокаликса (клеточный покров) (Rowley, 1973; Steer, 1977). Многочисленные работы (Rowley et al., 1981; Southworth, 1985, и др.) показывают, что разные части экзины (экзина состоит из двух основных слоев: внешнего и внутреннего — соответственно экт- и эндэзины) могут быть частично растворены под воздействием различных химических веществ: моноэтаноламин, хромовая кислота (полностью растворяет эктэксину, сохраняя эндэксину). В этих исследованиях была использована ТЭМ, которая подтвердила результаты химического травления, наблюдаемые с помощью СЭМ, и была предложена модель субструктуры экзины.

Метод ионного травления обладает рядом достоинств, отсутствующих у химического травления: выбирается необходимый участок поверхности объекта и ионным лучом постепенно, послойно протравливаются срезы, которые затем изучаются с помощью СЭМ. Если минимальная толщина среза, выполненного на ультрамикротоме, соответствует 20 нм, то в случае травления срезы могут быть еще тоньше. Серийные срезы с минималь-

ным шагом используются для трехмерных реконструкций. Однако метод, как и два предыдущих, является разрушающим (Villanueva-Amadoz et al., 2012; Kudryavtsev et al., 2019).

СЭМ в комплексе с энергодисперсионным детектором EDS и ориентационным детектором дифракции обратнорассеянных электронов EBSD позволяет проводить параллельно с изучением скульптуры и структуры анализ элементного состава и состояния вещества спородермы. Этот метод успешно применен для реконструкции условий фоссилизации раннекаменноугольных семян (формация Pease Bay, Шотландия). Установлено, что оболочки семян состоят преимущественно из углерода с многочисленными химическими включениями. Расшифровка дифракционных картин обратнорассеянных электронов, полученных с этих включений, показала, что обнаруженные частицы с содержанием Fe-S представляют собой фазу кубического пирита. Сделан вывод о том, что фоссилизация семян происходила в морских эвксинных обстановках (сероводородные обстановки являются вариантом аноксидных), в условиях, наиболее благоприятных для образования пирита и консервации растительных фрагментов (Тельнова и др., 2019, 2020).

Впервые с применением трансмиссионного электронного микроскопа девонские споры были изучены Петтитом (Pettitt, 1966). Он проиллюстрировал срезы мега- и микроспор археоптерисовых (род девонских древовидных растений с папоротниковидными листьями). У мега- и микроспор археоптерисовых выявлено двухслойное строение спородермы, эти слои не отделяются друг от друга, но различна их ультраструктура. В настоящее время ТЭМ нашел наиболее широкое применение при изучении рецентных и субрецентных спор. Известно небольшое количество работ по исследованиям ультраструктуры спородермы палеозойских спор *in situ* (репродуктивные органы палеозойских растений встречаются крайне редко) и еще меньше — дисперсных. Это объясняется сложной и длительной техникой извлечения из горной породы и подготовкой к ультрамикротомированию палеозойских спор (Тельнова, 2007). Кроме того, в процессе резки спор на ультрамикротоме теряется уникальный материал, часто невосполнимый. Поэтому продолжается поиск менее деструктивных методов изучения внутреннего строения фоссильной спородермы.

Из современного инструментария заслуживает внимание конфокальный лазерный сканирующий микроскоп (КЛСМ), имеющий более высокую разрешающую способность по сравнению со световым микроскопом и возможность получать серии виртуальных срезов, представляющих пространственное строение объекта. КЛСМ применяются для работы с современными объектами (в

биологии, медицине и др.). Этот метод опробован и для изучения ископаемой спородермы. Существенным недостатком КЛСМ является более низкая разрешающая способность по сравнению с электронной микроскопией (СЭМ и ТЭМ). При изучении поверхности объектов скульптурные элементы мельче 0.3 мкм искажаются, а на виртуальных срезах неразличимы детали ультраструктуры (Гаврилова и др., 2015). Модуль конфокального микроскопа Airyscan и метод SR-SIM (микроскопия структурированного освещения сверхвысокого разрешения) позволили для ископаемых объектов, которые дают более слабую эмиссию, чем современные (фоссильная спородерма слабо прокрашивается флуоресцентными красителями), получить относительно четкие изображения (Sivaguru et al., 2016). Однако и с их применением не достигается разрешение электронных микроскопов (СЭМ, ТЭМ).

Исследования на уровне наноструктур в медицине, биологии, физике, химии формируют основу для инновационных производств и уникальных технологий. В настоящее время в практику палинологических работ также начали проникать различные томографы.

В обсуждениях ультраструктуры пермских мегаспор (Glasspool et al., 2009) приводится изображение, сделанное с помощью синхротронной рентгеновской томографии (Synchrotron Radiation X-ray Tomographic Microscopy — SRXTM). Этот же инструмент был использован при изучении и других пермских микроспор — орнаментации микроспор и внутренней структуры мегаспор (Slater et al., 2011). В процессе исследования соцветия из меловых отложений Франции в синхротронном рентгеновском томографе впервые была достигнута разрешающая способность 50 нм (Moreau et al., 2014). Определены размеры, количество борозд, сетчатая поверхность экзины, ее толщина и структура.

Первые результаты, полученные нами при изучения девонских спор (размеры спор 60–80 мкм в диаметре) в рентгеновском микротомографе (SkyScan-1172), оказались неудовлетворительными. Однако на этом же микротомографе у более крупных объектов (130–140 мкм) — одноклеточных зеленых водорослей из докембрийских отложений — удалось выяснить не только внешнюю форму, но и строение стенок исследованных форм (Розанов, Астафьева, 2008).

Нанотомографическое изучение девонской спородермы проводится впервые. На протяжении последних четырех лет основной акцент сделан на усовершенствовании методики исследований. Причем в исследованиях использован один и тот же объект (*Kryshstofovichia africana* Nikitin) с целью накопления положительных эффектов от использования различных режимов, фильтров,

расположения объекта и др. В работе приводятся значения режимов и параметров, показавшие наилучшие результаты при визуализации объекта исследований.

МАТЕРИАЛ, ТЕРМИНОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработка методики томографического изучения ископаемой спородермы проводилась на девонских мегаспорах *Kryshstofovichia africana* Nikitin из коллекции российского палеоботаника П.А. Никитина (1934). Материал хранится в музее Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН). В исследованиях использован типовой материал — образец Н3326 (20 экземпляров). Местонахождение образца: Воронежская обл., окрестности с. Петино, на правом берегу р. Дон, черная глина под конгломератом. Образец стратиграфически приурочен к континентальным осадкам петинского горизонта позднего девона. Препараты и фотодокументация хранятся в лаборатории стратиграфии Института геологии Коми НЦ УрО РАН.

При описании использовалась терминология П.А. Никитина (1934) и Н.Р. Мейер-Меликян (1987) без критического анализа, поскольку этим обширным и дискуссионным вопросам необходимо посвятить отдельную статью. Значение некоторых палеопалинологических терминов объясняется при их первом упоминании.

Из-за наличия у *K. africana* мега- и микроспор и отсутствия семян это растение относят к Pteridophyta. Однако мегаспоры этого растения обладают уникальным образованием — андротекой, или андрокамерой — камерой для помещения микроспор (по: Никитин, 1934), не известной у других девонских растений. Сходным по названию образованием, пыльцевой камерой, снабжены семена некоторых древних голосеменных (Cusadaceae и др.). П.А. Никитин (1934) рассматривал этот факт как конвергентное развитие одинаковых приспособлений у негомологичных органов, а не как указание на родственные связи.

Объект исследований является уникальным и важным для филогенетических и эволюционных реконструкций (Chaloner, 1959; McGregor, 1969; Lu, 1980; Taylor et al., 1980; Тельнова, Мейер-Меликян, 1993, и др.). Спустя более 80 лет с момента публикации статьи П.А. Никитина (1934) проведено изучение морфологии и ультраструктуры мегаспор *K. africana* с использованием современного арсенала палинологического инструментария (Tel'nova, Marshall, 2018; Тельнова и др., 2018).

С целью анализа и интерпретации полученных результатов в нанотомографе объект предварительно был исследован с помощью СМ, СЭМ и ТЭМ. Методика изучения одной и той же споры с

использованием трех типов микроскопов была описана ранее (Тельнова, Мейер-Меликян, 1993; Тельнова, 2007). Споры исследовались на биологическом микроскопе “Биолам И” в проходящем свете с увеличением $\times 400$ и фотографировались на том же микроскопе с бинокулярной насадкой МФН-11 цифровым фотоаппаратом “Canon EOS 1000D”.

Микроскульптура изучалась и фотографировалась в сканирующем электронном микроскопе TESCAN VEGA 3 (ускоряющее напряжение подбиралось в пределах 3.0–20.0 кВ в зависимости от объекта (мега- и микроспоры) и целей исследований). Работы по изучению спор с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии проводились в Институте геологии Коми НЦ УрО РАН.

В нашей работе для ТЭМ была сделана серия ультратонких срезов, охвативших все части исследованной формы. С помощью ультратома Leica EM UC5 получали срезы толщиной 50 нм и фотографировали, используя трансмиссионный электронный микроскоп JEM-1011 (Япония) (ускоряющее напряжение 80 кВ) в лаборатории электронной микроскопии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Для томографического исследования образца использовался лабораторный рентгеновский нанотомограф Skyscan-2011 с LaB6 катодом (СПбГУ РЦ “Рентгенодифракционные методы исследования”). Для небольших объектов с низкой рентгеновской контрастностью выбирались стандартные режимы съемки: напряжение на источнике – 40 кВ, ток – 0.4 А, угол вращения – 0.30° , усреднение по 5 снимкам, размер пикселя – 0.35–0.5 мкм. Оптимальное положение образца при съемке такое, при котором рентгеновский пучок параллелен, а ось вращения образца перпендикулярна наиболее изометричному сечению. Данные параметры применялись для всех исследованных на томографе мегаспор. Первичный отбор образцов проводили при помощи бинокулярного микроскопа Leica M165C.

Результатом сканирования на рентгеновском томографе является цифровая 3D-модель исследуемого образца. Процесс получения трехмерных цифровых моделей можно разделить на три этапа:

1) Сканирование образца при помощи рентгеновского томографа. В процессе сканирования образец поворачивается в расходящемся рентгеновском пучке на определенный угол (обычно 0.1 – 0.5°), для каждого положения получают изображение распределения рентгеновской плотности внутри образца. Для компенсации колебаний уровня фона для каждого положения обычно делают 3–5 снимков (усреднение по 3–5 снимкам). Образец поворачивается на 180° или 360° . Следует

учитывать, что в рентгеновских томографах изображение формируется на рентген-люминесцентных экранах, после чего фиксируется цифровой оптической камерой. Таким образом, области образца с большей плотностью (с большим поглощением рентгеновского излучения) оказываются на темных изображениях темными. Результатом сканирования является набор темных изображений образца, количество изображений зависит от угла поворота (шага сканирования) и количества снимков в каждом положении.

2) После сканирования образца на основе полученных изображений необходимо создать его цифровую модель или, иначе, провести реконструкцию распределения плотности. При этом каждому значению плотности присваивается значение от 0 (для воздуха) до 255 (наиболее высокого значения плотности) и строится цифровая модель в 3D-координатах.

3) На третьем этапе проводится визуализация 3D-модели, изучение ее внутреннего строения и построение виртуальных срезов в необходимых плоскостях.

При работе на томографах Skyscan (Bruker microCT) для реконструкции была использована программа NRecon, а визуализация модели проводилась в программах CTVox и STAn. Более подробно с математическим обоснованием метода рентгеновской томографии можно ознакомиться в работе Е.Н. Симонова (2011).

Изображения четырех мегаспор, представленные в данной работе, были получены в программе CTVox. Данная программа позволяет выделить области с той или иной плотностью, убрать фон, присвоить каждому значению плотности свой цвет, получить необходимые срезы, а также создать необходимый видеофайл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ранее (Tel'nova, Marshall, 2018) были детально описаны морфология и ультраструктура мегаспор *K. africana*. Представляемая работа дополняет предыдущую новыми результатами, полученными в ходе разработки методики нанотомографического изучения палеозойской спородермы.

Мегаспоры *K. africana* (рис. 1) – диаметр 0.5 мм, тело мегаспоры округлое, от него отходят три клапана (рис. 1а, в), образующие андротеку (рис. 2а, б, 3). Поверхность клапанов в СМ гладкая, вдоль края их смыкания заметны продольные короткие морщинки. На дистальной поверхности споры расположены скульптурные элементы в виде длинных (25–35 мкм) щупальцевидных выростов (рис. 1а–в). На клапанах они отсутствуют. Концы выростов часто бифуркатные (рис. 1а), некоторые внутри полые (рис. 1в). В СЭМ (рис. 2д) обнаружена микроскульптура – поверхность экзины покры-

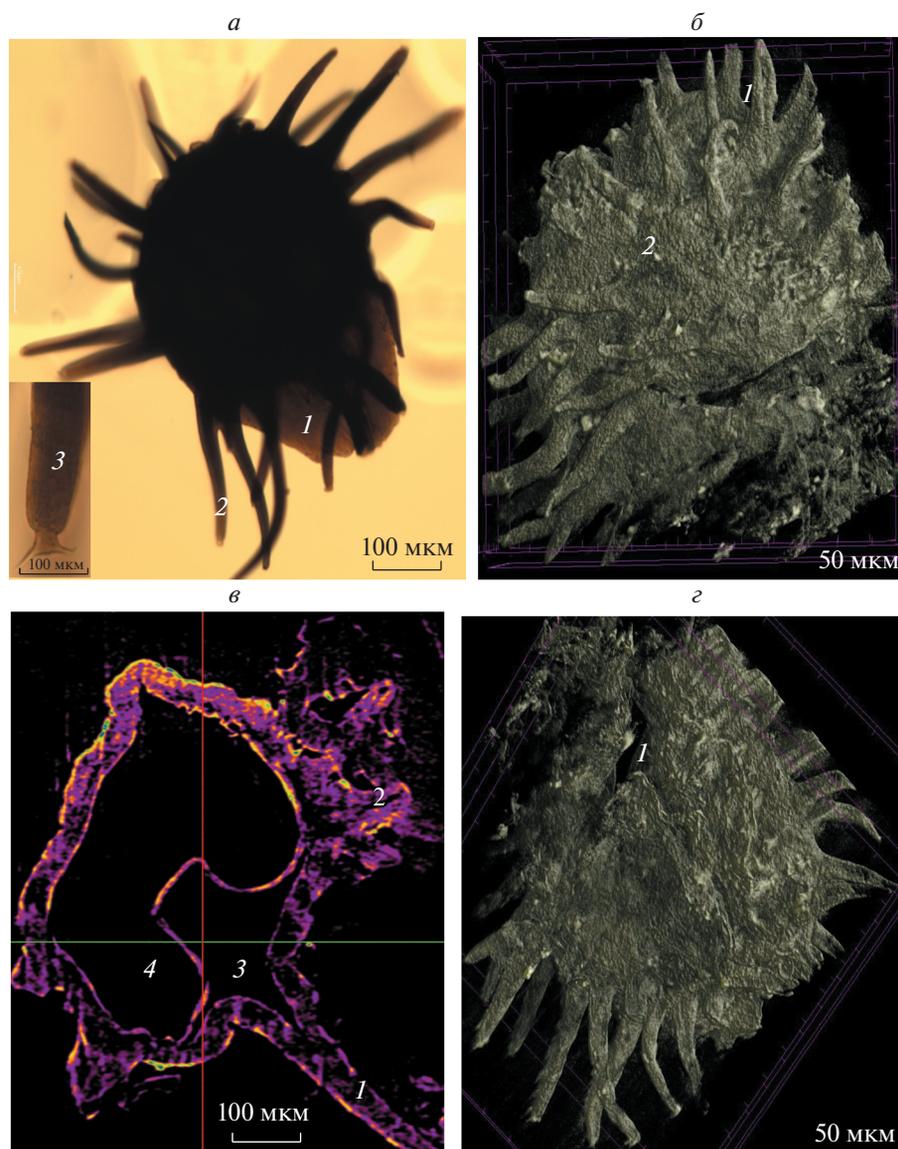


Рис. 1. Мегаспоры *Kryshstofovichia africana* Nikitin, 1934, экз. БИН, № Н3326.2. *a* – общий вид (световой микроскоп): 1 – клапан, 2 – скульптурные элементы в виде длинных шупальцевидных выростов, 3 – бифуркатные концы выростов. *б* – дистальная поверхность (нанотомограф): 1 – скульптурные элементы в виде длинных шупальцевидных выростов, 2 – наноскульптура спородермы (шипики с округлым основанием). *в* – продольный виртуальный срез (нанотомограф): 1 – клапан андротеки, 2 – скульптурные элементы в виде длинных шупальцевидных выростов, 3 – верхняя камера мегаспоры, 4 – нижняя камера полости мегаспоры. *з* – проксимальная поверхность (нанотомограф): 1 – трехлучевая щель прорастания.

та мелкими (0.05–0.08 мкм) шипиками с расширенным округлым основанием (рис. 2*д*). Поверхность выростов в СЭМ представляется гладкой (рис. 2*д*).

С помощью нанотомографа удалось описать зернистую скульптуру выростов (рис. 1*б*), не видимую в световом и сканирующем электронном микроскопах. Она представляет собой отдельные, достаточно плотно прилегающие друг к другу, округлые, сверху уплощенные глобулы. На

виртуальном продольном срезе четко видна андротека (рис. 1*в*). Камеры полости мегаспоры образованы расслоением оболочки. Внутренний слой замыкает нижнюю камеру тела споры (рис. 1*в*), внешний формирует верхнюю камеру – андротеку.

В ТЭМ экзина мегаспоры выглядит двухслойной (рис. 2*в*, *з*, *е*): внутренний слой – относительно тонкий (1.0–1.3 мкм), структурированный, по-видимому, тонколамеллярный (рис. 2*е*); внешний слой (рис. 2*в*, *з*, *е*) – толстый (3.0–3.4 мкм), состо-

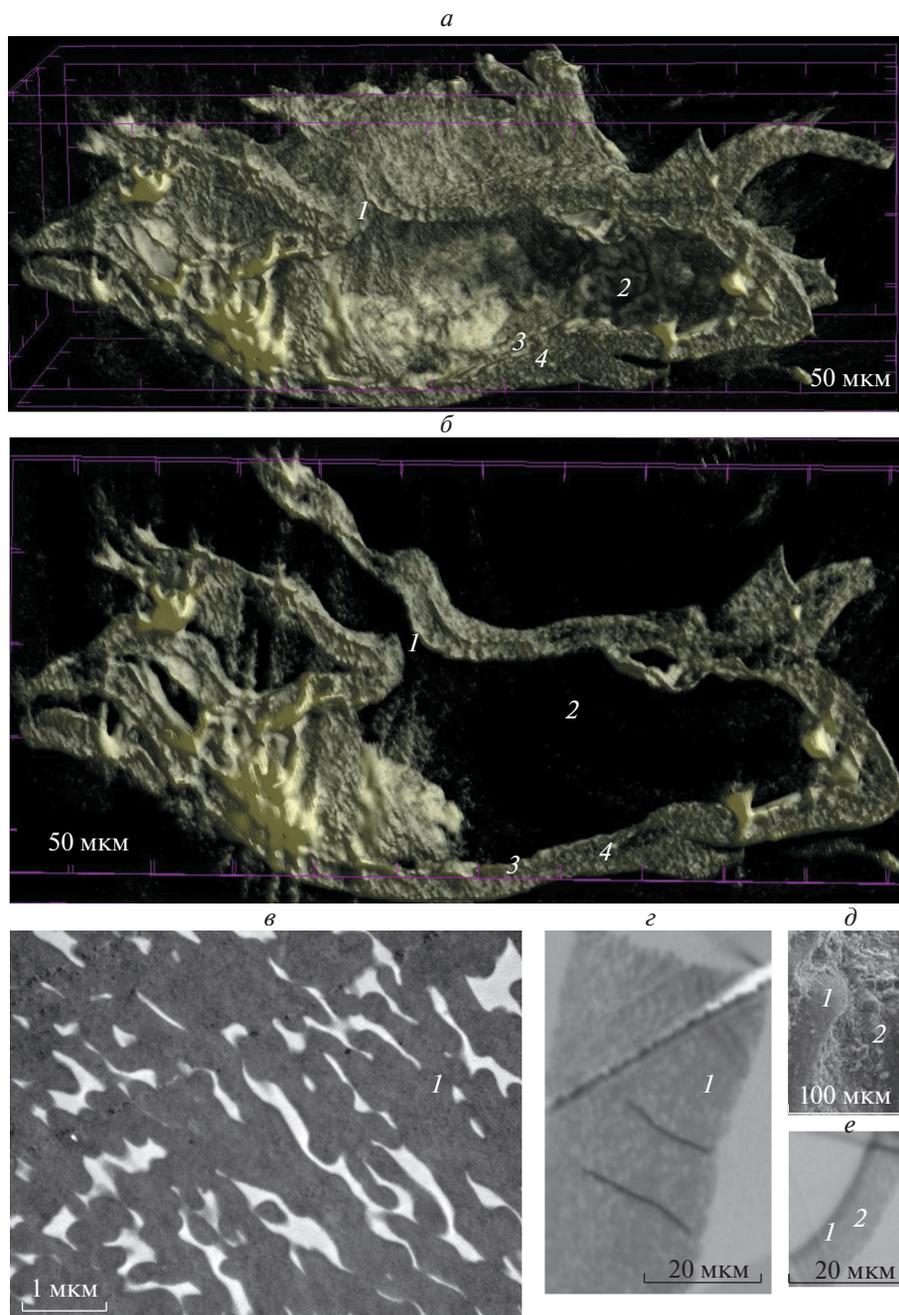


Рис. 2. Мегаспоры *Kryštofovichia africana* Nikitin, 1934, экз. БИН, № Н3326.2. *а, б* – виртуальные продольные срезы (нанотомограф): *1* – фрагмент внутреннего строения мегаспоры в области трехлучевой щели и андротеки, *2* – внутренняя полость (верхняя камера, сообщающаяся со щелью разверзания), *3* – внутренний и *4* – внешний слой спородермы. *в, з* – ультратонкие срезы эктэскины (ТЭМ): *1* – анастомозирующие ламеллы. *д* – фрагмент дистальной поверхности (СЭМ): *1* – фрагмент скульптурного элемента в виде длинного щупальцевидного выроста, *2* – шипики. *е* – ультратонкий срез спородермы (ТЭМ): *1* – внутренний и *2* – внешний слой.

ит из коротких анастомозирующих ламелл. В проходящем свете (СМ) они создают видимость гранулезного строения.

На томографических срезах установлено трехслойное строение эскины (рис. 3): *1*) внутренний слой (рис. 2*а–в, 3*) – тонкий, плотный, с неявно различной структурой, замыкающий тело споры;

2) толстый гранулезный слой (рис. 2*а, б, 3*) присутствует во всех структурных и скульптурных элементах мегаспоры; и *3*) тонкий поверхностный (рис. 3), скульптурированный. Последний слой не наблюдается на ультратонких срезах в ТЭМ, поскольку таких срезов было выполнено ограниченное количество.

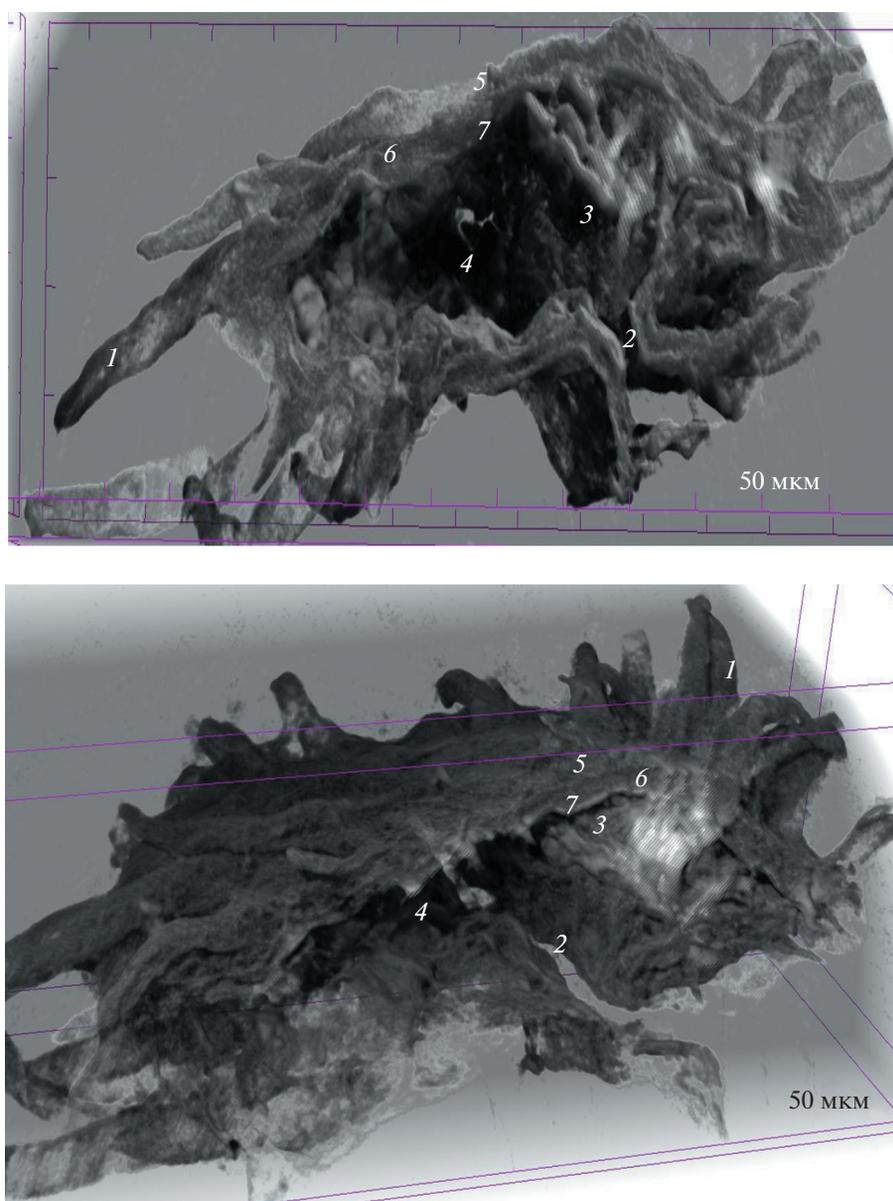


Рис. 3. Мегаспоры *Kryshtofovichia africana* Nikitin, 1934, экз. БИН, № Н3326.2, виртуальные продольные срезы (нанотомограф). 1 – скульптурные элементы в виде длинного шупальцевидного выроста, 2 – андротека, образованная клапанами и соседствующая со щелью разверзания, 3 – верхняя и 4 – нижняя камеры внутренней полости, 5 – поверхностный, скульптурированный слой спородермы, 6 – внешний и 7 – внутренний слои.

П.А. Никитин (1934) определил мегаспоры *K. africana* как трилетные, но в его статье трехлучевая щель не описана и не проиллюстрирована. Наш инструментарий также длительное время не позволял увидеть и сфотографировать этот важный диагностический признак (Tel'nova, Marshall, 2018). Проблема объясняется, по-видимому, тем, что как П.А. Никитину, так и нам не удавалось расположить в препарате мегаспору так, чтобы в основании андротеки можно было увидеть и сфотографировать трехлучевую щель. И только сейчас появилось ее документальное подтверждение, благодаря томографическим исследованиям

(рис. 1з). Щель простая, неутолщенная, лучи щели равны радиусу мегаспоры. На виртуальных продольных срезах (рис. 2а, б) четко видно, что щель открывается во внутреннюю полость. Внутренняя полость подразделяется на две камеры (рис. 3), функции которых пока сложно объяснить. Трехлучевая щель сообщается с верхней камерой (рис. 3), сформированной гранулезной структурой.

ВЫВОДЫ

До настоящего времени электронная микроскопия остается вне конкуренции по разрешаю-

щей способности: СЭМ – 2–3 нм, ТЭМ – до 1 нм, нанотомограф – в лучшем случае 50 нм. Тем не менее быстрое внедрение новых методик, не разрушающих объект, непосредственно связано с развитием нанотомографической техники. Несмотря на то, что рентгеновские томографы уступают по разрешающей способности синхротронным, на них, как на более доступные в нашей стране, возлагаются большие надежды в палеопалинологии. Они позволяют без нарушения целостности объекта (без потери уникального материала; для изучения становятся доступны коллекционные образцы) проводить комплекс работ по изучению различных проекций палеозойской спородермы, визуализировать соотношения и расположения различных структур. Сокращается время, ранее затрачиваемое (иногда до нескольких месяцев) на подготовку объекта к изучению в СЭМ и ТЭМ.

Томографы уже сегодня могут быть успешно использованы для изучения некоторых палинологических объектов в дополнение к традиционным методам электронной микроскопии. Одним из существенных ограничений в применении томографов, как рентгеновских, так и синхротронных, пока остается разрешение и, соответственно, размер объекта исследований. При изучении микроспор как нами (в нанотомографе параллельно проводились исследования микро- и мегаспор *K. africana*), так и зарубежными коллегами положительные результаты не достигнуты.

Важная информация получена в ходе разрабатываемой методики изучения одного и того же объекта с применением разных приборов. Объект предварительно был изучен традиционными методами электронной микроскопии. Структуры, описанные в СЭМ и ТЭМ, позволили провести их идентификацию на изображениях, сгенерированных с помощью рентгеновского нанотомографа.

В результате анализа виртуальных срезов получена новая информация: у девонских мегаспор *K. africana* впервые задокументирована трехлучевая щель прорастания, двухкамерное строение внутренней полости, гранулезное строение стенки верхней камеры, установлена наноскульптура спородермы, ее трехслойное строение, толщина слоев и их расположение.

Выявленная у мегаспор *K. africana* трехлучевая щель является важным аргументом для подтверждения предположения П.А. Никитина (1934) о том, что это растение относится к Pteridophyta. Однако его мегаспоры обладают уникальным образованием – андротекой, не известной у других девонских растений. Появление у представителей Pteridophyta андротеки рассматривается нами как первая эволюционная “попытка” защиты репродуктивного цикла у растений, существовавших в маргинальных условиях, с тенденцией продвижения на удаленные от акваторий участки суши или же приспособление к существованию в климати-

ческих условиях с выраженными сезонными изменениями.

Проведенное исследование демонстрирует важность внедрения в практику палеопалинологических работ методов томографии как дополнения и альтернативы деструктивным методам ТЭМ и отчасти СЭМ.

Авторы выражают благодарность руководству музея БИН РАН и лично хранителю коллекции А.В. Хвалю за предоставленные для научных исследований микро- и мегаспоры *Kryshstofovichia africana*, а также ведущему научному сотруднику кафедры высших растений МГУ С.В. Полевой за помощь в проведении работ в ТЭМ и научному сотруднику С.С. Шевчук (ИГ Коми НЦ УрО РАН) за сопровождение исследований в СЭМ.

В настоящее время направление наших многолетних научных исследований поддержано конкурсной программой РФФИ, грант № 20-05-00445А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гаврилова О.А., Завьялова Н.Е., Теклёва М.В., Носова Н.В., Горденко Н.В. и др., 2015. Морфологические и анатомические исследования остатков ископаемых высших растений с помощью конфокального микроскопа // XIII Московское совещание по филогении растений: филогения и морфологическая эволюция. М.: МГУ. С. 89–93.
- Мейер-Меликян Н.Р., 1987. Морфология спор и пыльцы // Методические аспекты палинологии. М.: Недра. С. 17–40.
- Никитин А.П., 1934. Ископаемые растения петинского горизонта девона Воронежской области // Изв. АН СССР. Сер. геол. № 7. С. 1079–1090.
- Розанов А.Ю., Астафьева М.М., 2008. Празинофиты (зеленые водоросли) из нижнего протерозоя Кольского полуострова // Палеонтол. журн. № 4. С. 90–93.
- Симонов Е.Н., 2011. Томографические измерительные информационные системы. Рентгеновская компьютерная томография: Учебное пособие. М.: НИЯУ МИФИ. 440 с.
- Тельнова О.П., 2007. Миоспоры из средне-верхнедевонских отложений Тимано-Печорской нефтегазоносной провинции. Екатеринбург: УрО РАН. 136 с.
- Тельнова О.П., Мейер-Меликян Н.Р., 1993. Споры пограничных отложений девона и карбона Тимано-Печорской провинции. Л.: Наука. 77 с.
- Тельнова О.П., Маршалл Д.Е.А., Кульков А.М., 2018. Наноструктурное изучение девонской спородермы // ДАН. Сер. Геол. Т. 481. № 2. С. 183–185.
- Тельнова О.П., Маршалл Дж., Кудрявцев А.А., 2019. Методические аспекты в палеопалинологии // Морфологич. эволюция и стратиграф. проблемы. Мат-лы LXV сессии Палеонтол. общ-ва при РАН. СПб.: Картфабрика ВСЕГЕИ. С. 151–153.
- Тельнова О.П., Кочева Л.С., Карманов А.П., 2020. Вторичная минерализация раннекаменноугольных семян // Современные проблемы теоретической, экспериментальной и прикладной минералогии (Юшкинские чтения – 2020): Мат-лы рос. конф.

- с междунар. участием. Сыктывкар: ИГ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. С. 154–155.
- Allen K.C., 1965. Lower and Middle Devonian spores of North and Central Vestspitsbergen // *Paleontology*. V. 8. P. 687–748.
- Chaloner W.G., 1959. Devonian megaspores from Arctic Canada // *Paleontology*. V. 1. P. 321–332.
- Claugher D., 1986. Pollen wall structure, a new interpretation // *Scanning Electron Microsc.* P. 291–299.
- Glasspool I.J., Collinson M.E., Scott A.C., Brain A.P.R., Plotnick R.E., Kenig F., 2009. An ultrastructural investigation of early Middle Pennsylvanian megaspores from the Illinois Basin, USA // *Rev. Palaeobot. Palynol.* V. 156. P. 62–78.
- Kudryavtsev A., Vasilev E., Telnova O., Marshall J., 2019. Sample preparation by Ar Ion Beam for Microanalysis in Earth Science // 14th Multinational Congress on Microscopy, September 15–20, Belgrade, Serbia. P. 35–36.
- Lu L., 1980. On the occurrence of *Archaeoperisaccus* in E. Yunnan // *Acta Palaeontol. Sin.* № 19. P. 500–504.
- McGregor D.C., 1969. Devonian plant fossils of the genera *Kryshstofovichia*, *Nikitinsporites* and *Archaeoperisaccus* // *Canada Geol. Surv. Bull.* V. 182. P. 91–93.
- Moreau J., Cloetens P., Gomez B., Daviero-Gomez V., Néraudeau D. et al., 2014. Multiscale 3D virtual dissections of 100-million-year-old flowers using X-Ray synchrotron micro- and nanotomography // *Microsc. Microanal.* V. 20. № 1. P. 305–312.
- Pettitt J.M., 1966. Exine structure in some fossils and recent spores and pollen as revealed by light and electron microscopy // *Bull. Brit. Nat. Hist. Geol.* V. 13. P. 221–257.
- Taylor T.N., Maihle N.J., Hills L.V., 1980. Morphological and ultrastructural features of *Nikitinsporites canadensis* Chaloner, a Devonian megaspore from the Frasnian of Canada // *Rev. Palaeobot. Palynol.* V. 30. № 1–2. P. 89–99.
- Rowley J.R., 1973. Formation of pollen exine bacules and microchannels on a glycolyx // *Grana*. V. 13. P. 129–138.
- Rowley J.R., Dahl A., Sengupta S., Rowley J.S., 1981. A model of exine substructure based on dissection of pollen and spore exines // *Palyngology*. V. 5. P. 105–152.
- Sivaguru M., Urban M.A., Fried G., Wesseln C.J., Mander L., Punyasena S.W., 2016. Comparative performance of airyscan and structured illumination superresolution microscopy in the study of the surface texture and 3D shape of pollen // *Microsc. Res. Tech.* V. 81. № 2. P. 101–114.
- Slater B.J., McLoughlin S., Hilton J., 2011. Guadalupian (Middle Permian) megaspores from a permineralised peat in the Bainmedart Coal Measures, Prince Charles Mountains, Antarctica // *Rev. Palaeobot. Palynol.* V. 167. 140–155.
- Southworth D., 1985. Pollen exine substructure // *Grana*. V. 24. № 3. P. 161–166.
- Steer M.W., 1977. Differentiation of the tapetum in *Avena*. I. The cell surface // *J. Cell Sci.* V. 25. № 1. P. 125–138.
- Tel'nova O.P., Marshall J.E.A., 2018. Spores of *Kryshstofovichia africana* Nikitin (Tracheophyta): Morphology and ultrastructure // *Paleontol. J.* V. 52. № 3. P. 342–349.
- Villanueva-Amadoz U., Benedetti A., Méndez J., Sender L.M., Díez J.B., 2012. Focused ion beam nano-sectioning and imaging: A new method in characterisation of palaeopalynological remains // *Grana*. V. 51 P. 1–9.

New methods of investigation in paleopalynology

O. P. Tel'nova^{a, b, *}, A. M. Kulkov^{c, **}, J. E. A. Marshall^{d, ***}

^a*Institute of Geology, Komi Science Center, Ural Branch RAS
Pervomayskaya, 54, Syktyvkar, 167928 Russia*

^b*Pitirim Sorokin Syktyvkar State University
Okt'yabrsky pr., 55, Syktyvkar, 167928 Russia*

^c*Saint-Petersburg State University
Ulyanovskaya, 1, Saint-Petersburg, 198504 Russia*

^d*School of Ocean and Earth Science, University of Southampton,
National Oceanography Centre
Southampton, SO14 3ZH, Great Britain*

*e-mail: telnova@geo.komisc.ru

**e-mail: aguacrystals@yandex.ru

***e-mail: jeam@noc.soton.ac.uk

The identification of taxonomic characters of spores in the different phylogenetic lineages of Paleozoic plants provides essential information that enables the reconstructions of the Earth's ancient plant communities and this should be taken into account in any paleoreconstruction (e.g., climatic, geographical, etc.). In this context, the introduction of new analytical instrumentation into paleopalynological studies and the development of new research methods are of particular importance. Therefore, in addition to the traditional methods of light, scanning electron and transmission microscopy, tomography, atomic force microscopy, as well as scanning electron microscopes (SEM) supplemented with new functionality are used to study paleopalynological objects. Chemosystematic methods, based on the biochemical characteristics of the evolutionary development of organisms, is being developed. These methods are enhanced by synthesizing the data from these chemical and physical research methods.

УДК 581.557

МИКСОТРОФНЫ ЛИ АЛЬПИЙСКИЕ РАСТЕНИЯ ИЗ СЕМЕЙСТВА GENTIANACEAE?

© 2021 г. В. Г. Онипченко^{1,*}, Н. Г. Лавренов¹, А. В. Тиунов², М. И. Макаров¹, М. Й. А. Вергер³,
А. А. Ахметжанова¹, Т. Г. Елумеева¹, В. Э. Смирнов^{4,5}, Ван Цянь⁶, У Янь⁶

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234 Россия

²Институт экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Ленинский просп., 33, Москва, 119071 Россия

³Кафедра Экологии растений и Биоразнообразия, Утрехтский Университет
Утрехт, 3508 ТВ, Нидерланды

⁴Центр экологии и продуктивности лесов РАН
Профсоюзная ул., 84/32, Москва, 117997 Россия

⁵Институт математических проблем биологии РАН
ул. Виткевича, 1, Пущино, 142290 Россия

⁶Чэндуский институт биологии Китайской академии наук
просп. Жэньминьнаньлу, 9, Чэнду, 610041 КНР

*E-mail: vonipchenko@mail.ru

Поступила в редакцию 13.08.2020 г.

После доработки 30.09.2020 г.

Принята к публикации 21.10.2020 г.

Считается, что частично микогетеротрофные (миксотрофные) растения более обычны в филогенетических линиях, которые включают полностью микогетеротрофные растения. Сем. Gentianaceae — одна из таких групп. Миксотрофия мало изучена у альпийских растений по сравнению с тропическими и умеренными лесами. Проверена гипотеза о том, что альпийские виды из сем. Gentianaceae с зелеными листьями могут быть частично микогетеротрофны. Листья девяти пар видов (альпийские растения из сем. Gentianaceae и эталонное растение из другого семейства с арбускулярной микоризой, растущее поблизости) были собраны в горах Тибета (Сычуань, Китай) и Кавказа (Карачаево-Черкесская Республика, Россия). В полностью развитых листьях было определено естественное содержание стабильных изотопов (¹³C, ¹⁵N). В каждом случае листья растений из сем. Gentianaceae были обогащены ¹⁵N сильнее, чем листья других растений, которые служили для сравнения. За исключением двух видов из секции *Pneumonanthe* (*Gentiana asclepiadea* и *G. septemfida*), изученные растения из сем. Gentianaceae не показали значимого обогащения ¹³C. Мы предполагаем, что относительное обогащение листьев ¹⁵N может считаться указанием на частичную микогетеротрофию у альпийских видов Gentianaceae.

DOI: 10.31857/S0044459621010048

Некоторые сосудистые растения могут получать почти весь свой органический углерод (полные микогетеротрофы) или значительную его часть (частичные микогетеротрофы, или миксотрофы) от симбиотических микоризообразующих грибов (Merckx, 2013). Микогетеротрофия может возникать при разных типах микоризы: арбускулярной, арбутоидной и монотропоидной (с грибами, часто формирующими эктомикоризный симбиоз с зелеными растениями), а также микоризе орхидных (Leake, 1994). Частичная микогетеротрофия (сочетающая автотрофное и гетеротрофное получение органических соединений) широко распространена среди зеленых сосуди-

стых растений, особенно в семействах Orchidaceae, Ericaceae и Burmanniaceae (Merckx et al., 2010; Bellino et al., 2014; Bolin et al., 2017; Selosse et al., 2017a), и считается эволюционным шагом к полной микогетеротрофии (Selosse, Roy, 2009; но см. Lallemand et al., 2016). Селосс и Рой (Selosse, Roy, 2009) полагают, что частично микогетеротрофные растения (ЧМР) более обычны среди филогенетических линий, которые включают полностью микогетеротрофные растения (ПМР). Сем. Gentianaceae включает в себя 25 полностью микогетеротрофных видов из четырех родов (*Voyria*, *Voyriella*, *Exacum* и *Exochaenium*) (Merckx et al., 2013), а также существуют свидетельства, что некоторые

зеленые Gentianaceae могут быть частично микогетеротрофными. Например, Камерон и Болин (Cameron, Bolin, 2010), используя изотопный анализ, предположили частичную микогетеротрофию для двух американских видов, *Bartonia virginica* и *Obolaria virginica*. Частичная микогетеротрофия также, возможно, встречается у других представителей сем. Gentianaceae, таких как *Curtia tenuifolia* и видов р. *Neurotheca* (Struwe et al., 2002; Molina, Struwe, 2009), а также *Pterygocalyx volubilis* (Suetsugu et al., 2020).

Некоторые ПМР вступают в симбиоз с эктомикоризными грибами (базидиомицетами), однако другие ПМР из семейств Corsiaceae, Vurmanniaceae, Polygalaceae и Gentianaceae образуют арбускулярную микоризу (АМ) (Bidartondo et al., 2002; Merckx et al., 2010). Перемещение органических веществ между растениями разных видов было показано в основном для эктомикоризного симбиоза (Klein et al., 2016). У большинства видов из сем. Gentianaceae есть арбускулярная микориза (Sykorova et al., 2007; Akhmetzhanova et al., 2012). Если частичная микогетеротрофия подтвердится для растений из сем. Gentianaceae, это будет означать, что некоторые зеленые растения с арбускулярной микоризой могут получать органические соединения из грибной сети, и это может поддерживать рост молодых или затененных растений (Grime et al., 1987; Onipchenko, Zobel, 2000; Lerat et al., 2002; Carey et al., 2004). ПМР и ЧМР были изучены в основном в тропических и умеренных лесах (Merckx et al., 2010; Courty et al., 2011; Schiebold et al., 2017), однако о распространенности этого явления в высокогорьях известно очень мало (Onipchenko, Zobel, 2000; Tedersoo et al., 2007; Zimmer et al., 2007).

Тяжелые изотопы (^{13}C и ^{15}N) последовательно накапливаются в пищевых цепях благодаря избирательной потере более легких изотопов в метаболических процессах (Ponsard, Arditi, 2000; Vanderklift, Ponsard, 2003; Leake, Cameron, 2010; Potarov, Tiunov, 2016). ПМР, находящиеся в симбиозе с эктомикоризными грибами, содержат больше ^{13}C и ^{15}N , чем автотрофные растения (Gebauer, Meyer, 2003; Trudell et al., 2003), и, таким образом, значения $\delta^{13}\text{C}$, так же как и $\delta^{15}\text{N}$, используют для оценки степени микогетеротрофности для видов из семейств Orchidaceae и Ericaceae (Tedersoo et al., 2007; Zimmer et al., 2007; Leake, Cameron, 2010; Hynson et al., 2013). $\delta^{15}\text{N}$ может служить индикатором значительной роли органических источников азота в почве для растений, так как они обогащены ^{15}N (Bidartondo et al., 2004; Hobbie, Hogberg, 2012). Растения из сем. Gentianaceae могут в большой степени зависеть от органических источников азота в почве, что может быть причиной более высокого содержания в них ^{15}N , как, например, у не образующих микоризу осоковых (Moore et al., 2018).

Гифы АМ грибов также способны поглощать азот из органических источников (Klink et al., 2020).

Мы предположили, что альпийские виды Gentianaceae могут быть частично микогетеротрофными. Чтобы проверить эту гипотезу, мы исследовали девять пар обычных видов травянистых растений из двух разных горных регионов (Кавказ и Тибет) и измерили природное содержание ^{13}C и ^{15}N в их листьях.

Мы выбрали альпийские виды Gentianaceae по двум следующим причинам. Во-первых, есть полностью микогетеротрофные филогенетически родственные виды семейства. Во-вторых, за исключением полупаразитных видов Orobanchaceae (*Euphrasia* spp., *Rhinanthus* spp.), только среди представителей Gentianaceae встречаются однолетники в сомкнутых альпийских сообществах (очень) долгоживущих альпийских многолетников в некоторых горных регионах (*Gentiana biebersteinii*, *G. aquatica* на Северо-Западном Кавказе) (Onipchenko, 2004; Зернов и др., 2015). Кажется логичным, что подобные однолетники должны иметь дополнительный источник органического вещества, чтобы полностью завершить жизненный цикл за короткий альпийский вегетационный период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты и сбор полевого материала

Обычный метод сравнения изотопного состава видов с эталонными видами — это сбор как минимум трех соседних автотрофных эталонных видов вместе с изучаемым, чтобы охарактеризовать существующую вариабельность у автотрофных растений (Gebauer, Meyer, 2003). Этот подход имеет очевидные преимущества, но не очень точен, когда есть высокая изменчивость между видами и между местообитаниями. В нашем случае, согласно объемной базе данных по $\delta^{15}\text{N}$ в альпийских растениях (Körner et al., 2016), растения сем. Gentianaceae занимают промежуточное положение среди других семейств покрытосеменных по $\delta^{15}\text{N}$ (-2.2‰) и не отличаются от большинства других видов растений с арбускулярной микоризой. Однако $\delta^{15}\text{N}$ может локально различаться между Gentianaceae и другими АМ растениями, как будет показано ниже. Таким образом, мы использовали другой подход и собирали листья изучаемого растения (Gentianaceae) и ближайшего доступного растения из эталонных видов (представитель разнотравья с арбускулярной микоризой). Как рекомендовали Прейсс и Гебауэр (Preiss, Gebauer, 2008) для более точных сравнений, мы изучили факторы обогащения ($\epsilon^{13}\text{C}$ и $\epsilon^{15}\text{N}$) как разницу между значениями δ изучаемой и эталонной *особей* растений.

Таблица 1. Список изученных видов (в квадратных скобках их сокращения на рис. 1, 2) и описание места сбора материала

№	Виды Gentianaceae	Эталонные виды с арбускулярной микоризой	Регион, сообщество
1	<i>Gentiana macrophylla</i> Pall. [Gm]	<i>Ranunculus sinovaginat</i> W. T. Wang (Ranunculaceae) [Rs]	КНР, Сычуань, долина Цзючжайгоу, вторичный горный луг (3100 м)
2	<i>Gentiana haynaldii</i> Kanitz [Gh]	<i>Fragaria moupinensis</i> (Franchet) Cardot (Rosaceae) [Fm]	
3	<i>Gentiana grandis</i> Harry Sm. [Gg]	<i>Fragaria moupinensis</i> (Franchet) Cardot (Rosaceae) [Fm]	
4	<i>Gentiana asclepiadea</i> L. [Ga]	<i>Solidago virgaurea</i> L. (Asteraceae) [Sv]	Россия, Теберда, горный пихтовый лес (1800 м)
5	<i>Gentiana verna</i> L. [Gv]	<i>Alchemilla caucasica</i> Buser (Rosaceae) [Ac]	Россия, Теберда, альпийские луга (2800 м)
6	<i>Gentiana pyrenaica</i> L. [Gp]	<i>Campanula tridentata</i> Schreber (Campanulaceae) [Ct]	
7	<i>Gentiana bibersteinii</i> Bunge [Gb]	<i>Veronica gentianoides</i> Vahl (Plantaginaceae) [Vg]	
8	<i>Swertia iberica</i> Fischer et Meyer [Si]	<i>Primula auriculata</i> Lam. (Primulaceae) [Pa]	Россия, Теберда, субальпийское болото (2400 м)
9	<i>Gentiana septemfida</i> Pallas [Gs]	<i>Leontodon hispidus</i> L. (Asteraceae) [Lh]	Россия, Теберда, альпийские луга (2800 м)

Мы собрали листья пар горных видов растений, один вид из каждой пары относился к сем. Gentianaceae, а другой был растущим по соседству видом разнотравья из другого семейства с арбускулярной микоризой. Пары видов были собраны в двух географически отдаленных регионах: на Северо-Западном Кавказе (Тебердинский заповедник, Карачаево-Черкесская Республика, Россия; 6 пар; 43° с.ш., 41° в.д.) и в Восточном Тибете (Долина Цзючжайгоу (Jiuzhaigou Valley), провинция Сычуань, КНР; 3 пары; 33° с.ш., 104° в.д.) (табл. 1). В обоих регионах выбранные виды обычны в альпийских и других горных местообитаниях (4 вида в альпийском поясе, 1 на субальпийском болоте, 3 на горных лугах в лесном поясе, 1 в горном лесу). Участки расположены на разных склонах и высоте (табл. 1), но все почвы развиваются на силикатных породах (граниты и т.д.). Для каждого вида из сем. Gentianaceae мы выбрали наиболее обычный растущий поблизости вид разнотравья с арбускулярной микоризой. Если (на некоторых площадках) ближайший сосед относился к другому виду, искали выбранный вид, чтобы для всех образцов изучаемого вида из Gentianaceae был тот же самый эталонный вид.

На исследуемых участках собирали нормально развитые, не поврежденные фитофагами листья с хорошо развитых взрослых (цветущих) растений. Для каждой пары видов, которые сравнивались между собой, собирали листья растения из сем. Gentianaceae и его ближайшего соседа из другого семейства (один эталонный вид для каждого вида Gentianaceae). Сравнимые растения были собраны на расстоянии до 1–2 м (чаще менее 0.5 м) друг от друга, так, чтобы оба вида росли при одинаковой освещенности. В каждом местообитании растения каждого вида (табл. 1) собирали в пятикратной повторности, а пары находились на расстоянии 20–200 м друг от друга, так что у клональных растений собранные листья относились к разным особям. Каждый отдельный образец включал 1–3 листа с 1–5 близко растущих (до 0.5 м) растений в зависимости от размера листьев (масса образца в сухом состоянии должна была быть не менее 100 мг).

Образцы листьев были помещены в бумажные пакетики и доставлены в лабораторию в воздушно-сухом виде. Затем образцы были высушены при 50°C и мелко размолоты в порошок на шаровой мельнице (Retsch MM 200). Сухие образцы были взвешены (около 1200 мкг сухой массы) на

Таблица 2. Результаты *t*-тестов сравнения разностей (*Gentiana*–эталонное растение) с 0, *n* = 45

Различия (<i>Gentiana</i> –эталонное растение)	Среднее	Стандартное отклонение	<i>t</i>	<i>p</i>
$\epsilon^{13}\text{C}$, ‰	0.43	2.05	1.415	0.164
$\epsilon^{15}\text{N}$, ‰	2.39	1.79	8.949	0.000
C, ммоль/г сухой массы	1.67	2.47	4.534	0.000
N, ммоль/г сухой массы	0.09	0.51	1.252	0.217
C : N	1.94	14.42	0.903	0.372

аналитических весах Mettler Toledo MX5 и упакованы в оловянные капсулы для изотопного анализа.

Изотопный анализ

Анализ на стабильные изотопы был проведен на изотопном масс-спектрометре Thermo Delta V Plus и элементном анализаторе Thermo Flash 1112 в Центре коллективного пользования Института экологии и эволюции А.Н. Северцова РАН, Москва. Изотопный состав N и C был выражен в тысячных долях отклонения (δ , ‰) от международного стандарта (атмосферный азот и VPDB соответственно) по формуле $\delta^r\text{E} = [(R_{\text{проба}} - R_{\text{стандарт}})/R_{\text{стандарт}}] \times 1000$ (‰). Образцы были проанализированы с эталонными газами, калиброванными по IAEA эталонным материалам (USGS 40, USGS 41 и IAEA-CH3). Смещение результатов в ходе анализа было скорректировано с использованием международных лабораторных стандартов (люцерна и казеин). Стандартное отклонение значений $\delta^{15}\text{N}$ и

Таблица 3. Значимые (*p* < 0.05) различия между растениями из сем. *Gentianaceae* и эталонными видами в изученных парах

	Пары видов
$\delta^{13}\text{C}$	3–, 4+, 5–, 7–, 9+
$\delta^{15}\text{N}$	1+, 4+, 5+, 6+, 7+, 8+, 9+
C	1+, 4+, 5+, 6+, 7+, 9+
N	5–, 6–, 7+, 8–
C : N	5+, 6+, 7–, 8+

Примечание. Для номеров пар см. табл. 1. “+” – значимое различие средних > 0 (значения для растений из *Gentianaceae* > эталонных растений); “–” – значимые различия средних < 0 (значения для растений из *Gentianaceae* < эталонных растений).

$\delta^{13}\text{C}$ эталонного материала (*n* = 6–8) было < 0.2‰. Наряду с изотопным анализом во всех образцах была измерена концентрация азота и углерода (ммоль/г сухого веса).

Статистическая обработка

Мы провели статистические сравнения в парах изученных видов растений, для всех изученных видов и между двумя регионами. Чтобы сравнить $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, общее содержание углерода и азота, а также соотношение C : N в горечавковых и растениях из другого семейства, был использован дисперсионный анализ с повторными измерениями (Repeated Measures ANOVA), где принадлежность к семейству (горечавковые/не горечавковые) была повторяющейся переменной (R1), а “блок” (пара видов и/или регион) был категориальным предиктором (фиксированный фактор). Апостериорный LSD-тест Фишера был использован, если R1 была значимой (при *p* < 0.05), чтобы выявить, в какой паре видов растения из семейства горечавковых отличались от эталонных видов. Тесты Колмогорова–Смирнова не выявили значимых отклонений изученных параметров от нормального распределения.

Чтобы сравнить с константой (равна 0) средние значения $\epsilon^{13}\text{C}$ и $\epsilon^{15}\text{N}$, различия в содержании углерода, азота и соотношение C : N между растениями сем. *Gentianaceae* и эталонными растениями, мы использовали *t*-тест. Расчеты были проведены в пакете Statistica 6.0. Парные *t*-тесты были сделаны по всем местообитаниям, чтобы оценить различия между растениями сем. *Gentianaceae* и эталонными растениями. Тесты были проведены в статистической среде R (R Core Team, 2017).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все изученные параметры значительно варьировали по местам сбора образцов и/или по видам (рис. 1, 2). Мы не анализировали возможные причины этой изменчивости (регион, высота, свой-

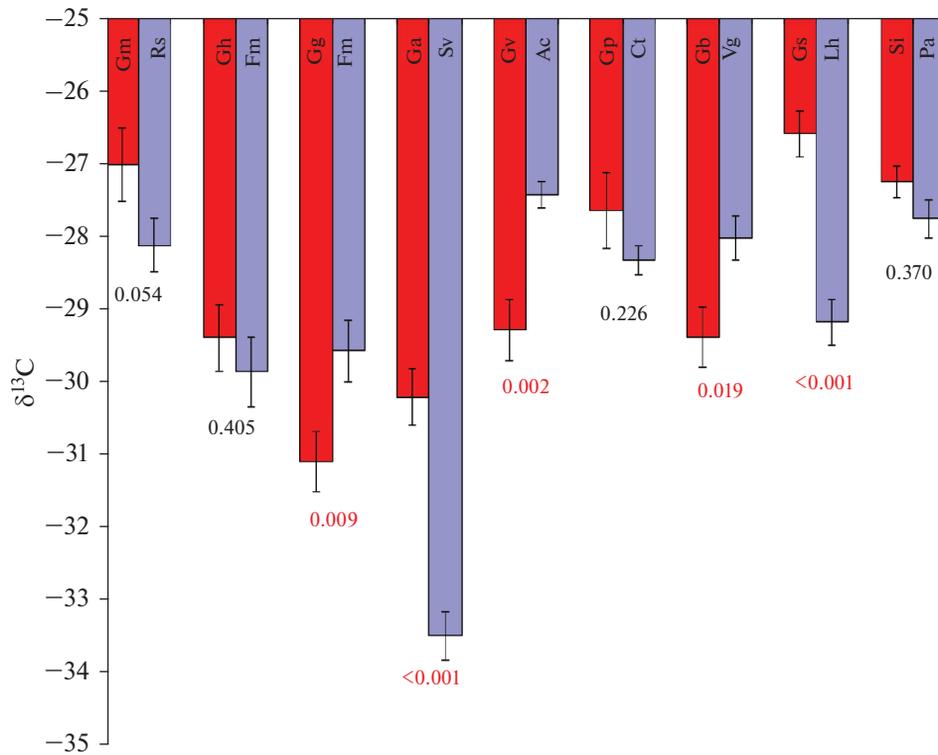


Рис. 1. δ¹³C (‰) в листьях Gentianaceae (красные столбцы) и эталонных растений с арбускулярной микорризой (синие столбцы). Показана стандартная ошибка ($n = 5$). Значения p по результатам апостериорных LSD-тестов показаны под столбцами (цифры красного цвета: $p < 0.05$). Сокращения видов см. в табл. 1.

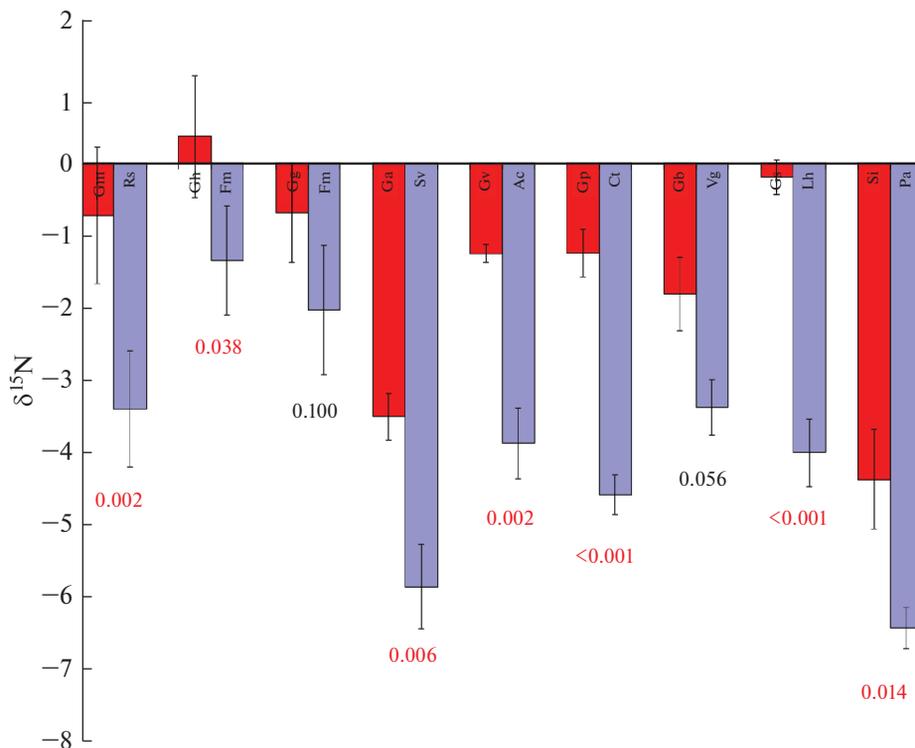


Рис. 2. δ¹⁵N (‰) для пар Gentianaceae (красные столбцы) и эталонных растений с арбускулярной микорризой (синие столбцы). Показана стандартная ошибка ($n = 5$). Значения p по результатам апостериорных LSD-тестов показаны под столбцами (цифры красного цвета: $p < 0.05$). Сокращения видов см. в табл. 1.

Таблица 4. Сравнение растений из сем. Gentianaceae с эталонными видами растений по результатам дисперсионного анализа с повторяющимися измерениями (значения F)

	d.f.	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$		C : N	
		F	p	F	p	F	p
Горечавковые и эталонные растения (R1)	1	5.4	0.026	81.1	<0.0001	2.1	ns
Блок (Вид или расположение)	8	33.8	<0.0001	12.6	<0.0001	33.6	<0.0001
Блок \times R1	8	10.3	<0.0001	1.1	ns	9.4	<0.0001

Примечание. d.f. – число степеней свободы, p – уровень значимости.

ства почвы), так как число изученных видов и географических точек было ограничено.

Содержание углерода и азота

Содержание углерода в целом в растениях сем. Gentianaceae было выше, чем в эталонных видах ($t = 4.53$, $p < 0.0001$; табл. 2). В шести парах видов различия были значимыми (табл. 3), ни у одного из видов Gentianaceae содержание углерода не было значимо ниже.

Содержание азота в целом не отличалось между горечавковыми и эталонными растениями (табл. 2); в трех случаях эталонные виды имели более высокое и в одном случае (*Gentiana biebersteinii*–*Veronica gentianoides*) – более низкое содержание азота по сравнению с растениями из Gentianaceae. Соотношение C : N в целом не различалось между горечавковыми и эталонными растениями (табл. 2, 4). Значимо более высокие соотношения C : N были получены для тех же самых трех видов Gentianaceae, у которых наблюдалось меньшее содержание азота.

Содержание ^{13}C и ^{15}N

В то время как дисперсионный анализ (ANOVA) показал, что горечавковые были немного обогащены ^{13}C (табл. 4), анализ $\epsilon^{13}\text{C}$ не выявил значимого обогащения (табл. 2). В изученных парах растений значения $\epsilon^{13}\text{C}$ были с разными знаками. Однако при сравнении отдельных пар растений (рис. 1) некоторые виды Gentianaceae не отличались от эталонных растений (*Gentiana macrophylla*, *G. haynaldii*, *G. pyrenaica*, *Swertia iberica*), в то время как у других (*G. grandis*, *G. verna*, *G. biebersteinii*) содержание $\delta^{13}\text{C}$ было даже ниже, чем у эталонных растений. Только два вида горечавковых были значимо обогащены ^{13}C по сравнению с контролем (*G. asclepiadea*, *G. septemfida*) (табл. 3).

Напротив, значения $\delta^{15}\text{N}$ у представителей Gentianaceae были выше, чем у эталонных растений для всех изученных пар видов, и различия были значимы в семи из девяти изученных пар

(рис. 2, табл. 2, 3). Как показано на рис. 2, средние значения $\delta^{15}\text{N}$ для растений из сем. Gentianaceae и для эталонных растений перекрываются, однако при рассмотрении локальных пар видов у всех растений из Gentianaceae значения $\delta^{15}\text{N}$ были выше, чем у эталонных растений в их окружении. В среднем горечавковые были значимо обогащены ($\epsilon^{15}\text{N} = 2.4 \pm 0.3\%$, доверительный интервал ± 0.52 , $p < 0.0001$), а между принадлежностью к виду и/или местообитанием не было значимого взаимодействия (табл. 4).

Между интенсивностью микоризной колонизации и изученными параметрами углерода и азота не было найдено значимой связи (данные не показаны).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изученные параметры, такие как значения $\delta^{13}\text{C}$ и $\delta^{15}\text{N}$, различались по видам и/или местам сбора образцов. Это подчеркивает изменчивость изотопного состава среди изученных видов. Часть изменчивости можно объяснить различиями в высоте и доступности света между местообитаниями, хотя в каждой паре видов уровень освещенности был практически одинаковым. Например, очень низкие значения $\delta^{13}\text{C}$ у *Solidago virgaurea* могут быть из-за того, что этот вид произрастал на меньшей высоте и в глубокой тени под пологом *Abies nordmanniana*. В целом, естественное содержание ^{13}C возрастает с высотой и освещенностью (Körner, 2003; Duursma, Marshall, 2006; Courty et al., 2011; Zhou et al., 2011) и уменьшается в условиях затенения, так как выделившийся в результате дыхания почвы CO_2 обеднен ^{13}C (Hynson et al., 2013). Наши данные с этой тенденцией согласуются. Однако в целом оценить определяющее влияние факторов среды на различия между местообитаниями и видами невозможно из-за небольшого числа изученных местообитаний и видов.

Все значения $\delta^{13}\text{C}$ были близки или меньше чем -27‰ , что типично для автотрофных зеленых C_3 -растений. Большинство изученных растений было собрано в солнечных альпийских местообитаниях; относительно высокое естественное содержание ^{13}C (от -27 до -30‰) типично для растений из хорошо освещенных местообитаний, особенно в альпийском поясе (Brooks et al., 1997; Preiss et al., 2010; Zhu et al., 2010; Zhou et al., 2011; Cernusak et al., 2013). У нескольких видов, которые были собраны ниже границы распространения деревьев в более сомкнутых сообществах под пологом деревьев (*Gentiana asclepiadea*–*Solidago virgaurea*; *G. grandis*–*Fragaria moupinensis*), естественное содержание ^{13}C было ниже ($<-30\text{‰}$). Их значения $\delta^{13}\text{C}$ были близки к значениям, показанным для растений теневых бореальных лесов (Tedersoo et al., 2007).

Значения $\delta^{15}\text{N}$ значимо варьировали по изученным местообитаниям. У *Gentianaceae* и эталонных растений $\delta^{15}\text{N}$ были положительно скоррелированы ($r = 0.57$, $p < 0.001$), что можно объяснить общей зависимостью значений $\delta^{15}\text{N}$ у растений от вариабельности $\delta^{15}\text{N}$ азота в почве. Среднее значение $\delta^{15}\text{N}$ для эталонных растений (-3.89‰) было близко к значениям $\delta^{15}\text{N}$ для других альпийских растений Кавказа с арбускулярной микоризой (-3.59‰), по данным М.И. Макарова с соавт. (Makarov et al., 2014). Значения $\delta^{15}\text{N}$ для растений из сем. *Gentianaceae* в нашей работе (среднее -1.50‰) были значимо выше и сходны с альпийскими бобовыми (-1.50‰) и осоками, не образующими микоризу (-0.95‰) (Makarov et al., 2014). У бобовых другой источник азота, в отличие от остальных АМ растений (фиксация азота), а осоки могут использовать азот органического вещества почвы (Körner, 2003; Pörtl et al., 2007). Таким образом, мы предположили, что источник азота у изученных растений из сем. *Gentianaceae* отличается от источника других растений с арбускулярной микоризой, и что это может быть объяснено частичной микогетеротрофией.

Есть несколько причин считать, что обогащение ^{13}C или ^{15}N по сравнению с эталонными зелеными растениями – это доказательство частичной микогетеротрофии (Cameron, Bolin, 2010; Hynson et al., 2013). Во-первых, прогрессивная аккумуляция тяжелых изотопов наблюдалась на более высоких трофических уровнях пищевых цепей у многих организмов благодаря дискриминации тяжелых изотопов во время дыхания и других метаболических процессов (DeNiro, Epstein, 1976, 1978; Tcherkez et al., 2011). Во-вторых, все изучен-

ные полностью микогетеротрофные виды (с эрикоидной микоризой и микоризой орхидных, но не с АМ) обогащены ^{13}C и ^{15}N (Selosse, Roy, 2009). Зеленые, частично микогетеротрофные растения из семейств *Orchidaceae* и *Ericaceae* также обогащены ^{13}C и ^{15}N (Selosse, Roy, 2009).

Мы получили серьезное подтверждение того, что растения из сем. *Gentianaceae* обогащены ^{15}N , но не ^{13}C . Возможно несколько объяснений этого результата. Продукты фиксации азота обогащены ^{15}N по сравнению с лабильным азотом почвы, как это показано для бобовых (Bowman et al., 1996; Nadelhoffer et al., 1996; Makarov et al., 2014), но факты усиления фиксации азота вблизи корней горечавковых не известны. С другой стороны, эталонные зеленые растения могли бы использовать формы почвенного азота, обедненного ^{15}N по сравнению с источниками азота, используемыми горечавками. Эта возможность не может быть исключена, но кажется маловероятной, так как горечавковые и эталонные растения относятся к одной функциональной группе (только разнотравье) и формируют одинаковый (арбускулярный) тип микоризы. Мы рассматриваем частичную микогетеротрофию изученных растений из сем. *Gentianaceae* как наиболее вероятное объяснение их обогащения ^{15}N . Селосс с соавторами (Selosse et al., 2017a, b) также рассматривали обогащение ^{15}N как доказательство возможной микогетеротрофии, что в основном подтверждено для эктомикоризных растений, однако у микогетеротрофных АМ растений не всегда наблюдается обогащение ^{15}N (Merckx et al., 2010; Bolin et al., 2017).

В противоположность микогетеротрофным растениям с микоризой, образованной базидиомицетами, полностью микогетеротрофные растения с арбускулярной микоризой не обязательно обогащены ^{13}C , как было показано для *Voyria* (*Gentianaceae*) и *Apteris aphylla* (*Burmanniaceae*) (Courty et al., 2011). Ни мицелий, ни споры образующих арбускулярную микоризу грибов не обогащены ^{13}C (Nakano et al., 1999; Courty et al., 2011).

Основные источники углеродного питания для грибов, образующих арбускулярную микоризу, – зеленые растения, а не обогащенное ^{13}C органическое вещество почвы. Тем не менее АМ грибы и, соответственно, микогетеротрофные горечавки не должны быть обогащены ^{13}C , как и “ризоктониевые” симбионты орхидных не обогащены ^{13}C (Selosse, Martos, 2014). Более того, у полностью микогетеротрофных растений с арбускулярной микоризой не обнаружено значитель-

ной дискриминации ^{13}C на границе между АМ грибом и корнем (Courty et al., 2011). Мы, тем не менее, согласны с утверждением Корти с соавторами (Courty et al., 2011, p. 959), что “высокое содержание ^{13}C по сравнению с зелеными растениями само по себе не является общим свойством всех микогетеротрофных растений”. Это мнение также было поддержано для растений из сем. *Ericaceae* Хинсон с соавторами (Hunson et al., 2016) и Гебауэр с соавторами (Gebauer et al., 2016), которые использовали естественное содержание дейтерия (^2H), чтобы выявить микогетеротрофность некоторых орхидных, не обогащенных ^{13}C . Подобные результаты (отсутствие обогащения ^{13}C) были получены и для луговых орхидей (Schiebold et al., 2018).

Обогащение растений из сем. *Gentianaceae* ^{15}N , а не ^{13}C , очень сходно с изотопной вариацией между разными популяциями *Moneses uniflora* (Hunson et al., 2015). Этот вид из сем. *Ericaceae* считается явно микогетеротрофным на п-ове Олимпик (Вашингтон, США), где он обогащен и ^{13}C , и ^{15}N , но “скрыто микогетеротрофным” в Европе (Швеция и Шотландия), где он обогащен ^{15}N , но не обогащен (или даже обеднен) ^{13}C (Hunson et al., 2015). Одной из причин обогащения растений ^{15}N может быть использование органических соединений почвы, где азот обычно богат ^{15}N (Bidartondo et al., 2004; Hobbie, Hogberg, 2012). Прямое (с помощью корней) поглощение органического азота почвы кажется маловероятным, так как у некоторых видов *Gentianaceae* относительно слабо развита корневая система и сильна зависимость от микоризы (например, *Centaurium erythraea*; Grime et al., 1987). АМ грибы могут получать и транспортировать в корни такие органические соединения азота, как мономеры хитина (Jansa et al., 2019) или аминокислоты (Rains, Bledsoe, 2007; но см. Govindarajulu et al., 2005) из почвы. Вопрос о значении переноса углерода от АМ грибов в корни остается открытым, но, по крайней мере, это возможно во время разрушения арбускул внутри растительных клеток (Smith, Read, 2008). Мы рассматриваем частичную микогетеротрофию однолетних альпийских растений из *Gentianaceae* как адаптацию к завершению жизненного цикла за короткий вегетационный период в сообществах долгоживущих растений.

Мы поддерживаем ожидание Селосса и Рой (Selosse, Roy, 2009, p. 68), что полная “микогетеротрофия в семействе — это сильный предиктор миксотрофных видов” в этом семействе, и мы показали, что по крайней мере девять изученных альпийских видов *Gentianaceae* с зелеными ли-

стями обогащены ^{15}N и очень вероятно являются частично микогетеротрофными. Таким образом, мы поддерживаем идею, что *Gentianaceae* может считаться четвертым семейством покрытосеменных (после *Orchidaceae*, *Ericaceae* и *Burmanniaceae*) со значительной представленностью частично микогетеротрофных видов (Schiebold et al., 2017). Анализ изотопного состава корней наряду с использованием других изотопных и молекулярных методов для выявления микогетеротрофии в сем. *Gentianaceae* — направления для будущих исследований.

Работа М.И. Макарова и В.Г. Онипченко поддержана РФФ (грант № 16-14-10208а), работа Н.Г. Лавренова, А.А. Ахметжановой и Т.Г. Елумеевой поддержана РФФ (грант № 19-14-00038). Авторы благодарны Винсенту Мерксу (Vincent Merckx) и Марку-Андре Селоссу (Marc-André Selosse) за полезные советы и замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зернов А.С., Алексеев Ю.Е., Онипченко В.Г., 2015. Определитель сосудистых растений Карачаево-Черкесской республики. М.: Т-во науч. изд. КМК. 459 с.
- Akhmetzhanova A.A., Soudzilovskaia N.A., Onipchenko V.G., Cornwell W.K., Agafonov V.A. et al., 2012. A rediscovered treasure: Mycorrhizal intensity database for 3000 vascular plant species across the former Soviet Union // *Ecology*. V. 93. № 3. P. 689–690.
- Bellino A., Alfani A., Selosse M.-A., Guerrieri R., Borghetti M., Baldantoni D., 2014. Nutritional regulation in mixotrophic plants: New insights from *Limonium abortivum* // *Oecologia*. V. 175. № 3. P. 875–885.
- Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D., Read D.J., 2004. Changing partners in the dark: Isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees // *Proc. R. Soc. Lond. B*. V. 271. P. 1799–1806.
- Bidartondo M.I., Redecker D., Hijri I., Wiemken A., Bruns T.D. et al., 2002. Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi // *Nature*. V. 419. № 6905. P. 389–392.
- Bolin J.F., Tennakoon K.U., Majid M.B.A., Cameron D.D., 2017. Isotopic evidence of partial mycoheterotrophy in *Burmannia coelestis* (Burmanniaceae) // *Plant Species Biol.* V. 32. № 1. P. 74–80.
- Bowman W.D., Schardt J.C., Schmidt S.K., 1996. Symbiotic N_2 -fixation in alpine tundra: Ecosystem input and variation in fixation rates among communities // *Oecologia*. V. 108. № 2. P. 345–350.
- Brooks J.R., Flanagan L.B., Buchmann N., Ehleringer J.R., 1997. Carbon isotope composition of boreal plants: Functional grouping of life forms // *Oecologia*. V. 110. № 3. P. 301–311.
- Cameron D.D., Bolin J.F., 2010. Isotopic evidence of partial mycoheterotrophy in the *Gentianaceae*: *Bartonia virgi-*

- nica* and *Obolaria virginica* as case studies // *Am. J. Bot.* V. 97. № 8. P. 1272–1277.
- Carey E.V., Marler M.J., Callaway R.M., 2004. Mycorrhizae transfer carbon from a native grass to an invasive weed: Evidence from stable isotopes and physiology // *Plant Ecol.* V. 172. № 1. P. 133–141.
- Cernusak L.A., Ubierna N., Winter K., Holtum J.A.M., Marshall J.D., Farquhar G.D., 2013. Environmental and physiological determinants of carbon isotope discrimination in terrestrial plants // *New Phytol.* V. 200. № 4. P. 950–965.
- Courty P.-E., Walder F., Boller T., Ineichen K., Wiemken A. et al., 2011. Carbon and nitrogen metabolism in mycorrhizal networks and mycoheterotrophic plants of tropical forests: A stable isotope analysis // *Plant Physiol.* V. 156. № 2. P. 952–961.
- DeNiro M.J., Epstein S., 1976. You are what you eat (plus a few ‰): The carbon isotope cycle in food chains // *Geol. Soc. Am. Abs. Prog.* V. 8. P. 834–835.
- DeNiro M.J., Epstein S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals // *Geochim. Cosmochim. Acta.* V. 42. P. 495–506.
- Duursma R., Marshall J., 2006. Vertical canopy gradients in $\delta^{13}\text{C}$ correspond with leaf nitrogen content in a mixed-species conifer forest // *Trees Struct. Funct.* V. 20. P. 496–506.
- Gebauer G., Meyer M., 2003. ^{15}N and ^{13}C natural abundance of autotrophic and myco-heterotrophic orchids provides insight into N and C gain from fungal association // *New Phytol.* V. 160. № 1. P. 209–223.
- Gebauer G., Preiss K., Gebauer A.C., 2016. Partial mycoheterotrophy is more widespread among orchids than previously assumed // *New Phytol.* V. 211. № 1. P. 11–15.
- Govindarajulu M., Pfeffer P.E., Jin H.R., Abubaker J., Douds D.D. et al., 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Nature.* V. 435. № 7043. P. 819–823.
- Grime J.P., Mackey J.M.L., Hillier S.H., Read D.J., 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms // *Nature.* V. 328. № 6129. P. 420–422.
- Hobbie E.A., Hogberg P., 2012. Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics // *New Phytol.* V. 196. № 2. P. 367–382.
- Hynson N.A., Bidartondo M.I., Read D.J., 2015. Are there geographical mosaics of mycorrhizal specificity and partial mycoheterotrophy? A case study in *Moneses uniflora* // *New Phytol.* V. 208. № 4. P. 1003–1007.
- Hynson N.A., Schiebold J.M.-I., Gebauer G., 2016. Plant family identity distinguishes patterns of carbon and nitrogen stable isotope abundance and nitrogen concentration in mycoheterotrophic plants associated with ectomycorrhizal fungi // *Ann. Bot.* V. 118. № 3. P. 467–479.
- Hynson N.A., Madsen T.P., Selosse M.-A., Adam I.K.U., Ogura-Tsujita Y. et al., 2013. The physiological ecology of mycoheterotrophy // *Mycoheterotrophy: The Biology of Plants Living on Fungi.* N.Y.: Springer. P. 297–342.
- Jansa J., Forczek S.T., Rozmoš M., Püschel D., Bukovska P., Hřešlová H., 2019. Arbuscular mycorrhizal and soil organic nitrogen: Network of players and interactions // *Chem. Biol. Technol. Agric.* V. 6. № 10. P. 1–10.
- Klein T., Siegwolf R.T., Körner C., 2016. Belowground carbon trade among tall trees in a temperate forest // *Science.* V. 352. № 6283. P. 342–344.
- Klink S., Giesemann P., Hubmann T., Pausch J., 2020. Stable C and N isotope natural abundances of intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi // *Mycorrhiza.* V. 30. P. 773–780.
- Körner C., 2003. *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems.* Berlin: Springer. 349 p.
- Körner C., Leuzinger S., Riedl S., Siegwolf R.T., Streule L., 2016. Carbon and nitrogen stable isotope signals for an entire alpine flora, based on herbarium samples // *Alp. Bot.* V. 126. № 2. P. 153–166.
- Lallemand F., Gaudeul M., Lambourdiere J., Matsuda Y., Hashimoto Y., Selosse M.-A., 2016. The elusive predisposition to mycoheterotrophy in Ericaceae // *New Phytol.* V. 212. № 2. P. 314–319.
- Leake J.R., 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants // *New Phytol.* V. 127. № 2. P. 171–216.
- Leake J.R., Cameron D.D., 2010. Physiological ecology of mycoheterotrophy // *New Phytol.* V. 185. № 3. P. 601–605.
- Lerat S., Gauci R., Catford J.G., Vierheilig H., Piché Y., Lapointe L., 2002. ^{14}C transfer between the spring ephemeral *Erythronium americanum* and sugar maple saplings via arbuscular mycorrhizal fungi in natural stands // *Oecologia.* V. 132. № 2. P. 181–187.
- Makarov M.I., Onipchenko V.G., Malysheva T.I., Logtestijn R.S.P., van, Soudzilovskaia N.A., Cornelissen J.H.C., 2014. Determinants of ^{15}N natural abundance in leaves of co-occurring plant species and types within an alpine lichen heath in the Northern Caucasus // *Arct. Antarct. Alp. Res.* V. 46. № 3. P. 581–590.
- Merckx V., 2013. Mycoheterotrophy: an introduction // *Mycoheterotrophy: The Biology of Plants Living on Fungi.* N.Y.: Springer. P. 1–17.
- Merckx V., Stockel M., Fleischmann A., Bruns T.D., Gebauer G., 2010. ^{15}N and ^{13}C natural abundance of two mycoheterotrophic and a putative partially mycoheterotrophic species associated with arbuscular mycorrhizal fungi // *New Phytol.* V. 188. № 2. P. 590–596.
- Merckx V.S.F.T., Freudenstein J.V., Kissling J., Christenhusz M.J.M., Stotler R.E. et al., 2013. Taxonomy and classification // *Mycoheterotrophy: The Biology of Plants Living on Fungi.* N.Y.: Springer. P. 19–101.
- Molina J., Struwe L., 2009. Utility of secondary structure in phylogenetic reconstructions using nrDNA ITS sequences – an example from Potalieae (Gentianaceae: Asteridae) // *Syst. Bot.* V. 34. № 2. P. 414–428.

- Moore T., Alfonso A., Clarkson B.R., 2018. Plant uptake of organic nitrogen in two peatlands // *Plant Soil*. V. 433. № 1–2. P. 391–400.
- Nadelhoffer K., Shaver G., Fry B., Giblin A., Johnson L., McKane R., 1996. ^{15}N natural abundances and N use by tundra plants // *Oecologia*. V. 107. № 3. P. 386–394.
- Nakano A., Takanashi K., Kimura M., 1999. The carbon origin of arbuscular mycorrhizal fungi estimated from $\delta^{13}\text{C}$ values of individual spores // *Mycorrhiza*. V. 9. № 1. P. 41–47.
- Onipchenko V.G., 2004. Alpine Ecosystems in the Northwest Caucasus. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 407 p.
- Onipchenko V.G., Zobel M., 2000. Mycorrhiza, vegetative mobility and responses to disturbance of alpine plants in the Northwestern Caucasus // *Folia Geobot.* V. 35. № 1. P. 1–11.
- Ponsard S., Arditi R., 2000. What can stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) tell us about the food web of soil macroinvertebrates? // *Ecology*. V. 81. № 3. P. 852–864.
- Pörtl K., Zechmeister-Boltenstern S., Wanek W., Ambus P., Berger T.W., 2007. Natural ^{15}N abundance of soil N pools and N_2O reflect the nitrogen dynamics of forest soils // *Plant Soil*. V. 295. № 1–2. P. 79–94.
- Potapov A.M., Tiunov A.V., 2016. Stable isotope composition of mycophagous collembolans versus mycotrophic plants: Do soil invertebrates feed on mycorrhizal fungi? // *Soil Biol. Biochem.* V. 93. P. 115–118.
- Preiss K., Gebauer G., 2008. A methodological approach to improve estimates of nutrient gains by partially myco-heterotrophic plants // *Isot. Environ. Health Stud.* V. 44. № 4. P. 393–401.
- Preiss K., Adam I.K.U., Gebauer G., 2010. Irradiance governs exploitation of fungi: Fine-tuning of carbon gain by two partially myco-heterotrophic orchids // *Proc. R. Soc. Lond. B*. V. 277. № 1686. P. 1333–1336.
- R Core Team, 2017. R: A Language and Environment for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rains K.C., Bledsoe C.S., 2007. Rapid uptake of ^{15}N ammonium and glycine- ^{13}C , ^{15}N by arbuscular and ericoid mycorrhizal plants native to a Northern California coastal pygmy forest // *Soil Biol. Biochem.* V. 39. P. 1078–1086.
- Schiebold J.M.-J., Bidartondo M.I., Karasch P., Gravendeel B., Gebauer G., 2017. You are what you get from your fungi: Nitrogen stable isotope patterns in *Epipactis* species // *Ann. Bot.* V. 119. № 7. P. 1085–1095.
- Schiebold J.M.-J., Bidartondo M.I., Lenhard F., Makiola A., Gebauer G., 2018. Exploiting mycorrhizas in broad daylight: Partial mycoheterotrophy is a common nutritional strategy in meadow orchids // *J. Ecol.* V. 106. № 1. P. 168–178.
- Selosse M.-A., Martos F., 2014. Do chlorophyllous orchids heterotrophically use mycorrhizal fungal carbon? // *Trends Plant Sci.* V. 19. № 11. P. 683–685.
- Selosse M.-A., Roy M., 2009. Green plants that feed on fungi: Facts and questions about mixotrophy // *Trends Plant Sci.* V. 14. № 2. P. 64–70.
- Selosse M.-A., Charpin M., Not F., 2017a. Mixotrophy everywhere on land and in water: The *grant ecart* hypothesis // *Ecol. Lett.* V. 20. № 2. P. 246–263.
- Selosse M.-A., Bocayuva M.F., Kasuya M.C.M., Courty P.-E., 2017b. Mixotrophy in mycorrhizal plants: Extracting carbon from mycorrhizal networks // *Molecular Mycorrhizal Symbiosis*. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons. P. 451–471.
- Smith S.E., Read D.L., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. L.: Academic Press. 800 p.
- Struwe L., Kadereit J.W., Klackenborg J., Nilsson S., Thiv M. et al., 2002. Systematics, character evolution, and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification // *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P. 21–301.
- Suetsugu K., Matsubayashi J., Ogawa N.O., Murata S., Sato R., Tomimatsu H., 2020. Isotopic evidence of arbuscular mycorrhizal cheating in a grassland gentian species // *Oecologia*. V. 192. № 4. P. 929–937.
- Sykorova Z., Wiemken A., Redecker D., 2007. Cooccurring *Gentiana verna* and *Gentiana acaulis* and their neighboring plants in two Swiss upper montane meadows harbor distinct arbuscular mycorrhizal fungal communities // *Appl. Environ. Microbiol.* V. 73. № 17. P. 5426–5434.
- Tcherkez G., Mahe A., Hodges M., 2011. $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ fractionations in plant primary metabolism // *Trends Plant Sci.* V. 16. № 9. P. 499–506.
- Tedersoo L., Pellet P., Koljalg U., Selosse M.-A., 2007. Parallel evolutionary paths to mycoheterotrophy in understory Ericaceae and Orchidaceae: Ecological evidence for mixotrophy in Pyroleae // *Oecologia*. V. 151. № 2. P. 206–217.
- Trudell S.A., Rygielwicz P.T., Edmonds R.L., 2003. N and C stable isotope abundances support the myco-heterotrophic nature and host-specificity of certain achlorophyllous plants // *New Phytol.* V. 160. № 2. P. 391–401.
- Vanderklift M.A., Ponsard S., 2003. Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: A meta-analysis // *Oecologia*. V. 136. № 2. P. 169–182.
- Zhou Y., Fan J., Zhang W., Harris W., Zhong H. et al., 2011. Factors influencing altitudinal patterns of C3 plant foliar carbon isotope composition of grasslands on the Qinghai-Tibet Plateau, China // *Alp. Bot.* V. 121. № 2. P. 79–90.
- Zhu Y., Siegwolf R.T.W., Durka W., Körner C., 2010. Phylogenetically balanced evidence for structural and carbon isotope responses in plants along elevational gradients // *Oecologia*. V. 162. № 4. P. 853–863.
- Zimmer K., Hynson N.A., Gebauer G., Allen E.B., Allen M.F., Read D.J., 2007. Wide geographical and ecological distribution of N and C gains from fungi in pyrolloids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids // *New Phytol.* V. 175. № 1. P. 166–175.

Are alpine Gentianaceae plants mixotrophic?**V. G. Onipchenko^{a,*}, N. G. Lavrenov^a, A. V. Tiunov^b, M. I. Makarov^a, M. J. A. Werger^c,
A. A. Akhmetzhanova^a, T. G. Elumeeva^a, V. E. Smirnov^{d,e}, Wang Qian^f, Wu Yan^f**^a*Lomonosov Moscow State University, Department of Geobotany
Leninskie Gory, 1/12, Moscow, 119234 Russia*^b*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS
Leninsky prosp., 33, Moscow, 119071 Russia*^c*Plant Ecology & Biodiversity, Utrecht University
Utrecht, 3508 TB, The Netherlands*^d*Center for Forest Ecology and Productivity, RAS
Profsoyuznaya, 84/32, Moscow, 117997 Russia*^e*Institute of Mathematical Problems of Biology, RAS
Vitsevich, 1, Pushchino, 142290 Russia*^f*Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences
Renminnanlu, 9, Chengdu, 610041 China***e-mail: vonipchenko@mail.ru*

Partially mycoheterotrophic (mixotrophic) plants are considered to be more common among phylogenetic lineages that include fully mycoheterotrophic plants. Gentianaceae is one such group. Mixotrophy is not well known for alpine plants in contrast to species of tropical and temporal forests. We tested the hypothesis that green alpine species from the Gentianaceae family can be partially mycoheterotrophic. Leaves of nine pairs of species (alpine plants from the Gentianaceae + reference neighboring AM plants from other families) were collected in Tibetan (Sichuan, China) and Caucasian (Karachai-Cherkessian Republic, Russia) mountains. Stable isotope (¹³C, ¹⁵N) natural abundances were determined in fully developed leaves. In each case leaves of Gentianaceae plants were enriched in ¹⁵N more than the leaves of other plants served as comparisons. Except for two species from the section *Pneumonanthe* (*Gentiana asclepiadea* and *G. septemfida*) the studied Gentianaceae plants did not show significant ¹³C enrichment. We suggest that relative ¹⁵N enrichment of leaves may be considered as an indication of partial mycoheterotrophy in alpine Gentianaceae.

УДК 574.24:591.351:597.552.51

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЛОСОСЕВЫХ SALMONIDAE СЕВЕРНЫХ ШИРОТ

© 2021 г. Н. С. Шульгина¹, *, М. В. Чурова¹, Н. Н. Немова¹

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН
Пушкинская, 11, Петрозаводск, 185910 Россия

*E-mail: shulgina28@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.08.2020 г.

После доработки 17.10.2020 г.

Принята к публикации 20.10.2020 г.

Одним из факторов, влияющих на рост, развитие, пищевое поведение и обмен веществ рыб, является длина светового дня (фотопериод). Использование различных режимов регулирования фотопериода в период развития молоди лососевых оказывает влияние на время превращения пестрятки в смолта (процесс смолтификации), что в условиях искусственного выращивания способствует их более раннему переносу в морскую воду. Показано, что воздействие длительных периодов освещения на некоторых представителей Salmonidae является определяющим для отсрочки времени полового созревания при достижении особями необходимого размера. Обсуждаются также данные по синергетическому воздействию температуры и фотопериода на рост и репродуктивный цикл лососевых рыб с целью ускорения или задержки сроков развития ооцитов. Приводятся данные литературы и собственных исследований о влиянии световых режимов на формирование и рост скелетных мышц (на профили экспрессии генов в белых мышцах, экспрессию миогенных регуляторных факторов, наряду с изменениями уровней энергетического и углеводного метаболизма) у лососевых рыб.

DOI: 10.31857/S0044459621010073

Физиологические и поведенческие закономерности роста у животных, как правило, модулируются через взаимодействия с биотическими и абиотическими факторами окружающей среды. В основе поведения рыб, как и других животных, лежат циркадный (например, кормление) и цирканнуальный (например, нерест) циклы. Такое ритмичное поведение обычно контролируется устойчивым эндогенным ритмом, или биологическими часами, требующими для синхронизации циклов развития экзогенного сигнала (zeitgeber). Фотопериод, температура, наличие пищи — все эти факторы координируют цикличность процессов развития у большинства рыб (Bromage et al., 2001). Для рыб, обитающих в высоких широтах, таких как лососевые, именно сезонно меняющийся фотопериод, вероятно, является наиболее важным фактором, контролирующим их жизненный цикл (Voeuf, Falcón, 2002).

Рыбы, как и другие позвоночные, чувствительны к свету и воспринимают его посредством фоторецепторов сетчатки глаз и эпифиза (шишковидной железы), которые получают и преобразовывают эту информацию в нейрогормональные сигналы (Falcón et al., 2010). У атлантического лосося (*Salmo salar* L.) непосредственно шишковид-

ную железу покрывает прозрачная ткань, которую обычно называют “окном шишковидной железы”. В ответ на световые раздражители шишковидная железа, в зависимости от продолжительности светового дня, высвобождает в кровоток различное количество регуляторных химических веществ, в первую очередь индоламинный гормон — мелатонин. У некоторых видов этот ритм выработки гормона находится под эндогенным контролем (циркадной системы), но у лососевых секреция мелатонина контролируется только фотопериодом (Falcón, Zohar, 2018), и уровни циркулирующего мелатонина точно отражают цикл “свет–темнота”, а его синтез меняется обратно пропорционально освещенности: низкие уровни гормона в плазме и спинномозговой жидкости наблюдаются в течение дня, а высокие — ночью (Randall et al., 1995; Migaud et al., 2010). Мелатонин обладает нейрогормональными свойствами (влияет на метаболизм гормонов щитовидной железы, секрецию гормона роста) и оказывает комплексное воздействие на репродуктивную систему, потребление пищи, регулирует процессы роста, связанные с размножением у рыб (Migaud et al., 2010; Falcón, Zohar, 2018).

Одним из главных внутренних регуляторов роста является так называемая соматотропная ось — мультигормональная система, которая состоит из гормона роста (ГР), рецепторов ГР, инсулиноподобных факторов роста (ИФР), их рецепторов и связывающих белков. Соматотропная ось участвует во многих физиологических процессах у рыб, включая смолтификацию, половое созревание, поведение, дифференцировку, рост и пролиферацию клеток, скелетный и мышечный рост (Vjörnsson, 1997; Duan, 1998). Гормон роста, секретруемый гипофизом, стимулирует у лосося выработку в печени ИФР-I, особенно в периоды интенсивного роста, связанные со смолтификацией (McCormick et al., 2000). Таким образом, ось “ГР–ИФР”, наряду с другими гормонами, является неотъемлемой частью процессов, лежащих в основе роста и развития рыб. Воздействие продолжительных световых периодов приводит к повышению уровня ГР и ИФР-I, улучшению аппетита, уменьшению коэффициента конверсии корма и ускорению роста у лососевых (McCormick et al., 2000; Nordgarden et al., 2003, 2005; Taylor et al., 2005). Полагают, что увеличение уровня ИФР-I отражает сезонный рост рыб, обусловленный воздействием фотопериода, а увеличение потребления ими пищи является ответной реакцией на возрастание потребности в энергии для поддержания роста (Picha et al., 2008).

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ЛОСОСЕВЫХ

Было показано (Önder et al., 2016), что удлиненный световой день (24 ч — свет) положительно влияет на скорость утилизации желточного мешка у личинок ручьевой форели (*Salvelinus fontinalis* Mitchell, 1814), которые достигают большего размера и обнаруживают меньшую смертность (“отход”) при переходе с эндогенного типа питания на экзогенный по сравнению с группами, находящимися при естественном освещении и без освещения.

Другими исследованиями (Endal et al., 2000; Johnston et al., 2003b; Oppedal et al., 2006; Hansen et al., 2017) было продемонстрировано, что в зимний период при воздействии постоянного освещения рост рыб не прекращается, в то время как в естественных условиях обитания он замедляется на протяжении осени и зимы. На практике этот эффект используют многие фермеры в Норвегии и Шотландии для улучшения роста рыб в период с октября по апрель. В обзоре исследований по влиянию фотопериода на рост рыб (Voeuf, Falcón, 2002) было отмечено, что искусственно измененный фотопериод действует на лососевых как директивный фактор, контролирующий рост по

средством прямой фотостимуляции соматотропной оси или как “zeitgeber”, т.е. синхронизируя эндогенные ритмы с годовым циклом (Endal et al., 2000; Oppedal et al., 2006). Постсмолты атлантического лосося, которых осенью перенесли в морскую воду и содержали при постоянном освещении (24С) с января по июнь, спустя пять месяцев после включения света были больше по массе и имели более высокий коэффициент упитанности по сравнению с группами, находящимися при естественном освещении (Hansen et al., 2017). Ранее в ряде работ также было установлено, что непрерывный искусственный свет, наложенный на естественный цикл освещенности, увеличивающийся в конце зимы и весной, оказывает стимулирующее воздействие на рост атлантического лосося в морских садках (Endal et al., 2000; Johnston et al., 2003b; Oppedal et al., 2006). Так, смолты атлантического лосося возраста 0+, которых перенесли в морскую воду и содержали при разных сочетаниях естественного и постоянного освещения, росли лучше при круглосуточном освещении, чем при естественном, и были на 21% больше по массе (Oppedal et al., 2006). Рыбы реагировали на удлиненный световой режим опережающим сезонное развитие ростом и повышением коэффициента упитанности, долговременным усилением роста и улучшенной конверсией корма. В похожем эксперименте (Endal et al., 2000) было показано, что по сравнению с контрольной группой (естественное освещение) воздействие непрерывного дополнительного освещения на постсмолтов атлантического лосося в период с ноября, декабря или января по июль привело к снижению их удельных темпов роста на 48–52% в течение первых 6 недель с последующим повышением в течение следующих 4–5 мес. Чем дольше было воздействие постоянного освещения, тем дольше сохранялся период более высоких темпов роста, что предполагает прямую фотостимуляцию роста — эффект будет иметь силу только до тех пор, пока применяется дополнительное освещение. В подтверждение теории прямой фотостимуляции роста рыб было установлено (Taylor, Migaud, 2009), что чем раньше и чем длительнее происходит воздействие постоянного освещения на молодь радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), выращиваемую в осенне-весенний период в бассейнах с пресной водой, тем выше темпы ее роста в течение более продолжительного периода. В другой работе (Johnston et al., 2003b) также было высказано предположение, что усиление роста мышц у особей атлантического лосося, содержащихся при непрерывном освещении в зимний период их жизни в море, может быть вызвано прямой фотостимуляцией. Спустя 40 дней после включения непрерывного освещения эти рыбы имели на 28.5% больше мышечных волокон, нежели особи, выращенные

при естественном освещении. Впоследствии рыбы в условиях постоянного освещения росли лучше и достигли на 30% большей массы тела после середины лета.

В исследованиях, описанных выше (Endal et al., 2000; Orpedal et al., 2006), авторы наблюдали за рыбами на протяжении более длительного времени (10–12 мес.), что позволило выявить продолжительный эффект на темпы роста постсмолтов лосося и после выключения дополнительного освещения (24С : 0Т) (в отличие от таковых при естественном освещении). Это подтверждает теорию скорректированного годового ритма роста – постоянное освещение регулирует круглогодичные (сезонные) ритмы аппетита и роста, т.е. фотопериод действует как “zeitgeber”, а не как прямой стимулятор роста у постсмолтов лосося.

Вероятно, стимуляция роста связана прежде всего с удлинением световым днем, а не с более длительным периодом кормления. Этот эффект следует интерпретировать как стимуляцию аппетита посредством нейроэндокринных реакций в ответ на воздействие длинного светового дня (Strand et al., 2018). Лососевые особенно восприимчивы к удлинению продолжительности дня и хорошо растут при непрерывном освещении, постоянно питаются во время фотофазы. Было установлено, что рост атлантического лосося может зависеть от воздействия света не только благодаря стимулирующему влиянию последнего на потребление пищевых ресурсов (повышение аппетита) (Handeland et al., 2003), но и за счет более эффективной конверсии корма в условиях дополнительного освещения (Nordgarden et al., 2003). При разведении радужной форели с целью ускорения роста рыб и снижения коэффициента конверсии корма также было рекомендовано (Ergün et al., 2003; Sonmez et al., 2009; Barimani et al., 2013) использовать более продолжительные периоды освещения (16С : 8Т и 24С : 0Т).

При изучении влияния постоянного/естественного освещения, а также режимов кормления на рост личинок радужной форели, выращиваемых в открытых бассейнах с пресной водой, было обнаружено, что на стимуляцию роста влияет не удлинение периода кормления, а увеличение продолжительности дневного освещения как такового (Taylor et al., 2006). Поскольку у радужной форели сохраняются ритмы пищевого поведения “по требованию” и после перехода к постоянному освещению (Sánchez-Vázquez, Tabata, 1998), усиленный рост рыб, скорее всего, является следствием физиолого-биохимических изменений метаболизма, приводящих к повышению двигательной активности, улучшению аппетита и/или конверсии корма при увеличении продолжительности светового дня (Imsland et al., 1995; Petit et al., 2003).

Поскольку в природных условиях имеет место синергетическое воздействие фоторежима и температуры среды на рыб, представляется интересным вопрос о том, в какой степени свет может компенсировать снижение темпов роста атлантического лосося в период его выращивания при низких температурах морской воды. В настоящее время информации об этом не так много. Например, было показано (Døskeland et al., 2016), что эффект непрерывного освещения, стимулирующий рост, может проявляться сильнее при низкой температуре окружающей среды по сравнению с почти оптимальной, что свидетельствует об обратной зависимости температуры и степени влияния непрерывного света на рост рыб. Кроме того, по мнению авторов, использование дополнительного искусственного освещения будет положительным образом сказываться на коэффициенте конверсии корма, а следовательно, и на росте постсмолтов лосося, только при выращивании рыб в более холодной среде в зимний период. Аналогичная взаимосвязь между ростом постсмолтов атлантического лосося и совместным влиянием низкой температуры среды и постоянного освещения была отмечена в более позднем исследовании (Imsland et al., 2019). Имеются исследования длительного воздействия (с июня одного года по июль следующего) фотопериода (непрерывного освещения или имитирующего естественный фотопериод), постоянной температуры (8.3 или 12.7°C) и их взаимодействия на физиологию роста у атлантического лосося до и после смолтификации (Imsland et al., 2014). Показано, что рост рыб на всем протяжении эксперимента был самым высоким при непрерывном освещении и 12°C, и что само по себе влияние постоянного освещения, усиливающего рост, соответствует эффекту, наблюдаемому от повышения температуры воды на 4.5°C, поскольку достоверных различий между средним конечным весом рыб, выращенных при естественном фотопериоде и 12°C, и рыб, выращенных при постоянном освещении и 8°C, обнаружено не было.

Следует заметить, что сравнивать результаты представленных выше исследований необходимо с осторожностью, поскольку реакция рыб на фотопериод может зависеть от многих факторов, таких как, например, воздействие предыдущих режимов фотопериода, сроки этого воздействия, стадии развития особей, температура воды, а также сезонные колебания температуры окружающей среды.

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА РЕПРОДУКТИВНЫЙ СТАТУС НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ЛОСОСЕВЫХ

На основании многолетних результатов исследований лососевых, а также других видов рыб,

было сделано заключение, что годовые физиологические ритмы у них следуют за сезонными изменениями, сопряженными с продолжительностью светового дня, а половое созревание инициируется или задерживается в течение так называемого критического временного интервала, или “окна возможностей”, обусловленного факторами, отражающими физиологический статус особей, такими как возраст, размер, скорость роста, питание, запас энергии, стадия развития гонад (Duston, Saunders, 1992; Taranger et al., 1999, 2010; Bromage et al., 2001; Taylor et al., 2008). Процесс полового созревания рыб, как сезонно размножающихся животных, регулируется посредством восприятия ими сигналов окружающей среды (zeitgebers), которые синхронизируют эндогенный репродуктивный цикл с годовым календарным временем (Bromage et al., 2001; Migaud et al., 2010; Taranger et al., 2010). На развитие гонад, размножение и восстановление расходуется энергия, что требует увеличения количества корма, а это может поставить под угрозу эффективность аквакультурного выращивания лососевых (Leclercq et al., 2011). Это связано с тем, что половое созревание влияет на их размер, скорость роста, запасы энергии и период нереста (McMillan et al., 2012; Liu, Duston, 2016). Следовательно, контроль наступления полового созревания и его задержка до нерестового периода является приоритетным направлением в промышленном разведении лососевых рыб. В конце 1980-х и начале 1990-х годов экспериментальные исследования продемонстрировали возможность использования искусственного освещения в качестве метода снижения частоты нежелательного полового созревания (Taranger et al., 1995; Oppedal et al., 1997) и одновременного увеличения скорости роста (Saunders, Harmon, 1988; Hansen et al., 1992) у атлантического лосося, выращиваемого в условиях садкового рыбоводства. При промышленном разведении рыб в морских садках было показано, что применение непрерывного искусственного освещения в период с января по июнь (между зимним и летним солнцестоянием) является наиболее эффективным способом снижения темпа полового созревания у лососевых (Bromage et al., 2001; Porter et al., 2003; Schulz et al., 2006; Leclercq et al., 2011). В другой работе (Good et al., 2016) также было установлено, что среди особей атлантического лосося, которые подвергались непрерывному освещению в течение первого года жизни в пресной воде в системе с установкой замкнутого водоснабжения (УЗВ), наблюдалась значительно более низкая доля половозрелых самцов, чем среди тех, которые содержались при уменьшенной продолжительности светового дня (18С : 6Т). Предполагается, что при выращивании лосося в условиях воздействия постоянного освещения “критический период”, необходимый для инициации полового созревания,

отодвигается, предотвращая тем самым наступление порога развития (критического физиологического статуса), связанного с повышенным соматическим ростом и/или запасом энергии (Taranger et al., 1999).

Результаты исследования влияния искусственно продленного фотопериода (режим 18С : 6Т был установлен в трех разных группах в 1-й, 23-й и 46-й дни испытания соответственно) на половое созревание, скорость роста и общую продуктивность ручьевой форели (*S. fontinalis*) с начальной массой 192 г показали увеличение темпов линейного и весового роста и задержку развития гонад и полового созревания рыб в экспериментальных группах (Lundova et al., 2019a). Среди рыб контрольных групп (с естественным режимом фотопериода) было обнаружено значительно большее число половозрелых особей. Рыбы из экспериментальных групп достигли половой зрелости после завершения испытания. У групп, содержащихся в условиях длительного освещения, вероятно, энергозатраты в меньшей степени шли на половое созревание, по сравнению с контрольными группами. Эти выводы были подтверждены авторами в еще одном исследовании, где форель содержали в период до и после нереста при естественном освещении, а также в условиях искусственно удлиненного фотопериода (Lundova et al., 2019b). Ранее на основании экспериментальных данных (Noori et al., 2015) было высказано предположение о том, что влияние длительного искусственного фотопериода на ростовые характеристики рыб, вероятно, связано с перераспределением доступной энергии, которая “перенаправляется” от развития гонад на соматический рост (рост мышц) и накопление жира в брюшной полости. Согласно результатам этой работы, наблюдается усиление соматического роста радужной форели (значительно более высокие значения среднего конечного веса, удельных темпов роста, а также коэффициента упитанности) при воздействии продолжительных световых режимов (24С : 0Т и 18С : 6Т) было связано как с улучшением эффективности усвоения потребляемой пищи, так и с подавлением полового созревания за счет замедления развития гонад (Noori et al., 2015). Снижение частоты полового созревания в группах с постоянным освещением в данном исследовании согласуется с более ранними исследованиями, проведенными на молоди лосося, перенесенной весной в морскую воду (Oppedal et al., 2006; Leclercq et al., 2011).

Согласно результатам двух длительных экспериментов было показано, что более продолжительное воздействие непрерывного освещения (с поздней осени до весны) способствует ускорению роста и замедлению полового созревания у атлантического лосося в период его выращивания в морских садках (Imstrand et al., 2017). Рыб сначала

подвергали воздействию постоянного освещения, которое вводилось в ноябре или декабре, а затем выращивали в тех же условиях до марта следующего года. В “ноябрьских” группах рост был лучше на 13–20%, а коэффициент конверсии корма – достоверно ниже (лучше эффективность преобразования корма) по сравнению с “декабрьскими” группами, что может быть связано с положительным влиянием постоянного освещения на эти процессы. Ни у одной из экспериментальных групп лосося не наблюдали полового созревания, что свидетельствует о том, что непрерывное освещение с ноября по март является очень мощным механизмом, влияющим на этот процесс. Авторы заключили, что можно значительно улучшить рост атлантического лосося в первый год его обитания в море, если подвергать его воздействию непрерывного освещения начиная с ноября, т.е. на месяц раньше, чем в настоящее время используется при промышленном выращивании лосося в Северной Норвегии.

В других работах (Berrill et al., 2003, 2006) было показано, что введение периода короткого светового дня (“зимнего” режима фотопериода – 10С : 14Т) на ранних этапах развития лосося способствует преждевременному половому созреванию молодки, которое, кроме того, зависит и от продолжительности воздействия такого короткого фотопериода.

Воздействие фотопериода на половое созревание лососевых изучалось также при его взаимодействии с температурой воды, которая играет важную роль в непосредственном контроле репродуктивных циклов лососевых и является конечным синхронизирующим сигналом, в частности, для окончательного созревания гамет и нереста (Bromage et al., 2001; Pankhurst, King, 2010; Taranger et al., 2010). Так, было показано (Fjellidal et al., 2011), что значительно более высокая доля половозрелых самцов лосося, как во время, так и сразу после смолтификации, наблюдалась в популяциях при воздействии непрерывного освещения и повышенной температуры воды (16°C) в течение 6–12 нед., по сравнению с группами, содержащимися в естественных световых и температурных условиях окружающей среды. Также в другой работе (Imsland et al., 2014) было установлено, что доля половозрелых самцов-смолтов атлантического лосося была выше среди особей, содержащихся на протяжении года при постоянном освещении и более высокой температуре воды (12°C), в отличие от рыб группы с температурным режимом 8.3°C. Это указывает на то, что фотопериод является директивным сигналом для наступления половой зрелости рыб, а температура контролирует степень влияния фотопериода на этот процесс.

ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДА НА ПРОЦЕСС СМОЛТИФИКАЦИИ АТЛАНТИЧЕСКОГО ЛОСОСЯ

Процесс трансформации пестрятки в смолта (смолтификация) у атлантического лосося представляет собой совокупность метаболических и поведенческих изменений развития, включая повышенную толерантность к солености воды, развитие гипоосморегуляции, серебрение, ускорение роста, удлинение и приобретение более обтекаемой формы тела, подготовку на уровне метаболизма, а также миграционное поведение (Казаков, Веселов, 1998; Немова и др., 2019). Все это превращает темную, ведущую придонный образ жизни пестрятку в серебристого пелагического смолта, подготовленного для жизни в океане (McCormick, 2013). Время наступления такой трансформации в естественной среде обитания контролируется путем увеличения длины светового дня весной. Изменения в продолжительности светового дня служат сезонными сигналами, которые воспринимаются молодью лосося и синхронизируются с его эндогенными ритмами, контролирующими развитие (Duston, Saunders, 1990). Информация о фотопериоде окружающей среды передается в эндокринные системы посредством связи “свет–мозг–гипофиз” с последующей гормональной регуляцией функций различных тканей, участвующих в смолтификационных перестройках. Отсутствие фотопериодических сигналов в этот период может нарушить развитие гипоталамо-гипофизарной оси (Ebbesson et al., 2007), в результате чего эндокринная система не активируется. У таких “псевдосмолтов”, как правило, будет снижена толерантность к солености, а следовательно, и нарушена адаптация к морской среде (McCormick, 2013).

В условиях искусственного выращивания лосося наступление периода смолтификации достигается с помощью имитации естественного фотопериодического сигнала – либо путем воздействия на рыб увеличением длины светового дня, подобного естественному, либо путем воздействия последовательности режимов фотопериода “лето–зима–лето”, уменьшая при этом продолжительность зимнего периода освещения (Duston, Saunders, 1990; Thrush et al., 1999). Было показано, что постепенное увеличение длины фотопериода до постоянного освещения вызывает проявление характеристик смолтификации только у пресмолтов, которые ранее подвергались воздействию фотопериода в 13 ч или менее (Berge et al., 1995). В ряде работ (Handeland, Stefansson, 2001; Oppedal et al., 2006; Ebbesson et al., 2007) установлено, что минимальный период воздействия короткого (зимнего) фотопериода (в течение шести недель), за которым следует увеличение длины светового дня, необходим для завершения трансформации пест-

рятьки в смолта. Другие авторы предположили (Bergill et al., 2003, 2006), что использование “зимних” фотопериодов (10С : 14Т) как можно раньше (с мая) способствует в дальнейшем ускорению наступления смолтификации. Кроме того, они обнаружили, что более продолжительный (12-недельный по сравнению с 8-недельным) короткий световой день (“зимний” фотопериод), стимулирует смолтификацию. Это говорит о том, что воздействие достаточно коротких по продолжительности световой фазы фотопериодов, которые воспринимаются рыбами как зимний режим освещения, необходимо для того, чтобы последующее увеличение длины светового дня стимулировало процесс смолтификации. О процессах, инициируемых коротким фотопериодом, известно крайне мало, тогда как реакция на увеличение длины светового дня описана довольно хорошо. Эта реакция (процесс завершения смолтификации) характеризуется уменьшением коэффициента упитанности и увеличением устойчивости к солености воды, ускорением роста, повышением активности жаберной Na^+/K^+ -АТФазы, а также увеличением концентрации гормона роста в плазме (Handeland et al., 2003; McCormick, 2013). Показано (McCormick et al., 2007), что уровни гормона роста в плазме смолтов атлантического лосося быстро повышаются в ответ на искусственное увеличение продолжительности светового дня и коррелируют с увеличением жаберной Na^+/K^+ -АТФазы и развитием толерантности к солености.

Известно, что процесс смолтификации у *S. salar* стимулируется увеличением длины фотопериода весной. Тем не менее продолжительность светового дня непрерывно увеличивается в период между зимним и летним солнцестоянием, и информация о том, когда конкретно в этот промежуток времени происходит смолтификация, отсутствует. Для выяснения длины светового дня, критической для стимуляции завершения трансформации пестрятки в смолта у атлантического лосося, была проведена сложная серия экспериментов (Strand et al., 2018), в которых варьировалась продолжительность и сезонность разных режимов фотопериода (постоянный свет, режимы 8С : 16Т, 12С : 12Т, 16С : 8Т, 20С : 4Т, 24С : 0Т) на протяжении двух лет исследования. Согласно полученным результатам, во всех группах рыб независимо от режима освещения была выявлена способность к гипоосморегуляции, однако только группы, выращенные при воздействии более продолжительных фотопериодов (20С : 4Т и 24С : 0Т), имели характерные для смолтов признаки завершённой смолтификации. Кроме того, было показано, что амплитуда изменения фотопериода повлияла на развитие смолтов: у особей, акклиматизированных к короткому световому дню в зимний период, последующее увеличение фотопериода сверх 16 ч вызвало запуск смолтификационных

перестроек. Это позволяет сделать вывод о том, что для стимуляции завершения трансформации пестрятки в смолта у лосося, обитающего в северных широтах, продолжительность периода освещения должна превышать 16 ч. Выращенные в искусственных условиях сеголетки (возраст 0+) лосося могут переноситься в море уже поздней осенью (при уменьшающемся фотопериоде), т.е. на 7–8 мес. раньше, чем это происходит в природе (Duston, Saunders, 1995; Orpedal et al., 1999). Это достигается путем прерывания воздействия постоянного освещения коротким световым днем, когда пестрятки проявляют признаки, характерные для смолтов. Таким образом, можно производить 7–8-месячных смолтов, хорошо растущих и способных адаптироваться к морской воде.

Согласно другим исследованиям (Berge et al., 1995; Handeland, Stefansson, 2001; Stefansson et al., 2007), искусственный фотопериод может нарушить эндокринные и молекулярные механизмы (ион-регулирующие), контролирующие развитие у лосося способности к гипоосморегуляции и завершение трансформации молоди в смолтов. Так, был проведен эксперимент (Stefansson et al., 2007), в котором молодь атлантического лосося с октября (за восемь месяцев до ожидаемого завершения смолтификации) подвергали воздействию либо постоянного освещения, либо фотопериода, имитирующего естественный. Молодь, выращенная при постоянном освещении, росла хорошо, но не показала характерного для смолтов снижения коэффициента упитанности весной. Активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах была значительно ниже у молоди при постоянном освещении, чем у группы с естественным фотопериодом. Это указывает на то, что непрерывный свет препятствует завершению трансформации пестряток в смолтов на самом базовом уровне, нарушая развитие оси “свет—мозг—гипофиз”, что ведет к отсутствию естественной активации ключевых элементов эндокринной системы, участвующих в регуляции этого процесса, и, следовательно, подавляет связанное со смолтификацией увеличение экспрессии, количества и активности ион-транспортирующих белков в жабрах. Таким образом, постоянное освещение ингибирует нормальную программу развития смолта, поэтому такие “псевдосмолты”, как правило, не способны адаптироваться и нормально функционировать в морской воде, поскольку ионные регуляторные механизмы остаются недоразвитыми. Тот факт, что у рыб, выращенных при постоянном освещении, активность Na^+/K^+ -АТФазы в жабрах осталась на низком уровне даже при воздействии морской воды, указывает на отсутствие способности к акклиматизации на молекулярном и клеточном уровне.

Таким образом, можно заключить, что непрерывный свет способствует ускорению темпов роста и наступлению периода трансформации пестряток в смолтов лосося, однако для нормального развития и успешного завершения процесса смолтификации необходимо подвергать рыбу воздействию короткого периода освещения с последующим увеличением продолжительности светового дня, как было показано в упомянутых исследованиях.

ВЛИЯНИЕ ПЕРИОДИЧНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ НА МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА

Рост рыб, как известно, — это сложный физиологический процесс, включающий в себя множество взаимодействующих составляющих: от генетических особенностей организма до факторов окружающей среды. Последние могут как усиливать, так и ограничивать экспрессию основных генов, влияющих на рост. Это связано с тем, что различные условия окружающей среды могут модифицировать фенотипические характеристики роста до такой степени, что кажущиеся идентичными генотипы часто могут проявляться в противоположных фенотипах. Поэтому в количественных генетических исследованиях проводить оценку эффективности роста только по генотипическим показателям без учета взаимодействия генотипа с окружающей средой трудно и потенциально некорректно. Выявление генов, которые могут служить ключевыми индикаторами потенциальной эффективности роста у рыб, сложнее, чем у других классов позвоночных, поскольку на рост мышечной массы рыб влияют гены, которые регулируют как рекрутирование мышечных клеток, так и миогенную гиперплазию или клеточную пролиферацию, а также гены, регулирующие рост и слияние отдельных миотуб, что приводит к формированию миофибрилл и последующей гипертрофии мышечных волокон (Johnston et al., 2011). Гипертрофию можно охарактеризовать как стадию роста в развитии мышц, ведущую к увеличению мышечной массы. У видов, относящихся к другим классам позвоночных, рост мышц в период после миогенеза клеток-предшественников (МКП) на ранней стадии развития происходит в основном за счет гипертрофии. Однако у рыб на гиперпластический и гипертрофический циклы роста мышц влияют факторы окружающей среды, поэтому для изучения этих процессов решающее значение имеет понимание сути этого воздействия.

Рост рыб, обитающих в умеренных широтах, происходит циклически: сезонные изменения как фотопериода, так и температуры могут способствовать более быстрому (в весенний и летний периоды) или более медленным периодам роста,

сопровождающимся снижением температуры воды и продолжительности светового дня (осенний и зимний периоды). Повышение температуры воды увеличивает темпы роста рыб, но удлинение периода освещения может оказывать аналогичное воздействие даже при постоянной температуре. Также было показано, что, например, у отдельных особей лососевых видов рыб циклы роста могут значительно различаться ежедневно (Hosn et al., 1997; Voeuf, Falcón, 2002), поэтому при изучении динамики роста у рыб важно учитывать влияние режима фотопериода на различия в экспрессии генов.

Многие из факторов окружающей среды, которые могут влиять на характер роста рыб в природе, трудно контролировать, даже если исследования проводятся в лабораторных или заводских условиях. Несмотря на это, влияние одного или двух факторов на показатели роста рыб можно оценить на основе анализа уровней экспрессии генов, которые играют важную роль в этих процессах.

Было проведено исследование (Danzmann et al., 2016) влияния уменьшения продолжительности периода освещения (к зимнему солнцестоянию; “сентябрьская” группа) и ее увеличения (к весеннему равноденствию; “декабрьская” группа) на профили экспрессии генов в белых мышцах у быстро- и медленно растущей радужной форели. Обнаружено, что сезонность оказывает сильное влияние на профили экспрессии генов в белых мышцах у этих рыб. Несмотря на значительное влияние режима фотопериода на различия в экспрессии генов, такие же существенные различия были выявлены между крупной и мелкой рыбой, что соответствует определенным закономерностям экспрессии генов в периоды активного роста. В ответ на действие факторов окружающей среды, способствующих ускорению темпов роста рыб, в большей степени были экспрессированы те же гены, что и у быстрорастущих рыб, в то время как в периоды снижения темпов роста, вызванного влиянием окружающей среды, профиль экспрессии генов был очень схож с тем, который наблюдался у более мелких рыб. В мышцах крупных рыб было обнаружено большое количество транскриптов генов с перекрывающимися функциями, которые связаны с метаболизмом углеводов (расщеплением (PYGM, AGL) и синтезом (GYS1) гликогена, глюконеогенезом (PC, GPI, FBP2), гликолизом, ПФЦ, метаболизмом фруктозы, маннозы и глюкозы и т.д.), метаболизмом липидов (липопротеинов, триацилглицерола жирных кислот и кетонов, мобилизацией и транспортом липидов и т.д.), а также с реакцией на стресс, включая иммунный ответ. Анализ также показал, что гены, ответственные за такие процессы, как гибель клеток, апоптоз, запрограммированную гибель клеток и ее регуляцию, а также пути, связанные с

процессами в сосудах, такими как каскады комплемента, коагуляция и лимфатический ангиогенез, были более высоко экспрессированы у крупных рыб. Точно так же у рыб при увеличении периода освещения (в декабре) была отмечена наиболее высокая экспрессия генов, связанных с метаболизмом углеводов, транспортом, анатомическим строением, а также реакцией на стресс (например, *PGK1*, *PGK2*, *ALDOA*, *PKM*, *ENO1*, *GAPDH*, *PFKM*, *FBP2*, *GPI* и *LDHA*, а также *GADL1*, *SAA*, *APOE*, *MYH* и *HSPB6*). Рыбы при уменьшении периода освещения (в сентябре) демонстрировали высокую экспрессию генов, связанных с транспортной (*ALB1*, *PVALB*), транспортной и защитной (*HPX*, *SERPINA1*, *PON2*, *APOC2*, *CFB*, *RGC32*), а также сигнальной (*NDRG2*, *FST*, *FOXL2*) функциями белков, которая была схожа с профилями генов, наблюдаемыми у мелких рыб. Что касается динамики роста мышечных волокон, установлено усиление процессов гиперплазии у крупных рыб в периоды освещения по сравнению с мелкими особями, у которых, напротив, наблюдалось преобладание гипертрофии. Кроме того, авторы указали на то, что гены, экспрессия которых усиливалась у быстро- или медленно растущих особей радужной форели в разные сезоны, можно рассматривать в качестве потенциально подходящих для выявления различий в росте у лососевых рыб, а также в качестве модельных для других видов рыб умеренных вод, имеющих схожие с лососевыми пищевые предпочтения.

Абиотические (температура, длина дня, характеристики потока воды, гипоксия) и биотические (доступность пищи, паразитарные инфекции) факторы среды оказывают комплексное воздействие на сигнальные пути, регулирующие пролиферацию и дифференцировку миогенных клеток-предшественников (МКП), синтез и деградацию белков, а также характер экспрессии генов у молоди и взрослых рыб (Johnston, 2006). Основным механизмом увеличения мышечной массы на постэмбриональных стадиях развития рыб является мозаичная гиперплазия мышечных волокон с участием популяций пролиферирующих МКП, рассеянных по всему миотому (Rowlerson, Veggetti, 2001). Новые миотубы формируются на остове существующих волокон, образуя таким образом мозаичную структуру мышечных волокон. У атлантического лосося процесс мозаичной гиперплазии начинается приблизительно в период первого кормления, сохраняется на протяжении жизни в пресной воде и продолжается первое время после миграции в море (Johnston, 2006). Ранее у атлантического лосося на пресноводных стадиях жизненного цикла была выявлена зависимость от температурного режима окружающей среды таких параметров, как максимальное количество мышечных волокон (FN_{max}) и плотность распределения МКП (Johnston et al., 2003a). Известно,

что продолжительность суточного периода освещения влияет на концентрацию некоторых гормонов и факторов роста, которые, в свою очередь, влияют на поведение миогенных клеток (Johnston, 2006). И хотя влияние фотопериода на характер роста мышц у атлантического лосося не изучалось в той же степени, что и влияние температуры, была показана важность фотопериодического режима для роста скелетных мышц (Johnston et al., 2003b). Авторы исследовали рост быстрой миотомальной мускулатуры у атлантического лосося (рыбы провели год в морской воде), сравнивая группы, содержащиеся при воздействии либо естественного режима фотопериода, либо непрерывного освещения с 1 ноября по 18 июня. Согласно результатам исследования, воздействие непрерывного освещения улучшило рост рыб, что привело к увеличению их средней массы тела на 30% по сравнению с группой, содержащейся при естественном режиме фотопериода, но не оказало влияния на половое созревание. Значительное увеличение массы тела особей в группах с непрерывным освещением наблюдалось через 126 дней после начала эксперимента. Авторы предположили, что такая задержка увеличения массы тела у рыб при непрерывном освещении отражает время, необходимое для гипертрофии мышечных волокон, которые формируются после прекращения воздействия короткого периода освещения (до эксперимента), ингибирующего этот процесс. Это предположение согласуется с тем, что только спустя 40 дней воздействия режима 24С : 0Т в мышцах рыб наблюдалось увеличение плотности распределения МКП до уровня, на 70% превышающего уровень у рыб, содержащихся при естественном фотопериоде. Увеличение количества МКП привело к пропорциональному увеличению количества мышечных волокон и их последующей гипертрофии. Однако после того, как в начале весны продолжительность дня начала удлиняться, скорость рекрутирования мышечных волокон была одинаковой в обеих группах. Таким образом, короткий световой день, по видимому, тормозит пролиферацию МКП и, следовательно, рост мышц. Возможно, более раннее воздействие непрерывного освещения будет оказывать большее влияние на рекрутирование мышечных волокон, и наоборот. Результаты исследования согласуются с точкой зрения о том, что определенные генетические механизмы контролируют, с одной стороны, продолжительность процесса рекрутирования мышечных волокон, а с другой – его интенсивность. По мнению авторов, это связано с тем, что непрерывное освещение влияет на увеличение количества делений МКП и/или уменьшение продолжительности их клеточного цикла. Тем не менее воздействие постоянного освещения не повлияло на различия между группами по степени гипертрофии волокон,

что указывает на то, что генетические механизмы, контролируемые этот процесс, отличаются от механизмов, регулирующих образование миотуб. Таким образом, результаты подтвердили выдвинутую авторами гипотезу о том, что у лососей, содержащихся при непрерывном освещении зимой и весной, наблюдалось увеличение рекрутирования мышечных волокон по сравнению с особями, растущими при естественном режиме фотопериода. Подобный результат был получен (Johnston et al., 2004) для внесезонных смолтов атлантического лосося. Пестряток лосося сначала содержали в условиях режима фотопериода 10С : 14Т в течение шести недель, а затем при постоянном освещении в пресной воде. Далее рыбу переместили в бассейны с соленой водой, где часть смолтов продолжила расти при постоянном освещении, а другую часть молоди перевели в естественный режим фотопериода (характерный для января). В апреле всю рыбу переместили в морские садки. Согласно результатам исследования, в течение 6–9 мес. после смолтификации показатели роста особей лосося, выращиваемых при постоянном освещении на протяжении всего эксперимента, превосходили таковые у рыб, которых вернули в условия естественного режима фотопериода. После выключения постоянного освещения средний вес тела рыб был на 80% выше, а число мышечных волокон на поперечном сечении миотома на 43.5% больше по сравнению с особями в группе с естественным фотопериодом. Кроме того, плотность быстрых мышечных волокон оставалась на 7.5% выше у рыб при постоянном освещении. Авторы пришли к выводу, что использование непрерывного освещения при выращивании лосося после его переноса в морскую воду оказывает небольшое, но значительное влияние на рост мышц, что приводит к более высокой плотности мышечных волокон.

Попытка оценить влияние постоянного освещения на уровни экспрессии миогенных регуляторных факторов, энергетический метаболизм в мышцах и темпы роста атлантического лосося была предпринята в наших исследованиях (Chugova et al., 2020). Сеголеток лосося в течение трех месяцев (август–октябрь) выращивали в условиях рыбоводного завода при воздействии двух режимов освещения: 16С : 8Т и 24С : 0Т. Контрольная группа содержалась без дополнительного освещения (освещение рыбзавода). Согласно результатам работы, наибольшее увеличение массы рыб наблюдалось в группе, выращенной при постоянном освещении. Кроме того, у сеголеток, выращенных при непрерывном освещении, были установлены высокие уровни активности фермента дыхательной цепи митохондрий – цитохром-с оксидазы (ЦО) – по сравнению с особями из бассейна с режимом 16С : 8Т, а также ферментов углеводного обмена – лактатдегидрогеназы

(ЛДГ) и альдолазы – по сравнению с таковыми у рыб из контрольного бассейна. Было высказано предположение, что высокий уровень аэробного и анаэробного обмена у сеголеток лосося в группе с постоянным освещением необходим для обеспечения энергией интенсивно идущих биосинтетических процессов, как у более крупных, жизнеспособных и активно питающихся особей, что согласуется с более высокими темпами весового роста у этой группы рыб. При этом для рыб, содержащихся в условиях режима 16С : 8Т, были характерны наиболее низкие темпы роста и пониженный уровень аэробного обмена в мышцах. Вероятно, это связано с тем, что более продолжительный период суточного освещения косвенно влияет на изменение роста рыб при повышении их двигательной активности посредством развития мышечной массы. Согласно этой закономерности, в мышцах сеголеток лосося были выявлены изменения экспрессии мРНК генов, участвующих в процессах регуляции миогенеза, в зависимости от условий освещения.

Транскрипционные факторы, регулирующие миогенез (миогенные регуляторные факторы, МРФ), ответственны за превращение клеток зодермы в мышечные клетки – миобласты (*MyoD* и его паралоги, *Myf5*), а также участвуют в инициации и поддержании дифференциации мышечных клеток, их последующем объединении с образованием мышечных волокон (*MyoG*, *MRF4*, *MEF2*) (Rescan, 2001). Под влиянием последовательной экспрессии вышеперечисленных факторов миогенеза экспрессируется ген тяжелой цепи миозина (*MyHC*), продуктом которого является миозин – основной функциональный компонент белых мышечных волокон, составляющий у рыб примерно 50% от количества всех мышечных белков. Уровень экспрессии *MyHC* отражает темпы прироста мышечной массы у рыб (Hevrøy et al., 2006; Dhillon et al., 2009). В нашей работе (Chugova et al., 2020) было показано, что экспрессия мРНК *MyHC*, *MyoG*, *MyoD1a*, *MyoD1c* и *Myf5* в мышцах лосося зависела от используемого светового режима. У сеголеток в обеих группах с дополнительным освещением (16С : 8Т и 24С : 0Т) в начале октября наблюдалось увеличение уровней мРНК *MyHC* и *MyoG*, сопровождаемое повышением экспрессии паралога *MyoD1c*, и оно было выше, чем у рыб в контрольной группе. У рыб в группе без дополнительного освещения (контроль) повышение уровней мРНК *MyHC* и *MyoG* было постепенным в течение октября, но в начале месяца наблюдалось резкое увеличение экспрессии *Myf5*. По-видимому, в одновременной экспрессии миогенных регуляторных факторов существуют определенные закономерности, зависящие от сезона. Показано, что во всех группах экспрессия *MyHC* имела сезонный характер, но у рыб, содержащихся в условиях освещения 16С :

8Т и 24С : 0Т, она непосредственно зависела от уровней мРНК *MyoG*, тогда как в группе без дополнительного освещения регулировалась главным образом уровнем экспрессии *Myf5*, что впоследствии привело к повышению уровня мРНК *MyoG*. Более того, уровни транскриптов *MyoD1a* были выше у сеголеток из контрольной группы, нежели в группах с режимами 16С : 8Т и 24С : 0Т. Учитывая, что уровень экспрессии *MyoD1c* был повышен у рыб в группах с дополнительным освещением и был выше в группе с постоянным освещением по сравнению с контролем, было высказано предположение, что паралоги гена *MyoD1* могут иметь разный характер экспрессии в зависимости от режима освещения. В целом различия в экспрессии МРФ между группами с разным освещением показывают, что механизмы регуляции мышечного роста у сеголеток лосося зависят от продолжительности фотопериода, и дополнительное освещение оказывает положительный эффект на прирост мышечной массы у молоди, способствуя более продолжительному росту даже в осенний период при снижении температуры воды. Эти результаты согласуются с изменениями липидного статуса молоди лосося в аналогичном эксперименте (Nemova et al., 2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В литературе имеется достаточно сведений, подтверждающих влияние периодичности светового фактора на рост, пищевое поведение, ритмы размножения и смолтификацию лососевых. При их искусственном воспроизводстве дополнительное освещение (главным образом постоянное) может применяться с целью ускорения роста, наступления периода смолтификации, отсрочки полового созревания. Однако все еще остается открытым вопрос, каким образом фотопериод воздействует на молекулярно-генетические и физиолого-биохимические механизмы, лежащие в основе вышеперечисленных процессов. Для расширения имеющихся знаний необходимы комплексные исследования с применением междисциплинарного подхода, в котором, наряду с классическими методами ихтиологии и физиологии, используются биохимические и молекулярные методы исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ по проекту № 19-14-00081 “Влияние физических факторов на эффективность искусственного (заводского) воспроизводства молоди атлантического лосося *Salmo salar*: физиолого-биохимическая и молекулярно-генетическая характеристика”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Казиков Р.В., Веселов А.Е., 1998. Атлантический лосось // Популяционный фонд атлантического лосося России. СПб.: Наука. С. 383–395.
- Немова Н.Н., Мурзина С.А., Лысенко Л.А., Мецержакова О.В. и др., 2019. Эколого-биохимический статус атлантического лосося *Salmo salar* L. и кумжи *Salmo trutta* L. в раннем развитии // Журн. общ. биологии. Т. 80. № 3. С. 175–186.
- Barimani S., Kazemi M.B., Hazaee K., 2013. Effects of different photoperiod regimes on growth and feed conversion rate of young Iranian and French Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // World Appl. Sci. J. V. 21. P. 1440–1444.
- Berge E.I., Berg A., Fyhn H.J., Barnung T. et al., 1995. Development of salinity tolerance in underyearling smolts of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared under different photoperiods // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 52. № 2. P. 243–251.
- Berrill I.K., Smart A., Porter M.J., Bromage N.R., 2006. A decrease in photoperiod shortly after first feeding influences the development of Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Aquaculture. V. 254. № 1–4. P. 625–636.
- Berrill I.K., Porter M.J., Smart A., Mitchell D., Bromage N.R., 2003. Photoperiodic effects on precocious maturation, growth and smoltification in Atlantic salmon, *Salmo salar* // Aquaculture. V. 222. № 1–4. P. 239–252.
- Björnsson B.T., 1997. The biology of salmon growth hormone: From daylight to dominance // Fish Physiol. Biochem. V. 17. № 1–6. P. 9–24.
- Boeuf G., Falcón J., 2002. Photoperiod and growth in fish // Vie et Milieu. V. 51. № 4. P. 237–246.
- Bromage N.R., Porter M.J.R., Randall C.F., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin // Aquaculture. V. 197. № 1–4. P. 63–98.
- Churova M.V., Shulgina N., Kuritsyn A., Krupnova M.Y., Nemova N.N., 2020. Muscle-specific gene expression and metabolic enzyme activities in Atlantic salmon *Salmo salar* L. fry reared under different photoperiod regimes // Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. V. 239. P. 110330.
- Danzmann R.G., Kocmarek A.L., Norman J.D., Rexroad C.E., Palti Y., 2016. Transcriptome profiling in fast versus slow-growing rainbow trout across seasonal gradients // BMC Genomics. V. 17. № 1. P. 60.
- Dhillon R.S., Esbaugh A.J., Wang Y.S., Tufts B.L., 2009. Characterization and expression of a myosin heavy-chain isoform in juvenile walleye *Sander vitreus* // J. Fish Biol. V. 75. № 5. P. 1048–1062.
- Døskeland I., Imstrand A.K.D., Fjellidal P.G., Stefansson S.O. et al., 2016. The effect of low temperatures and photoperiods on growth and vertebra morphometry in Atlantic salmon // Aquac. Int. V. 24. № 5. P. 1421–1434.
- Duan C., 1998. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish // J. Nutr. V. 128. № 2. P. 306S–314S.
- Duston J., Saunders R.L., 1990. The entrainment role of photoperiod on hypoosmoregulatory and growth, related aspects of smolting in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Zool. V. 68. № 4. P. 707–715.

- Duston J., Saunders R.L., 1992. Effect of 6-, 12-, and 18-month photoperiod cycles on smolting and sexual maturation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 49. № 11. P. 2273–2280.
- Duston J., Saunders R.L., 1995. Advancing smolting to autumn in age 0+ Atlantic salmon by photoperiod, and long-term performance in sea water // Aquaculture. V. 135. № 4. P. 295–309.
- Ebbesson L.O., Ebbesson S.O., Nilsen T.O., Stefansson S.O. et al., 2007. Exposure to continuous light disrupts retinal innervation of the preoptic nucleus during parr-smolt transformation in Atlantic salmon // Aquaculture. V. 273. № 2–3. P. 345–349.
- Endal H.P., Taranger G.L., Stefansson S.O., Hansen T., 2000. Effects of continuous additional light on growth and sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar*, reared in sea cages // Aquaculture. V. 191. № 4. P. 337–349.
- Ergün S., Yigit M., Türker A., 2003. Growth and feed consumption of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to different photoperiods // Isr. J. Aquac. Bamid. V. 55. № 2. P. 132–138.
- Falcón J., Zohar Y., 2018. Photoperiodism in fish // Encyclopedia of Reproduction. 2nd ed / Ed. Skinner M. Oxford: Academic Press. P. 400–408.
- Falcón J., Migaud H., Muñoz-Cueto J.A., Carrillo M., 2010. Current knowledge on the melatonin system in teleost fish // Gen. Comp. Endocrinol. V. 165. № 3. P. 469–482.
- Fjelldal P.G., Hansen T., Huang T., 2011. Continuous light and elevated temperature can trigger maturation both during and immediately after smoltification in male Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Aquaculture. V. 321. № 1–2. P. 93–100.
- Good C., Weber G.M., May T., Davidson J., Summerfelt S., 2016. Reduced photoperiod (18 h light vs 24 h light) during first-year rearing associated with increased early male maturation in Atlantic salmon *Salmo salar* cultured in a freshwater recirculation aquaculture system // Aquac. Res. V. 47. № 9. P. 3023–3027.
- Handeland S.O., Stefansson S.O., 2001. Photoperiod control and influence of body size on off-season parr-smolt transformation and post-smolt growth // Aquaculture. V. 192. № 2–4. P. 291–307.
- Handeland S.O., Björnsson B.T., Arnesen A.M., Stefansson S.O., 2003. Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) of wild and farmed strains // Aquaculture. V. 220. № 1–4. P. 367–384.
- Hansen T., Stefansson S., Taranger G.L., 1992. Growth and sexual maturation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., reared in sea cages at two different light regimes // Aquac. Fish. Manage. V. 23. № 3. P. 275–280.
- Hansen T.J., Fjelldal P.G., Folkedal O., Vågseth T., Oppedal F., 2017. Effects of light source and intensity on sexual maturation, growth and swimming behaviour of Atlantic salmon in sea cages // Aquac. Environ. Interact. V. 9. P. 193–204.
- Hevroy E.M., Jordal A.O., Hordvik I., Espe M. et al., 2006. Myosin heavy chain mRNA expression correlates higher with muscle protein accretion than growth in Atlantic salmon, *Salmo salar* // Aquaculture. V. 252. № 2–4. P. 453–461.
- Hosn W.A., Dutilleul P., Boisclair D., 1997. Use of spectral analysis to estimate short-term periodicities in growth rates of brook trout *Salvelinus fontinalis* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 54. № 7. P. 1532–1541.
- Imsland A.K., Folkvord A., Stefansson S.O., 1995. Growth, oxygen consumption and activity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under different temperatures and photoperiods // Neth. J. Sea Res. V. 34. № 1–3. P. 149–159.
- Imsland A.K., Handeland S.O., Stefansson S.O., 2014. Photoperiod and temperature effects on growth and maturation of pre- and post-smolt Atlantic salmon // Aquac. Int. V. 22. № 4. P. 1331–1345.
- Imsland A.K.D., Roth B., Fjelldal P.G., Stefansson S.O. et al., 2017. The effect of continuous light at low temperatures on growth in Atlantic salmon reared in commercial size sea pens // Aquaculture. V. 479. P. 645–651.
- Imsland A.K., Roth B., Døskeland I., Fjelldal P.G. et al., 2019. Flesh quality of Atlantic salmon smolts reared at different temperatures and photoperiods // Aquac. Res. V. 50. № 7. P. 1795–1801.
- Johnston I.A., 2006. Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish // J. Exp. Biol. V. 209. № 12. P. 2249–2264.
- Johnston I.A., Bower N.I., Macqueen D.J., 2011. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish // J. Exp. Biol. V. 214. № 10. P. 1617–1628.
- Johnston I.A., Manthri S., Alderson R., Smart A. et al., 2003a. Freshwater environment affects growth rate and muscle fibre recruitment in seawater stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) // J. Exp. Biol. V. 206. № 8. P. 1337–1351.
- Johnston I.A., Manthri S., Smart A., Campbell P. et al., 2003b. Plasticity of muscle fibre number in seawater stages of Atlantic salmon in response to photoperiod manipulation // J. Exp. Biol. V. 206. № 19. P. 3425–3435.
- Johnston I.A., Manthri S., Bickerdike R., Dingwall A. et al., 2004. Growth performance, muscle structure and flesh quality in out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts reared under two different photoperiod regimes // Aquaculture. V. 237. № 1–4. P. 281–300.
- Leclercq E., Taylor J.F., Sprague M., Migaud H., 2011. The potential of alternative lighting-systems to suppress pre-harvest sexual maturation of 1+ Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts reared in commercial sea-cages // Aquac. Eng. V. 44. № 2. P. 35–47.
- Liu Q., Duston J., 2016. Preventing sexual maturation in Arctic charr by 24 h light overwinter and suppressing somatic growth // Aquaculture. V. 464. P. 537–544.
- Lundova K., Matousek J., Prokesova M., Sebesta R. et al., 2019a. The effect of timing of extended photoperiod on growth and maturity of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // Aquac. Res. V. 50. № 6. P. 1697–1704.
- Lundova K., Matousek J., Prokesova M., Vanina T. et al., 2019b. The effects of a prolonged photoperiod and light source on growth, sexual maturation, fin condition, and vulnerability to fungal disease in brook trout *Salvelinus fontinalis* // Aquac. Res. V. 50. № 1. P. 256–267.
- McCormick S.D., 2013. Smolt physiology and endocrinology // Fish Physiology. Euryhaline Fishes / Eds McCor-

- mick S.D., Brauner C.J., Farrell A.P. Amsterdam: Academic Press. P. 199–251.
- McCormick S.D., Moriyama S., Björnsson B.T., 2000. Low temperature limits photoperiod control of smolting in Atlantic salmon through endocrine mechanisms // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* V. 278. № 5. P. R1352–R1361.
- McCormick S.D., Shrimpton J.M., Moriyama S., Björnsson B.T., 2007. Differential hormonal responses of Atlantic salmon parr and smolt to increased daylength: A possible developmental basis for smolting // *Aquaculture*. V. 273. № 2–3. P. 337–344.
- McMillan J.R., Dunham J.B., Reeves G.H., Mill J.S., Jordan C.E., 2012. Individual condition and stream temperature influence early maturation of rainbow trout and steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Environ. Biol. Fishes*. V. 93. № 3. P. 343–355.
- Migaud H., Davie A., Taylor J.F., 2010. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species // *J. Fish Biol.* V. 76. № 1. P. 27–68.
- Nemova N.N., Nefedova Z.A., Pekkoeva S.N., Voronin V.P., Shulgina N.S. et al., 2020. The effect of the photoperiod on the fatty acid profile and weight in hatchery-reared underyearlings and yearlings of Atlantic Salmon *Salmo salar* L. // *Biomolecules*. V. 10. № 6. P. 845.
- Noori A., Mojazi Amiri B., Mirvaghefi A., Rafiee G., Kalvani Neitali B., 2015. Enhanced growth and retarded gonadal development of farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) following a long-day photoperiod // *Aquac. Res.* V. 46. № 10. P. 2398–2406.
- Nordgarden U., Oppedal F., Taranger G.L., Hemre G.I., Hansen T., 2003. Seasonally changing metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) I – Growth and feed conversion ratio // *Aquac. Nutr.* V. 9. № 5. P. 287–293.
- Nordgarden U., Hansen T., Hemre G.-I., Sundby A., Björnsson B.T., 2005. Endocrine growth regulation of adult Atlantic salmon in seawater: The effects of light regime on plasma growth hormone, insulin-like growth factor-I and insulin levels // *Aquaculture*. V. 250. № 3–4. P. 862–871.
- Önder M.Y., Başçınar N., Khan U., Sonay F.D., 2016. Effect of photoperiod on growth and efficiency of yolk-sac utilization in alevins of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // *Pakistan J. Zool.* V. 48. № 2. P. 533–537.
- Oppedal F., Taranger G.L., Juell J.E., Hansen T., 1999. Growth, osmoregulation and sexual maturation of underyearling Atlantic salmon smolt *Salmo salar* L. exposed to different intensities of continuous light in sea cages // *Aquac. Res.* V. 30. № 7. P. 491–499.
- Oppedal F., Taranger G.L., Juell J.E., Fosseidengen J.E., Hansen T., 1997. Light intensity affects growth and sexual maturation of Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts in sea cages // *Aquat. Living Resour.* V. 10. № 6. P. 351–357.
- Oppedal F., Berg A., Olsen R.E., Taranger G.L., Hansen T., 2006. Photoperiod in seawater influence seasonal growth and chemical composition in autumn sea-transferred Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given two vaccines // *Aquaculture*. V. 254. № 1–4. P. 396–410.
- Pankhurst N.W., King H.R., 2010. Temperature and salmonid reproduction: Implications for aquaculture // *J. Fish Biol.* V. 76. № 1. P. 69–85.
- Petit G., Beauchaud M., Attia J., Buisson B., 2003. Food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L:12D) or exposed to continuous light // *Aquaculture*. V. 228. № 1–4. P. 397–401.
- Picha M.E., Turano M.J., Beckman B.R., Borski R.J., 2008. Endocrine biomarkers of growth and applications to aquaculture: A minireview of growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins as potential growth indicators in fish // *N. Am. J. Aquac.* V. 70. № 2. P. 196–211.
- Porter M.J.R., Woolcott H.M., Pankhurst N.W., 2003. The use of additional lighting and artificial photoperiods to recondition early maturing Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Tasmania // *Fish Physiol. Biochem.* V. 28. № 1–4. P. 391–393.
- Randall C.F., Bromage N.R., Thorpe J.E., Miles M.S., Muir J.S., 1995. Melatonin rhythms in Atlantic salmon (*Salmo salar*) maintained under natural and out-of-phase photoperiods // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 98. № 1. P. 73–86.
- Rescan P.Y., 2001. Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* V. 130. № 1. P. 1–12.
- Rowlerson A., Veggetti A., 2001. Cellular mechanisms of post-embryonic growth in aquaculture species // *Fish Physiology. Muscle Development and Growth* / Ed. Johnston I.A. San Diego: Academic Press. P. 103–140.
- Sánchez-Vázquez F.J., Tabata M., 1998. Circadian rhythms of demand-feeding and locomotor activity in rainbow trout // *J. Fish Biol.* V. 52. № 2. P. 255–267.
- Saunders R.L., Harmon P.R., 1988. Extended daylength increases post-smolt growth of Atlantic salmon // *World Aquac.* V. 19. P. 72–73.
- Schulz R.W., Andersson E., Taranger G.L., 2006. Photoperiod manipulation can stimulate or inhibit pubertal testis maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Anim. Reprod.* V. 3. № 2. P. 121–126.
- Sonmez A.Y., Hisar O., Hisar S.A., Alak G. et al., 2009. The effects of different photoperiod regimes on growth, feed conversion rate and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry // *J. Anim. Vet. Adv.* V. 8. P. 760–763.
- Stefansson S.O., Nilsen T.O., Ebbesson L.O., Wargelius A. et al., 2007. Molecular mechanisms of continuous light inhibition of Atlantic salmon parr-smolt transformation // *Aquaculture*. V. 273. № 2–3. P. 235–245.
- Strand J.E.T., Hazlerigg D., Jørgensen E.H., 2018. Photoperiod revisited: Is there a critical day length for triggering a complete parr-smolt transformation in Atlantic salmon *Salmo salar*? // *J. Fish Biol.* V. 93. № 3. P. 440–448.
- Taranger G.L., Daae H., Jørgensen K.O., Hansen T., 1995. Effects of continuous light on growth and sexual maturation in sea water reared Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // *Proc. 5th Int. Symp. on the reproductive physiology of fish* / Eds Goetz F.W., Thomas P. Austin, USA: Univ. Texas. P. 200.

- Taranger G.L., Haux C., Hansen T., Stefansson S.O. et al.*, 1999. Mechanisms underlying photoperiodic effects on age at sexual maturity in Atlantic salmon, *Salmo salar* // *Aquaculture*. V. 177. № 1–4. P. 47–60.
- Taranger G.L., Carrillo M., Schulz R.W., Fontaine P. et al.*, 2010. Control of puberty in farmed fish // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 165. № 3. P. 483–515.
- Taylor J., Migaud H.*, 2009. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater // *Aquac. Res.* V. 40. № 13. P. 1551–1558.
- Taylor J.F., Migaud H., Porter M.J.R., Bromage N.R.*, 2005. Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 142. № 1–2. P. 169–185.
- Taylor J.F., Porter M.J., Bromage N.R., Migaud H.*, 2008. Relationships between environmental changes, maturity, growth rate and plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female rainbow trout // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 155. № 2. P. 257–270.
- Taylor J.F., North B.P., Porter M.J.R., Bromage N.R., Migaud H.*, 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // *Aquaculture*. V. 256. № 1–4. P. 216–234.
- Thrush M.N., Duncan N.L., Bromage N.R.*, 1999. The use of photoperiod in the production of out-of-season Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts // *Aquaculture*. V. 121. № 1–3. P. 29–44.

Effect of the photoperiod on the growth and development of salmonids in northern latitudes

N. S. Shulgina^a*, M. V. Churova^a, N. N. Nemova^a

^a*Institute of Biology, Karelian Research Centre, RAS
Pushkinskaya, 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

*e-mail: shulgina28@yandex.ru

One of the factors affecting growth, development, feeding behavior, and metabolism of fish is the length of daylight hours (photoperiod). The use of different regimes for regulating the photoperiod during the development of juvenile salmon has an effect on the time of the transformation of the parr into smolt (smoltification process), which, under conditions of artificial cultivation, contributes to their earlier transfer to sea water. The exposure of some salmonids to prolonged periods of light has been shown to be critical in delaying maturity once individuals reach the required size. Data on the synergistic effect of temperature and photoperiod on the growth and reproductive cycle of salmonids with the aim of accelerating or delaying the development of oocytes are also discussed. The published and own research data on the influence of light regimes on the formation and growth of skeletal muscles (on the gene expression profiles in white muscles, the expression of myogenic regulatory factors, along with changes in the levels of energy and carbohydrate metabolism) in salmonids are presented.