СОДЕРЖАНИЕ

Том 82, номер 5, 2021

(Воспроизводится в журнале “Current Contents”)

Эффективность распределительной системы гидроида *Dynamena pumila* (L., 1758) при различных абиотических воздействиях
В. С. Дементьев, Н. Н. Марфенин 323

Сосудистые эпифиты – растения, порвавшие с землей
А. К. Еськов, Г. Л. Коломейцева 337

Биоморфология в таксономии растений, на примере кавказских *Minuartia* s.l. (Caryophyllaceae)
С. Г. Зайченко, А. С. Зернов 368

Фрактальный характер формирования системы тилакоидов цианобактерий
В. В. Галицкий 382

3D-биопринтинг микроокружения опухоли: последние достижения
С. В. Тимофеева, Т. В. Шамова, А. О. Ситковская 389

На обложке воспроизведена гравюра из немецкой книги XV в. Якоба Мейденбаха “Большой сад здоровья” (Meidenbach. Hortus sanitalis, 1491). Подробнее см. № 1, 1992, стр. 141-ю.

Contents

Vol. 82, No. 5, 2021

(Indexed in "Current Contents")

Efficiency of the transport system of the hydroid *Dynamena pumila* (L., 1758) under different abiotic impacts
V. S. Dementyev, N. N. Marfenin 323

Vascular epiphytes are plants that have broken ties with the ground
A. K. Eskov, G. L. Kolomeitseva 337

Bio-morphology in plant taxonomy, with Caucasian *Minuartia* s.l. (Caryophyllaceae) as a case study
S. G. Zaychenko, A. S. Zernov 368

Fractal character of the formation of the cyanobacteria's thylakoid system
V. V. Galitskii 382

3D bioprinting of tumor microenvironment: Recent achievements
S. V. Timofeeva, T. V. Shamova, A. O. Sitkovskaya 389

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2021, том 82, № 5, с. 323–336

УДК 593.714.2:591.112.3:573.7:573.22

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОИДА *DYNAMENA PUMILA* (L., 1758) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

© 2021 г. В. С. Дементьев[1, 2], Н. Н. Марфенин[1, *]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра зоологии беспозвоночных Ленинские горы, 1, Москва, 119234 Россия*

[2]*Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики", факультет биологии и биотехнологии Мясницкая ул., 20, Москва, 101000 Россия*

**E-mail: marf47@mail.ru*

Поступила в редакцию 25.03.2021 г.
После доработки 01.06.2021 г.
Принята к публикации 12.06.2021 г.

Колониальные гидроиды – пример децентрализованных организмов модульного типа. В них нет органов централизованной регуляции. Распределительная система функционирует за счет множества равнозначных пульсаторов, соединенных трубчатым ценосарком. В результате неуправляемого взаимодействия пульсаторов возникают протяженные течения гидроплазмы (ГПТ) в общей полости колонии. Регулярность и протяженность ГПТ могут быть показателями эффективности децентрализованной организации. Колониальных гидроидов можно рассматривать как удобную модель любых нецентрализованных биологических систем, а распределительную систему колониальных организмов – как разновидность коммуникационных структур и процессов, что и определяет актуальность результатов данного исследования. Работа посвящена определению эффективности (дальности и объемам) транспорта взвешенных в гидроплазме пищевых частиц по столону обитающего на литорали колониального гидроида *Dynamena pumila* в зависимости от четырех факторов среды. Это температура (10, 15, 20, 25, 28°C), соленость (26, 20, 15, 10‰), осушение (длительностью 5, 10, 20, 30 мин), наличие или отсутствие водообмена. Способность к эффективному транспорту определяется расчетной протяженностью локальных токов гидроплазмы, из цепочки которых складываются непрерывные интегральные гидроплазматические течения (ГПТ). Локальные токи, охватывающие один–два модуля столона и теоретически достаточные для генерации совместных протяженных ГПТ, одинаково представлены почти при всех значениях изученных факторов среды, кроме 28°C и 10‰. Это означает, что распределительная система *D. pumila* эффективна в широком спектре изменений температуры и солености, а также при продолжительном осушении и при содержании колоний в стоячей воде. Наибольшая эффективность интеграции колонии достигается при 15–20°C, 26–20‰ и после осушения на 5–10 мин. По степени интеграции содержание колоний в стоячей воде и на течении практически не различается. Перенос колоний из одной кюветы с водой в другую не сказывается на интенсивности системы ГПТ.

DOI: 10.31857/S0044459621050031

Децентрализованные модульные организмы, примером которых являются колониальные гидроиды, демонстрируют высокую устойчивость системы за счет повышения пластичности как морфологической, так и функциональной. Благодаря множественному дублированию различных органов (модулей), децентрализованные организмы устойчивы к внешним воздействиям, легко переносят повреждения, распад на фрагменты (Марфенин, 2016). Такие организмы продолжают эффективно и слаженно функционировать даже при, казалось бы, неблагоприятных условиях. Толерантность модульных организмов, как правило, иллюстрируют на примере их роста, размножения и выживания в неблагоприятных условиях, т.е. на примере долгосрочных процессов. Однако модульные организмы – не сообщества особей, а особый тип целостных децентрализованных организмов, в которых есть общеорганизменные системы. У гидроидов это общеколониальная распределительная система. Можно ожидать, что в ее функционировании должен проявляться отклик на внешние воздействия. Для проверки этого предположения можно использовать, по крайней мере, два показателя, а именно: пульсации тела и перемещение гидроплазмы в гастроваскулярной полости. Оба показателя позволяют определить эффективность функционирования всей распределительной системы. Эффективная и слаженная работа распределительной системы необходима для перемещения пищи от места ее приема к удаленным частям колонии, в частности, к растущим верхушкам и молодым побегам (Марфенин,

Бурыкин, 1979; Косевич, 1991; Dudgeon, Buss, 1996; Dudgeon et al., 1999).

Эффективность работы распределительной системы выражается в скорости и дальности переноса взвешенных в гидроплазме частиц по колонии за один акт однонаправленного непрерывного гидроплазматического течения, т.е. в формировании быстрых и протяженных течений, связывающих отдаленные части колонии между собой. Протяженные *гидроплазматические течения* (ГПТ), возникающие время от времени в колонии гидроидов, имеют первостепенное значение для интеграции организма (Бурыкин, 2013; Марфенин, Дементьев, 2017, 2019, 2020). Благодаря им частицы пищи достаточно быстро доставляются к зонам роста – прежде всего, к верхушкам роста столонов и прилегающим к ним участкам, в которых формируются новые побеги или гидранты (Косевич, 1991; Марфенин, 1993; Wagner et al., 1998). Первоочередное обеспечение пищей периферических зон роста позволяет колониальным гидроидам не только увеличиваться в размерах, но и смещаться по субстрату за счет роста столонов, уходя из одних зон и осваивая другие. Поэтому протяженные ГПТ играют ключевую роль в жизнедеятельности колониального организма гидроидов. Необходимо знать пределы изменения основных параметров среды обитания, в которых функционирование системы ГПТ остается эффективным. По реакции распределительной системы на изменение условий существования можно определить степень эврибионтности колониального организма, в частности, степень эвритермности, эвригалинности, а также способность выдерживать осушение. Дополнительно к перечисленным задачам мы стремились определить скорость целостной реакции модульного организма на внешние воздействия и способность сохранять эффективный режим функционирования за пределами преферентных значений показателей среды обитания.

Есть основания предполагать, что выбранный нами объект исследования хорошо адаптирован к крайним отклонениям абиотических показателей от оптимума.

Гидроид *Dynamena pumila* (L., 1758) приспособлен к жизни в нестабильном биотопе литорали и ежедневно подвергается разнофакторному абиотическому воздействию. Сохранение гидроплазматических течений после внешнего воздействия на колонию свидетельствует о том, что распределительная система продолжает функционировать даже в условиях стресса (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б). Но насколько эффективно? В сущности, эффективность мы определяем через способность распределительной системы быстро доставлять пищевые частицы от одного конца колонии к другому. Чем дальше и в бóльшем количестве могут быть перемещены частицы, тем эффективнее функционирует система ГПТ.

Цель работы – сравнение эффективности функционирования распределительной системы в изученном диапазоне изменения абиотических факторов среды. Мы хотим выяснить, насколько варьирует указанная эффективность при резких изменениях параметров среды и, особенно, при крайних значениях этих параметров, за пределами которых рост колониального организма останавливается.

Используемый нами метод исследования позволяет определять почти моментальную реакцию распределительной системы на изменение параметров среды. Об этой реакции можно судить по характеру пульсаций ценосарка, а также скорости и дальности перемещения гидроплазмы в столонах. Достоверные изменения указанных показателей можно определить с помощью микровидеосъемки в течение одного часа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – гидроид *Dynamena pumila* (L., 1758) (Sertulariidae, Leptothecata, Hydrozoa), многократно использовавшийся ранее в различных экспериментальных исследованиях роста, морфогенеза и экологии. Сбор гидроидов, их культивирование, видеорегистрацию функционирования распределительной системы и обработку данных осуществляли по неоднократно описанной ранее методике (Марфенин, Дементьев, 2017, 2018а, б, 2020; Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б).

Колонии гидроидов были собраны на малой воде вблизи ББС МГУ на Еремеевском пороге Великой Салмы в Кандалакшском заливе Белого моря. В лаборатории гидроидов выращивали на предметных стеклах в аквариумах с циркулирующей морской водой при постоянной температуре 15 ± 1.5°C, примерно соответствующей температуре моря во второй половине лета. Интенсивную циркуляцию воды в аквариумах осуществляли с помощью аэрации микрокомпрессорами через пористые распылители.

Колонии выращивали из фрагментов отдельных побегов с участка столона: стекло обматывали ниткой несколько раз и подводили под натянутую нитку фрагмент побега, ориентируя его плоскостью среза к стеклу. В процессе репаративной регенерации колония на месте среза прилипала к стеклу выделяемым на верхушке роста хитином, формирующим перисарк. В дальнейшем фиксирующую нить удаляли. Избыточное кормление гидроидов осуществляли ежедневно свежевылупившимися науплиями *Artemia salina*. Замену воды в аквариумах производили раз в три дня.

Для съемки стекло с колониями помещали в непроточную термостатируемую кювету водоизмещением 0.25 л. Видеосъемка проводилась камерой Arecont-AV3100 через микроскоп при увеличении ×100 с записью изображения на компьютер. Продолжительность съемки каждого эпизода составляла от 1.5 до 8 ч. Режим цейтраферной съемки – 4 кадра/с. Обработку видеозаписей, включающую измерения расстояний верхушки роста от границы кадра, просвета ценосарка, перемещения частиц в гидроплазме, осуществляли вручную.

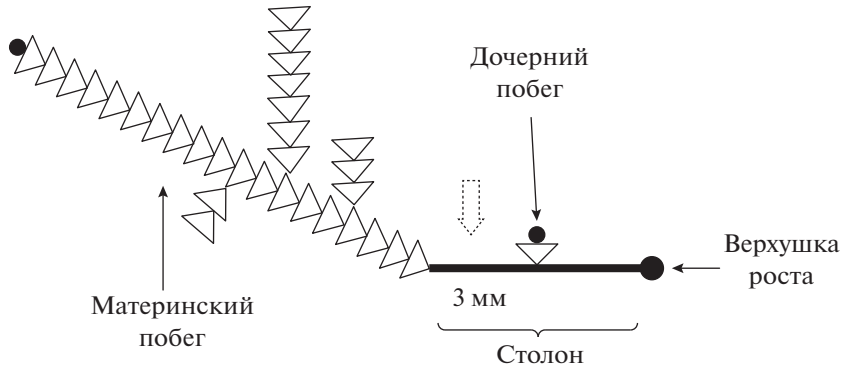

Рис. 1. Обобщенная схема колоний *D. pumila*, использованных для эксперимента с воздействием факторов среды. Пунктирная стрелка указывает место регистрации.

В опытах использовали маленькие прямолинейные колонии с неразветвленными столонами, большими материнскими побегами (обычно 20–30 пар гидрантов) и небольшими дочерними, включающими по 1–2 паре гидрантов каждый (рис. 1). Таким образом, каждая колония состояла из двух побегов: большого материнского (который мог быть разветвленным) и одного дочернего, а также двух модулей столона – участка между двумя последовательными побегами и участка от самого молодого побега до верхушки роста столона. Использование предельно коротких колоний позволяло яснее представить реакцию распределительной системы на изменение значений факторов среды, ограничиваясь регистрацией ГПТ, исходящих из единственного крупного побега.

В исследованных колониях были проведены цейтраферные микровидеосъемки *первого модуля* столона (между первым, считая от верхушки столона, и материнским побегами). Участок между верхушкой столона и первым от нее побегом называется *нулевым модулем*. В нем мы не проводили регистрацию пульсаций ценосарка и перемещения гидроплазмы. Первый модуль представляет собой сформированный участок колонии (Марфенин, Дементьев, 2017; Marfenin, Dementyev, 2017).

Метод определения основных параметров и эффективности (скорости и дальности перемещения частиц) работы распределительной системы основан на продолжительной регистрации в одном месте всего трех показателей: 1) поперечных пульсаций ценосарка столона; 2) направления и 3) скорости локального ГПТ.

Скорость гидроплазматического течения ($\bar{v}_{HF}$, мкм/с) определяли как расстояние, которое проходят распознаваемые частицы в полости столона или побега за 1 с. Этот показатель ($\bar{v}_{HF}$) все время изменяется: от 0 мкм/с до максимальных значений и затем снова до 0 мкм/с. Для сравнения можно использовать как усредненные значения $\bar{v}_{HF}$ за один цикл пульсации ГПТ, так и максимальные. Последние мы называем амплитудой колебаний скорости ГПТ (A_{HF}). Она равна максимальному значению скорости однонаправленного течения.

Аккумулятивными показателями работы распределительной системы являются: а) протяженность переноса частиц (Z) за один акт однонаправленного локального ГПТ и б) объем перенесенной гидроплазмы (V), содержащей эти частицы.

Расчетная протяженность переноса частиц (Z, мкм) определена на основе регулярных определений скорости перемещения частиц в гидроплазме ($\bar{v}_{HF}$). Был выбран интервал регистрации, равный 30 с. Допуская, что в пределах этого интервала скорость неизменна, мы перемножали $\bar{v}_{HF}$ на 30 с и получали протяженность перемещенной гидроплазмы за 30 с. Полученные таким способом значения Z складывали и получали расчетную протяженность переноса частиц за однонаправленное ГПТ от старта до его завершения. Следовательно, $Z = \sum_{i=1}^{n} \left(\bar{v}_{HF}\right)_i \times \Delta t$, где i – порядковый номер измерения скорости ГПТ, $\bar{v}_{HF}$ – скорость ГПТ (протяженность пробега частицы за 1 с), Δt – шаг регистрации (в нашем случае 30 с).

Показатель Z представляет сумму непрерывных пробегов частиц в одном направлении с разными скоростями от нулевой до максимальной (показатель A_{HF}) и затем снова до нулевой. Если A_{HF} позволяет количественно оценить интенсивность процесса перемещения частиц по максимальной $\bar{v}_{HF}$ за один цикл, то Z дает представление о дальности перемещения фронта ГПТ, так как у ГПТ ясно определяется фронт – граница между пришедшими в продольное движение частицами и продолжающими крутиться на месте.

Объем гидроплазмы (V, мкм^3) – объем перенесенной гидроплазмы через поперечное сечение столона за интервал, соответствующий одному ГПТ. Вычисляется, исходя из данных о скорости ГПТ ($\bar{v}_{HF}$), продолжительности однонаправленного ГПТ и величины просвета ценосарка столона (D). Принимая условно скорость ГПТ постоянной между двумя последовательными учетами, т.е. за 30 с, получаем сумму значений объемов пе-

ремещенной гидроплазмы за каждый полуминутный интервал на протяжении однонаправленного ГПТ по формуле $V = \sum_{i=1}^{n} (\pi D_i^2) / 4\ (v_{HF}^{-})_i\, \Delta t$, где i – порядковый номер измерения v_{HF}^{-} и D; n – число шагов регистрации; Δt – шаг регистрации (в нашем случае 30 с).

Протяженность переноса является более информативным показателем эффективности распределительной системы, поскольку без возможности транспортировки по колонии даже значительные объемы гидроплазмы, насыщенные пищей, оказываются бесполезными. Они просто будут скапливаться вблизи получившего пищу гидранта.

Направленные к верхушке столона течения мы называем магистральными (+) ГПТ, от верхушки – компенсаторными (–) ГПТ. Соответственно, мы различаем показатели ГПТ, движущихся дистально ($A_{(+)HF}$, $Z_{(+)HF}$, $V_{(+)HF}$) и проксимально ($A_{(-)HF}$, $Z_{(-)HF}$, $V_{(-)HF}$). Результаты настоящей работы базируются только на характеристиках магистральных (+) ГПТ.

Рассуждая о возможности переноса частиц на дальние расстояния, мы также употребляем термин “протяженность течения”, но подразумеваем в таких случаях протяженность *генерализованного* ГПТ, состоящего из совокупности локальных ГПТ. Протяженность локальных ГПТ может быть определена численно, исходя из данных о скорости непрерывного перемещения частиц в одном направлении, определенных по результатам видеорегистрации в одном месте. Протяженность генерализованных ГПТ определяют визуально под бинокуляром на малом увеличении, перемещая кювету с колонией (Марфенин, Дементьев, 2019).

В исследовании используются опубликованные ранее данные о влиянии условий среды на *D. pumila*. Новыми в данной статье являются: во-первых, сравнение реакции распределительной системы колонии на воздействие разных факторов среды и, во-вторых, анализ эффективности функционирования распределительной системы при отклонениях от оптимальных значений показателей состояния среды обитания.

Исследована реакция распределительной системы на четыре абиотических фактора среды в следующих диапазонах:

- температура (10, 15, 20, 25, 28°C);
- опреснение (26, 20, 15, 10‰);
- осушение (длительностью 5, 10, 20, 30 мин);
- отсутствие или наличие водообмена в кювете.

За контрольные значения мы принимаем среднюю соленость воды в месте сбора материала (26‰), температуру культивирования материала (15°C), отсутствие осушения и наличие водообмена.

Всего было исследовано 29 разных колоний *D. pumila*: шесть – в эксперименте с температурой, шесть – в эксперименте с соленостью, восемь – в эксперименте с осушением, девять – в эксперименте с водообменом. Мы не ставили задачу по изучению адаптации колоний к постепенной смене условий (например, нагреванию или опреснению) и исследовали только кратковременную первичную реакцию на изменение значения фактора среды.

Статистические характеристики представленных в работе результатов (среднее арифметическое значение $\bar{x}$, стандартная ошибка среднего $\pm SE$, выборка n) протяженности и объема гидроплазматических течений в первом модуле столона *D. pumila* вычислены в программе Excel для всех отснятых при одинаковых условиях (например, при одном и том же значении солености) эпизодов в пределах эксперимента совместно. Эти данные были получены и опубликованы нами ранее (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б). Сводные данные представлены в табл. 1. Несмотря на то, что эксперименты были проведены в разные годы и на различных колониях *D. pumila*, вполне допустимо сопоставлять данные разных статей, поскольку мы применяли одинаковые условия культивирования, методику регистрации (дистанционную), способы обработки данных и их количественного анализа. Для оценки достоверности полученных величин использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

По ходу исследования было выяснено, что средние значения протяженности ГПТ недостаточны для понимания формирования магистральных течений, проходящих по столону через всю колонию. Поэтому среди всех ГПТ были выделены протяженные (более 3 мм) (рис. 2) и “объемные” (более 4800000 и 9600000 мкм^3) (рис. 3) для того, чтобы определить их долю от общего числа учтенных в опыте ГПТ. Дополнительно для сравнения всех опытов использовали подразделение ГПТ по протяженности на три группы: менее 2, 2–6 и 6–17 мм (рис. 4).

Для сравнения реакции распределительной системы на условия содержания колоний дополнительно приведены средние значения показателя прироста столона за один цикл ростовых пульсаций (m_{gp}). Ростовые пульсации верхушки столона определены по результатам видеорегистрации при тех же условиях в тех же колониях, что и ГПТ. Подробности метода описаны ранее (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б). Съемки верхушки роста столона происходили не позже 1.5 ч после съемок ГПТ.

Для определения эффективности распределительной системы мы руководствовались моделью ее функционирования, опубликованной ранее (Марфенин, 1985, 1993; Марфенин, Дементьев, 2017).

Перемещение частиц через всю колонию возможно при последовательном подключении промежуточных побегов, каждый из которых помогает проталкивать столб гидроплазмы, когда тот окажется в непосредственной близости от побега. Чтобы каждый последующий побег “сработал”, порция гидроплазмы должна пройти участок столона, отделяющий данный побег от предыдущего. Если Z – протяженность ГПТ – больше длины одного модуля столона, то возможен дальний перенос частиц. Если же Z составляет менее величины

Таблица 1. Наибольшая скорость или амплитуда ГПТ (A, мкм/с), протяженность (Z, мкм) и объем ГПТ (V, мкм^3) в первом модуле столона *D. pumila*. Для сравнения указана величина прироста верхушки столона за одну пульсацию (m_{gp}, мкм)

Фактор среды	Значение фактора	Показатель распределительной системы						m_{gp}	
		$A_{(+)HF}$		$Z_{(+)HF}$		$V_{(+)HF}$			
		$\bar{x} \pm SE$	n	$\bar{x} \pm SE$	n	$\bar{x} \pm SE$	n	$\bar{x} \pm SE$	n
Температура	10°C	25.1 ± 2.4	33	2192 ± 273	40	5505885 ± 910439	40	14.0 ± 0.8	51
	15°C	41.1 ± 4.5	45	3101 ± 255	50	7764190 ± 1093795	50	15.3 ± 1.1	52
	20°C	37.3 ± 4.2	61	2232 ± 248	67	4500050 ± 667303	68	15.4 ± 1.0	79
	25°C	27.4 ± 2.3	82	1560 ± 134	90	3462456 ± 483495	89	7.2 ± 1.8	105
	28°C	17.0 ± 1.4	70	1018 ± 95	74	1038013 ± 192082	74	1.6 ± 0.8	49
Соленость	26‰	33.8 ± 2.9	55	2919 ± 300	61	4170077 ± 563206	59	12.7 ± 1.1	43
	20‰	38.9 ± 4.3	55	2656 ± 252	67	5584866 ± 749314	67	15.4 ± 1.2	42
	15‰	30.5 ± 2.1	57	2298 ± 153	64	4082916 ± 385662	63	4.9 ± 0.7	161
	10‰	23.1 ± 4.2	31	2257 ± 358	34	2935789 ± 496458	34	0.7 ± 0.7	9
Осушение	Без осушения	23.3 ± 1.6	66	1994 ± 152	79	3888090 ± 413221	76	12.1 ± 1.0	56
	На 5 мин	29.5 ± 3.1	35	2608 ± 284	39	4011455 ± 501344	38	11.8 ± 0.9	36
	На 10 мин	29.4 ± 2.7	27	2612 ± 258	41	4139642 ± 583980	41	13.8 ± 0.9	69
	На 20 мин	26.4 ± 2.0	53	1782 ± 176	68	2665393 ± 355461	68	7.4 ± 0.8	38
	На 30 мин	30.5 ± 1.7	146	2208 ± 121	179	3383962 ± 275239	178	3.7 ± 0.7	121
Водообмен	В стоячей воде	40.5 ± 2.7	73	2218 ± 152	79	6544997 ± 537849	78	14.4 ± 2.7	129
	В проточной воде	33.5 ± 2.2	51	2056 ± 153	77	5028507 ± 396721	76	8.0 ± 3.1	119

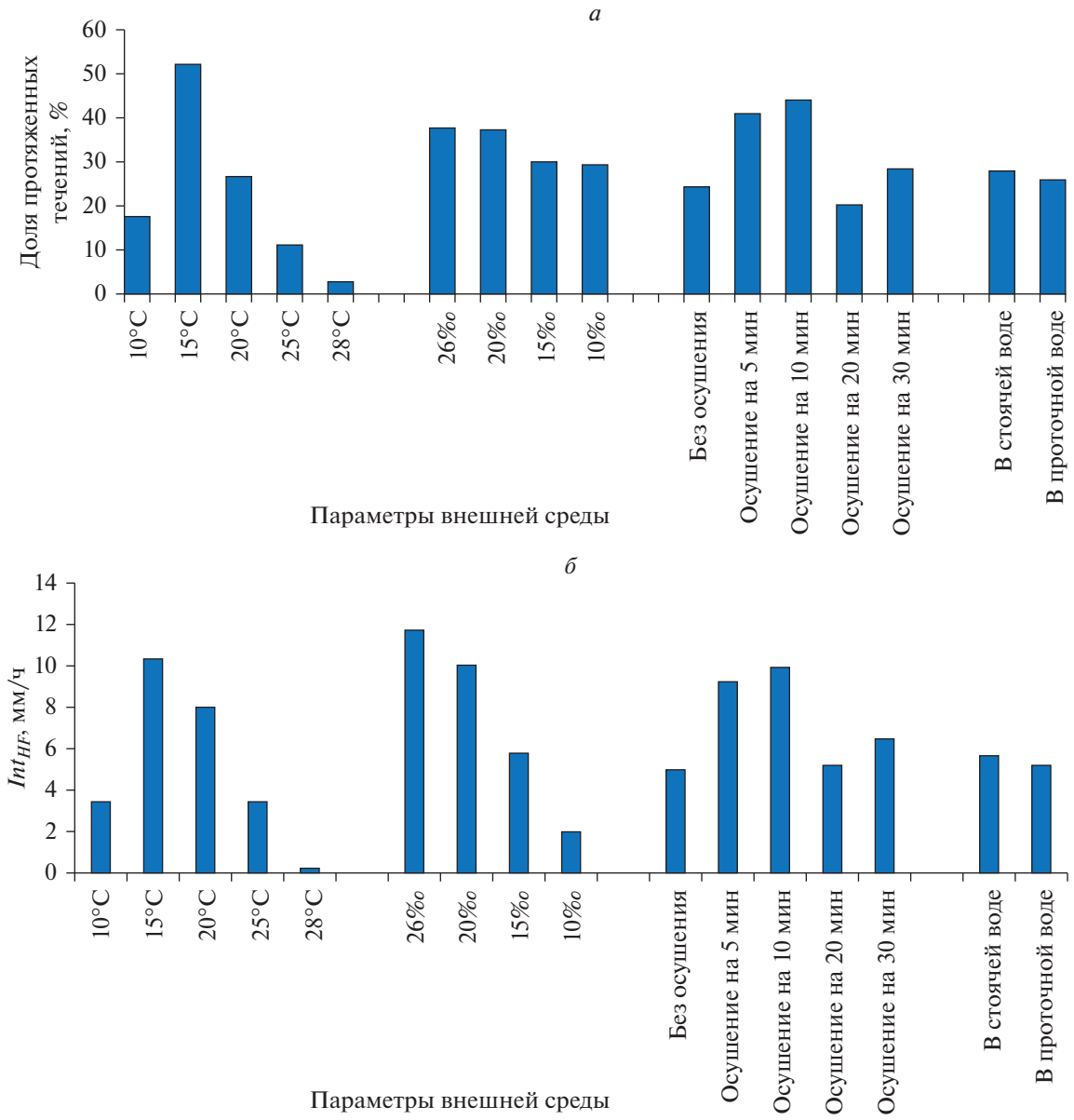

Рис. 2. Доля протяженных (более 3 мм) течений (*а*) и индекс эффективности интеграции Int_{HF} (*б*) в первом модуле столона *D. pumila* при исследованных условиях среды.

одного модуля столона, то дальний перенос теоретически невозможен: частицы будут перемещаться вперед и назад между двумя побегами в пределах одного модуля столона. Длина модуля столона у *D. pumila* может варьировать в пределах от 1.5 до 6 мм, но средняя длина сформированного модуля составляет 2.98 ± 0.12 мм, т.е. около 3 мм (Марфенин, Дементьев, 2017). Еще несформированный нулевой модуль столона всегда более короткий. Эта модель приемлема и при объяснении механизма перемещения гидроплазмы в коротких колониях, состоящих всего из двух модулей столона. В тех случаях, когда ГПТ больше длины одного модуля столона, оно может достичь верхушки роста столона без участия промежуточного молодого побега. Но такой вариант, скорее, исключение из общего правила, согласно которому часть гидроплазмы при движении от материнского побега к верхушке столона все же зайдет в молодой побег.

Основываясь на описанной выше модели, можно определить объем ГПТ. Фактически **объем ГПТ** (V_{HF}) представляет собой произведение протяженности (т.е. длины) течения Z на площадь поперечного сечения ценосарка, через которое это течение проходит. Поскольку величина просвета ценосарка изменяется из-за латеральных пульсаций, это следует учитывать при определении среднего значения площади его поперечного сечения. Интенсивность латеральных пульсаций ценосарка уменьшается по мере удаления от вер-

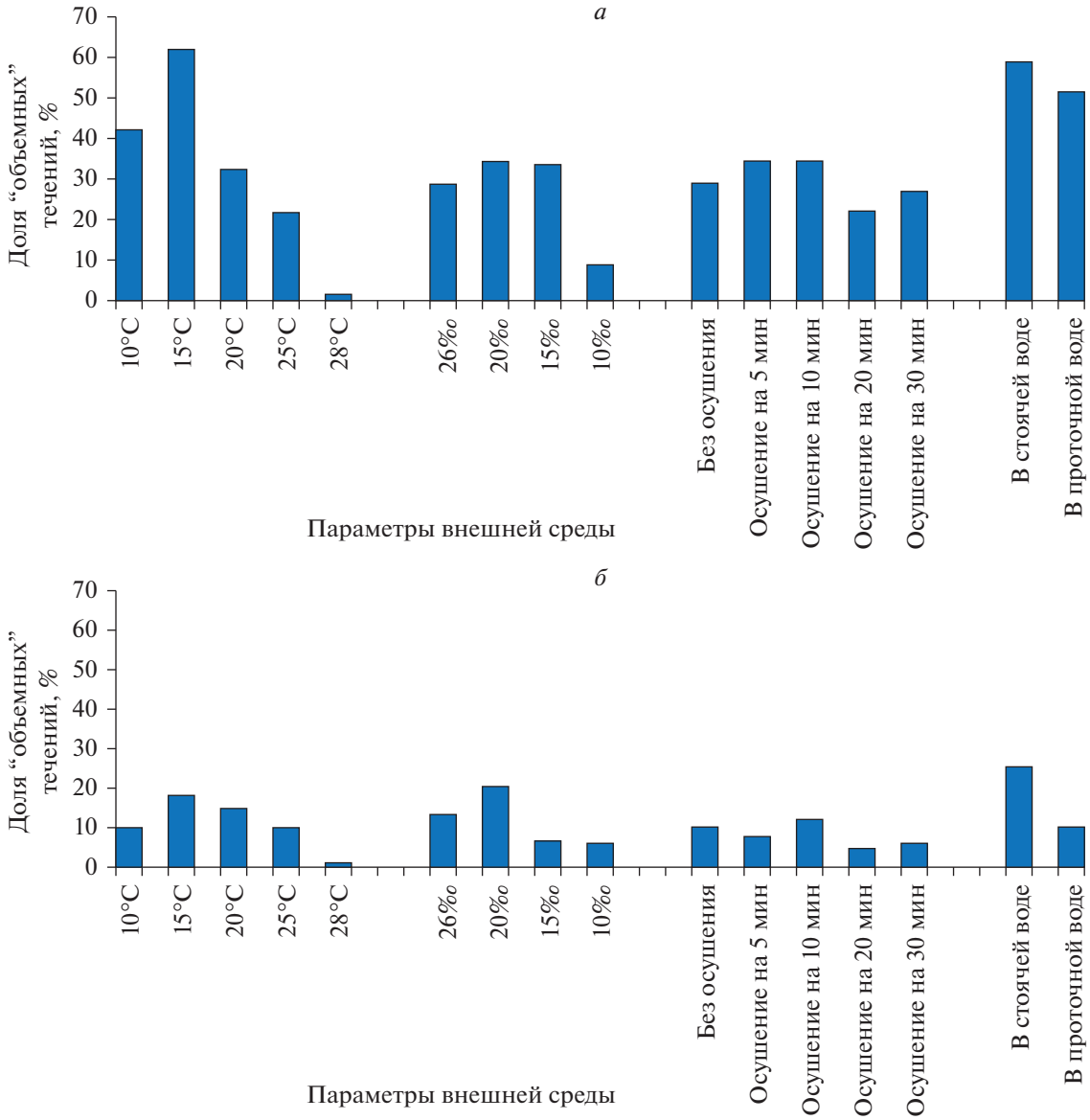

Рис. 3. Доля течений объемом более 4800000 (*а*) и 9 600000 (*б*) мкм^3, поступающих в первый модуль столона *D. pumila* при исследованных условиях среды.

хушки роста. Латеральные пульсации ценосарка во втором и последующих модулях столона значительно слабее, чем в первом и особенно нулевом модулях (Marfenin, Dementyev, 2017). Ранее нами было установлено на примере более крупных колоний *D. pumila*, что диаметр просвета ценосарка (D) в первом и последующих модулях столона составляет в среднем около 45 мкм (Марфенин, Дементьев, 2017). Площадь поперечного сечения ценосарка ($(\pi D^2)/4$) в таком случае равна 1590 мкм^2. *Распределительная система эффективна*, если протяженность локальных ГПТ покрывает расстояние между соседними побегами (3 мм или 3000 мкм) в колонии *D. pumila*. Перемножив протяженность **"эффективного" течения** на площадь сечения ценосарка столона, получаем **объем "эффективного" ГПТ** – 4800000 мкм^3. Аналогичным способом можно вычислить и объем ГПТ (9600000 мкм^3), проходящего два модуля столона (6 мм или 6000 мкм).

На основании количественных данных (табл. 1) мы высчитали доли протяженных (более 3 мм) и объемных (более 4800000 и 9600000 мкм^3) от общего числа течений.

Также мы построили интервальные вариационные ряды частот встречаемости ГПТ различной протяженности в столонах *D. pumila* при исследованных значениях факторов среды. Для этого мы сгруппировали количественные значения протяженности в три варианты. Выбор вариант обусловлен средней длиной модуля столона *D. pumila*

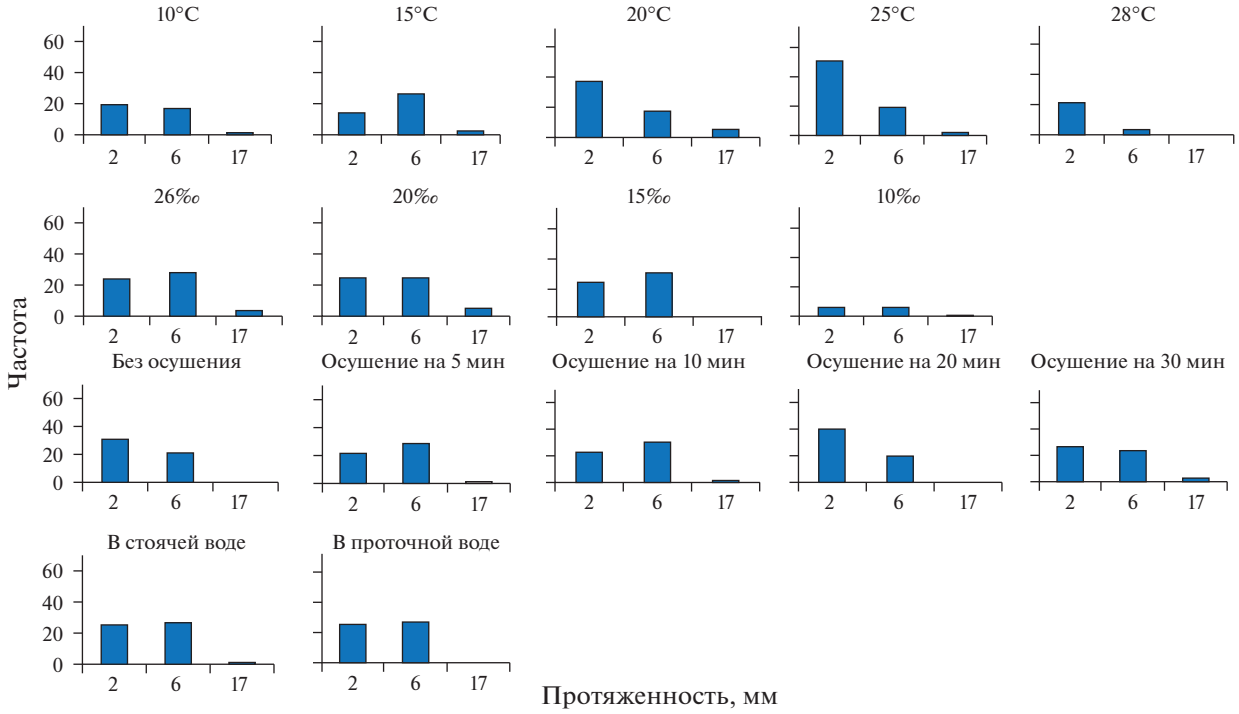

Рис. 4. Интервальные вариационные ряды значений протяженности ГПТ в столонах *D. pumila* при исследованных условиях среды. Обозначения: частота – число ГПТ с данной протяженностью за 10 ч; протяженность “2” – менее 2 мм (протяженность менее длины одного модуля), “6” – 2–6 мм (один–два модуля), “17” – 6–17 мм (более двух модулей столона).

(3 мм): 1) менее 2 мм (протяженность менее длины одного модуля); 2) 2–6 мм (один–два модуля); 3) 6–17 мм (более длины двух модулей)[1].

Поскольку длительность эпизодов видеосъемки различалась существенно (от 1.5 до 8 ч), объединение выборок по каждому эпизоду в пределах конкретного значения фактора среды создавало значительный разброс по времени (от 10 до 30 ч). В таком случае использование всех вариант было нецелесообразным: большие по продолжительности эпизоды обнаружили бы значительное превосходство по количеству зарегистрированных течений. Для устранения подобной статистической ошибки частоты встречаемости ГПТ для всех параметров среды были пересчитаны на постоянный отрезок времени – 10 ч.

Для оценки эффективности распределительной системы мы впервые ввели специальный индекс.

Индекс эффективности интеграции (Int_{HF}) – произведение средней протяженности гидроплазматических течений, превышающих заданный лимит (3 мм – длина модуля столона), на число таких ГПТ в час (т.е. на частоту протяженных ГПТ).

Описанный выше метод был использован нами ранее при изучении реакции одного и того же вида (*D. pumila*) на изменение температуры, солености, водообмена и осушения. Результаты исследований были опубликованы в разное время по мере завершения экспериментов и обработки результатов по каждому из указанных выше параметров среды обитания, но не были сведены вместе. Только сейчас мы можем ответить на более общий вопрос – насколько характерно для *D. pumila* сохранение эффективности функционирования распределительной системы при резких изменениях **различных** параметров среды.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Расчетная протяженность переноса частиц (показатель Z) в первом модуле столона в колониях варьирует, но в целом условия среды в исследованном диапазоне влияют незначительно на протяженность ГПТ. В тех же пределах изменения параметров среды другие жизненно важные показатели, например прирост столона за цикл ростовых пульсаций (m_{gp}), реагируют активнее, изменяясь в 2–3 раза (табл. 1).

При контрольных значениях параметров среды (26‰, 15°C), близких к естественным в местах обитания вида в летний период, показатель Z в столоне примерно равен 3 мм, т.е. расстоянию между соседними побегами (табл. 1). Наиболее протяженные ГПТ составляют 10.6 мм к верхушке столона и 12.8 мм от верхушки к материнскому побегу (при 26‰). Протяженность перемещенной гидроплазмы в первом модуле столона при

[1] 17 мм – максимальная из зарегистрированных в данном исследовании протяженность ГПТ.

различной солености достоверно не различается ($p > 0.05$) (табл. 1) и оказывается устойчивой к опреснению. Даже при 10‰ усредненное значение $Z_{(+)HF}$, т.е. ГПТ, направленных к верхушке столона, все еще достаточно велико, а доля протяженных $Z_{(+)HF}$ составляет почти 30% (рис. 2*а*). Усредненная наибольшая скорость за цикл пульсации, т.е. амплитуда ГПТ (A), в первом модуле столонов проявляет слабую и недостоверную тенденцию ($p > 0.05$) к снижению по мере опреснения (табл. 1).

В столонах величина Z существенно уменьшается ($p < 0.01$) при температуре выше 15°С (табл. 1). Хотя усредненная расчетная протяженность перемещения частиц к верхушке столона $Z_{(+)HF}$ при 10 и 20°С составляет менее 3 мм, работа распределительной системы не должна нарушаться, поскольку велика доля отдельных течений с большей протяженностью (рис. 2*а*), т.е. верхушки достигают не все течения, а только наиболее мощные из них. Наиболее протяженные ГПТ составляют 8.9 мм к верхушке столона (при 15°С) и 16.6 мм от верхушки к материнскому побегу (при 20°С). При дальнейшем нагревании до 25 и 28°С величина Z снижается до 1–1.5 мм, что покрывает лишь половину длины модуля столона. При этом доля отдельных протяженных ГПТ оказывается незначительной – не более 10%. Эти показатели температуры оказываются пороговыми, при их превышении перемещение гидроплазмы становится неэффективным для транспортировки частиц к верхушкам роста столона и ближайшего к нему молодого побега.

В первом модуле столонов амплитуда направленных к верхушке ГПТ ($A_{(+)HF}$) достигает максимума при 15°С, а при дальнейшем нагревании воды снижается.

От длительности осушения протяженность течений (табл. 1) в изученном диапазоне зависит слабо. Амплитуда ГПТ возрастает с увеличением продолжительности осушения (табл. 1), однако достоверные различия есть лишь между крайними вариантами эксперимента (контроль и тридцатиминутное осушение). Амплитуда направленных к верхушке столона магистральных течений $A_{(+)HF}$ в стоячей воде выше, чем в проточной. В стоячей и проточной воде (табл. 1) протяженность переноса частиц составляет 2–2.5 мм.

Доля протяженных течений (более 3 мм) обычно составляет 10–40% от общего числа ГПТ (рис. 2*а*), но может быть и меньше (при 28°С), и больше (при 15°С).

Расчет индекса эффективности интеграции (Int_{HF}) колонии посредством работы распределительной системы обнаружил следующие результаты в зависимости от показателей среды (рис. 2*б*):

• оптимальная температура для интеграции колонии составляет 15°С;

• опреснение приводит к линейному понижению эффективной интеграции;

• после непродолжительного осушения интеграция возрастает;

• в стоячей и проточной воде интеграция однонаправленных течений одинакова.

Изменение объемов $V_{(+)HF}$ в целом демонстрирует ту же динамику (табл. 1, рис. 3), что и изменение протяженностей в соответствующем эксперименте (нагревании, опреснении, осушении). Эти объемы позволяют представить, какой объем гидроплазмы должен поступать в первый модуль столона (где проводили видеорегистрацию) для эффективной транспортировки частиц по колонии. “Объемные” ГПТ составляют значительную долю (иногда до 30–40%) от общего числа течений в изученном диапазоне факторов среды (рис. 3*а*), хотя ГПТ более 9 600 000 мкм^3 (т.е. более 6 мм) встречаются реже (рис. 3*б*). Исключение составляет температура 28°С, при которой “объемных” протяженных ГПТ очень мало или вообще нет. Таким образом, интенсивные протяженные ГПТ (более одного модуля столона) в колонии существуют, они не единичны, и на них основывается дальний транспорт частиц.

Рассмотрим интервальные вариационные ряды значений протяженности ГПТ в столонах *D. pumila* при исследованных значениях факторов среды (рис. 4), взаимно дополняющие результаты расчета Int_{HF}.

При повышении температуры от 10 до 25°С частота ГПТ протяженностью более 2 мм изменяется незначительно, хотя частота коротких ГПТ (менее 2 мм) возрастает в 2–3 раза при 20 и 25°С. При температуре 28°С частота коротких ГПТ снижается, а протяженные ГПТ становятся редкими (рис. 4).

При опреснении с 26 до 15‰ существенных изменений частоты коротких и протяженных ГПТ не происходит, т.е. распределительная система хорошо адаптирована к опреснению и продолжает полноценно работать (по крайней мере, в коротких модельных колониях). При 10‰ частота всех ГПТ, как коротких, так и протяженных, снижается почти в 2 раза. Следовательно, эффективность функционирования распределительной системы при 10‰ существенно уменьшается (рис. 4).

Осушение длительностью до 30 мин включительно практически не влияет на частоту ГПТ. Параметр водообмена (стоячая или проточная вода) не сказывается на эффективности распределительной системы как для коротких (менее 2 мм), так и для более протяженных течений (рис. 4).

Средние значения прироста столона за один акт ростовых пульсаций (m_{gp}), зарегистрированные примерно в то же время, что и ГПТ, оказываются более чувствительными к условиям содержания. Существенное уменьшение m_{gp} происходит уже при 25°С, а также при 15‰ и при осушении на 20 мин. При 28°С или при 10‰ рост столона почти прекращается, причем всего лишь за несколько часов после перевода колоний в такие условия содержания (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительное изучение реакции распределительной системы колониальных гидроидов на внешние воздействия проводится впервые. Раньше уделяли больше внимания росту и ветвлению колонии, как показателям воздействия на колониальный организм (Бурыкин, 1978а, б, 1979) или популяционным показателям для неколониальных гидроидов (Канаев, 1952). Изменения в росте и ветвлении существующими методами обнаруживаются медленно – спустя сутки и более (Марфенин, Бурыкин, 1979). Они отражают существенную перестройку всего колониального организма, которая становится заметной не сразу и продолжается долго – порой неделю и больше, что в жизни колониальных гидроидов составляет значительный срок.

Быстрее реакция гидроидов на внешние воздействия выражается в пульсации ценосарка и в поведении гидрантов. При наступлении любых неблагоприятных обстоятельств гидранты сжимаются. Так они реагируют на осушение, резкое изменение температуры, токи воды и пр. Пульсации ценосарка также чувствительны к внешним воздействиям – особенно пульсации верхушек роста (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б). Однако и поведение гидрантов, и пульсации ценосарка в значительной мере отражают локальные обстоятельства. По ним нельзя судить об эффекте воздействий на весь организм в целом.

Эффективность функционирования распределительной системы, выраженная в скорости и объемах переносимой гидроплазмой частиц – базовый показатель жизнедеятельности колониального организма, такой же как рост и ветвление, но определяемый намного быстрее (за несколько часов). Описанные в литературе быстрые методы изучения ГПТ – путем введения в пищу радиоактивной метки (Rees et al., 1970) или флуоресцентных красителей (Макаренкова, 1988; Buss et al., 2015) – требуют наличия специального оборудования. Кроме того, эти методы недостаточно содержательны, поскольку с их помощью можно определить только генеральное направление, дистанцию и продолжительность перемещения меток без детализации процесса формирования ГПТ, его зависимости от локальных составляющих ГПТ, без детальной динамики функционирования распределительной системы.

Используя метод видеорегистрации перемещения гидроплазмы в столонах у колониальных гидроидов можно просто и бесконтактно выявлять реакцию распределительной системы на различные воздействия, которым подвергается колониальный организм. Период задержки реакции на воздействие соответствует одному–двум циклам ГПТ, т.е. от получаса до часа. Фактически это моментальная реакция организма, так как все процессы у колониальных гидроидов, кроме поведения гидрантов, происходят медленно – на протяжении десятков минут.

Используя ключевую роль распределительной системы в жизнедеятельности гидроидов и возможность быстрой регистрации ее реакции на внешние воздействия, мы можем подойти к решению ряда задач, как фундаментальных, так и прикладных. Фундаментальная задача – определение степени толерантности модульного организма, способности переживать неблагоприятные периоды, некоторой нечувствительности к стрессовым воздействиям.

Прикладная задача – выяснение продолжительности допустимой смены условий среды, при которой колониальный организм не реагирует перестраиванием своих процессов жизнедеятельности на непродолжительное осушение, изменение температуры или солености, пребывание в неподвижной воде и пр.

В этой связи рассмотрим два вопроса: 1) как система ГПТ реагирует на резкие изменения условий среды; и 2) остается ли эта система эффективной.

Анализ показателей перемещения гидроплазмы позволил выявить экологические пределы нормального существования *D. pumila* по нескольким параметрам. Под *нормальным существованием* мы подразумеваем сохранение эффективной транспортировки внутриполостной жидкости по колонии, т.е. способность доставлять частицы от самого большого побега к нулевому модулю, ближайшему к верхушке роста столона.

Способность к протяженному транспорту пищевых частиц в столоне колониального гидроида в общем случае определяется расчетной протяженностью локальных ГПТ, регистрируемых при микровидеосъемке. Из локальных ГПТ, как было показано ранее (Марфенин, Дементьев, 2017), складываются непрерывные однонаправленные интегральные ГПТ. Они распространяются на значительные расстояния – максимально на длину всего столона от его проксимальной части, где находится самый крупный (материнский) побег, из которого была выращена модельная колония, до верхушки роста столона на дистальном его конце (Марфенин, Дементьев, 2019).

Если расчетная протяженность локального ГПТ больше, чем средняя длина модуля столона, то имеются условия последовательного участия побегов вдоль по столону в перемещении гидроплазмы внутри него. Согласно этой гипотезе, локальное ГПТ частично поступает в ближайший побег, вызывая ответную реакцию выталкивания из него излишка гидроплазмы, т.е. генерируя следующее локальное ГПТ и так далее (Марфенин, 1985).

Если же расчетная протяженность локального ГПТ меньше средней длины модуля столона, то отсутствуют необходимые условия для формирования однонаправленного протяженного ГПТ. Такое течение означает всего лишь небольшой сдвиг гидроплазмы в столоне в пределах одного модуля, после чего следует его “откат” назад. Частицы пищи при этом остаются в пределах одного модуля столона. Следовательно, система ГПТ становится *неэффективной* при протяженности локальных ГПТ менее

средней длины модуля столона. Та же система ГПТ при средних значениях протяженности локальных ГПТ больше длины модуля столона признается нами *эффективной*, т.е. достаточной для образования непрерывных протяженных течений.

Между двумя определенными выше состояниями системы ГПТ – эффективной и неэффективной – могут быть промежуточные состояния. Сравнивая средние значения длины модуля столона и расчетной протяженности локального ГПТ, следует помнить, что при усреднении сводится вместе все разнообразие усредняемых значений. Среди них есть как короткие, так и длинные модули (Марфенин, Дементьев, 2017), а также короткие и длинные локальные ГПТ.

Стандартная ошибка среднего значения дает некоторое представление о реальном разнообразии усредняемых величин, но не полностью. Несколько больше информации можно получить при учете доли протяженных ГПТ (более 3 мм) от общего числа течений в первом модуле столона. Этот показатель оказывается значительным при всех испытанных значениях абиотических факторов (рис. 2).

Больше всего информации мы получили из вариационных рядов, демонстрирующих соотношение между усредняемыми значениями (рис. 4); в нашем случае это соотношение протяженностей локальных ГПТ, подразделенных на три группы:

• первая группа (до 2 мм) – течения, недостаточные для генерации протяженных ГПТ;

• вторая группа (от 2 до 6 мм) – средние по длине локальные ГПТ, охватывающие один–два модуля столона, теоретически достаточные для генерации цепочки локальных ГПТ, составляющих совместно протяженное ГПТ;

• третья группа (от 6 до 17 мм) – течения, которые распространяются на два и более модулей столона.

Результаты сравнения, представленные на рис. 4, убедительно свидетельствуют о том, что главное условие для генерации протяженных ГПТ – течения второй группы – одинаково представлены почти при всех значениях изученных факторов среды, кроме 28°C и 10‰.

Следовательно, даже в тех случаях, когда средняя величина локальных ГПТ меньше средней длины модуля столона, могут быть отдельные локальные ГПТ, достаточные для преодоления расстояния между соседними побегами. В этих случаях формируются интегральные ГПТ, которые переносят частицы пищи на значительное расстояние по столону. Поскольку подобные интегральные ГПТ возникают нерегулярно, то и эффективность системы ГПТ, очевидно, меньше по сравнению с теми случаями, когда средние значения локальных ГПТ выше средних значений длины модуля столона.

При констатации неэффективности системы ГПТ следует все же обращать внимание на величину стандартной ошибки $\pm SE$ (табл. 1) и результаты анализа данных с помощью вариационных рядов (рис. 4). Чем больше величина стандартной ошибки, тем вероятнее, что система ГПТ, даже при недостаточном среднем значении расчетной протяженности локального ГПТ, время от времени генерирует течения, способные обеспечить протяженную “эстафетную”[2] передачу частиц на значительное расстояние по столону.

Очевидно, что интеграция колонии определяется не только протяженными ГПТ, но и их частотой. Чем выше доля протяженных ГПТ, превышающих среднюю длину одного модуля столона (3 мм), тем эффективнее обеспечение пищей дистально расположенных зон роста. Для совместного учета двух составляющих мы ввели индекс эффективности интеграции Int_{HF}, который представляет собой совокупную длину всех протяженных ГПТ за час (рис. 2*б*). Сравнивая на рис. 2 попарно ход аналогичных диаграмм, мы видим, что для опытов с температурой, осушением и гидродинамикой они почти совпадают, а в эксперименте с соленостью существенно различаются. Это означает, что по мере опреснения снижается средняя протяженность ГПТ, превышающих 3 мм. Поэтому индекс эффективности интеграции Int_{HF} более информативен, чем показатель частоты протяженных ГПТ, и его можно рекомендовать для анализа физиологической интеграции у колониальных гидроидов.

Следуя этой рекомендации, можно учитывать промежуточные состояния эффективности распределительной системы, а не только выделять два крайних варианта: эффективная и неэффективная системы ГПТ. В таком случае представленные результаты (рис. 2*б*) позволяют считать, что распределительная система наиболее эффективна при 15 и 20°C, 26‰ и 20‰, осушении на 5 и 10 мин. При содержании колоний в стоячей воде эффективность такая же, как и при наличии водообмена.

Анализируя протяженность ГПТ и объемы переносимой течениями гидроплазмы, следует помнить, что все опыты были поставлены на предельно коротких колониях, состоящих из одного крупного (материнского) побега и одного маленького (дочернего). Длина столона в этих колониях была 5–6 мм. Тем более удивительно, что и в таких крошечных колониях расчетная протяженность исходящего из материнского побега ГПТ в среднем составляет 2–3 мм, а максимально 10.6 мм. Как такое возможно? Объем нулевого модуля столона – участка позади верхушки роста – значительно больше, чем объем любого другого модуля столона. Он эквивалентен трем–пяти модулям столона между побегами (Марфенин, Дементьев, 2017). Также и верхушка побега, вернее, участок столона ниже нее, значительно больше модуля ценосарка побега и модуля столона (наши неопубликованные данные). Совместно этот комплекс (нулевой модуль столона и ближайший молодой побег) способен принять значительные объемы гидроплазмы, вышедшей из материнского побега. Установленные нами максимальные значения расчетного

[2] Термин “эстафетная” передача частиц был предложен Ю.Б. Бурыкиным (2013).

объема одного ГПТ как раз соответствуют максимальным значениям объема нулевого модуля столона.

Аналогичных опытов на длинных колониях не проводилось. В больших колониях перисарк удаленной от верхушки части столона становится темным, что мешает регистрации ГПТ с помощью микровидеосъемки. Однако методом непосредственного визуального отслеживания движения частиц в столоне под бинокуляром было установлено, что эти частицы могут без перерыва перемещаться от одного конца колонии, состоящей из восьми модулей столона (семи сформированных и растущего нулевого), до противоположного ее конца (Марфенин, Дементьев, 2019).

Изучение воздействия факторов среды на колониальный организм гидроида *D. pumila* показало, что пульсации ценосарка и показатели перемещения гидроплазмы зачастую существенно варьировали (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б), в том числе в случаях, когда значения абиотических факторов были близки к естественным для колонии. Отмеченная вариабельность данных может являться следствием постоянных процессов саморегуляции в модульном организме (Марфенин, 2016). Это важное обстоятельство следует учитывать при анализе реакции распределительной системы на внешние воздействия. Сравнивая систему ГПТ в изменившихся условиях существования, необходимо считаться с тем, что и при неизменных условиях скорости ГПТ, их периодичность и дальность варьируют значительно. Это характерная особенность децентрализованных организмов (Марфенин, 2016).

Проводя данный сравнительный анализ, мы основываемся на первичных результатах осуществленных ранее частных исследований реакции *D. pumila* на нагревание, опреснение, осушение и изменение водообмена (табл. 1). Характерная вариабельность показателей ГПТ сглаживается наличием трендов, описанных нами ранее (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б).

Оптимальный диапазон, при котором зарегистрированы интенсивные перемещения гидроплазмы и большие объемы перенесенной гидроплазмы, составляет от 10 до 20°С и от 26 до 15‰. При дальнейшем нагревании (25 и 28°С) и опреснении (10‰) перемещения гидроплазмы теряют активность, становясь менее быстрыми, менее протяженными и менее объемными (табл. 1). Осушение на непродолжительный период (до 30 мин включительно) явным образом не сказывается на работе распределительной системы, хотя и приводит к замедлению роста столонов (Дементьев, Марфенин, 2019а). В стоячей воде распределительная система *D. pumila* функционирует более энергично, а именно: с более высокой частотой возникновения мощных ГПТ, бóльшей их скоростью и бóльшими объемами переносимой гидроплазмы (Марфенин, Дементьев, 2018б).

Только при достижении температуры 25–28°С наблюдается снижение эффективности функционирования распределительной системы, но даже при столь высокой для гидроида температуре протяженные ГПТ не исчезают полностью (хотя становятся редкими). В остальных случаях распределительная система остается эффективной, т.е. способной обеспечить перенос частиц к зонам роста, несмотря на уменьшение прироста и даже остановку роста колонии (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б).

На изменение условий среды показатели ГПТ реагируют “мягко”. При пошаговом изменении температуры, солености, постепенном возрастании продолжительности осушения и отсутствии водообмена ожидаемо было бы увидеть линейную реакцию (например, плавное снижение всех показателей). Однако этого не происходит (рис. 4), за исключением опыта с опреснением (рис. 2*б*). Изменение характера ГПТ при каждом новом воздействии на отдельную колонию в исследуемом диапазоне факторов среды практически незаметно. По анализу ГПТ мы не можем установить, что в данный конкретный момент система почувствовала смену условий среды. Реакция сразу после произведенного изменения параметра не заметна. Показатели течений меняются не быстро и не сильно (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б). Лишь при усреднении множества данных по многим колониям можно выделить некоторые тренды, но и они, впрочем, не вполне отчетливые.

Вблизи экстремальных значений параметров среды гидроплазматические течения продолжаются (рис. 4), хотя другие физиологические показатели нарушаются. Рост снижается вплоть до остановки (m_{gp} в табл. 1); более того, у ростовых и латеральных пульсаций тела изменяются период и амплитуда (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б; Марфенин, Дементьев, 2018б).

Сохранение гидроплазматических течений свидетельствует о том, что распределительная система продолжает функционировать даже в условиях стресса.

Являясь характерными организмами, обитающими на границе нижней литорали и сублиторали, исследованные нами колонии гидроида *D. pumila* подвергаются сильному абиотическому воздействию. До сих пор оставалось совершенно не ясно, вызывает ли абиотический стресс какие-либо нарушения в работе распределительной системы, а если и вызывает, то насколько сильные. Анализ параметров функционирования распределительной системы позволил показать сколь устойчивыми могут быть гидроплазматические течения при внешних воздействиях (температурных, соленостных и т.п.), близких к естественным в местах обитания вида в летний период.

Это служит подтверждением лабильности децентрализованной распределительной системы. В модульной организации, присущей гидроидам, становятся возможными нецентрализованные

регуляции, обусловливающие более высокую устойчивость системы за счет развития пластичности физиологических процессов. Гидроиды способны адаптироваться к особенностям среды обитания благодаря своей "природной" вариабельности (Марфенин, 2002, 2016). Относительно просто устроенный организм гидроида демонстрирует пластичность ответа на внешнее воздействие: совершенно разные факторы среды в исследованном диапазоне не могут дестабилизировать систему. Физиологический процесс переноса пищи по колониальному организму существенно не нарушается даже при отклонении условий от оптимальных для гидроида. Хотя *D. pumila* и является литоральной формой, обитающей в нестабильных условиях приливно-отливной полосы, все же можно выделить наиболее оптимальные для нее показатели абиотических факторов. Использованные в экспериментах значения факторов среды (10–28°C, 10–26‰) соответствуют температурным и соленостным режимам на литорали беломорского побережья в летний период (Наумов, Оленев, 1981; Цетлин и др., 2010). Однако оптимальный диапазон, при котором наблюдаются высокая скорость роста, интенсивные перемещения гидроплазмы и наибольший объем перенесенной гидроплазмы, составляет от 10 до 20°C. Гидроид *D. pumila* способен существовать без проявления признаков угнетения в диапазоне солености от 26 до 20‰ в течение по крайней мере 8 ч (Дементьев, Марфенин, 2018, 2019а, б). Колонии выдерживают осушение до 30 мин включительно: происходит замедление прироста, но значимые изменения в пульсациях тела и перемещении гидроплазмы отсутствуют даже спустя 7–9 ч наблюдений.

Установленная толерантность распределительной системы *D. pumila* к абиотическим воздействиям имеет практическое значение. Она позволяет использовать такие процедуры при экспериментальной работе с гидроидами, как: 1) перенос стекол с колониями из одной кюветы в другую; 2) манипуляции с гидроидами в непроточной кювете со стоячей водой; 3) кормление гидроидов в отдельном аквариуме при температуре, отличной от температуры культивирования; 4) вынужденное содержание в воде с разной соленостью (взятой из моря и не стандартизированной) и т.п. Полученные данные позволяют снять многие вопросы о допустимости проведения тех или иных процедур при лабораторных исследованиях гидроидов – важных модельных объектов (по крайней мере, часто используемого вида *D. pumila*).

Мы рассмотрели эффективность интеграции колонии не только на предмет ее наличия или отсутствия, но и используя критерий частоты интеграционных протяженных ГПТ. Формирование локальных течений, достаточных для эффективного перемещения гидроплазмы по колонии, возможно при всех исследованных условиях среды, хотя и с разной частотой. Исследованные показатели среды не приводят к полному прекращению транспортировки гидроплазмы по колонии (даже при 10‰ в столонах сохраняются ГПТ, а при 28°C встречаются течения протяженностью более 3 мм). Распределительная система остается теоретически эффективной при любых испытанных значениях температуры, солености, длительности осушения и отсутствии водообмена. Установленная стойкость распределительной системы (в первые часы воздействия фактора) – доказательство толерантности гидроида к отклонению показателей среды от оптимальных для организма значений. По-видимому, толерантность является характерной особенностью распределительной системы литорального гидроида *D. pumila*.

ВЫВОДЫ

Сопоставление результатов исследований реакции гидроида *D. pumila* на изменения условий среды показало, что распределительная система этого вида слабо реагирует в первые часы резкого отклонения от оптимума по нескольким главным факторам среды, а именно: температуре, солености, осушению и водообмену.

Распределительная система *D. pumila* остается теоретически эффективной в диапазоне температуры от 10 до 28°C, опреснении с 26 до 10‰, осушении длительностью до 30 мин и отсутствии водообмена. Однако оптимальными условиями функционирования системы ГПТ являются 15–20°C, 26–20‰, а также кратковременное осушение на 5–10 мин. Различия в эффективности функционирования распределительной системы при содержании колоний в стоячей воде и на течении не установлены.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова № 121032300118-0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бурыкин Ю.Б., 1978а. Рост колонии *Dynamena pumila* (L.) (Hydrozoa, Sertulariidae) при различной солености воды // Деп. ВИНИТИ. № 2426-78. Деп. от 14.07.1978. С. 1–7.

Бурыкин Ю.Б., 1978б. Рост и половое созревание колонии *Dynamena pumila* (L.) (Hydrozoa, Sertulariidae) при различной температуре воды // Деп. ВИНИТИ. № 2427-78. Деп. от 14.07.1978. С. 1–10.

Бурыкин Ю.Б., 1979. Регулирующая роль некоторых экологических факторов в процессе роста колониальных гидроидов. Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ. 168 с.

Бурыкин Ю.Б., 2013. Эстафетный способ перемещения гидроплазмы в колониях гидроидных полипов // Онтогенез. Т. 44. № 2. С. 115–125.

Дементьев В.С., Марфенин Н.Н., 2018. Влияние опреснения на рост, пульсации ценосарка и перемещение гидроплазмы у колониального гидроида *Dynamena pumila* (L., 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 79. № 5. С. 376–392.

Дементьев В.С., Марфенин Н.Н., 2019а. Влияние факторов среды на рост и функционирование распределительной системы гидроида *Dynamena pumila* (Linnaeus, 1758) // Тр. VII Междунар. науч.-практ. конф. "Морские исследования и образование

(MARESEDU-2018)". Т. IV. Тверь: ООО "ПолиПРЕСС". С. 282–284.

Дементьев В.С., Марфенин Н.Н., 2019б. Воздействие температуры на рост, пульсации ценосарка и перемещение гидроплазмы у колониального гидроида *Dynamena pumila* (L., 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 80. № 1. С. 22–42.

Канаев И.И., 1952. Гидра: очерки по биологии пресноводных полипов. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 372 с.

Косевич И.А., 1991. Сравнение функционирования верхушек роста побегов и столонов в колонии *Obelia loveni* (Allm.) (Hydrozoa, Campanulariidae) // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биол. № 2. С. 44–52.

Макаренкова Е.П., 1988. Определение скорости движения гидроплазмы у колониальных гидроидов рода *Obelia* с помощью флуоресцентных красителей // ДАН СССР. Т. 302. № 5. С. 1275–1277.

Марфенин Н.Н., 1985. Функционирование распределительной системы пульсаторно-перистальтического типа у колониальных гидроидов // Журн. общ. биологии. Т. 46. № 2. С. 153–164.

Марфенин Н.Н., 1993. Функциональная морфология колониальных гидроидов. СПб.: ЗИН РАН. 151 с.

Марфенин Н.Н., 2002. Нецентрализованная саморегуляция целостности колониальных организмов // Журн. общ. биологии. Т. 63. № 1. С. 26–39.

Марфенин Н.Н., 2016. Децентрализованный организм на примере колониальных гидроидов // Биосфера. Т. 8. № 3. С. 315–337.

Марфенин Н.Н., Бурыкин Ю.Б., 1979. Зависимость роста колонии *Dynamena pumila* (L.) (Hydrozoa, Sertulariidae) от количества получаемой пищи // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биол. № 1. С. 61–68.

Марфенин Н.Н., Дементьев В.С., 2017. Парадокс протяженных течений гидроплазмы в колониальном гидроиде *Dynamena pumila* (Linnaeus, 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 78. № 4. С. 3–20.

Марфенин Н.Н., Дементьев В.С., 2018а. Продольные пульсации столона у колониального гидроида *Dynamena pumila* (Linnaeus, 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 79. № 2. С. 85–96.

Марфенин Н.Н., Дементьев В.С., 2018б. Рост, пульсации ценосарка и перемещение гидроплазмы у колониального гидроида *Dynamena pumila* (L., 1758) в проточной и непроточной кюветах // Журн. общ. биологии. Т. 79. № 2. С. 97–107.

Марфенин Н.Н., Дементьев В.С., 2019. К вопросу о протяженности гидроплазматических течений у колониального гидроида *Dynamena pumila* (L., 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 80. № 5. С. 348–363.

Марфенин Н.Н., Дементьев В.С., 2020. Побеги как генераторы гидроплазматических течений в колониальном гидроиде *Dynamena pumila* (L., 1758) // Журн. общ. биологии. Т. 81. № 6. С. 421–443.

Наумов А.Д., Оленев А.В., 1981. Зоологические экскурсии на Белом море: пособие для летней учебной практики по зоологии беспозвоночных. Л.: Изд-во ЛГУ. 175 с.

Цетлин А.Б., Жадан А.Э., Марфенин Н.Н., 2010. Флора и фауна Белого моря. Иллюстрированный атлас. М.: Т-во науч. изд. КМК. 471 с.

Buss L.W., Anderson C.P., Perry E.K., Buss E.D., Bolton E.W., 2015. Nutrient distribution and absorption in the colonial hydroid *Podocoryna carnea* is sequentially diffusive and directional // PLoS One. V. 10. № 9. Art. e0136814.

Dudgeon S.R., Buss L.W., 1996. Growing with the flow: on the maintenance and malleability of colony form in the hydroid *Hydractinia* // Am. Nat. V. 147. № 5. P. 667–691.

Dudgeon S.R., Wagner A., Vaisnys J.R., Buss J.W., 1999. Dynamics of gastrovascular circulation in the hydrozoan *Podocoryne carnea*: The one-polyp case // Biol. Bull. V. 196. P. 1–17.

Marfenin N.N., Dementyev V.S., 2017. Functional morphology of hydrozoan stolons: Stolonal growth, contractility, and hydroplasmic movement in *Gonothyraea loveni* (Allman, 1859) // Mar. Biol. Res. V. 13. № 5. P. 521–537.

Rees J., Davis L.V., Lenhoff H.M., 1970. Paths and rates of food distribution in the colonial hydroid *Pennaria* // Comp. Biochem. Physiol. V. 34. P. 309–316.

Wagner A., Dudgeon S., Vaisnys J.R., Buss L.W., 1998. Nonlinear oscillations in polyps of the colonial hydroid *Podocoryne carnea* // Naturwissenschaften. V. 85. P. 117–120.

Efficiency of the transport system of the hydroid *Dynamena pumila* (L., 1758) under different abiotic impacts

V. S. Dementyev[a, b], N. N. Marfenin[a, *]

[a]*Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Department of Invertebrates Zoology Leninskie Gory, 1, Moscow, 119234 Russia*

[b]*National Research University Higher School of Economics, Faculty of Biology and Biotechnology Myasnitskaya, 20, Moscow, 101000 Russia*

**e-mail: marf47@mail.ru*

The article is devoted to determining the efficiency (range and volume) of transport of food particles suspended in hydroplasm along the stolon of the colonial hydroid *Dynamena pumila* inhabiting the littoral, depending on four environmental factors. These are temperature (10, 15, 20, 25, 28°C), salinity (26, 20, 15, 10‰), air exposure (duration 5, 10, 20, 30 min), presence or absence of water exchange. The ability for efficient transport is determined by the estimated length of local hydroplasma currents, from the chain of which continuous integral hydroplasmic flows are formed. Local currents, covering one or two stolon modules and theoretically sufficient for the generation of joint extended hydroplasmic flows, are equally represented for almost all values of the studied environmental factors, except for 28°C and 10‰. This means that the transport system of *D. pumila* is equally effective in a wide range of temperature and salinity changes, as well as during prolonged air exposure and when keeping colonies in stagnant water. The highest efficiency of colony integration is achieved at 15–20°C, 26–20‰ and after air exposure for 5–10 minutes. In terms of the degree of integration, the content of colonies in non-flowing and flowing conditions practically does not differ. The transfer of colonies from one cuvette with water to another does not affect the intensity of hydroplasmic flows system.

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2021, том 82, № 5, с. 337–367

УДК 581.55

СОСУДИСТЫЕ ЭПИФИТЫ – РАСТЕНИЯ, ПОРВАВШИЕ С ЗЕМЛЕЙ

© 2021 г. А. К. Еськов[1, 2, *], Г. Л. Коломейцева[2]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет*
Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, 119234 Россия
[2]*Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН*
Ботаническая ул., 4, Москва, 127276 Россия
**E-mail: A.K.Eskov@yandex.ru*

Поступила в редакцию 09.06.2021 г.
После доработки 21.06.2021 г.
Принята к публикации 28.06.2021 г.

В обзоре, первом на русском языке, затронуты вопросы экологического и ботанического феномена эпифитизма сосудистых растений. Обсуждается проблема происхождения эпифитизма, его экологических границ и современного понимания экоморфологических особенностей эпифитов. Рассмотрены различные подходы к классификации эпифитов, включая авторские, обсуждается соотношение современной англоязычной терминологии и традиционной для русскоязычной литературы. Обсуждены наиболее дискуссионные проблемы в понимании феномена эпифитизма в мировой литературе. Рассмотрены механизмы существования растений, порвавших с наземными источниками минерального питания и воды. Изложена проблематика и степень изученности CAM (crassulacean acid metabolism) у эпифитов в контексте их ксероморфоза. Рассмотрен механизм и функциональная роль образования подвешенных почв. Отражены существующие теории и дискуссионные проблемы минерального питания эпифитов, в частности азотного питания. Обобщены различные биологические аспекты освоения крон: диаспорология, строение эпифитных сообществ и экосистемная роль эпифитов.

DOI: 10.31857/S0044459621050043

Эпифиты (от греч. ἐπι – “на” и φυτόν – “растение”) – это организмы, которые произрастают на других растениях, используя последние только в качестве опоры и субстрата, при этом не являясь паразитами. В самом широком смысле эпифитами являются многие организмы: бактерии, грибы, водоросли, лишайники, мхи и сосудистые растения. В русскоязычной научной литературе этот термин употребляется чрезвычайно широко. Например, поиск в Google Scholar на словосочетание “эпифитные микроорганизмы” выдает более 2000 результатов (русскоязычные статьи и употребление словосочетания в статьях). Термин “эпифит” широко употребляется даже применительно к подводным объектам (напр., Виноградова, 1989). Однако, говоря об эпифитах как о жизненной форме, как правило, имеют в виду сосудистые растения, произрастающие на стволах и ветвях деревьев. Это связано с тем, что они, в основной своей массе, гомойогидрические растения с приспособлениями для эпифитного образа жизни (в отличие от пойкилогидрических бессосудистых эпифитных мхов и лишайников). Именно в этом контексте мы будем говорить о феномене эпифитизма в рамках этой статьи. В ряде случаев (довольно редких) можно говорить о *гиперэпифитах* (эпифитах, произрастающих на других эпифитах) или о произрастании сосудистых растений как *эпифиллов*[1] (т.е. растущих на листьях других растений).

Данный обзор преследует несколько целей. Во-первых, познакомить русскоязычных ботаников с состоянием проблемы изучения сосудистых эпифитов, ведь традиционно все, что касается тропических экосистем, остается по большей части вне поля внимания отечественной науки. Во-вторых, мы постарались подчеркнуть и выделить те существенные черты (от физиологических до популяционных), которые отличают сосудистые эпифиты от наших северных растений. В-третьих, мы ставили своей целью систематизировать многочисленную литературу о сосудистых эпифитах в контексте эволюционной схемы, в рамках которой эпифиты стали уникальным биологическим объектом, когда впечатляющее биоразнообразие было достигнуто в очень узких экологических рамках. Эти рамки могут быть сведены к трем экологическим “вызовам” обитания на стволе дерева: (1) баланс факторов увлажнения

[1] В подавляющем большинстве это явление характерно для мхов и лишайников.

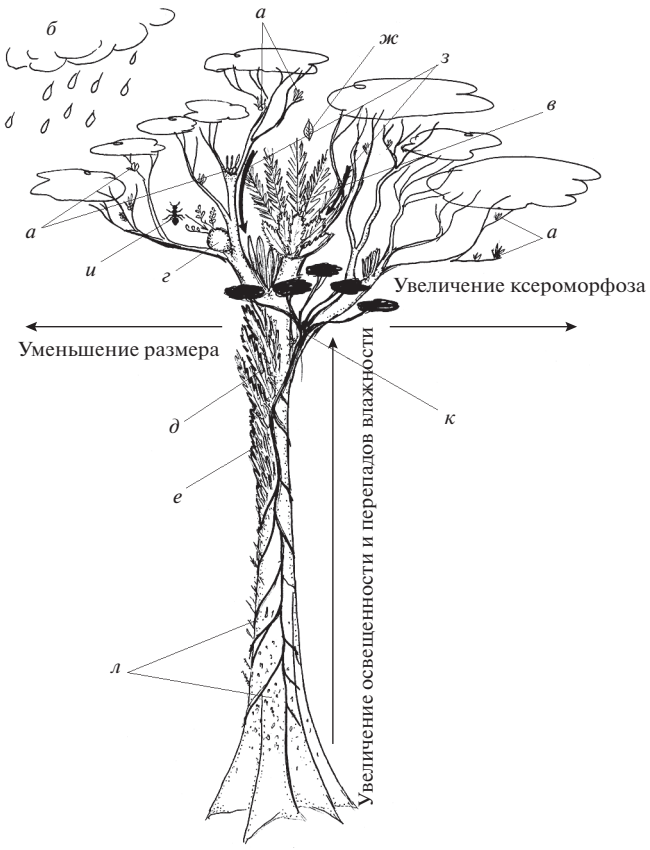

Рис. 1. Схема основных экофизиологических и биоморфологических адаптаций эпифитов при освоении вертикальных местообитаний. Снизу вверх дерева растет увеличение освещенности и перепадов влажности (как сезонных, так и суточных). От центра к периферии кроны уменьшаются размеры эпифитов и растет их ксероморфоз. На тонких краевых ветках доминируют небольшие суккулентные эпифиты с САМ (*а*), основным источником их минерального питания являются атмосферные депозиты (*б*). Ближе к центру кроны располагаются аккумулятивные эпифиты: гнездовые (*в*) – накапливающие подвешенные почвы, мирмекофильные (*г*), скобочные (*д*) и куртинообразующие (*е*). Минеральное питание аккумулятивных эпифитов намного богаче, благодаря опаду (*ж*), смывам по стволам и с крон (*з*), мутуализму с муравьями (*и*) и другими консортными организмами. Наконец, полуэпифиты (*к*) имеют в той или иной степени связь с землей и получают часть минерального питания и воды из почвы. В нижней части стволов располагаются сциофильные эпифиты (*л*), наименее приспособленные к длительному пересыханию и колебаниям влажности воздуха.

и освещенности; (2) строго лимитированное минеральное питание; (3) закрепление растений и их диаспор в кронах деревьев.

Все эпифиты для освоения эпифитных местообитаний должны были решить эти проблемы, преобразуя не только свой габитус, но и систему воспроизведения и прорастания (рис. 1). Таким образом, структура данной работы идет вслед за этой схемой: мы рассматриваем сначала сам феномен эпифитизма (включая проблему классификации эпифитов), переходим к их экофизиологии и минеральному питанию и заканчиваем проблемой расселения в кронах, структурой эпифитных сообществ и их экосистемной ролью. На большее мы не претендовали, так как полноценный обзор современной литературы обо всех аспектах биологии эпифитов возможен только в рамках обширной монографии.

1. ЭКОМОРФОЛОГИЯ И ПРОБЛЕМЫ ГРАНИЦЫ ЭПИФИТИЗМА

1.1. Жизненная форма или экогруппа? Масштабность и распространение

В начале XIX в. эпифиты были определены как растения, произрастающие на других растениях, “не получая от них питание” (Brisseau-Mirbel, 1815). Исторически эпифиты рассматривались как отдельная жизненная форма. Этот взгляд предложен еще Гумбольтом, выделившим отдельную форму эпифитов – “форму орхидей” (Горышина, 1979). По Раункиеру (Raunkiaer, 1934), эпифиты являются жизненной формой, входящей в группу фанерофитов. Другой крайне распространенный в русскоязычной литературе подход, характерный для отечественной школы биоморфологии (классификация И.Г. Серебрякова, 1964 г.), предполагает разделение жизненных форм на кустарники, кустарнички, травы и т.п., но он не оставляет места для эпифитов как для особой категории жизненных форм.

До недавнего времени насчитывалось около 27600 видов сосудистых эпифитов из 73 семейств и 913 родов, что составляет 9% от всех видов сосудистых растений (Zotz, 2013a). Однако публикация первого полного списка сосудистых эпифитов показала существенно большее их число: 28227 цветковых и 3084 споровых видов (Zotz et al., 2021a). Основная часть сосудистых эпифитов приходится на папоротники и однодольные, особенно на семейства Orchidaceae, Bromeliaceae, Araceae (Zotz, 2013a). Небольшое число эпифитов и полуэпифитов приходится на двудольные растения, в том числе из семейств Ericaceae, Gesneriaceae, Piperaceae (Krömer, Gradstein, 2016). Традиционное пренебрежение сосудистыми эпифитами в отечественной научной литературе можно объяснить и тем фактом, что они почти полностью отсутствуют на территории исторической России (включая Российскую империю и СССР). Большая часть биоразнообразия эпифитов сосредоточена в тропических и субтропических областях земли (Benzing, 1990; Zotz, 2016). Однако сосудистые эпифиты широко распространены и в умеренных областях южного полушария с океаническим климатом (Кэмпбел, 1948; Вальтер,

1974). Например, эпифитная флора характерна для Новой Зеландии (включая эпифитные орхидные) и для Южного Чили (вальдивийский лес) (Zotz, 2005). Предполагается, что лимитирующим фактором для распространения сосудистых эпифитов являются границы распространения устойчивых отрицательных температур зимой (Nieder, Barthlott, 2001). Так, единственный представитель сосудистых эпифитов в умеренной зоне Центральной Европы – *Polypodium vulgare* (Ричардс, 1961; Вальтер, 1968), который в южных частях Европы и на Черноморском побережье Кавказа (колхидский лес) сменяется близким видом *P. cambricum* (Берг, 1952). Эти два вида являются настоящими эпифитами, никогда не становясь наземными. *P. vulgare* в северных частях своего ареала становится литофитом (Фомин, 1934). Однако такой взгляд игнорирует обилие эпифитной формы *P. vulgare* во влажных горных лесах Альп (Stäger, 1908; Wilmanns, 1968). Плотность его сообществ достигает 300 экз./га, а высота произрастания на форофитах – до 14 м, причем в этих лесах бывают длительные периоды зимних морозов (Zotz, 2002; Zotz, List, 2003). Помимо обилия в горных лесах на севере Альп, *P. vulgare* также регулярно встречается как эпифит в более мягком климате Южной Европы, например, в Италии (Beguinot, Traverso, 1905), на Корсике (Fliche, 1902) или влажных лесах Северной Португалии (Schimper, 1888). В Великобритании, на Азорских и Канарских островах появляются эпифитные таксоны папоротников семейств Hymenophyllaceae или Grammitidaceae (Rübel, 1912; Tansley, 1939; Page, 1977; Bennert et al., 1992).

В целом, однако, эпифиты редки во всех этих флорах. Например, на Канарских островах эпифиты составляют лишь 0.2% от общего числа видов (Kunkel, 1993). В то время как юг Северной Евразии отделен от возможного флористического влияния тропической Центральной Африки Сахарой, а от тропиков Юго-Восточной Азии – огромными массивами Гималаев и Памира, Северная Америка более доступна для расселения крупных тропических родов эпифитов (Gentry, Dodson, 1987). Например, представитель крупного эпифитного неотропического рода, *Tillandsia usneoides*, заходит далеко на север, достигая 36° с.ш. (Garth, 1964). В целом же умеренные регионы Северного полушария намного беднее эпифитами, чем Южного (Zotz, 2005). При изменении широтного или высотного градиента в сторону похолодания в эпифитных сообществах растет доля споровых растений (Zotz, 2005). Однако проблема водоснабжения или низких температур не может быть признана единственной причиной крайне скудного присутствия эпифитов на большей части Голарктики (Zotz, 2005). Ряд видов наземных цветковых растений Европы достаточно часто становится в подходящих условиях факультативными эпифитами. Так, Л.С. Берг (1952) указывает для колхидского леса факультативный эпифитизм *Oxalis villosa*, а для гирканского леса – *Cardamine hirsuta*, *Geranium robertianum* и ту же *O. villosa*. Целенаправленные исследования феномена случайного эпифитизма у северных растений показывают его впечатляющие масштабы: так, в условиях Центральной Европы (горы Гарц, Германия) выявлено 100 видов случайных эпифитов из 39 семейств, при этом они наблюдались на четверти исследованных деревьев (Hoeber et al., 2019).

Между факультативностью и облигатностью эпифитов граница не очевидна. В более поздних работах был предложен ряд критериев для решения проблемы разной степени вовлеченности растений в эпифитный образ жизни (Benzing, 1990; Ibisch, 1996; Burns, 2010). Например, Ибиш (Ibisch, 1996) выделял “облигатные” эпифиты (более 95% всех представителей вида в определенном регионе растут как эпифиты), “случайные” эпифиты (более 95% представителей вида растут на земле) и “факультативные” эпифиты (процент эпифитов распределен между этими двумя полярными вариантами). Однако практическое применение подобного подхода оказалось неосуществимо из-за сложности подробного подсчета. Таким образом, о степени эпифитизма многих видов мы можем только гадать. Кроме того, обычна ситуация, когда один и тот же вид растет как эпифит и как наземное растение в разных типах леса (Gomes-da-Silva, Costa, 2011; Kirby, 2014).

Другой стороной проблемы границ эпифитизма является утрата связи с почвой у полуэпифитов. Одни авторы различают первичные и вторичные полуэпифиты, предполагая, что первичные полуэпифиты проходят стадию эпифитизма до установления контакта корней с почвой, а вторичные полуэпифиты прорастают на земле, но в процессе развития утрачивают связь с почвой из-за отмирания нижней, проксимальной части побега (Kress, 1986; Putz, Holbrook, 1986; Vargas, Andel, 2005). Однако изучение нескольких видов *Philodendron* и *Monstera*, которые обычно считаются вторичными полуэпифитами (Croat, 1978; Williams-Linera, Lawton, 1995), показало, что у всех взрослых растений присутствует связь корней с почвой (Zotz, 2016). Было предложено отказаться от использования термина “вторичный полуэпифит” (*secondary hemiepiphyte*) (Zotz, 2013b) в пользу термина “кочевая лоза” (*nomadic vine*), предложенного Моффеттом (Moffett, 2000). Консенсусным на сегодняшний момент является использование термина “полуэпифит” исключительно для первичных полуэпифитов (Zotz et al., 2021b). Эти растения начинают свою жизнь в виде эпифитных молодых особей, а затем устанавливают контакт корнями с почвой, а в некоторых случаях (как у фикусов-душителей) даже развиваются в полноценные деревья. Применение этого опре-

деления не должно находиться в контексте “полуэпифитной” фазы. Скорее, термин “полуэпифит” описывает конкретный тип онтогенеза или программы роста (Moffett, 2000), который включает ювенильную эпифитную фазу, за которой следует наземная фаза с укоренением в почве. Более того, этот термин не зависит от конкретной жизненной формы: гемиэпифиты могут быть древовидными, кустарниковидными, лианами, травянистыми растениями. В целом эпифиты вместе с полуэпифитами рассматриваются в группе *структурно зависимых растений* (*structurally dependent plants*): лиан, “кочующих лоз”, полупаразитов (Zotz, 2016). Таким образом, можно сказать, что эпифиты являются одной из эволюционных стратегий для освоения небольшими растениями полога и крон лесных экосистем.

1.2. Классификации эпифитов

Попытки классифицировать морфологические структуры травянистых многолетников, а именно к ним можно в основной массе отнести эпифиты, в отечественной литературе предпринимались неоднократно (Голубев, 1958; Серебряков, Серебрякова, 1965; Любарский, 1973; Смирнова, 1990; Татаренко, 1996; Нухимовский, 1997, 2002; Коломейцева, 2003, 2006; Мазуренко, Хохряков, 2010, и др.). Одни из этих систем преследовали узко специфические цели (например, сделать обработку какой-либо систематической группы растений или разработать методику флористических описаний), другие пытались решить глобальные филогенетические задачи или создать единую биоморфологическую систему в рамках одного сем. Orchidaceae (Смирнова, 1990). Существует множество признаков, по которым можно охарактеризовать биоморфы растительных организмов, но в зависимости от целей исследований обычно анализируется только часть признаков. Попытки проанализировать и включить в систему все известные морфологические признаки, как правило, приводили к созданию громоздких и трудно прочитываемых систем (Нухимовский, 1997, 2002). Однако эпифиты, как правило, ускользали от зрения отечественных ботаников ввиду сосредоточенности последних на территории бывшей СССР.

Европейская и, в особенности, англоязычная наука намного дальше продвинулась в этом вопросе. В связи с тем, что тропические сосудистые эпифиты морфологически довольно своеобразны, их еще в XIX в. пытались классифицировать в соответствии с экологией и биоморфологией (Schimper, 1888). Описанные в этой работе типы эпифитов (протоэпифиты, гнездовые и скобочные эпифиты, резервуарные эпифиты, полуэпифиты) переходили из сводки в сводку (Ричардс, 1961), так и не получив четких дефиниций с точки зрения более современных взглядов на экоморфологию и экофизиологию растений. В основном проблема этой классификации обнажается при проведении границы между эпифитами и биоморфами наземных и водных растений.

Первой серьезной попыткой вписать эпифиты в биоморфологический контекст на современном уровне следует, по-видимому, считать вышеупомянутою классификацию Раункиера (Raunkiaer, 1934). Однако невозможно избежать некоторой курьезности, применяя в отношении эпифитов методики, основанные на учете небольшого числа признаков. Так, например, согласно общепринятому принципу выделения жизненных форм по Раункиеру, эпифиты следует отнести к фанерофитам. Отнесение к фанерофитам эпифитных трав – довольно парадоксальная, но вполне оправданная мера. Поскольку автор концепции конкретно не пояснил, что фанерофиты непременно должны играть роль средообразователей и сами поднимать свои почки возобновления высоко над землей, мы вправе причислить большую часть эпифитов именно к фанерофитам. При этом основанные на ранних европейских нарративах традиционные взгляды российских морфологов (занимающихся изучением травянистых растений умеренного климата) на средообразующую, защитную и опорную функцию горизонтально расположенного субстрата, как на единственно возможный вариант, не работают в случае с эпифитами, которые растут в условиях недостатка влаги, сильной солнечной радиации, вертикальных олиготрофных субстратов.

По нашему мнению, к изучению морфологии тропических эпифитов необходимо подходить шире, опираясь на более свободную трактовку средообразующей роли климатических и эдафических факторов в условиях тропического климата. Проблема соотношения отечественного морфологического мышления и принятого в англоязычной литературе подхода проиллюстрирована на рис. 2. При формально-морфологическом подходе останется отнести все гигантское разнообразие эпифитов к трем–четырем моделям и этим ограничиться. Но и в англоязычной литературе существует мнение, что определяющей характеристикой эпифитов является их образ жизни, и что эпифиты должны быть отнесены к различным жизненным формам, например, кустарникам, лианам или травам (Mori et al., 2002). Для современного прагматичного взгляда характерно понимание эпифитов как единого экологического феномена, что отображено, по крайней мере, в важнейших монографиях по их биологии (Benzing, 1990; Zotz, 2016).

В кронах деревьев неизменными остаются такие биоморфологические характеристики, как способ ветвления, характер основной оси (нали-

чие или отсутствие корневища), но при этом становятся почти бесконечными варианты их видоизменений на пути адаптивной эволюции. Такие признаки, как метаморфы побегов (стеблей и/или листьев) и корней, могут быть как гомологичными, так и аналогичными у разных таксономических групп и отражать общие адаптации к получению, рациональному использованию и сохранению воды. Обычно последний критерий рассматривают как базовый адаптивный отклик растения на условия освещенности и увлажнения. Поэтому традиционно выделяют два основных экологических типа эпифитов: *гелиофиты* (солнечные эпифиты) и *сциофиты* (теневые эпифиты) (напр., Pittendrigh, 1948). Согласно представлениям Бензинга (Benzing, 1986a, b), определяющим фактором в заселении полога дерева эпифитами является степень доступности влаги – постоянная или временная. Йохансон (Johansson, 1975) рассмотрел возможную корреляцию между двумя группами экологических факторов и распределением эпифитных орхидей вдоль больших ветвей дерева-хозяина. Согласно его модели, в первую группу факторов входят относительная влажность воздуха, структура и влажность коры дерева, а также наличие на ней питательного слоя (гумуса). Во вторую группу факторов входят освещенность, температура воздуха и сила ветра. По направлению от ствола к концам ветвей влияние первой группы факторов ослабевает, а второй – усиливается, и наоборот. Эта модель показывает, что граница между различными группами эпифитов хотя и видна на морфологическом уровне, но может отсутствовать на экологическом (или, по крайней мере, не очевидна). Аккумулирование и сохранение воды являются основными абиотическими факторами роста эпифитных видов, в то время как наличие элементов минерального питания (ЭМП) и солнечное излучение остаются второстепенными (Zotz et al., 2001; Laube, Zotz, 2003). Этот вывод подтверждается и исследованиями, в которых эпифиты сравниваются напрямую с растениями, независимыми от дефицита влаги – полупаразитами: показано, что свет преимущественно определяет распространение омел, а влажность – эпифитов (Taylor, Burns, 2016).

У большинства эпифитов есть адаптивные структуры, такие как псевдобульбы (Orchidaceae), веламен воздушных корней (Orchidaceae, Araceae), а также трихомы листьев (Bromeliaceae), которые помогают поглощать и рационально использовать воду (Benzing, Sheemann, 1978). Кроме того, стебли и столоны могут становиться дополнительными фотосинтезирующими и сберегающими воду органами (Rodrigues et al., 2013).

Учитывая вышесказанное, мы пришли к мнению, что экоморфологическая классификация в первую очередь должна отражать именно те адаптивные особенности вегетативного тела растений, которые помогают им переживать дефицит влаги в естественных местообитаниях, а выбор основных признаков для экологической классификации эпифитов склоняется в пользу пары ксерофильность/гигрофильность, а не гелиофильность/сциофильность. Ксерофильность связана со способностью растений переносить атмосферную и субстратную засуху, используя особый тип метаболизма (CAM-фотосинтез), видоизменения побегов и корней, сезонное отмирание органов во время периода покоя, и в конечном итоге осваивать олиготрофные местообитания в кронах (рис. 1, 3).

Рис. 2. Один из самых известных “классических” эпифитов Старого Света *Asplenium nidus*. В зависимости от биоморфологического подхода это может быть моноподиальный корневищный травянистый многолетник (российская морфологическая школа), гнездовой эпифит (“epiphytes with bird-nest”; Zotz, 2016, и др.), эпифит “мусорной корзины” (“trash-basket epiphyte”; Benzing, 1990). Южный Вьетнам, н.п. Бидуп Нуй-Ба.

На сегодняшний день в англоязычной литературе имеется несколько классификационных схем эпифитов, приведенных в монографии Бензинга (Benzing, 1990), а также в других работах, которые вошли почти без изменения в один из

а
б
в
г
д
е
ж
з
и
к
л
м
н
о
п
р
с

последних крупных обзоров биологии эпифитов Зотца (Zotz, 2016):

I. По отношению к форофиту (дереву-хозяину):

1. Случайные
2. Факультативные
3. Облигатные эпифиты
4. Полуэпифиты
   4.1. Душители
   4.2. Недушители
5. "Кочевые лозы" (только когда показано, что они независимы от земли)

II. По характеру роста:

1. Деревья
2. Кустарники
3. Травянистые растения
   3.1. Клубневые
      3.1.1. Запасающие, деревянистые или травянистые
      3.1.2. Мирмекофильные, в основном травянистые
   3.2. Сильно ползучие: деревянистые или травянистые
   3.3. Слабо ползучие: в основном травянистые
   3.4. Розеточные: травянистые
   3.5. Корневой/листовой "клубок": травянистые
   3.6. "Гнездовые" эпифиты: травянистые

III. По требованию к увлажнению:

1. Пойкилогидрические (количество воды в тканях зависит от уровня влажности среды)
2. Гомойогидрические (способные поддерживать в тканях относительно постоянное содержание воды)
   2.1. Гигрофиты
   2.2. Мезофиты
   2.3. Ксерофиты
      2.3.1. Засухоустойчивые
      2.3.2. "Избегатели" засухи
   2.4. Суккуленты

IV. По требованию к освещению (по: Pittendrigh, 1948):

1. Гелиофильные (солнцелюбивые)
2. Промежуточные
3. Сциофильные (теневыносливые)

V. По трофической зависимости от форофита:

1. Относительно независимые от форофита
   1.1. Атмосферные эпифиты
   1.2. Обитатели тонких ветвей и коры
   1.3. Эпифиты, образующие "подвешенные" почвы или привлекающие муравьиные колонии
2. Использующие опад форофита и стекающую по стволу воду
   2.1. Гумусовые эпифиты
      2.1.1. Мелкие гумусовые формы
      2.1.2. Глубокие гумусовые формы
   2.2. "Скобочные" эпифиты

Как видно, существующие классификации однофакторны, фактически предложены разные классификации для разных целей (Benzing, 1990; Zotz, 2016), без попыток свести их воедино. Вместе с тем любое биологическое явление обладает внутренним единством, и чем подробнее классификация отображает различные аспекты биологии, тем она полнее. Наиболее совершенной явилась бы иерархическая классификация, способная отразить как экологические "вызовы", стоящие перед эпифитами, так и экофизиологические "ответы" на эти вызовы, выраженные в конкретных экоморфологических моделях. Это заставило нас ранее предложить такую синтетическую классификацию, которая была призвана типизировать эпифиты по экоморфологическим особенностям и трофическим связям, и вместе с тем показать все разнообразие приспособлений эпифитов к жизни в кроне дерева (Еськов, 2012, 2018). Мы применили трехуровневую иерархию, разделив изначально все эпифитные растения на типы *гелиофитов* и *сциофитов* – уровень, отражающий первый базовый "вызов" эпифитизма. Ко второму уровню мы отнесли подтипы, как набор основных адаптивных схем в ходе эволюционного ответа на освоение крон в условиях лимитированного увлажнения и минерального питания. И наконец, третьим уровнем классификации явились конкретные морфологические схемы ре-

Рис. 3. Биоморфологическое разнообразие эпифитов. Листовые суккулентные эпифиты: *а* – небольшая моноподиальная орхидея (резерват Данум Вэлли, Сабах, Борнео), *б* – *Bulbophyllum semiteretifolium* (слева) и *B. pinicolum* (справа) (н.п. Бидуп Нуй-Ба, Вьетнам); эпифитные лианы: *в* – *Hoya merrillii* (оранжерея ГБС РАН); "атмосферные" эпифиты: *г* – *Tillandsia* sp. (Коста-Рика, с разрешения О. Тюкаева), *д* – проростки *Tillandsia* sp., самосев на рабице (оранжереи ГБС РАН), *е* – трихомы на листьях *Tillandsia recurvata* (оранжереи ГБС РАН); корнефотосинтезирующие безлиственные эпифиты: *ж* – *Taeniophyllum pusillum* (оранжереи ГБС РАН); "накипные" эпифиты: *з* – *Eria spirodela* (оранжереи ГБС РАН); "скобочные" эпифиты: *и* – *Aglaomorpha brooksii* (резерват Данум Вэлли, Сабах, Борнео); "гнездовые" эпифиты: *к* – *Microsorum punctatum* (н.п. Кат-Тьен, Вьетнам); куртинообразующие эпифиты: *л* – *Pleurothallis* sp. (оранжереи ГБС РАН); стеблевые мирмекофиты: *м* – *Myrmecophila sinuosa*, *н* – *Hydnophytum formicarium* (н.п. Бако, Саравак, Борнео); факультативный полуэпифит: *о* – *Medinilla* sp. (н.п. Кинабалу, Сабах, Борнео); полуэпифитная лиана: *п* – *Freycinetia* sp. (н.п. Кинабалу, Сабах, Борнео); сциофильные эпифиты: *р* – орхидея *Podochilus* sp. растет вперемежку с пойкилогидрическим папоротником из сем. Hymenophyllaceae (н.п. Фу-Куок, Вьетнам), *с* – в горном моховом лесу эпифитные Hymenophyllaceae не нуждаются в затенении (н.п. Кинабалу, Сабах, Борнео).

Таблица 1. Классификация сосудистых эпифитов с примерами (по: Еськов, 2012)

Экологический тип	Экофизиологический подтип	Экобиоморфологическая модель (экобиоморфа)	Типичные представители
Гелиофиты	Ксерофильные эпифиты	Листовые суккулентные эпифиты	*Cattleya* Lindl. sp. nonn., *Vanda* Jones ex R.Br. sp. nonn. (Orchidaceae)
		Эпифитные лианы	*Vanilla* Mill. sp. nonn. (Orchidaceae), *Hoya* R.Br. sp. nonn. (Asclepiadaceae)
	Редуктокормофитные ксерофильные эпифиты* (редуктокормофиты)	“Атмосферные” эпифиты	*Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae) и множество других представителей этого рода
		Корнефотосинтезирующие, безлиственные эпифиты	*Chiloschista* Lindl., *Taeniophyllum* Blume (Orchidaceae)
		Стеблевые суккулентные эпифиты	*Rhipsalis* Gaertn. (Cactaceae)
		“Накипные” эпифиты	*Drymoda* Lindl., *Eria spirodela* Aver. (Orchidaceae)
	Аккумулятивные эпифиты	“Скобочные” эпифиты	*Platycerium* Desv. (Polypodiaceae), *Bulbophyllum beccarii* Rchb. (Orchidaceae)
		“Гнездовые” эпифиты	*Asplenium australasicum* Hook. (Aspleniaceae)
		“Гнездовые” эпифиты с отрицательным геотропизмом корней	*Cymbidium finlaysonianum* Wall. ex Lindl., *Catasetum* Rich. ex Kunth sp. nonn. (Orchidaceae)
		Стеблевые мирмекофилы	*Myrmecodia* Jack. (Rubiaceae), *Lecanopteris* Reinw. (Polypodiaceae)
		Лиственные мирмекофилы	*Dischidia* R.Br. sp. nonn. (Asclepiadaceae)
		Куртинообразующие эпифиты	*Bulbophyllum* Thouars. sp. nonn., *Pleurothallis* R.Br. (Orchidaceae)
		“Резервуарные” эпифиты	Большинство представителей сем. Bromeliaceae Juss.
	Пограничная форма	Кустарниковые (вплоть до небольших деревьев) эпифиты, с различными клубневыми органами (или без них)**	Эпифитные Ericaceae, Melastomataceae, Araliaceae. Возможно, все или большинство являются факультативными полуэпифитами (Zotz et al., 2021b)

Таблица 1. Окончание

Экологический тип	Экофизиологический подтип	Экобиоморфологическая модель (экобиоморфа)	Типичные представители
Гелиофиты	Полуэпифиты	“Душители”	*Ficus* L. sp. nonn. (Moraceae)
		Полуэпифитные лианы	*Monstera* Adans. sp. nonn. *Philodendron* Schott sp. nonn. (Araceae)
Сциофиты	Гомойогидрические мезофильные и полуксерофильные эпифиты	“Розеточные” эпифиты***	*Vittaria* Sm. sp. nonn. (Vittariaceae)
		Куртинообразующие эпифиты	*Barbosella* Schltr. sp. nonn. (Orchidaceae), *Microgramma* C.Presl sp. nonn. (Polypodiaceae)
	Пойкилогидрические эпифиты	Куртинообразующие эпифиты	Большинство представителей сем. Hymenophyllaceae Link

Примечание. sp. nonn. – некоторые представители рода (лат.); род или семейство без указания видов дается в случае принадлежности большинства их таксонов к данной модели; полное название вида дается в случае принадлежности только единичных представителей рода к модели.

* Смысл названия в упрощении побега, редукция одних органов приводит к сосредоточению различных функций в других (как то: всасывание, фотосинтез и запасание), данный термин не имеет аналогов в англоязычной литературе.

** Данная группа выделяется нами в рамках этой статьи по итогам дисскуссии, вылившейся в публикацию Zotz et al., 2021b.

*** В данном случае термин употребляется в чисто физиономическом смысле, аналог термина “rosulate epiphytes” по существующим классификациям (Benzing, 1990; Zotz, 2016).

ализации таких адаптивных схем – экобиоморфы (табл. 1, рис. 3).

Интересна (и редка для отечественной ботаники) классификация эпифитов, предложенная недавно Н.М. Державиной (2019). Выделенные автором морфофункциональные типы отображают приспособления сосудистых эпифитов разных жизненных форм к условиям обитания в пологе тропического леса. В пределах морфофункциональных типов (факультативные эпифиты, облигатные эпифиты, гемиэпифиты) выделены морфологические группы и подгруппы по особенностям минерального питания и водоснабжения. Основным недостатком этой классификации, по нашему мнению, является сосредоточение на папоротниках (которые являются меньшинством среди эпифитов) и некоторая терминологическая вольность. Так, автор употребляет термин “*факультативные*” эпифиты в том смысле, в котором мы употребляем “*сциофильные*” (“*теневые*”) эпифиты, а не в значении случайного или необязательного эпифитизма. Кроме того, непонятно отнесение к эпифитам полупаразитов из семейств Loranthaceae и Viscaceae. По нашим данным, маловероятно наличие у эпифитов и опосредованного паразитизма через грибы (Eskov et al., 2020), тем более странно рассматривать классические полупаразиты как эпифиты. Несмотря на то, что исторически такой взгляд имел место (напр., Benzing, 1990; Assede et al., 2012), сегодня он скорее может рассматриваться как анахронизм (Zotz, 2016).

2. ЭКОФИЗИОЛОГИЯ И МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ

2.1. Ассимиляция углерода и его изотопный состав

Известно, что многим наземным (Bone et al., 2015) и эпифитным (Silvera et al., 2005, 2009; Qiu et al., 2015, и др.) орхидеям, а также эпифитам других семейств (Griffiths, Smith, 1983; Winter et al., 1983; Medina, 1996; Zotz, Ziegler, 1997; Zotz, 2004; Зитте и др., 2008; Silvera et al., 2010; Silvera, Lasso, 2016, и др.) свойственен CAM-фотосинтез (crassulacean acid metabolism – кислотный метаболизм толстянковых). В эволюционном смысле CAM явился очень удобным механизмом для эпифитов на пути ксероморфоза для освоения наиболее экстремальных местообитаний.

Разница изотопного состава углерода между C_3-растениями (к которым принадлежат множество хорошо знакомых нам бореальных растений) и C_4- или CAM-растениями существенна (Martin et al., 1990, 1992; Diels et al., 2004) и может отличаться на 10‰ и более (Тиунов, 2007). Теоретически максимальный показатель $\delta^{13}C$ (доля отклонения от стандарта составляющего 0) у CAM-растений 12‰ (Зитте и др., 2007). Низкая дискриминация ^{13}C у CAM-растений связана с сильным сужением устьиц во время усвоения CO_2 (Зитте и др., 2007) – механизм, препятству-

ющий потерям воды. Таким образом, $\delta^{13}C$ служит очень хорошим и точным маркером того или иного пути фотосинтеза в исследуемом материале (Зитте и др., 2007; Тиунов, 2007).

Прямая связь сужения устьиц и сниженной дискриминации ^{13}C говорит о том, что растения, проявляющие этот эффект, находятся в условиях острого дефицита влаги (Зитте и др., 2007). Для эпифитов это должны быть так называемые эпифиты крон или гелиофильные эпифиты, находящиеся в тех частях крон форофитов, которые испытывают регулярные существенные суточные перепады влажности (Johansson, 1974, 1975, 1978; Sugden, 1981; Benzing, 1981, 1986a, b, 1987; Jacome et al., 2004, и др.). И в самом деле, доля эпифитов с САМ растет снизу вверх по высоте дерева (Silvera, Lasso, 2016) и уменьшается по мере продвижения в горы (Hietz et al., 1999).

Вопрос связи САМ-фотосинтеза с экологической пластичностью в пограничных условиях (например, при затенении) мало изучен у эпифитов. Деацидификация (процесс высвобождения CO_2 из яблочной кислоты) зависит от облучения, дальний красный свет этот процесс стимулирует (Barrow et al., 1982). Изучение влияния краткосрочного и долгосрочного влияния затенения на эпифитное бромеливое (*Aechmea*) с САМ показало при краткосрочном ограничении света неприспособленность (гибель хлоренхимы, изменение содержания яблочной кислоты, баланса CO_2), а при долгосрочном — более успешную приспособляемость (Ceusters et al., 2011).

Модель распределения типа фотосинтеза внутри группы с большой долей эпифитов хорошо изучена на бромелиевых. Для определения САМ- и C_3-фотосинтеза был сделан изотопный анализ углерода в тканях 1893 видов бромелиевых (57% от общего числа видов) из 57 родов. У 1074 видов (57%) значение $\delta^{13}C$ типичное для C_3-фотосинтеза (дневная фиксация С), тогда как у 819 видов (43%) показана ночная фиксация углерода и САМ-фотосинтез. По высотному распределению наибольшее число C_3-бромелий было обнаружено на средней высоте от 500 до 1500 м над ур. м., тогда как частота встречаемости САМ-видов монотонно уменьшалась с увеличением высоты (Crayn et al., 2004, 2015).

Обсуждается также облигатный и факультативный характер САМ у эпифитов и его связь с жизненными формами и местообитанием. Виды с облигатным САМ имели значение 10–20‰, облигатным C_3 – 23–35‰ $\delta^{13}C$. Наиболее ксерофитные виды (атмосферные бромелиевые) все имели САМ-фотосинтез и произрастали в более сухих условиях, резервуарные бромелии имели широкое географическое распространение, они включали факультативные C_3-виды и факультативные САМ. Теневыносливые бромелии, растущие при высокой влажности воздуха, все были C_3 (Griffiths, Smith, 1983). У орхидей на примере 18 эпифитных, литофитных и наземных видов р. *Cymbidium* были обнаружены три категории фотосинтетической активности: сильный САМ, слабый САМ и C_3. САМ обнаружен у эпифитных и литофитных видов, у наземных видов – всегда C_3, независимо от их местообитаний. Авторы делают вывод, что слабый САМ – наследованный признак у цимбидиумов, а сильный САМ и C_3 появились последовательно в ходе эволюции рода (Motomura et al., 2008).

САМ не всегда является необходимым условием для освоения эпифитных местообитаний. Одно из главных семейств эпифитов (Araceae) имеет единственный вид с САМ и то среди наземных представителей (*Zamioculcas zamiifolia*) (Holtum et al., 2007). Генетические причины САМ мало понятны, во многом они остаются “черным ящиком” (Lüttge, 1989). Таким образом, не известно почему, например, у группы близкородственных видов, среди которой превалируют C_3-растения, встречаются виды с САМ (Tsen, Holtum, 2012). Не всегда очевидны и экологические причины этого (Silvera et al., 2010). САМ может переключаться на C_3 внутри одного вида эпифита, нося факультативный характер, в зависимости от условий произрастаний (Qiu et al., 2015). При этом САМ и C_4 не совместимы и не имеют взаимных переходов (Sage, 2002). Хотя имеются единичные данные, что это не так и возможен факультативный САМ у C_4-растений (Winter, Holtum, 2017).

Интригующим моментом является недавно обнаруженное различие типов фотосинтеза у разных вегетативных органов эпифитов. Так, показано, что у *Cattleya walkeriana* в сочных, суккулентных листьях имеется САМ, а в корнях и псевдобульбах – нет; *Oncidium* же сорта “Aloha”, обладающий тонкими листьями, имел САМ в корнях и псевдобульбах, но не в листьях (Rodrigues et al., 2013). Это говорит о том, что разные вегетативные органы эпифита самодостаточны в гораздо большей степени, чем у наземного растения, органы которого строго функциональны и соответственно взаимосвязаны. Функциональная диверсификация органов у эпифитов возможно является причиной редукции некоторых из них в процессе эволюции. Она заходит намного дальше, чем у наземных суккулентов, например, кактусов или молочаев. Так, экобиоморфологический тип эпифитных орхидей, именуемый в англоязычной литературе “*shootless*”, имеет полностью редуцированные листья, превратившиеся в катафиллы и седячий уплощенный побег. Таким образом, все фотосинтетические функции берут на себя воздушные корни (Benzing, 1996). Эти фотосинтезирующие корни (рис. 3*ж*), являющиеся единственным “зеленым” органом (хотя на вид они и не выглядят так) у *shootless*, также используют тип фотосинтеза, являющегося вариантом САМ, несмотря на отсутствие устьичного аппарата (Cockburn et al., 1985; Winter et al., 1985). Такие корни более успешно сопротивляются вы-

сыханию при более тонком (в две клетки толщиной) веламене (Benzing et al., 1983). Тонкий веламен является, по-видимому, необходимым условием газообмена при фотосинтезе в корнях.

2.2. Рост

Общая связь процессов роста и фотосинтеза растений является одной из фундаментальных проблем современной биологии (Зитте и др., 2007). Рост с экологической точки зрения – это процесс инвестиции и перераспределения ассимилятов. Так, показано, что сухая масса корней и листьев с возрастом падает у эпифитной орхидеи *Dimerandra emarginata*, а масса стеблей (видоизменных в псевдобульбы) растет (Zotz, 1998; Zotz et al., 2001), что говорит об экологической стратегии инвестирования в запасающие органы. Кроме того, концентрации азота в сухой массе ниже у эпифитов, чем у наземных растений (Schulze et al., 1994; Roderick et al., 2000). Это, однако, не обязательно является признаком недостатка ЭМП, а может быть свидетельством иной модели азотного питания у эпифитов, связанной с медленным ростом (Stuntz, Zotz, 2001). Таким образом, из всего вышеизложенного становится понятно, что рост эпифитов должен иметь ряд особенностей, связанных со спецификой их экофизиологии.

Мы изучили рост воздушных корней 20 видов эпифитов и полуэпифитов *ex situ* из 8 семейств (Orchidaceae, Bromeliaceae, Araceae, Cactaceae, Moraceae, Rubiaceae, Asclepiadaceae, Zingiberaceae) (Еськов, 2018). Было показано следующее:

1) у воздушных корней цветковых эпифитов вместо четко выраженной апикальной меристемы выявлена единая зона роста, которая характеризуется отсутствием у меристемы явной границы и продолжающимися митотическими делениями в зонах коровой паренхимы и ризодермы на протяжении значительной части зоны растяжения (рис. 4), длина зоны растяжения прямо пропорциональна скорости роста;

2) скорость роста воздушного корня, его длина и толщина коррелируют со следующими функциональными параметрами цветковых эпифитов: положительно – с удельной листовой поверхностью живых листьев, отрицательно – с удельной длиной корней, содержанием и изотопным составом азота и углерода в листьях и корнях.

Это свидетельствует о том, что эпифиты с САМ (диагностируемым повышенным содержанием ^{13}C) имеют низкую потребность в азоте и медленнее растут (Еськов, 2018).

2.3. Подвешенные почвы и симбиотические связи

2.3.1. Что такое подвешенные почвы? Эволюция эпифитов шла не только в направлении строгого ксероморфоза, возможна и альтернативная стратегия, когда эпифит выступает как своего рода эдификатор в кронах леса. В рамках реализации этой стратегии вокруг корневой системы эпифитов образуются особые почвоподобные субстраты – *подвешенные* почвы. Образование таких подвешенных почв подчиняется несколько иным закономерностям, чем процессы “нормального” почвообразования в тропических условиях. Подвешенные почвы относятся к категории органических почв или почвоподобных образований, хотя им не уделяется должного внимания ни в одной классификации почв России и мира.

Недооценена роль подвешенных почв в круговороте органических веществ и биофильных элементов. Для некоторых почв, в частности органогенных, Ю.С. Толчельников (1985) ввел термин “вырожденное почвообразование”, при котором, в частности, непропорционально уменьшается роль того или иного фактора почвообразования (в данном случае почвообразующей породы), что исключает возможность их функционирования как почв в экосистеме. К подобным функционально почвоподобным телам относят и зоогенные почвы, все более активно изучаемые в последнее время (Абакумов, 2014). Однако имеются лишь единичные работы, воспринимающие зоогенные почвы как функциональный блок экосистем (напр., Frouz, Jílková, 2008). Существует также понятие о почве как элементе “экосистемы одного растения” (Чертов, 1983), но собственно подвешенные почвы, сопровождающие эпифитную колонизацию в тропиках, остаются малоизученными.

Подвешенные почвы определяются как органические субстраты и растительные остатки, задержанные в эпифитных сообществах, которые не прошли полную стадию детритизации и не превратились в гумус наземных почв (Shaw, 2013). Детритизация является одним из важных процессов функционирования лесных экосистем, обеспечивающим круговорот веществ. Скорость разложения органических веществ часто находится в зависимости от климатических условий (температуры и количества осадков) (Trofymow, Moore, 2002), биологической доступности разлагающегося материала и состава сообществ редуцентов. Данный процесс начинается со старения листьев, листопада и осаждения опада в лесной подстилке (Hempfling et al., 1991). Однако если эта последовательность нарушается, органическое вещество не попадает в подстилку сразу, а накапливается на поверхности препятствий. Такие почвы могут долгое время существовать в форме неразложившегося органического вещества, удерживаемого в кронах различными видами эпифитов.

Подвешенные почвы в лесном пологе испытывают бóльшие перепады температур и влажности, чем в лесной подстилке (Bohlman et al., 1995), и скорость разложения органического вещества в пологе по сравнению с подстилкой может быть иной (Lindo, Winchester, 2006, 2007). Так, по ана-

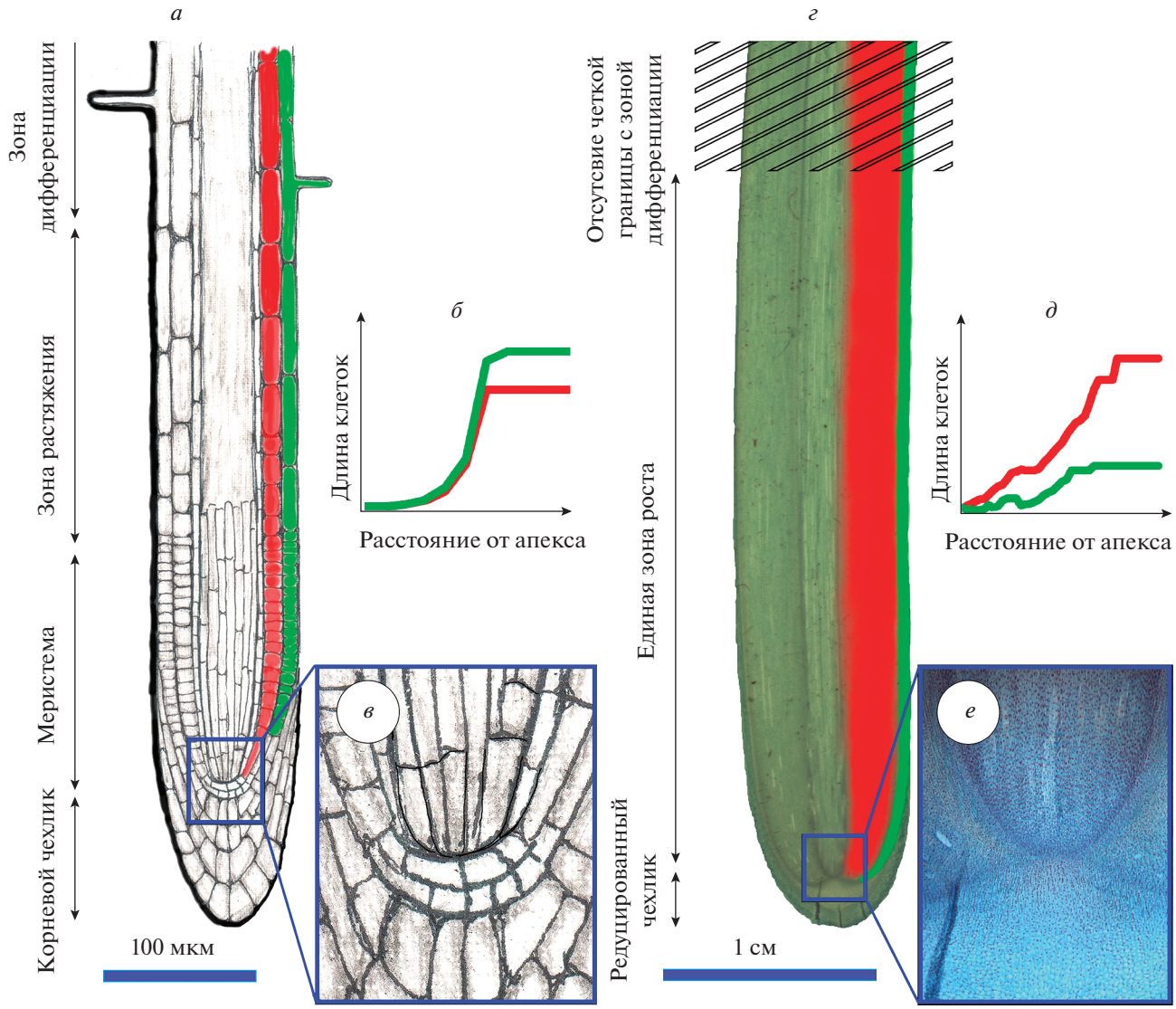

Рис. 4. Разница в организации процессов роста подземных корней (на примере *Arabidopsis*) и воздушных корней эпифитов и полуэпифитов (на примере *Monstera*). Подземный корень (*а*) обычно относительно тонкий (≤1 мм), имеет хорошо развитый корневой чехлик и четко локализованные зоны меристемы, удлинения и дифференциации, что диагностируется по появлению корневых волосков; средняя длина клетки экспоненциально увеличивается на границе меристемы и зоны растяжения (*б*), длина клеток ризодермы больше, чем длина клеток коры; *в* – меристема закрытого типа. У воздушного корня (*г*), который намного толще подземного корня (≥1 мм), редуцированный корневой чехлик, меристема и зона растяжения сливаются в комбинированную зону роста, которая не имеет четкой границы с зоной дифференциации, корень в зоне дифференциации (волоски не развиваются); средняя длина клетки линейно растет на большой площади (*д*), в то время как рост может сопровождаться клеточными делениями, длина завершивших рост клеток коры больше, чем клеток ризодермы; *е* – меристема открытого типа.

лизу разложения целлюлозных дисков экспериментально был показан более медленный распад органического вещества в условиях “воздушных почв”, чем на земле (Nadkarni, 1986). В подвешенных почвах присутствует и почвенная фауна, например, клещи (Lindo, Winchester, 2007) и ногохвостки (Shaw, 2015). Процесс заселения кроны деревьев нелетающей фауной изучен плохо, но предположительно включает в себя миграцию по коре дерева (Shaw, 2015).

Таким образом, подвешенные почвы являются интересным объектом изучения не только из-за нетрадиционного процесса почвообразования, но и вследствие того, что представляют собой важный фактор сохранения биоразнообразия “эпифитной фауны”. Видовое богатство и видовой состав муравьев зависят от размера эпифита и наличия подвешенной почвы (DaRocha et al., 2015). Отмечено, что биомасса обитателей подвешенных почв в 20 раз превышает таковую в наиболее обитаемом почвенном горизонте (Сергеева

и др., 1989). В нескольких “гнездах” одного только вида *Asplenium nidus*, собранных из трех местообитаний во Вьетнаме, найдено 150 видов беспозвоночных (Сергеева и др., 1997).

В ходе наших исследований было выявлено, что подвешенные почвы характеризуются малым содержанием ароматических соединений (Abakumov et al., 2018; Rodina et al., 2020). Согласно термодинамической концепции гумификации (Schnitzer, 1978), происходит термодинамический отбор гуминовых веществ на основе отбора устойчивых ароматических колец, сопряженных с карбоксилами, а алифатическая периферия незначительно уменьшается за счет минерализации. Полученные нами результаты соответствуют данной концепции: доля ароматических веществ в составе структурных соединений гуминовых кислот выше, чем в валовом органическом веществе. Таким образом, можно сделать вывод, что в подвешенных почвах происходят процессы гумификации. Это важное наблюдение, показывающее, что, хотя существование подвешенной почвы лимитировано временем жизни самого форофита, это почва в буквальном смысле этого слова, где происходят процессы гумификации, схожие с настоящими, наземными почвами (Abakumov et al., 2018; Rodina et al., 2020).

2.3.2. Механизмы накопления подвешенных почв. Для эпифитов характерны разные способы образования подвешенных почв. У ряда эпифитов почвы формируются под самой куртиной. Очень часто в куртине эпифита поселяются муравьи, играющие важную роль в генезисе подвешенной почвы (DaRocha et al., 2015). В случае “гнездового” эпифитизма улавливание опада осуществляется воронкой листьев, а разрастание корней, формирующее вокруг корневой системы мощный почвенный ком, визуально напоминает птичье гнездо.

“Скобочные” эпифиты используют похожий механизм, образуя с помощью специализированных листьев-скобок воронки для сбора опада и дождевой воды (Benzing, 1990; Zotz, 2016). У р. *Drynaria* роль “скобок” выполняют стерильные цельные жесткие вайи особой морфологии, живые ткани которых рано отмирают, но сами вайи сохраняются на растении многие годы. Масса корневого кома у “скобочных” эпифитов меньше, чем у “гнездовых”. Так, измеренная масса “гнезда” (субстрат + корни) для *Asplenium nidus* в конце сухого сезона составляла 5099 г, а листьев 958 г; для “скобочного” эпифита *Drynaria laurentii* при общей массе 938 г масса корней и перегноя составляла всего 222 г (Вальтер, 1968). В целом гнездовые эпифиты способны накапливать до 30–40 кг органического субстрата на экземпляр, а в рамках сообщества – до 277.9 кг/га (Pocs, 1976). Последняя оценка, скорее всего, сильно занижена.

В ненарушенном лесу число гнездовых эпифитов может достигать 600 экз./га при средней массе “гнезда” 3–5 кг (Зонн, Ли Чан-Квей, 1958). Большая масса подвешенных почв очень серьезно меняет режим водоснабжения эпифитов. Влагоемкость у “гнездовых” эпифитов, в зависимости от морфологии и специфики “гнездового” кома, колеблется от 45.4 до 334.9% по отношению к их сухой массе (Pocs, 1976). Даже в сухой сезон влажность эпифитных субстратов в 2.5 раза выше влажности верхнего почвенного горизонта (Сергеева и др., 1989) и близка к 80%. Это связано с перехватыванием капельного конденсата, оседающего ночью в кроне и практически не достигающего земли (Панфилов, 1961).

В ряде случаев гнездовые эпифиты образуют специальные придаточные (или боковые у придаточных) корни с отрицательным геотропизмом, выполняющие роль “щетки”, в которой застревает опад (рис. 5). В англоязычной литературе эти корни именуются “impoundment” – “корни-улавливатели” (Benzing, 1996). Ранее эти корни были отмечены у орхидных родов *Catasetum* (Benzing, 1996), *Ansellia* и *Graphorkis* (Johansson, 1974). По нашим наблюдениям, они характерны также для других родов орхидей трибы Cymbidieae: *Cymbidium*, *Acriopsis*, *Stanhopea*, *Gongora*, *Cycnoches*, *Grammatophyllum* (Orchidaceae) и некоторых других. Среди иных семейств они есть у ряда представителей р. *Anthurium* (Araceae).

Гнездовые эпифиты с этими корнями, а также другими приспособлениями для удержания воды и опада, получили в англоязычной литературе устойчивое наименование “мусорной корзины” (trash-basket) (Benzing, 1990). Морфология корневой системы “гнезда” у представителей двух различных семейств схожа, что позволяет рассматривать это явление как проявление конвергенции. Физиологическая же причина отрицательного геотропизма в данном случае малопонятна. Тем не менее в литературе встречаются данные, указывающие на зависимость образования таких корней от уровня освещения (Werckmeister, 1971). В ходе наших исследований мы выяснили, что агеотропные воздушные корни-улавливатели обычно лишены меристемы, имеют ярко выраженный детерминированный рост и обладают особой механической прочностью за счет видоизменения клеток стели (Еськов и др., 2017). С точки зрения функциональной роли можно сказать, что данное приспособление является примером адаптивной эволюции, благодаря которой растительный организм в ходе онтогенеза формирует среду, облегчающую его существование. Таким образом, характер роста воздушного корня напрямую связан с его эдификаторной ролью, если для данного вида эпифита характерно депонирование органического вещества в виде подвешенных почв.

2.3.3. Колонизация муравьями. Ряд таксономических групп эпифитов является высокоспециализированными мирмекофитами (Janzen, 1974; Davidson, Epstein, 1989; Benzing, 1990; Gibernau et al., 2007; Zotz, 2016). Таковы, например, представители подтрибы Hydnophytinae, семейства

Рис. 5. Агеотропные корни: *а* – небольшая куртина орхидеи *Acriopsis indica* с хорошо развитой “щеткой” агравиотропных корней (н.п. Бако, Саравак, Борнео), *б* – эпифитная орхидея *Grammatophyllum speciosum* (оранжереи ГБС РАН), *в* – ароидный эпифит *Anthurium crassinervium* (оранжерея ГБС РАН).

мареновые (Rubiaceae), включающей пять родов (Chomicki, Renner, 2017), распространенных в Юго-Восточной Азии и Австралазии. Для этих растений характерны каудесоподобные домации (полые образования мирмекофильных растений, предназначенные для поселения муравьев), образованные путем разрастания гипокотиля. Это явление не специфично и происходит вне зависимости от наличия или отсутствия муравьиной колонизации. Показано, что неспецифичность симбиоза с муравьями является для группы исходной, хотя и утрачивалась в ходе эволюции 12 раз (Chomicki, Renner, 2017). При этом 13 раз возникший (включая существующий) мутуализм с муравьями ограничивается почти полностью родом *Philidris* (Chomicki et al., 2017).

Также облигатными мирмекофитами являются эпифитные папоротники из семейства Polypodiaceae родов *Solanopteris* (Forel, 1904; Gómez, 1974, 1977), *Lecanopteris* (Gay, 1991, 1993a, b; Gay, Hensen, 1992; Haufler et al., 2003) и одного представителя рода *Polypodium* (Koptur et al., 1998). Домациями в таком случае служат расширенные полые корневища, или клубнеподобные образования корневого происхождения. В ряде случаев домацием выступает, судя по всему, сама куртина, как это было показано для эпифитного папоротника *Antrophyum lanceolatum* (Vittariaceae) (Watkins et al., 2008).

Вопрос, зачем именно нужен консортизм с муравьями эпифитам, сложен. Совершенно очевидно, что для части эпифитов важна мирмекохория при расселении и завоевании эпифитных местообитаний (Janzen, 1974). В ряде случаев муравьи, обитающие в эпифите, могут быть неплохой защитой растению. Так, если для мирмекофитов Старого Света обычны консорты из сравнительно безобидных представителей р. *Philidris* (Chomicki et al., 2017), то для Америки часто характерно поселение в эпифитах р. *Azteca*, яростных защитников растения-хозяина (Gómez, 1974). Для тропических лесов о. Борнео показано, что удаление

муравьев-консортов вида *Crematogaster difformis* резко увеличило повреждаемость фитофагами не только эпифитов, но и форофитов, на которых последние растут (Tanaka et al., 2009).

Но самая очевидная причина симбиоза – трофическая. Муравьи тропических экосистем в целом могут влиять на азотное питание древесных растений, среди которых обитают (Pinkalski et al., 2015). Помимо "традиционных" источников азота, мирмекофильные эпифиты могут получать его из продуктов жизнедеятельности муравьев. Это было, в частности, доказано применением меченого азота в продуктах, которыми кормили муравьев, и который по истечении определенного времени оказывался в мирмекофильных эпифитах (Gay, 1993a). Для эпифитного р. *Squamellaria* (Rubiaceae) отмечен случай "истинного фермерства" муравьев. Они не только защищают хозяина, но и откладывают экскременты исключительно на выросты стенок полостей-домаций, в которых обитают муравьи. Эти выросты обладают гиперадсорбционными свойствами для соединений азота. Эта адаптация является итогом длительной совместной эволюции муравьев и эпифитов (Chomicki, Renner, 2019). Муравьи, как и прочие животные, имеют отличный от растений изотопный состав азота (Vanderklift, Ponsard, 2003), что позволяет зачастую точно установить факт получения азота эпифитом от консорта. Таким образом, изотопный состав азота эпифита отражает трофическое влияние "животного" консортизма. Например, было изучено влияние лягушки (*Scinax hayii*) на минеральное питание танковой бромелии *Vriesea bituminosa*, в которой эта лягушка днем находит себе убежище. Показано, что бромелии с живущими в них лягушками имели более высокие значения ^{15}N, чем без них (в полевом эксперименте). В условиях оранжереи получены сходные результаты (Romero et al., 2010). Похожего эффекта можно ожидать и для мирмекофильных эпифитов, что и было показано на *Dischidia major* (Asclepiadaceae), у которой 29% азота оказалось "муравьиного" происхождения. Интересно отметить, что 39% углерода это растение, домациями которого служат сами зеленые листья, имеющие мешковидные полости, также получает от дыхания муравьев (Treseder et al., 1995). В ходе наших исследований получены данные, которые позволяют говорить о влиянии муравьиной колонизации эпифитов на минеральное питание деревьев-хозяев (рис. 6). В данном случае не форофит через опад формирует подвешенную почву, а эпифитный ком, благодаря муравьиной колонизации, влияет на азотное питание форофита и его органическое вещество, во многом зоогенной природы (Еськов и др., 2017).

2.4. Минеральное питание эпифитов

2.4.1. Замена функциональной роли корней в минеральном питании. Минеральное питание эпифитов остается малоисследованной областью (Clarkson et al., 1986; Benzing, 1990). Функциональная роль воздушных корней в минеральном питании эпифитов обсуждается и не очевидна (Benzing, Renfrow, 1974; Antibus, Lesica, 1990; Benzing, 1990, 1996; Alien et al., 1993). Наиболее полно особенности минерального питания эпифитов изучены для тропиков Нового Света, в частности, для бромелиевых. Прямое участие листьев бромелиевых в минеральном питании и поглощении ионов было показано авторадиографией меченных тритием аминокислот через листовые трихомы (Benzing et al., 1976). Бромелиевые получают элементы минерального питания (ЭМП) из дождя, тумана, пыли, путем выщелачивания или разложения опада форофитов, а также из остатков животных (Benzing, 1990; Bermudes, Benzing, 1991; Romero et al., 2010). Это происходит благодаря наличию у бромелиевых особой биоморфологической модели: розеток, или "танков", в которых происходит аккумуляция воды, опада и, возможно, поселение животных (Benzing, 1990, 2000; Romero et al., 2010).

Розеточные бромеливые имеют толстые кутикулы листьев, высокий устьичный контроль, локализованы в верхней части крон и благодаря этому успешно противостоят высокой степени инсоляции и высыханию (Reyes-Garcia et al., 2008). Виды с большими резервуарами выдерживают длительные периоды засухи. Накопленная вода может высохнуть через одну–две недели (Zotz, Thomas, 1999), и поэтому резервуарные бромелиевые полагаются на способность переключаться с C_3- на САМ-фотосинтез, чтобы пережить эти периоды нехватки воды (Benzing, 2000). Наличие ЭМП, как правило, менее важно, чем доступность воды (Laube, Zotz, 2003), но может быть лимитирующим фактором при наличии воды.

2.4.2. Есть ли трофическая связь между форофитом и эпифитом? Экспериментальные данные о возможной трофической связи между форофитами и эпифитами противоречивы. В горных лесах ЭМП менее доступны, чем в низинах леса (Grubb, 1977). Однако исследования ЭМП вдоль высотного градиента в Коста-Рике не показали связи между химизмом листьев эпифитов и высотой для любой из изученных эпифитных групп, которые включали папоротники, орхидеи и бромелии (Cardelús, Mack, 2010), т.е. не показывали связи в трофизме между эпифитами и форофитами. С другой стороны, многолетние опыты внесения минеральных подкормок в "эльфийском" лесу Пуэрто-Рико показали, что добавление ЭМП в почву стимулирует рост деревьев (Walker et al., 1996) и увеличивает содержание ЭМП в лиственных породах (Yang et al., 2007), что, в свою очередь, повлияло на рост эпифитов на этих деревьях. Эпифитные бромелии, произрастающие на подкормленных деревьях, четко реагировали на ЭМП: увеличением темпа роста, образования

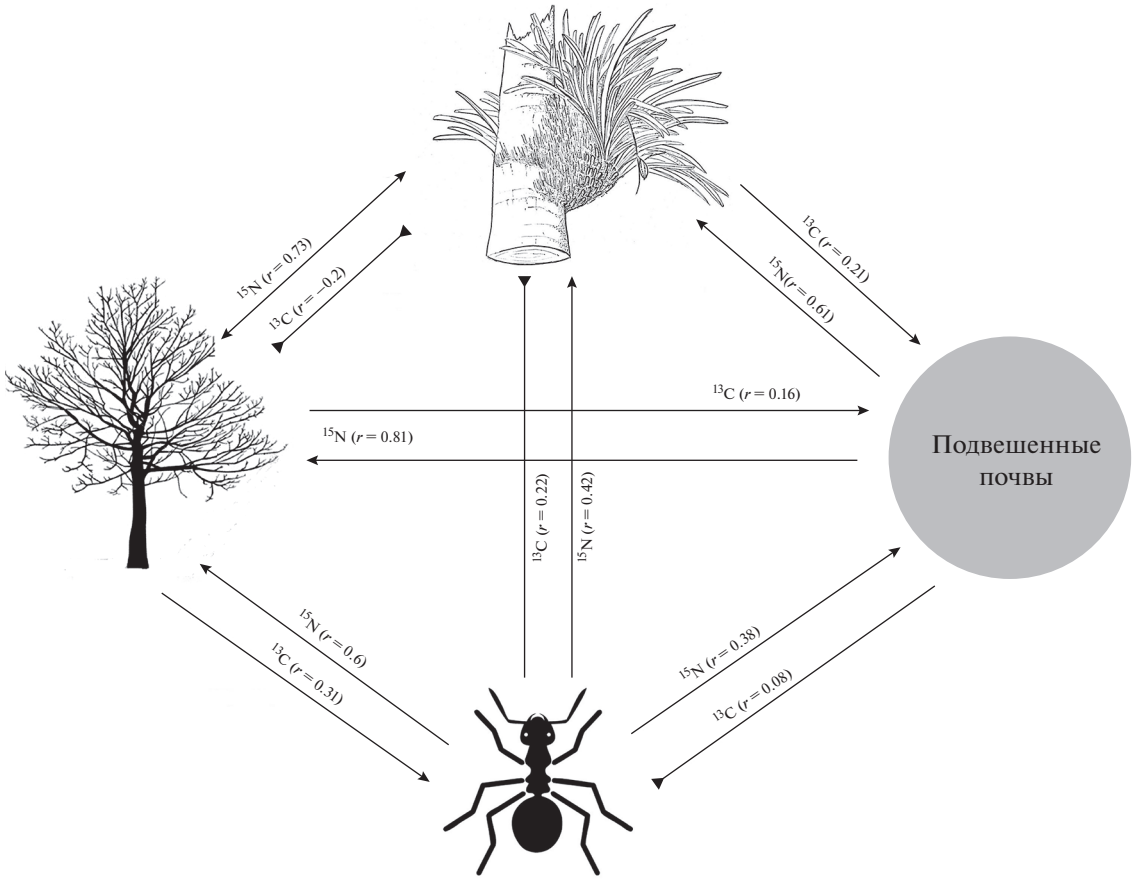

Рис. 6. Схема движения энергии и азота в эпифитном сообществе. Указан характер влияния различных компонентов системы друг на друга: стрелка – высокая степень корреляции, обратная стрелка – отрицательная или очень слабая корреляция. Видно, что муравьи-консорты эпифитов оказывают существенное влияние на систему, включая форофиты (по: Еськов и др., 2017).

плодов и продолжительности жизни (Lasso, Ackerman, 2013).

Эти исследования (см. также Benner, Vitousek, 2007; Boelter et al., 2014) предполагают, что эпифиты ограничены в минеральном питании, и что между форофитами и эпифитами существует трофическая связь. Эта связь может быть особенно актуальной для бромелиевых, поскольку их биоморфолия позволяет улавливать опад с форофита. Однако эпифиты с другими механизмами сбора ЭМП могут быть не связаны с их деревом (Cardelús, Mack, 2010).

Биомасса эпифитов может быть сравнима с таковой у лиственных деревьев (Nadkarni, 1984; Hofstede et al., 1993), вследствие чего эпифиты могут играть важную роль в циклах ЭМП в облачных лесах (Coxson, Nadkarni, 1995). Это было подтверждено в многолетних исследованиях полога леса и экосистемы в Монтеверде, Коста-Рика (Nadkarni et al., 2000a, b). Показано, что эпифиты и сопровождающее их отмершее органическое вещество влияют на циклы ЭМП в лесу Монтеверде за счет их высокой биомассы (Nadkarni et al., 2000b), высокой способности несосудистых эпифитов к поглощению атмосферного NO_3^- и NH_4^+ (Clark et al., 1998), вклада эпифитов в общий опад (Nadkarni, Matelson, 1992), а также медленные темпы разложения эпифитов, упавших на почву (Matelson et al., 1993).

Хотя эти исследования показывают, что эпифиты воздействуют на содержание азота в тропических облачных лесах, взаимодействия между циклами питания эпифитов и форофитов остаются неясными. Наши исследования показали, что в двух из трех местообитаний Южного Вьетнама изотопный состав азота эпифитов и форофитов значимо скоррелирован, что говорит о взаимной трофической связи (рис. 7) (Eskov et al., 2019).

2.4.3. Азотное питание эпифитов. За последние десятилетия методы изотопной экологии стали важными инструментами для экофизиологии и изучения экосистем (Ehleringer et al., 1993; Högberg, 1997; Griffiths, 1998). Резкий естественный градиент изотопного состава “животного” и “растительного” азота позволяет понять возможные пути его миграции в эпифитном сообществе и его источники. В классическом исследовании

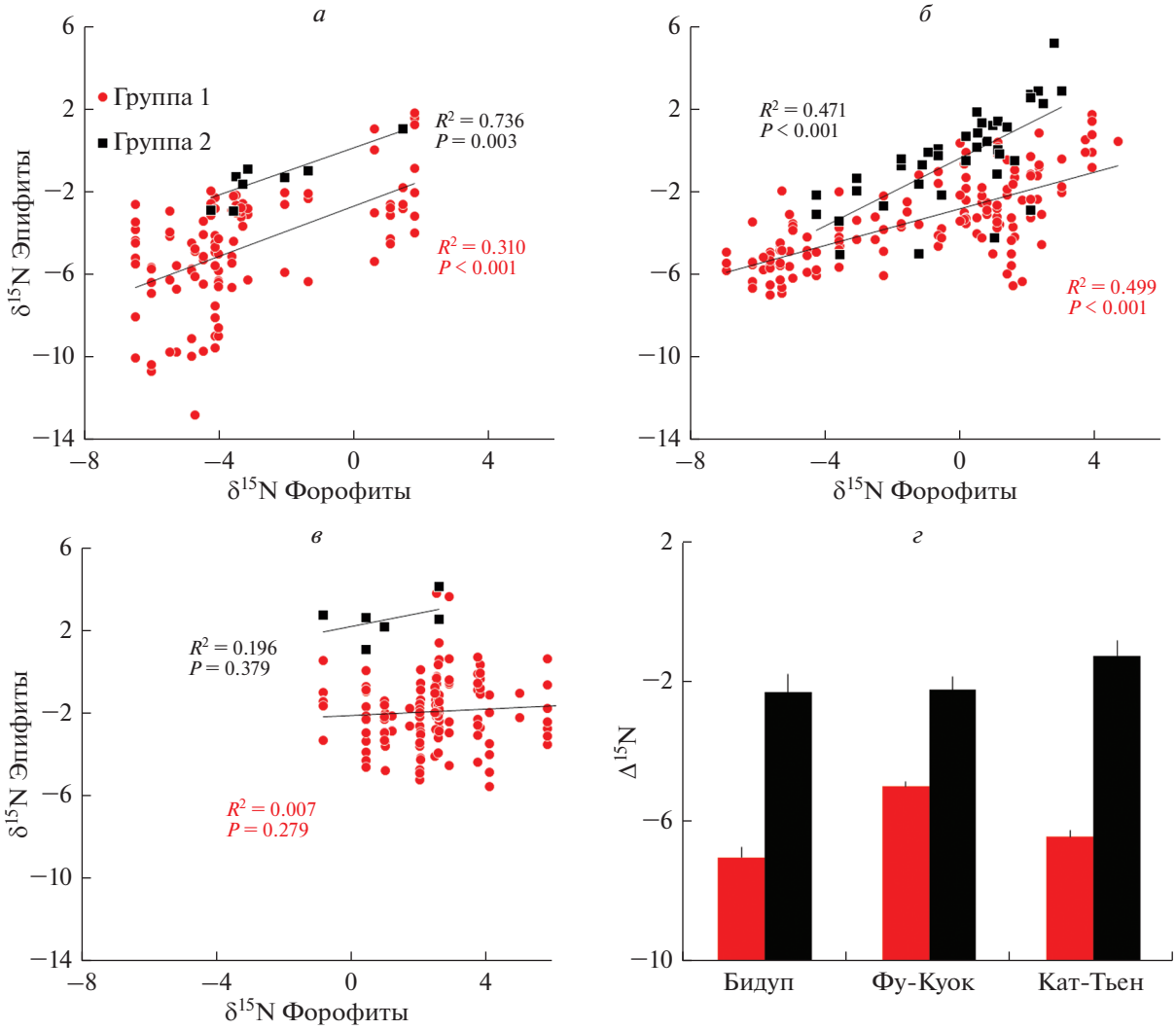

Рис. 7. Корреляция между значениями δ^{15}N типичных эпифитов (группа 1) и растений крон (полуэпифиты, полупаразиты), имеющих доступ к автохтонному азоту (группа 2), и значениями δ^{15}N форофитов в трех изученных средах обитания: Бидуп (*а*), Фу-Куок (*б*) и Кат-Тьен (*в*). Средние нормализованные по почве значения Δ^{15}N (+ 1 SE) для групп 1 и 2 в трех местах обитания приведены внизу справа (*г*). Во всех местах обитания разница между средними значениями Δ^{15}N в группах 1 и 2 была достоверной ($P < 0.01$, тест HSD) (по: Eskov et al., 2019).

Хайтса с соавторами (Hietz et al., 2002) выяснили, что эпифиты на небольших ветвях без подвешенной почвы имели более низкие концентрации N в листьях и пониженный δ^{15}N, чем наземные растения, в силу того, что первые получают большую долю N непосредственно от дождя (содержащего обедненный тяжелым изотопом азот). У эпифитов было меньше δ^{15}N (–3.9 ± 2.3‰), чем у форофитов (–1.1 ± 1.6‰), а подвешенные почвы имели более низкие значения (0.7 ± 1.2‰), чем наземные (3.8 ± 0.7‰). Авторы делают вывод, что азотный цикл, по-видимому, в значительной степени отделен от цикла дерева-хозяина.

В дополнение к азоту осадков, разлагающейся органики и экскрементов животных, некоторые виды эпифитов могут иметь доступ к атмосферному N_2, фиксированному микроорганизмами, живущими на листьях (Brighigna et al., 1992), или живущих как симбионты в корнях (Dighe et al., 1986). Прямой перенос азота, фиксируемый свободноживущими эпифиллами – цианеями, был обнаружен для наземного растения (Bentley, Carpenter, 1984). Это также может быть важным источником для некоторых эпифитов, растущих в ярусах крон, благоприятных для обитания азотфиксирующих свободноживущих и симбионтных цианобактерий (Forman, 1975).

В корнях эпифитов встречаются микоризы разных типов, важные для усвоения ЭМП (Bermudes, Benzing, 1989; Janos, 1993). Стюарт с соавторами (Stewart et al., 1995), основываясь на значении δ^{15}N и общей концентрации азота, выделили две группы эпифитов: одну – с низким общим азотом и низким содержанием ^{15}N, другую – с бо-

лее высоким общим значением азота и $\delta^{15}N$. Это говорит как минимум о двух основных источниках азота для эпифитов.

2.4.4. Остальные ЭМП и микроэлементы. Сосудистые эпифиты низменных тропических лесов ограничены ЭМП, в основном фосфором, а иногда азотом, или фосфором и азотом одновременно (Zotz, Richter, 2006; Zotz, Asshoff, 2010; Wanek, Zotz, 2011). В горном лесу наблюдается резкое увеличение численности и видового богатства эпифитов при внесении фосфора в течение 15 лет, но этого не наблюдается при внесении азота или других ЭМП (Benner, Vitousek, 2007). Исследования бромелиевых также указывают на лимитирующий характер содержания фосфора для роста и развития эпифитов (Zotz, Richter, 2006; Lasso, Ackerman, 2013). Накопление P, Zn, Al, Fe, Na в ткани листьев *Werauhia sintenissi*, растущей на участках, удобряемых регулярно в течение 10 лет макро- и микро-ЭМП (Lasso, Ackerman, 2013), предполагает потребление и хранение не только фосфора, как сообщалось ранее для *Vriesea sanguinolenta* (Wanek, Zotz, 2011), но также и других ЭМП.

В лесах, растущих на ультраосновных породах (Новая Каледония), богатых тяжелыми металлами и микроэлементами, не наблюдается накопления их в эпифитах (Morat et al., 1984). Гораздо более очевидно поступление их из атмосферы во время дождей: K, Ca, Mg, Na для резервуарных бромелий (Benzing, 1990), и даже улавливание таких ионов, как Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Cr, Sn, V, атмосферными бромелиями (Shacklette, Connor, 1973; Schrimpff, 1984), что позволяет использовать их как индикатор атмосферных загрязнений.

3. ДИАСПОРОЛОГИЯ, СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ И ЭКОСИСТЕМНАЯ РОЛЬ

3.1. Структура эпифитных сообществ

Структурность эпифитных сообществ – это, пожалуй, первое, что бросается в глаза при наблюдении эпифитов тропических местообитаний, поэтому совершенно неудивительно, что этой теме посвящена обширная литература, тем не менее степень изученности вопроса далека от завершенности. Эпифиты являются структурно зависимыми растениями, а среда их обитания трехмерна, будучи пространством древесных крон, в освоении которой роль играют не только отношения с форофитом (Hietz, 1997), но также климат и топография (Rees et al., 2001). Следовательно, можно ожидать, что процессы, формирующие эпифитные сообщества, будут по своей природе отличны от процессов формирования самого леса (Watkins et al., 2006).

Доступные результаты исследований с несосудистыми эпифитами (например, мхами или лишайниками) также могут иметь ограниченную применимость к сосудистым эпифитам (Ellis, 2012). Так, лишайники и мхи в лесах с умеренным климатом ведут себя как “почвопокровные” метапопуляции (Snäll et al., 2005), и это подразумевает, что локальные отмирания обычно происходят из-за повреждения куртин (т.е. падения деревьев; Löbel et al., 2006). Напротив, немногие данные, доступные для сосудистых эпифитов, указывают на очень разную динамику, при которой отмирания происходят часто не из-за падения деревьев или ветвей (Laube, Zotz, 2007).

В ботанической литературе было неоднократно описано зонирование эпифитных сообществ в зависимости от места произрастания растений в кронах деревьев (Johansson, 1974, 1975, 1978; Sugden, 1981; Benzing, 1981, 1986a, b, 1987), а также их видовой состав (Sugden, Robins, 1979; Ter Steege, Cornelissen, 1989). В последнее время исследователи стали уделять внимание изучению закономерностей видового богатства (Krömer et al., 2005; Cardelús et al., 2006). Хотя это полезно в нескольких контекстах: например, при анализе изменений разнообразия по градиентам высоты или в контексте сохранения, сравнивая растительность эпифитов в нарушенных и ненарушенных лесах (Wolf, Flamenco-S, 2003; Köster et al., 2009), но потенциал такого подхода для понимания пространственно-временных изменений в структуре эпифитных сообществ ограничен (Mendieta-Leiva, Zotz, 2015).

Основной массив исследований, посвященных структуре эпифитных сообществ, оперирует масштабами всего форофита (Bennett, 1986; Gottsberger, Morawetz, 1993; Carlsen, 2000; Annaselvam, Parthasarathy, 2001; Arévalo, Betancourt, 2006; Cascante-Marín et al., 2006; Goode, Allen, 2008; Hirata et al., 2009; Aguirre et al., 2010; Adhikari et al., 2012a, b, и многие другие). Гораздо реже рассматриваются отдельно эпифиты различных зон дерева, например, ствола и кроны (Rudolph et al., 1998; Rosenberger, Williams, 1999; Pos, Sleegers, 2010).

Масштаб исследований эпифитных сообществ самый разный: от 3–5 видов (Winkler, Hietz, 2001; Winkler et al., 2007, 2009) до 336 видов (Kluge, Kessler, 2011) и от 127 отдельных экземпляров, вовлеченных в исследования (Adhikari et al., 2012a, b), до 39735 (Linares-Palomino et al., 2009). Динамической стороне трансформации структуры эпифитных сообществ во времени посвящено сравнительно немного исследований (напр., Bennett, 1986; Rosenberger, Williams, 1999; Schmit-Neuerburg, 2002; Laube, Zotz, 2007; Winkler et al., 2007, 2009; Goode, Allen, 2008; Werner, 2011). Временные диапазоны составляют от 4 месяцев (Goode, Allen, 2008) до 8 лет (Laube, Zotz, 2007).

Трехмерное распределение сосудистых эпифитов объединяет различные градиенты экологической неоднородности (Stein et al., 2014) и таким образом предлагает несколько вариантов масштабирования при исследованиях. Такими могут быть: 1) зоны дерева, либо ветви, крона или ствол (Mehltreter et al., 2005; Irume et al., 2013, и др.); 2) отдельное дерево (Nieder et al., 2000; Irume

et al., 2013, и др.) и 3) стационарная площадка (Linares-Palomino et al., 2009, и др.). Эти экологические масштабы определяются различными внешними факторами или организационными задачами. Например, при изучении видоспецифичности эпифитов и форофитов требуются исследования в масштабах стационарных площадок (Vergara-Torres et al., 2010).

Таким образом, число исследований эпифитных сообществ довольно велико. В недавней попытке формализировать изучение этой темы обнаружено в общей сложности 318 исследований, из которых только 26% описывают как видовой состав, так и видовое разнообразие, т.е. в полной мере можно говорить о структуре эпифитных сообществ (Mendieta-Leiva, Zotz, 2015). Однако даже эти исследования настолько разнородны, что не пригодны для метаанализа. В связи с этим авторы предлагают стандартизировать изучение эпифитных сообществ, беря за единицу выборки форофит, а само сообщество принимать как *комплекс сосудистых эпифитов* (vascular epiphytes assamblages – VEAs) (Mendieta-Leiva, Zotz, 2015).

Наши исследования эпифитных сообществ лесов Вьетнама показали, что представители различных семейств сильно отличаются своей чувствительностью к нарушениям. Наиболее уязвимы виды орхидей – будучи доминирующей группой в эпифитном сообществе первичного леса, они почти полностью выпадают при антропогенном воздействии. Увеличение видового разнообразия эпифитов в менее нарушенных лесах происходит прежде всего за счет видов “нижних” ярусов и напрямую зависит от ярусности формации. Снижение числа ярусов формации приводит к выпадению видов “нижних” синузий (Еськов, 2013). Этот вывод подтверждается и при изучении эпифитных сообществ искусственных лесопосадок, в которых папоротниковые эпифиты доминируют над орхидными (Еськов и др., 2020).

3.2. Диаспорология эпифитов

Распространение и расселение эпифитных растений имеет ряд особенностей, связанных с проблемами их прикрепления к субстратам высоко над землей и, соответственно, транспорта диаспор эпифитов к этим субстратам. Как мы обозначили выше, это один из базовых экологических вызовов, стоящих на пути эпифитизма. Эволюция диаспор у эпифитов довольно однообразна и идет по двум направлениям: 1) уменьшение семени для распространения ветром при аэрохории, 2) образование сочных небольших и ярких ягод при различных видах зоохории, в подавляющем большинстве осуществляемой птицами или муравьями. В целом эти тенденции были положены в основу классификации Шимпера (Schimper, 1888), который выделил три группы диаспор: 1) “пылевидные” (у орхидей и папоротников), 2) другие аэрохорические семена с различными типами придатков (например, у Bromeliaceae – Tillandsioideae) и 3) зоохорические диаспоры (например, у Cyclanthaceae, Araceae, Gesneriaceae, Cactaceae). Эта классификация остается актуальной до сего дня и в целом не пересматривалась.

У семян орхидных наблюдается корреляция между образом жизни, размером и формой семян. Для 18 видов р. *Paphiopedilum* (Orchidaceae) было весьма наглядно показано, что размер и отношение длины к ширине семени уменьшаются при переходе от наземных форм к литофитным, и затем к эпифитным (Коломейцева и др., 2012).

У бромелиевых также наблюдается зависимость строения плодов и семян от экологии вида. Так, у наземного ананаса развивается большое сочное соплодие, и распространение семян идет через эндозоохорных агентов среди наземных животных. Крупные “резервуарные” бромеливые, растущие в развилках деревьев, часто имеют сочные ягоды и, по всей видимости, распространяются птицами, поедающими их. Наиболее специализированными эпифитами из бромелиевых являются представители р. *Tillandsia*, мелкие семена которых, распространяющиеся воздушным путем, имеют характерные волосовидные выросты тесты и при перепадах влажности воздуха совершают винтовые гигроскопические движения. Благодаря этому, семя весьма цепко прикрепляется к самым, казалось бы, неподходящим субстратам, где и прорастает (рис. 3*д*). Это не только очень тонкие ветви верхушек деревьев, где обычно эпифиты не встречаются, но и линии электропередач, что часто удивляет многих путешественников по Южной Америке.

Диаспорология эпифитных представителей семейства кактусовых также имеет ряд особенностей. Так, при проращивании большого числа семян эпифитных кактусов было отмечено, что зародышевый корень сразу после появления из оболочки семени обильно обрастает корневыми волосками и прекращает свой рост. При этом первых митотических делений апикальной меристемы на таких корнях обнаружено не было. Лишь по истечении пяти–семи дней у проростков стали появляться адвентивные корни. Видимо, это обусловлено необходимостью проростков как можно более прочно закрепиться на эпифитном субстрате после прорастания (Панкин, 2005).

Семена цветковых эпифитов весьма мелкие, достигая рекордных значений у орхидей, у которых носят столь редуцированный характер, что в естественных условиях совершенно не способны прорастать вне симбиотических связей с грибами. В целом для диаспорологии цветковых эпифитов характерно почти полное отсутствие фактических данных о способности к рассеиванию семян (Zotz, 2016).

Менее понятна диаспорология споровых сосудистых эпифитов. Также мы наблюдали в природе (Южный Вьетнам), что упавшие экземпляры *Drynaria quercifolia* не гибнут, а продолжают расти

наземно, в условиях саванноподобного редколесья, но никогда не размножаются на земле самостоятельно. Ювенильные экземпляры спорофита *Platycerium grande* в том же редколесье встречались на стволах деревьев на высоте не выше одного метра и никогда не наблюдались на поверхности земли. Таким образом, может иметь место облигатность типичных споровых эпифитов, но сами причины и механизм селективного прорастания спор пока не ясен. Сравнивая же морфологию спор и гаметофитов эпифитных папоротников, очень трудно выявить какую-либо четкую тенденцию, предполагающую облигатный эпифитизм. На приведенных ниже примерах видно, насколько затруднительно выявить связь между эпифитным образом жизни и морфологией спор и заростков.

Для р. *Ophioglossum* (Ophioglossaceae) описаны заростки эпифитных видов *O. pendulum* и *O. palmatum*, которые чаще всего имеют вытянутую форму, но могут быть и относительно бесформенными. Они, как правило, очень хрупкие, мясистые, имеют микоризу и не содержат хлорофилла. Их споры, как и у прочих представителей семейства, прорастают строго в темноте (Арнаутова, 2008), что делает не совсем понятным механизм их распространения в природе. Споры другого эпифитного сем. Vittariaceae зачастую прорастают в спорангиях. Их заростки имеют необычную лентовидную форму и многочисленные органы вегетативного размножения – геммы (Арнаутова, 2008). Кроме того, заростки р. *Vittaria* способны долго жить независимо. По гаметофиту был описан вид *V. appalachiana*, спорофит которого неизвестен (Farrar, Mickel, 1991). Тут прослеживаются параллели с другим обширным эпифитным семейством – Hymenophyllaceae, заростки которого также имеют необычную лентовидную или нитевидную форму и нередко образуют эндомикоризу. Они могут жить независимо на протяжении длительного периода. В процессе изучения таких автономных гаметофитов было описано два новых вида, спорофиты которых не найдены: *Trichomanes intricatum* и *Hymenophyllum tayloriae* (Арнаутова, 2008).

У полностью эпифитных родов сем. Polypodiaceae, таких как *Platycerium* и *Pyrrosia*, наблюдается опушение заростков многоклеточными волосками сложной формы, что тоже можно рассматривать как приспособление для выживания в строго эпифитных условиях. Важно и то, что часто споры эпифитных папоротников содержат хлорофилл и маслянистые включения, вследствие чего быстро теряют всхожесть из-за полного отсутствия у таких спор периода покоя (Арнаутова, 2008). Ряд споровых сосудистых эпифитов обладает интересными механизмами вегетативного размножения. Так, эпифитные представители р. *Huperzia* (Lycopodiaceae), попадая на подходящий субстрат (например, покрытую мхом ветку), способны образовывать выводковые почки на свешивающихся вниз спорофиллоносных частях побега. Диаспорология споровых эпифитов, несомненно, требует дополнительных исследований.

Надо отметить, что проблематика диаспорологии эпифитов не исчерпывается только изучением морфологии их диаспор и стратегий расселения, но должна опираться на более глубокое понимание биотических связей “форофит–эпифит”, которые, помимо высказанных несколько десятилетий назад соображений по поводу текстуры коры и видоспецифичности, до последнего времени были недостаточно очевидны. Не менее важным для расселения эпифитов оказался также возраст и размер дерева-хозяина (Zotz, Vollrath, 2003). Например, было показано, что с увеличением расстояния между деревьями *Brosimum alicastrum* (Moraceae) увеличиваются и генетические отличия у исследуемых экземпляров, что, в свою очередь, влияет на сообщество эпифитов, а также беспозвоночных, живущих на стволе и в опаде. Вполне возможно, что в данном случае лимитирующим фактором для расселения диаспор и успешного прорастания являются более тонкие связи, например, присутствие нужных штаммов эндофитных грибов, химический состав стекающей по стволу воды с вторичными метаболитами растения-хозяина, толщина мохового и лишайникового покрова ствола (Zytynska et al., 2011).

3.3. Экосистемная роль эпифитов

Из всего вышеизложенного становится понятно, что эпифиты вносят существенный вклад в экосистему. Но какого рода этот вклад и насколько он масштабен? Только сравнительно недавно было начато осмысление экосистемной роли эпифитов (рис. 8). Было предложено считать саму живую биомассу плюс разлагающуюся в эпифитах органику и подвешенные почвы в целом как эпифитный материал (epiphytic material – EM) (Gotsch et al., 2016). Похожий подход использовали при исследовании эпифитов в горном субтропическом лесу в Китае, где авторы для эпифитных сообществ вместе с сопровождающей его косной органикой используют термин “органическое вещество крон” (canopy organic matter – COM) (Chen et al., 2010). Авторы оценили депонированные в COM ЭМП ($N = 37.9 \pm 9.0$; $P = 1.97 \pm 0.47$; $K = 9.6 \pm 2.3$; $Ca = 9.6 \pm 2.3$; $Mg = 2.64 \pm 0.63$ и $Na = 0.25 \pm 0.06$ кг/га) при общей массе COM 2261 ± 537 кг/га, в которой преобладали мохообразные (73.6%) и подвешенные почвы (13.9%) (Chen et al., 2010).

Фукциональное разделение сосудистых и бессосудистых растений при изучении экосистемной роли эпифитов не целесообразно, и последние должны учитываться, по меньшей мере, в тех лесах, где они имеют явную средообразующую роль: например, в горных моховых или в субтропических и умеренных лесах. Так, при изучении азотофиксации ассоциированных с мохообразными цианобактерий в Британской Колумбии

было выяснено, что через эпифитные мхи привносится в экосистему существенно большее количество азота (0.76 кг/га в год), чем через наземные (0.26 кг/га в год) (Lindo, Whiteley, 2011). Другой особенностью эпифитных мохообразных является то, что они могут поглощать азот как в органической, так и в неорганической форме (Song et al., 2016), что делает их важным компонентом удержания азота в биосистеме, препятствующим его вымыванию.

Похожие результаты характерны и для тропических местообитаний. Так, во влажных тропических лесах Коста-Рики применение метки по ^{15}N показало, что NO_3^-, NH_4^+ осаждаются ЕМ крон в меньшей степени, чем растворенный органический азот, который почти полностью поглощался в кронах. Наибольшее количество поглощенного ^{15}N было найдено в эпифитных мохообразных (16.4%), хотя наибольшая доля биомассы ЕМ состояла из сосудистых эпифитов (Umana, Wanek, 2010).

Для понимания масштабности экосистемной роли эпифитов самым важным критерием является количественное определение ЕМ. Самая низкая оценка (0.5 кг/га) была зарегистрирована для 8-летнего подроста в субтропическом облачном лесу на Канарских островах (Patiño et al., 2009); самая большая масса (44000 кг/га) была зарегистрирована для горных лесов в Колумбии (Hofstede et al., 1993). Рост массы ЕМ происходит с течением времени экспоненциально: так, на Канарских островах 0.5 кг/га ЕМ в 8-летнем лесу увеличилось до 205 кг/га после 25 лет восстановления. В промежуток между 25–60 годами масса ЕМ продолжала расти экспоненциально (от 205 до 1253 кг/га) (Patiño et al., 2009). В горном дождевом лесу Монтеверде, Коста-Рика, биомасса ЕМ в 40-летнем вторичном лесу была 200 кг/га, тогда как ЕМ в старовозрастном лесу на два порядка выше и составляла 33100 кг/га (Nadkarni et al., 2004). Исследована масса эпифитов (растения + гумус в пологе) в лесах Северного Таиланда. Она значительно варьировала от 80 г/м^2 для разреженных мохообразных до 5882 г/м^2 для ковров орхидных. С увеличением размеров дерева масса эпифитов увеличивается в целом на дерево с 73 до 481 кг, возрастает доля сосудистых эпифитов и подвешенных почв, в то время как биомасса мохообразных снижается (Nakanishi et al., 2016).

Масштабное накопление ЕМ дает возможность массового удержания в кронах больших объемов воды. Например, в Коста-Рике мхи в горном лесу способны впитывать воду на 400% от их сухого веса (Holscher et al., 2004; Köhler et al., 2007), а неотропический мох *Octoblepharum pulvinatum* имеет влагоемкость 7000% от его сухой массы (Wagner et al., 2014). На уровне всего древостоя оцененные значения депонированной воды в ЕМ составляли от 0.81 мм в тропическом горном лесу Коста-Рики (Holscher et al., 2004) до 5 мм в моховом облачном лесу в Танзании (Pocs, 1976). При этом участие мхов в депонировании осадков достаточно скромное (6%) из-за их обычно высокой насыщенности влагой (Holscher et al., 2004). Мхи также быстрее теряют депонированную влагу: в течение 3-дневного периода без осадков максимальная потеря воды составила 251% от сухого веса для мохообразных и 117% для подвешенных почв (Kohler et al., 2007).

Источники ЭМП в ЕМ могут быть автохтонными (перехваченный опад деревьев и т.п.) или аллохтонными (ионы, полученные извне экосистемы, например, через дождь или туман). С точки зрения экосистемной функции, важно различать эти два источника. Если эпифиты получают все свои ЭМП из автохтонных источников, тогда они просто участвуют в цикле ЭМП от почвы к деревьям и не увеличивают общий пул ЭМП (Gotsch et al., 2016). С другой стороны, депонирование ЭМП, полученных извне экосистемы, потенциально увеличило бы общий вклад ЭМП в экосистему (Nadkarni, Matelson, 1992). Способность ЕМ к удержанию ЭМП весьма велика: было исследовано поглощение неорганического азота четырьмя компонентами крон: 1) эпифитными мохообразными, 2) ЕМ (небольшие сосудистые эпифиты, перехваченный опад и подвешенные почвы), 3) крупная листва сосудистых эпифитов и 4) листва форофитов. Эксперименты показали, что NO_3^- сильнее поглощались эпифитными мохообразными, но не листвой крупных сосудистых растений. Поглощение NH_4^+ эпифитными мохообразными и ЕМ был несколько ниже и отражал внутреннюю цикличность NH_4^+ в кронах. Авторы исследования определили, что ЕМ депонируют 33–67% неорганического азота, растворенного в атмосферных осадках (Clark et al., 2005). ЭМП из ЕМ становятся доступными для деревьев, когда ЕМ падают из крон на почву, когда ЭМП выщелачивается при дождях и в случае врастания адвентивных корней форофитов в подвешенные почвы (Gotsch et al., 2016).

И наконец, многочисленные организмы филлосферы (печеночники, мхи, лишайники, бактерии, грибы и другие микроорганизмы), которые мы напрямую не включаем в эпифитное сообщество, но которые можно отнести вместе с эпифитами к *подвешенной биоте*, оказывают существенное влияние на фотосинтетическую стратегию, гидравлику, поглощение ресурсов, температуру листа, защитные и многие другие свойства. Они влияют на массу семени, устьичную проводимость, длительность жизни листьев (Jones, Dangl, 2006; Lambers et al., 2008; Friesen et al., 2011; Sawinski et al., 2013; Kembel et al., 2014). Снижение фотосинтеза за счет затенения эпифилльными мохообразными может компенсироваться большим поступлением ассоциативно фиксированного азота. Продуцированный фитопатогенами цитокинин может увеличивать длительность жизни листа. Листовые бактерии и грибные эндофиты

Рис. 8. Экосистемная роль эпифитов (для каждого утверждения приведены работы, где рассматрены это явление или тенденция). *а* – эпифиты могут образовывать сплошной ковер на скелетных ветвях, который регулирует потоки воды по стволу и уменьшает поверхностный сток и вымывание элементов минерального питания из почвы (Gotsch et al., 2015). “Гнезда” самой большой эпифитной орхидеи (*б*) *Grammatophyllum speciosum* (резерват Данум Вэлли, Сабах, Борнео) и огромного папоротника (*в*) *Platycerium coronarium* (н.п. Кат-Тьен, Вьетнам) способствуют накоплению в кронах не очень богатого эпифитами низинного леса больших массивов органического вещества (Зонн, Ли Чан-Квей, 1958). *г* – полуэпифиты-душители из р. *Ficus* (н.п. Кат-Тьен, Вьетнам) способны серьезно физиономически и флористически менять низинные леса (Федоров, 1959). *д* – в горных моховых облачных лесах основой эпифитных сообществ становятся моховые подушки (н.п. Кинабалу, Сабах, Борнео), вокруг которых накапливаются огромные массивы эпифитного материала (Hofstede et al., 1993). *е* – в олиготрофных условиях саваноподобной формации керангас (н.п. Бако, Саравак, Борнео), мирмекофильные эпифиты, возможно, играют для сообщества экосистемную роль как поставщики зоогенного азота (Еськов, Дубовиков, 2015). *ж* – в то время как большая часть эпифитов в антропоценозах вымирает (Turner et al., 1994; Leao et al., 2014), некоторые эпифиты способны процветать даже в тропических городах (г. Кучинг, Саравак, Борнео).

могут усиливать поступление воды с поверхности растения в его ткани. Организмы филлосферы могут синтезировать вещества, меняющие смачиваемость листа и проницаемость кутикулы (Schreiber et al., 2005; Beattie, 2011; Ritpitakphong et al., 2016). В целом эпифитные и эндофитные организмы листа изменяют многие свойства растений-хозяев (Rosado et al., 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, на основе анализа существующей на сегодняшний день литературы по экологии эпифитов можно сделать следующее заключение. Эпифиты представляют собой масштабный феномен, свойственный в основном тропическим местообитаниям. Однако многие аспекты их биологии остаются недоисследованными. Определенный дисбаланс как в таксономическом составе, так и в географическом распространении предполагает довольно строгие эволюционные рамки, которые позволили только некоторым семействам и в определенных условиях освоить кроны деревьев. Вместе с тем пограничные условия эпифитного образа жизни намного шире, чем считалось ранее. Вертикально-пространственная структура эпифитных сообществ остается также малоисследованной, хотя этой теме посвящена довольно обширная литература. Вертикальная стратификация эпифитов непосредственно связана как с их экоморфологией, так и с экофизиологией.

Одним из адаптивных путей эпифитизма является ксероморфоз всего организма, в частности, образования особых корней, способных расти в воздушной среде – воздушных корней. Для более светолюбивых эпифитов характерен САМ, судя по всему, позволяющий им переносить сильные перепады влажности и мощную инсоляцию на вершинах крон. Разнесенность стадий дыхания и усвоения углерода во времени, постоянный дефицит влаги, а также скудость ЭМП, очевидно, должны приводить к низкой скорости роста корня у эпифитов с САМ, что, в свою очередь, должно выражаться в другой схеме “инвестирования” углерода и азота в корни, как базовой функции процесса роста по сравнению с наземными растениями. Функциональная морфология эпифитов в целом, можно сказать, находится в зачаточном состоянии.

Другой стороной освоения эпифитных местообитаний является “облегчение жизни” с помощью ряда адаптаций, например, образования подвешенных почв или консорций с животными, в частности с муравьями. Азотное питание древесных растений тропических экосистем может быть связано с присутствием муравьев, а эпифиты могут получать до трети азота из продуктов их жизнедеятельности. Многим наземным и эпифитным орхидеям, а также эпифитам других семейств свойственен САМ-фотосинтез. Разница изотопного состава углерода между C_3-растениями (к которым принадлежат форофиты) и C_4- или САМ-растениями, а также “животного” и “растительного” азота, позволяет понять возможные пути миграции органического вещества в эпифитном сообществе: от его источника до формирования подвешенной почвы в комах гнездовых эпифитов. Подобные исследования по изотопной экологии эпифитов немногочисленны и касаются Неотропических областей. Хотя отличия эпифитов Старого и Нового Света существенны, в связи с полным отсутствием в первом биоморфологического аналога бромелиевых.

Перспективы и актуальность изучения эпифитов многоразличны. С одной стороны, почти отсутствует цельная палеоботаническая картина происхождения эпифитов (Zotz, 2016), что ставит вопрос о причинах происхождения их впечатляющего разнообразия. Эпифиты вносят непропорционально большой вклад в большинстве глобальных центров разнообразия растений и играют важную роль в создании глобального градиента широтного разнообразия растений (Taylor et al., 2021). Это делает их крайне уязвимой группой, ведь, будучи структурно зависимыми растениями, они целиком и полностью зависят от лесов произрастания. А 60% тропических лесов еще 20 лет назад были признаны деградировавшими (ITTO, 2002). Судя по многочисленным исследованиям, эпифиты служат хорошим диагностическим критерием состояния лесов, как наиболее уязвимая экогруппа (напр., Leao et al., 2014). На примере семейства бромелиевых было показано, какую огромную роль в *экосистемных услугах* (*ecosystem services*) могут играть эпифиты (Ladino et al., 2019). Кроме того, в связи с изменением климата и увеличением антропогенных выбросов не понятно как это скажется на эпифитах. Предполагалось, что, возможно, повышение содержания CO_2 сделает более эффективными механизмы водопользования у эпифитов (иными словами увеличивает их ксерофильность). Но в целом однозначного доказательства положительного влияния повышенного содержания CO_2 на эпифиты найдено не было (Raveh et al., 1995; Li et al., 2002; Monteiro et al., 2009; Zotz et al., 2010).

Анализ литературы показывает, что вокруг эпифитов происходит депонирование впечатляющего массива органического вещества в кронах леса. Нами высказана мысль, что подвешенные почвы выполняют ту же функциональную роль, что и лесная подстилка в лесах более высоких широт, которая в тропических лесах отсутствует (Eskov et al., 2021). Таким образом, эпифитные сообщества (да и в целом подвешенная биота) являются не только существенным источником биоразнообразия тропических лесов, но и недооцененным депозитарием органического вещества, структурированного вокруг эпифитов. Правильная и исчерпывающая оценка этой роли еще ждет своего изучения и, возможно, изменит наши взгляды на углеродный баланс тропических ле-

сов. А это, в свою очередь, изменит взгляд на эпифиты как на приятную и красивую, но, в общем-то, не обязательную группу растений, на осмысление их в качестве важнейшего функционального блока тропических экосистем.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-14-50223 и в рамках ГЗ ГБС РАН № 118021490111-5 на базе УНУ “Фондовая оранжерея”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абакумов Е.В., 2014. Зоогенный педогенез как основной почвообразовательный процесс в Антарктиде // Русс. орнитол. журн. Т. 23. № 972. С. 576–584.

Арнаутова Е.М., 2008. Гаметофиты равноспоровых папоротников. СПб.: Изд-во СПбГУ. 456 с.

Берг Л.С., 1952. Географические зоны Советского Союза. Т. 2. М.: Географгиз. 510 с.

Вальтер Г., 1968. Растительность земного шара: эколого-физиологическая характеристика. Т. 1. Тропические и субтропические зоны. М.: Прогресс. 551 с.

Вальтер Г., 1974. Растительность земного шара: эколого-физиологическая характеристика. Т. 2. Леса умеренной зоны. М.: Прогресс. 423 с.

Виноградова К.Л., 1989. Эпифитизм водорослей: уточнение терминологии // Бот. журн. Т. 74. № 9. С. 1291–1293.

Голубев В.Н., 1958. О короткокорневищных растениях // Бюлл. МОИП. Отд. биол. Т. 63. № 3. С. 97–103.

Горышина Т.К., 1979. Экология растений. М.: Высш. Шк. 368 с.

Державина Н.М., 2019. Опыт синтетического подхода к экологической классификации сосудистых эпифитов // Сиб. экол. журн. Т. 26. № 5. С. 526–537.

Еськов А.К., 2012. Экофизиологическая классификация сосудистых эпифитов как теоретическая предпосылка формирования коллекций и сообществ эпифитных растений в условиях оранжерейной культуры // Естественные и технические науки. № 4. С. 93–98.

Еськов А.К., 2013. Эпифитные сообщества древесных формаций Южного Вьетнама: анализ видового состава и строения синузий в зависимости от степени антропогенного влияния // Журн. общ. биологии. Т. 74. № 5. С. 386–398.

Еськов А.К., 2018. Рост и функциональная роль воздушных корней цветковых эпифитов. Дис. ... канд. биол. наук. М.: ГБС РАН. 133 с.

Еськов А.К., Дубовиков Д.А., 2015. Сообщество мирмекофильных эпифитов формации керангас острова Борнео // Бюлл. МОИП. Отд. биол. Т. 120. № 4. С. 60–69.

Еськов А.К., Прилепский Н.Г., Антипина В.А., Абакумов Е.В., Nguyen Van Thinh, 2020. Формирование эпифитных сообществ в искусственных лесных посадках Южного Вьетнама // Экология. № 3. С. 171–180.

Еськов А.К., Абакумов Е.В., Тиунов А.В., Кузнецова О.В., Дубовиков Д.А. и др., 2017. Агеотропные воздушные корни-улавливатели гнездовых эпифитов и их роль в формировании подвешенных почв // Журн. общ. биологии. Т. 78. № 3. С. 54–68.

Зитте П., Вайлер Э.В., Кадерайт Й.В., Брезински А., Кёрнер К., 2007. Ботаника. Т. 4. Экология / Под ред. Еленевского А.Г., Павлова В.Н. М.: Академия. 248 с.

Зитте П., Вайлер Э.В., Кадерайт Й.В., Брезински А., Кёрнер К., 2008. Ботаника. Т. 2. Физиология растений / Под ред. Чуба В.В. М.: Академия. 496 с.

Зонн С.В., Ли Чан-Квей, 1958. Некоторые вопросы генезиса и классификации тропических почв Китая // Почвоведение. № 6. С. 58–69.

Коломейцева Г.Л., 2003. Морфологические типы орхидных // Бюлл. Гл. бот. сада. Вып. 185. С. 112–137.

Коломейцева Г.Л., 2006. Морфо-экологические особенности адаптации тропических орхидных при интродукции. Дис. ... докт. биол. наук. М.: ГБС РАН. 377 с.

Коломейцева Г.Л., Антипина В.А., Широков А.И., Хомутовский М.И., Бабоша А.В., Рябченко А.С., 2012. Семена орхидей: развитие, структура, прорастание. М.: Геос. 352 с.

Кэмпбел Д.Х., 1948. Ботанические ландшафты земного шара. М.: Изд-во иностр. лит. 434 с.

Любарский Е.Л., 1973. О биоморфологической границе между длиннокорневищными и короткокорневищными растениями // Экология. № 2. С. 94–95.

Мазуренко М.Т., Хохряков А.П., 2010. Некоторые понятия биоморфологии // Бюлл. БСИ ДВО РАН. № 5. С. 106–116.

Нухимовский Е.Л., 1997. Основы биоморфологии семенных растений. Т. I. Теория организации биоморф. М.: Недра. 630 с.

Нухимовский Е.Л., 2002. Основы биоморфологии семенных растений. Т. II. Габитус и формы роста в организации биоморф. М.: Оверлей. 859 с.

Панкин В.Х., 2005. Кариологический анализ некоторых представителей эпифитных кактусов (Cactaceae Juss.) // Бюлл. Гл. бот. сада. Вып. 189. С. 136–150.

Панфилов Д.В., 1961. Насекомые в тропических лесах Южного Китая. М.: Изд-во МГУ. 147 с.

Ричардс П.В., 1961. Тропический дождевой лес. М.: Изд-во иностр. лит. 447 с.

Сергеева Т.К., Компанцев А.В., Компанцева Т.В., Второва В.Н., 1997. Разнообразие биоты “подвешенных” почв в тропических лесах Вьетнама (на примере папоротника *Asplenium nidus* L.) // Сб. работ “Тропцентр-98”. Кн. 1. Биологическое разнообразие и современное состояние тропических экосистем Вьетнама. Москва-Ханой: Тропический Центр. С. 261–279.

Сергеева Т.К., Холопова Л.Б., Нгуен Три Тьен, Нгуен Шунг Ту, 1989. Животное население и свойства “подвешенных почв” тропического эпифита *Asplenium nidus* L. // Экология. № 5. С. 29–40.

Серебряков И.Г., 1964. Жизненные формы высших растений и их изучение // Полевая геоботаника. Т. 3. М.; Л.: Наука. С. 146–205.

Серебряков И.Г., Серебрякова Т.И., 1965. О двух типах формирования корневищ у травянистых многолетников // Бюл. МОИП. Отд. биол. Т. 70. № 2. С. 67–81.

Смирнова Е.С., 1990. Морфология побеговых систем орхидных. М.: Наука. 208 с.

Татаренко И.В., 1996. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М.: Аргус. 208 с.

Тиунов А.В., 2007. Стабильные изотопы углерода и азота в почвенно-экологических исследованиях // Изв. РАН. Сер. Биол. Т. 4. С. 475–489.

Толчельников Ю.С., 1985. О сущности понятия “почва” // Вестн. МГУ. Сер. 17. Почвоведение. № 3. С. 52–58.

Федоров А.А., 1959. Древесные эпифиты и фикусы-удушители в тропических лесах Китая // Бот. журн. Т. 44. № 10. С. 1409–1424.

Фомин А.В., 1934. Род Многоножка – *Polypodium* L. // Флора СССР. Т. I / Под ред. Ильина М.М. Л.: Изд-во АН СССР. С. 84–86.

Чертов О.Г., 1983. Математическая модель экосистемы одного растения // Журн. общ. биологии. Т. 44. № 3. С. 406–414.

Abakumov E.V., Rodina O.A., Eskov A.K., 2018. Humification and humic acid composition of suspended soil in oligotrophous environments in South Vietnam // Appl. Environ. Soil Sci. V. 2018. Art. 1026237.

Adhikari Y.P., Fischer A., Fischer H.S., 2012a. Micro-site conditions of epiphytic orchids in a human impact gradient in Kathmandu valley, Nepal // J. Mt. Sci. V. 9. P. 331–342.

Adhikari Y.P., Fischer H.S., Fischer A., 2012b. Host tree utilization by epiphytic orchids in different land-use intensities in Kathmandu Valley, Nepal // Plant Ecol. V. 213. P. 1393–1412.

Aguirre A., Guevara R., García M., López J.C., 2010. Fate of epiphytes on phorophytes with different architectural characteristics along the perturbation gradient of Sabal mexicana forests in Veracruz, Mexico // J. Veg. Sci. V. 21. P. 6–15.

Alien M.R., Rincon E., Alien E.B. et al., 1993. Observations of canopy bromeliad roots compared with plants rooted in soils of a seasonal tropical forest, Chamela, Jalisco, Mexico // Mycorrhiza. V. 4. P. 27–28.

Annaselvam J., Parthasarathy N., 2001. Diversity and distribution of herbaceous vascular epiphytes in a tropical evergreen forest at Varagalaiar, Western Ghats, India // Biodivers. Conserv. V. 10. P. 317–329.

Antibus K.A., Lesica P., 1990. Root surface acid phosphatase activities of vascular epiphytes of a Costa Rican rain forest // Plant Soil. V. 128. P. 233–240.

Arévalo R., Betancourt J., 2006. Vertical distribution of vascular epiphytes in four forest types of the Serrania de Chiribiquete, Colombian Guayana // Selbyana. V. 27. P. 175–185.

Assede E.P.S., Adomou A.C., Sinsin B., 2012. Magnoliophyta, Biosphere Reserve of Pendjari, Atacora Province, Benin // Check List. V. 8. P. 642–661.

Barrow S.R., Cockburn W., 1982. Effects of light quantity and quality on the decarboxylation of malic acid in crassulacean acid metabolism photosynthesis // Plant Physiol. V. 69. P. 568–571.

Beattie G.A., 2011. Water relations in the interaction of foliar bacterial pathogens with plants // Ann. Rev. Phytopathol. V. 49. P. 533–555.

Beguinot A., Traverso G.B., 1905. Richerche intorno alle 'arboricole' della flora italiana // Nuovo Giorn. Bot. Ital. V. 12. P. 495–589.

Benner J.W., Vitousek P.M., 2007. Development of a diverse epiphyte community in response to phosphorus fertilization // Ecol. Lett. V. 10. P. 628–636.

Bennert H.W., Giers A., Güldenpfenning S., Herbik A., Katheder A., 1992. Some new observations on the fern flora of the Azores // Fern Gaz. V. 14. P. 146–148.

Bennett B.C., 1986. Patchiness, diversity, and abundance relationships of vascular epiphytes // Selbyana. V. 9. P. 70–75.

Bentley B.L., Carpenter E.J., 1984. Direct transfer of newly fixed nitrogen from free-living epiphyllous microorganisms to their host plant // Oecologia. V. 63. P. 52–56.

Benzing D.H., 1981. Bark surfaces and the origin and maintenance of diversity among angiosperm epiphytes: a hypothesis // Selbyana. V. 5. P. 248–255.

Benzing D.H., 1986a. Origins of orchid diversity: Emphasis on floral biology leads to misconceptions // Lindleyana. V. 1. № 2. P. 73–89.

Benzing D.H., 1986b. The vegetative basis of vascular epiphytism // Selbyana. V. 9. P. 23–43.

Benzing D.H., 1987. Vascular epiphytism: Taxonomic participation and adaptive diversity // Ann. Missouri Bot. Gard. V. 74. P. 183–204.

Benzing D.H., 1990. Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 354 p.

Benzing D.H., 1996. Aerial roots and their environments // Plant Roots: The Hidden Half / Eds Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U. N.Y.: Marcel Dekker. P. 875–894.

Benzing D.H., 2000. Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 710 p.

Benzing D.H., Renfrow A., 1974. The mineral nutrition of Bromeliaceae // Bot. Gaz. V. 135. P. 281–288.

Benzing D.H., Sheemann J., 1978. Nutritional piracy and host decline: A new perspective on the epiphyte-host relationship // Selbyana. V. 2. P. 133–148.

Benzing D.H., Henderson K., Kessel B., Sulak J., 1976. The absorptive capacities of bromeliad trichomes // Am. J. Bot. V. 63. P. 1009–1014.

Benzing D.H., Friedman W.E., Peterson G., Renfrew A., 1983. Shoodessness, velamentous roots, and the pre-eminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope // Am. J. Bot. V. 70. P. 121–133.

Bermudes D., Benzing D.H., 1989. Fungi in neotropical epiphyte roots // Biosystems. V. 23. P. 65–74.

Bermudes D., Benzing D.H., 1991. Nitrogen fixation in association with Ecuadorean bromeliads // J. Trop. Ecol. V. 7. P. 531–538.

Boelter C.R., Dambros C.S., Nascimento H.E.M., Zartman C.E., 2014. A tangled web in tropical tree-tops: Effects of edaphic variation, neighbourhood phorophyte composition and bark characteristics on epiphytes in a central Amazonian forest // J. Veg. Sci. V. 25. P. 1090–1099.

Bohlman S.A., Matelson T.J., Nadkarni N.M., 1995. Moisture and temperature patterns of canopy humus and forest floor soil of amontane cloud forest, Costa Rica // Biotropica. V. 27. P. 13–19.

Bone R.E., Smith J.A., Arrigo N., Buerki S., 2015. A macroecological perspective on crassulacean acid metabolism (CAM) photosynthesis evolution in Afro-Madagascan drylands: Eulophiinae orchids as a case stud // New Phytol. V. 208. P. 469–481.

Brighigna L., Montini P., Favilli F., Carabez Trejo A., 1992. Role of the nitrogen-fixing bacterial microflora in the epiphytism of *Tillandsia* (Bromeliaceae) // Am. J. Bot. V. 79. P. 723–727.

Brisseau-Mirbel C.F., 1815. Élémens de physiologie végétale et de botanique. Partie 2. Paris: Magimel. 470 p.

Burns K.C., 2010. How arboreal are epiphytes? A null model for Benzing's classifications // N. Z. J. Bot. V. 48. № 3–4. P. 185–191.

Cardelús C.L., Mack M.C., 2010. The nutrient status of epiphytes and their host trees along an elevational gradient in Costa Rica // Plant Ecol. V. 207. P. 25–37.

Cardelús C.L., Colwell R.K., Watkins J.E., 2006. Vascular epiphyte distribution patterns: Explaining the mid-elevation richness peak // J. Ecol. V. 94. P. 144–156.

Carlsen M., 2000. Structure and diversity of the vascular epiphyte community in the overstory of a tropical rain forest in Surumoni, Amazonas State, Venezuela // Selbyana. V. 21. P. 7–10.

Cascante-Marín A., Wolf J.H.D., Oostermeijer J.G.B., Nijs J.C.M., den, Sanahuja O., Durán-Apuy A., 2006. Epiphytic bromeliad communities in secondary and mature forest in a tropical premontane area // Basic Appl. Ecol. V. 7. P. 520–532.

Ceusters J., Borland A.M., Godts C., Londers E., Croonenborgs S. et al., 2011. Crassulacean acid metabolism under severe light limitation: A matter of plasticity in the shadows? // J. Exp. Bot. V. 62. P. 283–291.

Chen L., Liu W., Wang G., 2010. Estimation of epiphytic biomass and nutrient pools in the subtropical montane cloud forest in the Ailao Mountains, south-western China // Ecol. Res. V. 25. № 2. P. 315–325.

Chomicki G., Renner S.S., 2017. Partner abundance controls mutualism stability and the pace of morphological change over geologic time // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 114. № 15. P. 3951–3956.

Chomicki G., Renner S.S., 2019. Farming by ants remodels nutrient uptake in epiphytes // New Phytol. V. 223. № 4. P. 2011–2023.

Chomicki G., Janda M., Renner S.S., 2017. The assembly of ant-farmed gardens: Mutualism specialization following host broadening // Proc. Roy. Soc. B. Biol. Sci. V. 284. № 1850. Art. 20161759.

Clark K., Nadkarni N., Gholz H., 2005. Retention of inorganic nitrogen by epiphytic bryophytes in a tropical montane forest // Biotropica. V. 37. P. 328–336.

Clark K.L., Nadkarni N.M., Schaefer D., Gholz H.L., 1998. Atmospheric deposition and net retention of ions by the canopy in a tropical montane forest, Monteverde, Costa Rica // J. Trop. Ecol. V. 14. P. 27–45.

Clarkson D.T., Kiniper P.J.C., Luttge U., 1986. Mineral nutrition: Sources of nutrients for land plants from outside the pedosphere // Progress in Botany. V. 48 / Eds Behnke H.D., Esser K., Kubitzki K., Runge M., Ziegler H. Berlin; Heidelberg: Springer. P. 80–96.

Cockburn W., Goh C.J., Avadhani P.N., 1985. Photosynthetic carbon assimilation in a shootless orchid, *Chiloschista usneoides* (DON) LDL: A variant on crassulacean acid metabolism // Plant Physiol. V. 77. № 1. P. 83–86.

Coxson D., Nadkarni N.M., 1995. Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems // Forest Canopies / Eds Lowman M., Nadkarni N. San Diego: Academic Press. P. 495–543.

Crayn D.M., Winter K., Smith J.A.C., 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 101. P. 3703–3708.

Crayn D.M., Winter K., Schulte K., Smith J.A.C., 2015. Photosynthetic pathways in Bromeliaceae: Phylogenetic and ecological significance of CAM and C_3 based on carbon isotope ratios for 1893 species // Bot. J. Linn. Soc. V. 178. P. 169–221.

Croat T.B., 1978. Flora of Barro Colorado Island. Stanford: Stanford Univ. Press. 956 p.

DaRocha W.D., Ribeiro S.P., Neves F.S., Fernandes G.W., Leponce M., Delabie J.H.C., 2015. How does bromeliad distribution structure the arboreal ant assemblage (Hymenoptera: Formicidae) on a single tree in a Brazilian Atlantic forest agroecosystem? // Myrmecol. News. V. 21. P. 83–92.

Davidson D.W., Epstein W.W., 1989. Epiphytic associations with ants // Vascular Plants as Epiphytes / Ed. Lüttge U. Berlin: Springer Verlag. P. 200–233.

Diels J., Vanlauwe B., Meersch M.K., van der, et al., 2004. Long-term soil organic carbon dynamics in a subhumid tropical climate: ^{13}C data in mixed C_3/C_4 cropping and modeling with ROTHC // Soil Biol. Biochem. V. 36. P. 1739–1750.

Dighe S., Raval M., Shah A.K., 1986. Detection of nitrogen-fixing ability in an epiphytic orchid *Vanda testacea* (Linde) Reichb. F. // Proc. Indian Natl. Sci. Acad. V. 52. P. 515–517.

Ehleringer J.R., Hall A.E., Farquahr G.D., 1993. Stable Isotopes and Plant-Water Relations. San Diego: Academic Press. 555 p.

Ellis C.J., 2012. Lichen epiphyte diversity: A species, community and trait-based review // Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. V. 14. P. 131–152.

Eskov A.K., Zverev A.O., Abakumov E.V., 2021. Microbiomes in suspended soils of vascular epiphytes differ from terrestrial soil microbiomes and from each other // Microorganisms. V. 9. № 5. Art. 1033.

Eskov A.K., Onipchenko V.G., Prilepsky N.G., Abakumov E.V., Kolomeitseva G.L. et al., 2019. Dependence of epiphytic community on autochthonous and allochthonous sources of nitrogen in three forest habitats of southern Vietnam // Plant Soil. V. 443. № 1–2. P. 565–574.

Eskov A.K., Voronina E.Yu., Tedersoo L., Tiunov A.V., Manh V. et al., 2020. Orchid epiphytes do not receive organic substances from living trees through fungi // Mycorrhiza. V. 30. P. 697–704.

Farrar D.R., Mickel J.T., 1991. Vittaria appalachiana: A name for the "Appalachian gametophyte" // Am. Fern J. V. 81. P. 69–75.

Fliche M.P., 1902. Note sur l'epiphytisme du *Polypodium vulgare* L. // Bull. Soc. Bot. France. V. 49. № 1. P. 53–64.

Forel A., 1904. In und mit Pflanzen lebende Ameisen aus dem Amazonas-Gebiet und aus Peru, gesammelt von Herrn E. Ule // Zool. Jahrb. Abt. Syst. V. 20. P. 679–707.

Forman R.T.T., 1975. Canopy lichens with blue-green algae: A nitrogen source in a Colombian rain forest // Ecology. V. 56. P. 1176–1184.

Friesen M.L., Porter S.S., Stark S.C., Wettberg E.J., Sachs J.L., Martinez-Romero E., 2011. Microbially mediated plant functional traits // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. V. 42. P. 23–46.

Frouz J., Jílková V., 2008. The effect of ants on soil properties and processes (Hymenoptera: Formicidae) // Myrmecol. News. V. 1. P. 191–199.

Garth R.E., 1964. The ecology of Spanish moss (*Tillandsia usneoides*): its growth and distribution // Ecology. V. 45. № 3. P. 470–481.

Gay H., 1991. Ant-houses in the fern genus *Lecanopteris* Reinw. (Polypodiaceae) – The rhizome morphology and architecture of *L. sarcopus* Teijsm. and Binned. and *L. darnaedii* Hennipman // Bot. J. Linn. Soc. V. 106. P. 199–208.

Gay H., 1993a. Animal-fed plants – An investigation into the uptake of ant-derived nutrients by the far-eastern epiphytic fern *Lecanopteris* Reinw. (Polypodiaceae) // Biol. J. Linn. Soc. V. 50. P. 221–233.

Gay H., 1993b. Rhizome structure and evolution in the ant-associated epiphytic fern *Lecanopteris* Reinw. (Polypodiaceae) // Bot. J. Linn. Soc. V. 113. P. 135–160.

Gay H., Hensen R., 1992. Ant specificity and behaviour in mutualisms with epiphytes: The case of *Lecanopteris* (Polypodiaceae) // Biol. J. Linn. Soc. V. 47. P. 261–284.

Gentry A.H., Dodson C.H., 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes // Ann. Missouri Bot. Gard. V. 74. № 2. P. 205–233.

Gibernau M., Orivel J., Delabie J., Barabé D., Dejean A., 2007. An asymmetrical relationship between an arboreal ponerine ant and a trash-basket epiphyte (Araceae) // Biol. J. Linn. Soc. V. 91. № 3. P. 341–346.

Gomes-da-Silva J., Costa A.F., da, 2011. Taxonomic revision of *Vriesea corcovadensis* group (Bromeliaceae: Tillandsioideae) with description of two new species // Syst. Bot. V. 36. № 2. P. 291–309.

Gómez L.D., 1974. Biology of the potato-fern *Solanopteris brunei* // Brenesia. V. 4. P. 37–61.

Gómez L.D., 1977. The Azteca ants of *Solanopteris brunei* // Am. Fern J. V. 67. P. 31.

Goode L.K., Allen M.F., 2008. The impacts of Hurricane Wilma on the epiphytes of El Edén Ecological Reserve, Quintana Roo, Mexico // J. Torrey Bot. Soc. V. 135. P. 377–387.

Gotsch S.G., Nadkarni N., Amici A., 2016. The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forests // J. Trop. Ecol. V. 32. № 5. P. 455–468.

Gotsch S.G., Nadkarni N., Darby A., Glunk A., Dix M. et al., 2015. Life in the treetops: Ecophysiological strategies of canopy epiphytes in a tropical montane cloud forest // Ecol. Monogr. V. 85. № 3. P. 393–412.

Gottsberger G., Morawetz W., 1993. Development and distribution of the epiphytic flora in an Amazonian savanna in Brazil // Flora. V. 188. P. 145–151.

Griffiths H., 1998. Stable Isotopes: The Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes. Oxford: BIOS Scientific Publishers. 438 p.

Griffiths H., Smith J.A.C., 1983. Photosynthetic pathways in the Bromeliaceae of Trinidad: Relations between lifeforms, habitat preference and the occurrence of CAM // Oecologia. V. 60. P. 176–184.

Grubb P.J., 1977. Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains // Annu. Rev. Ecol. Syst. V. 8. P. 83–107.

Haufler C.H., Grammer W.A., Hennipman E., Ranker T.A., Smith A.R., Schneider H., 2003. Systematics of the ant-fern genus *Lecanopteris* (Polypodiacee): Testing phylogenetic hypotheses with DNA sequences // Syst. Bot. V. 28. P. 217–227.

Hempfling R., Simmleit N., Schulten H.R., 1991. Characterization and chemodynamics of plant constituents during maturation, senescence and humus genesis in spruce ecosystems // Biogeochemistry. V. 13. P. 27–60.

Hietz P., 1997. Population dynamics of epiphytes in a Mexican humid montane forest // J. Ecol. V. 85. P. 767–775.

Hietz P., Wanek W., Popp M., 1999. Stable isotopic composition of carbon and nitrogen and nitrogen content in vascular epiphytes along an altitudinal transect // Plant Cell Environ. V. 22. P. 1435–1443.

Hietz P., Wanek W., Wania R., Nadkarni N.M., 2002. Nitrogen-15 natural abundance in a montane cloud forest canopy as an indicator of nitrogen cycling and epiphyte nutrition // Oecologia. V. 131. P. 350–355.

Hirata A., Kamijo T., Saito S., 2009. Host trait preferences and distribution of vascular epiphytes in a warm-temperate forest // Plant Ecol. V. 201. P. 247–254.

Hoeber V., Weichgrebe T., Zotz G., 2019. Accidental epiphytism in the Harz Mountains, Central Europe // J. Veg. Sci. V. 30. № 4. P. 765–775.

Hoelscher D., Köhler L., Dijk A.I., van, Bruijnzeel L.S., 2004. The importance of epiphytes to total rainfall interception by a tropical montane rain forest in Costa Rica // J. Hydrol. V. 292. P. 308–322.

Hofstede R.G.M., Wolf J.H.D., Benzing D.H., 1993. Epiphytic biomass and nutrient status of a Colombian upper montane rain forest // Selbyana. V. 14. P. 37–45.

Högberg P., 1997. Tansley review No. 95. ^{15}N natural abundance in soil-plant systems // New Phytol. V. 137. P. 179–203.

Holtum J.A.M., Winter K., Weeks M.A., Sexton T.R., 2007. Crassulacean acid metabolism of the ZZ plant, *Zamioculcas zamiifolia* (Araceae) // Am. J. Bot. V. 94. P. 1670–1676.

Ibisch P.L., 1996. Neotropische Epiphytendiversitat: das Beispiel Bolivien. Wiehl: Martina Galunder-Verlag. 357 p.

International Tropical Timber Organization (ITTO), 2002. ITTO Guidelines for the restoration, management and rehabilitation of degraded and secondary tropical forests. Yokohama: ITTO. 84 p.

Irume M.V., Morais M.D.L.D.C., Zartman C.E., Amaral I.L.D., 2013. Floristic composition and community structure of epiphytic angiosperms in a terra firme forest in central Amazonia // Acta Bot. Bras. V. 27. P. 378–393.

Jacome J., Galeano G., Amaya M., Mora M., 2004. Vertical distribution of epiphytic and hemiepiphytic Araceae in a tropical rain forest in Chocó, Colombia // Selbyana. V. 25. P. 118–125.

Janos D.P., 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of epiphytes // Mycorrhiza. V. 4. P. 1–4.

Janzen D.H., 1974. Epiphytic myrmecophytes in Sarawak: Mutualism through the feeding of plants by ants // Biotropica. V. 6. № 4. P. 237–259.

Johansson D.R., 1974. Ecology of vascular epiphytes in West African rain forest / Acta Phytogeogr. Suec. V. 59. Uppsala: Svenska växtgeografiska sällskapet. 129 p.

Johansson D.R., 1975. Ecology of epiphytic orchids in West African rain forests // Amer. Orchid Soc. Bull. V. 44. № 2. P. 125–136.

Johansson D.R., 1978. A method to register the distribution of epiphytes on the host tree // Amer. Orchid Soc. Bull. V. 47. № 10. P. 901–904.

Jones J.D.G., Dangl J.L., 2006. The plant immune system // Nature. V. 444. P. 323–329.

Kembel S.W., O'Connor T.K., Arnold H.K., Hubbell S.P., Wright S.J., Green J.L., 2014. Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 111. P. 13715–13720.

Kirby C., 2014. Field Guide to New Zealand's Epiphytes, Vines & Mistletoes. Hamilton: Environmental Research Institute, Univ. of Waikato. 261 p.

Kluge J., Kessler M., 2011. Influence of niche characteristics and forest type on fern species richness, abundance and plant size along an elevational gradient in Costa Rica // Plant Ecol. V. 212. P. 1109–1121.

Koptur S., Rico-Gray V., Palacios-Rios M., 1998. Ant protection of the nectaried fern *Polypodium plebeium* in central Mexico // Am. J. Bot. V. 85. P. 736–739.

Köhler L., Tobón C., Frumau K.A., Bruijnzeel L.S., 2007. Biomass and water storage dynamics of epiphytes in

old-growth and secondary montane cloud forest stands in Costa Rica // Plant Ecol. V. 193. № 2. P. 171–184.

Köster N., Friedrich K., Nieder J., Barthlott W., 2009. Conservation of epiphyte diversity in an Andean landscape transformed by human land use // Conserv. Biol. V. 23. P. 911–919.

Kress W.J., 1986. A symposium: The biology of tropical epiphytes // Selbyana. V. 9. P. 1–22.

Krömer T., Gradstein S.R., 2016. Vascular epiphytes // Core Standardized Methods for Rapid Biological Field Assessment / Ed. Larsen T.H. Arlington: Conservation International. P. 25–36.

Krömer T., Kessler M., Gradstein S.R., Acebey A., 2005. Diversity patterns of vascular epiphytes along an elevational gradient in the Andes // J. Biogeogr. V. 32. P. 1799–1809.

Kunkel G., 1993. Die Kanarischen Inseln und ihre Pflanzenwelt. Stuttgart; Jena; N.Y.: Gustav Fischer Verlag. 239 S.

Ladino G., Bautista F.O., Varón J.E., Jerabkova L., Kratina P., 2019. Ecosystem services provided by bromeliad plants: A systematic review // Ecol. Evol. V. 9. P. 7360–7373.

Lambers H., Chapin III F.S., Pons T., 2008. Plant Physiological Ecology. N.-Y.: Springer-Verlag. 604 p.

Lasso E., Ackerman J., 2013. Nutrient limitation restricts growth and reproductive output in a tropical montane cloud forest bromeliad: Findings from a long-term forest fertilization experiment // Oecologia. V. 171. P. 165–174.

Laube S., Zotz G., 2003. Which abiotic factors limit vegetative growth in a vascular epiphyte? // Funct. Ecol. V. 17. P. 598–604.

Laube S., Zotz G., 2007. A metapopulation approach to the analysis of long-term changes in the epiphyte vegetation on the host tree Annona glabra // J. Veg. Sci. V. 18. P. 613–624.

Leao T.C.C., Fonseca C.R., Peres C.A., Tabarelli M., 2014. Predicting extinction risk of Brazilian Atlantic forest angiosperms // Conserv. Biol. V. 28. P. 1349–1359.

Li C.R., Gan L.J., Xia K., Zhou X., Hew C.S., 2002. Responses of carboxylating enzymes, sucrose metabolizing enzymes and plant hormones in a tropical epiphytic CAM orchid to CO_2 enrichment // Plant Cell. Environ. V. 25. P. 369–377.

Linares-Palomino R., Cardona V., Hennig E.I., Hensen I., Hoffmann D. et al., 2009. Non-woody life-form contribution to vascular plant species richness in a tropical American forest // Plant Ecol. V. 201. P. 87–99.

Lindo Z., Whiteley J.A., 2011. Old trees contribute bio-available nitrogen through canopy bryophytes // Plant Soil. V. 342. № 1–2. P. 141–148.

Lindo Z., Winchester N.N., 2006. A comparison of microarthropod assemblages with emphasis on oribatid mites in canopy suspended soils and forest floors associated with ancient western redcedar trees // Pedobiologia. V. 50. P. 31–41.

Lindo Z., Winchester N.N., 2007. Oribatid mite communities and foliar litter decomposition in canopy suspended soils and forest floor habitats of western redcedar forests, Vancouver Island, Canada // Soil Biol. Biochem. V. 39. P. 2957–2966.

Löbel S., Snäll T., Rydin H., 2006. Metapopulation processes in epiphytes inferred from patterns of regional distribution and local abundance in fragmented forest landscapes // J. Ecol. V. 94. P. 856–868.

Lüttge U., 1989. Vascular Plants as Epiphytes: Evolution and Ecophysiology. Berlin: Springer-Verlag. 270 p.

Martin A., Balesdent J., Mariotti A., 1992. Earthworm diet related to soil organic matter dynamics through ^{13}C measurements // Oecologia. V. 91. P. 23–29.

Martin A., Mariotti A., Balesdent J. et al., 1990. Estimate of organic matter turnover rate in a savanna soil by ^{13}C natural abundance measurements // Soil Biol. Biochem. V. 22. P. 517–523.

Matelson T.J., Nadkarni N.M., Longino J.T., 1993. Longevity of fallen epiphytes in a neotropical montane forest // Ecology. V. 74. P. 265–269.

Medina E., 1996. CAM and C_4 plants in the humid tropics // Tropical Forest Plant Ecophysiology / Eds Mulkey S.S., Chazdon R.L., Smith A.P. Boston: Springer. P. 56–88.

Mehltreter K., Flores-Palacios A., García-Franco J.G., 2005. Host preferences of low-trunk vascular epiphytes in a cloud forest of Veracruz, Mexico // J. Trop. Ecol. V. 21. № 6. P. 651–660.

Mendieta-Leiva G., Zotz G., 2015. A conceptual framework for the analysis of vascular epiphyte assemblages // Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. V. 17. № 6. P. 510–521.

Moffett M.W., 2000. What's "up"? A critical look at the basic terms of canopy biology // Biotropica. V. 32. № 4. P. 569–596.

Monteiro J.A.F., Zotz G., Körner C., 2009. Tropical epiphytes in a CO_2-rich atmosphere // Acta Oecol. V. 35. P. 60–68.

Morat P., Veillon J.M., MacKee H.S., 1984. Floristic relationships of New Caledonian rain forest phanerogams // Biogeography of the Tropical Pacific / Eds Radovsky F.J., Raven P.H., Sohmer S.H. Honolulu: Bernice P. Bishop Museum. P. 71–128.

Mori S.A., Hecklau E.F., Kirchgessner T., 2002. Life form, habitat, and nutritional mode of the flowering plants of central French Guiana // J. Torrey Bot. Soc. P. 331–345.

Motomura H., Yukawa T., Ueno O., Kagawa A., 2008. The occurrence of crassulacean acid metabolism in *Cymbidium* (Orchidaceae) and its ecological and evolutionary implications // J. Plant Res. V. 121. P. 163–177.

Nadkarni N.M., 1984. Epiphyte biomass and nutrient capital of a neotropical elfin forest // Biotropica. V. 16. P. 249–256.

Nadkarni N.M., 1986. The nutritional effects of epiphytes on host trees with special reference to alteration of recipitation chemistry // Selbyana. V. 9. P. 44–51.

Nadkarni N.M., Matelson T.J., 1992. Biomass and nutrient dynamics of epiphytic litterfall in a neotropical montane forest, Costa Rica // Biotropica. V. 24. P. 24–30.

Nadkarni N.M., Cobb A.R., Solano R., 2000a. Interception and retention of macroscopic bryophyte fragments by branch substrates in a tropical cloud forest: An experimental and demographic approach // Oecologia. V. 122. P. 60–65.

Nadkarni N.M., Schaefer D., Matelson T.J., Solano R., 2004. Biomass and nutrient pools of canopy and terrestrial components in a primary and a secondary montane cloud forest, Costa Rica // For. Ecol. Manag. V. 198. № 1. P. 223–236.

Nadkarni N.M., Lawton R.O., Clark K.L., Matelson T.J., Schaefer D.S., 2000b. Ecosystem ecology and forest dynamics // Monteverde: Ecology and Conservation of a Tropical Cloud Forest / Eds Nadkarni N., Wheelwright N. N.Y.: Oxford Univ. Press. P. 303–350.

Nakanishi A., Sungpalee W., Sri-Ngernyuang K., Kanzaki M., 2016. Large variations in composition and spatial distribution of epiphyte biomass on large trees in a tropical montane forest of northern Thailand // Plant Ecol. V. 217. № 9. P. 1157–1169.

Nieder J., Barthlott W., 2001. Epiphytes and their role in the tropical forest canopy // Epiphytes and Canopy Fauna of the Otonga Rain Forest (Ecuador). Results of the Bonn-Quito Epiphyte Project, funded by the Volkswagen Foundation. Norderstedt: Books on Demand GmbH. P. 23–86.

Nieder J., Engwald S., Klawun M., Barthlott W., 2000. Spatial distribution of vascular epiphytes (including hemiepiphytes) in a lowland Amazonian rain forest (Surumoni crane plot) of southern Venezuela // Biotropica. V. 32. P. 385–396.

Page C.N., 1977. An ecological survey of the ferns of the Canary Islands // Fern Gaz. V. 11. № 5. P. 297–312.

Patiño J., González-Mancebo J.M., Fernández-Palacios J.M., Arévalo J.R., Bermúde A., 2009. Short-term effects of clear-cutting on the biomass and richness of epiphytic bryophytes in managed subtropical cloud forests // Ann. For. Sci. V. 66. № 6. P. 1–13.

Pinkalski C., Damgaard C., Jensen K.V., Peng R., Offenberg J., 2015. Quantification of ant manure deposition in a tropical agroecosystem: Implications for host plant nitrogen acquisition // Ecosystems. V. 18. P. 1373–1382.

Pittendrigh C.S., 1948. The bromeliad–*Anopheles*–malaria complex in Trinidad. I – The bromeliad flora // Evolution. V. 2. № 1. P. 58–89.

Pocs T., 1976. The role of the epiphytic vegetation in the water balance and humus production of the rain forests of the Uluguru Mountains, East Africa // Boissiera. V. 24. P. 499–505.

Pos E.T., Sleegers A.D.M., 2010. Distribuição vertical e ecologia de epífitas vasculares em uma floresta tropical do Brasil // Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi Ciênc. Nat. V. 5. № 3. P. 335–344.

Putz F.E., Holbrook N.M., 1986. Notes on the natural history of hemiepiphytes // Selbyana. V. 9. P. 61–69.

Qiu S., Sultana S., Liu Z.D., Yin L.Y., Wang C.Y., 2015. Identification of obligate C_3 photosynthesis in *Dendrobium* // Photosynthetica. V. 53. № 2. P. 168–176.

Raunkiaer C., 1934. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography. Oxford: Clatrendon. 632 p.

Raveh E., Gersani M., Nobel P.S., 1995. CO_2 uptake and fluorescence responses for a shade-tolerant cactus *Hylocereus undatus* under current and doubled CO_2 concentrations // Physiol. Plant. V. 93. P. 505–511.

Rees M., Condit R., Crawley M., Pacala S., Tilman D., 2001. Long-term studies of vegetation dynamics // Science. V. 293. № 5530. P. 650–655.

Reyes-Garcia C., Mejia-Chang M., Jones G.D., Griffiths H., 2008. Water vapour isotopic exchange by epiphytic bromeliads in tropical dry forests reflects niche differentiation and climatic signals // Plant Cell Environ. V. 31. P. 828–841.

Ritpitakphong U., Falquet L., Vimoltust A., Berger A., Metraux J.P., L'Haridon F., 2016. The microbiome of the leaf surface of *Arabidopsis* protects against a fungal pathogen // New Phytol. V. 210. P. 1033–1043.

Roderick M.L., Berry S.L., Noble I.R., 2000. A framework for understanding the relationship between environment and vegetation based on the surface area to volume ratio of leaves // Funct. Ecol. V. 14. № 4. P. 423–437.

Rodina O.A., Abakumov E.V., Eskov A.K., Prilepskiy N.G., 2020. Humic substances formation as a result of biogenic-abiogenic interactions in epiphytic structures of the South Vietnam tropical forest // Processes and Phenomena on the Boundary Between Biogenic and Abiogenic Nature. Lecture Notes in Earth System Sciences / Eds Frank-Kamenetskaya O., Vlasov D., Panova E., Lessovaia S. Cham: Springer. P. 417–434.

Rodrigues M.A., Matiz A., Cruz A.B., Matsumura A.T., Takahashi C.A. et al., 2013. Spatial patterns of photosynthesis in thin-and thick-leaved epiphytic orchids: Unravelling C_3–CAM plasticity in an organ-compartmented way // Ann. Bot. V. 112. № 1. P. 17–29.

Romero G.Q., Nomura F., Gonçalves A.Z., Dias N.Y.N., Mercier H. et al., 2010. Nitrogen fluxes from treefrogs to tank epiphytic bromeliads: An isotopic and physiological approach // Oecologia. V. 162. P. 941–949.

Rosado B.H., Almeida L.C., Alves L.F., Lambais M.R., Oliveira R.S., 2018. The importance of phyllosphere on plant functional ecology: A phyllo trait manifesto // New Phytol. V. 219. № 4. P. 1145–1149.

Rosenberger T., Williams K., 1999. Responses of vascular epiphytes to branch-fall gap formation in Clusia trees in montane rainforest // Selbyana. V. 20. P. 49–58.

Rübel E.A., 1912. The international phytogeographical excursion in the British Isles. V. The Killarney woods // New Phytol. V. 11. № 2. P. 54–57.

Rudolph D., Rauer G., Nieder J., Barthlott W., 1998. Distributional patterns of epiphytes in the canopy and phorophyte characteristics in a western Andean rainforest in Ecuador // Selbyana. V. 19. P. 27–33.

Sage R.F., 2002. Are crassulacean acid metabolism and C_4 photosynthesis incompatible? // Funct. Plant Biol. V. 29. № 6. P. 775–785.

Sawinski K., Mersmann S., Robatzek S., Beohmer M., 2013. Guarding the green: Pathways to stomatal immunity // Mol. Plant Microbe Interact. V. 26. P. 626–632.

Schimper A.F.W., 1888. Die Epiphytische Vegetation Amerikas. Jena: G. Fischer. 160 p.

Schmit-Neuerburg V., 2002. Dynamics of Vascular Epiphyte Vegetation in the Venezuelan Lowland Rain Forest of the Surumoni Crane Project. PhD diss. Bonn: Botanical Institute, Univ. of Bonn. 280 p.

Schnitzer M., 1978. Humic substances: chemistry and reactions // Dev. Soil Sci. V. 8. P. 1–64.

Schreiber L., Krimm U., Knoll D., Sayed M., Auling G., Kroppenstedt R.M., 2005. Plant–microbe interactions: Identification of epiphytic bacteria and their ability to alter leaf surface permeability // New Phytol. V. 166. P. 589–594.

Schrimpff E., 1984. Air pollution patterns in two cities of Colombia, SA according to trace substances content of an epiphyte (*Tillandsia recurvata* L.) // Water Air Soil Pollut. V. 21. № 1. P. 279–315.

Schulze E.D., Kelliher F.M., Körner C., Lloyd J., Leuning R., 1994. Relationships among maximum stomatal conductance, ecosystem surface conductance, carbon assimilation rate, and plant nitrogen nutrition: A global ecology scaling exercise // Annu. Rev. Ecol. Syst. V. 25. P. 629–660.

Shacklette H.T., Connor J.J., 1973. Airborne Chemical Elements in Spanish Moss / Geol. Survey Prof. Paper 574-E. Washington: U.S. Government Printing Office. 46 p.

Shaw P., 2013. The use of inert pads to study Collembola of suspended soils // Soil Org. V. 85. № 1. P. 69–74.

Shaw P., 2015. How high do Collembola climb? Studies of vertical migration in arboreal Collembola // Soil Org. V. 87. № 3. P. 229–235.

Silvera K., Lasso E., 2016. Ecophysiology and Crassulacean acid metabolism of tropical epiphytes // Tropical Tree Physiology / Eds Goldstein G., Santiago L. Cham: Springer. P. 25–43.

Silvera K., Santiago L.S., Winter K., 2005. Distribution of crassulacean acid metabolism in orchids of Panama: Evidence of selection for weak and strong modes // Funct. Plant Biol. V. 32. P. 397–407.

Silvera K., Santiago L.S., Cushman J.C., Winter K., 2009. Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the Orchidaceae // Plant Physiol. V. 149. P. 1838–1847.

Silvera K., Neubig K.M., Whitten W.M., Williams N.H., Winter K., Cushman J.C., 2010. Evolution along the crassulacean acid metabolism continuum // Funct. Plant Biol. V. 37. P. 995–1010.

Snäll T., Ehrlén J., Rydin H., 2005. Colonization–extinction dynamics of an epiphyte metapopulation in a dynamic landscape // Ecology. V. 86. P. 106–115.

Song L., Lu H.-Z., Xu X.-L., Li S., Shi X.-M. et al., 2016. Organic nitrogen uptake is a significant contributor to nitrogen economy of subtropical epiphytic bryophytes // Sci. Rep. V. 6. Art. 30408.

Stäger R., 1908. Beitrag zur schweizerischen 'Epiphytenflora' // Mitt. Naturforsch. Ges. Bern. V. 1667. P. 17–90.

Stein A., Gerstner K., Kreft H., 2014. Environmental heterogeneity as a universal driver of species richness across taxa, biomes and spatial scales // Ecol. Lett. V. 17. P. 866–880.

Stewart G.R., Schmidt S., Handley L.L., Turnbull M.H., Erskine P.D., Joly C.A., 1995. ^{15}N natural abundance of vascular rainforest epiphytes: Implications for nitrogen source and acquisition // Plant Cell Environ. V. 18. № 1. P. 85–90.

Stuntz S., Zotz G., 2001. Photosynthesis in vascular epiphytes – a survey of 27 species of diverse taxonomic origin // Flora. V. 196. P. 132–141.

Sugden A.M., 1981. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in the Colombian cloud forests. II. Habitat preferences of Bromeliaceae in the Serrania de Macuira // Selbyana. V. 5. № 3–4. P. 264–273.

Sugden A.M., Robins R.J., 1979. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in Colombian cloud forests. I. The distribution of the epiphytic flora // Biotropica. V. 11. P. 173–188.

Tanaka H.O., Inui Y., Itioka T., 2009. Anti-herbivore effects of an ant species, *Crematogaster difformis*, inhabiting myrmecophytic epiphytes in the canopy of a tropical lowland rainforest in Borneo // Ecol. Res. V. 24. № 6. P. 1393–1397.

Tansley H.G., 1939. The British Islands and Their Vegetation. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 474 p.

Taylor A., Burns K., 2016. Radial distributions of air plants: A comparison between epiphytes and mistletoes // Ecology. V. 97. № 4. P. 819–825.

Taylor A., Zotz G., Weigelt P., Cai L., Karger D., Kreft H., 2021. Vascular epiphytes contribute disproportionately to global centres of plant diversity // bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2021.05.21.445115

Ter Steege H., Cornelissen J.H.C., 1989. Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana // Biotropica. V. 21. P. 331–339.

Treseder K.K., Davidson D.W., Ehleringer J.R., 1995. Absorption of ant provided carbon dioxide and nitrogen by a tropical epiphyte // Nature. V. 375. № 6527. P. 137–139.

Trofymow J.A., Moore T.R., 2002. Rates of litter decomposition after six years in Canadian forests: Influence of litter quality and climate // Can. J. For. Res. V. 32. P. 789–804.

Tsen E.W.J., Holtum J.A.M., 2012. Crassulacean acid metabolism (CAM) in an epiphytic ant-plant, *Myrmecodia beccarii* Hook.f. (Rubiaceae) // Photosynth. Res. V. 113. № 1. P. 311–320.

Turner I.M., Tan H.T.W., Wee Y.C., Ibrahim A.B., Chew P.T., Corlett R.T., 1994. A study of plant species extinction in Singapore: Lessons for the conservation of tropical biodiversity // Conserv. Biol. V. 8. P. 705–712.

Umana N.H.N., Wanek W., 2010. Large canopy exchange fluxes of inorganic and organic nitrogen and preferential retention of nitrogen by epiphytes in a tropical lowland rainforest // Ecosystems. V. 13. № 3. P. 367–381.

Vanderklift M.A., Ponsard S., 2003. Sources of variation in consumer-diet δ^{15}N enrichment: A meta-analysis // Oecologia. V. 136. P. 169–182.

Vargas M.P.B., Andel T., van, 2005. The use of hemiepiphytes as craft fibres by indigenous communities in the Colombian Amazon // Ethnobot. Res. Appl. V. 3. P. 243–260.

Vergara-Torres C.A., Pacheco-Álvarez M.C., Flores-Palacios A., 2010. Host preference and host limitation of vascular epiphytes in a tropical dry forest of central Mexico // J. Trop. Ecol. V. 26. P. 563–570.

Wagner S., Bader M.Y., Zotz G., 2014. Physiological ecology of tropical bryophytes // Photosynthesis in Bryophytes and Early Land Plants / Eds Hanson D.T., Rice S.K. Dordrecht: Springer. P. 269–289.

Walker L.R., Zimmerman J.K., Lodge D.J., Guzman-Grajales S., 1996. An altitudinal comparison of growth and species composition in hurricane-damaged forests in Puerto Rico // J. Ecol. V. 84. P. 877–889.

Wanek W., Zotz G., 2011. Are vascular epiphytes nitrogen or phosphorus limited? A study of plant ^{15}N fractionation and foliar N : P stoichiometry with the tank bromeliad *Vriesea sanguinolenta* // New Phytol. V. 192. P. 462–470.

Watkins J.E., Jr., Cardelús C.L., Mack M.C., 2008. Ants mediate nitrogen relations of an epiphytic fern // New Phytol. V. 180. № 1. P. 5–8.

Watkins J.E., Cardelús C.L., Colwell R.K., Moran R.C., 2006. Species richness and distribution of ferns along an elevational gradient in Costa Rica // Am. J. Bot. V. 93. P. 73–83.

Werckmeister P., 1971. Light induction of geotropism, and the control of proliferation and growthof Cymbidium in tissue culture // Bot. Gaz. V. 132. № 4. P. 346–350.

Werner F.A., 2011. Reduced growth and survival of vascular epiphytes on isolated remnant trees in a recent tropical montane forest clear-cut // Basic Appl. Ecol. V. 12. P. 172–181.

Williams-Linera G., Lawton R.O., 1995. Ecology of hemiepiphytes in forest canopies // Forest Canopies. 1st ed. / Eds Lowman M.D., Nadkarni N.M. San Diego: Academic Press. P. 255–283.

Wilmanns O., 1968. Die Farnpflanzen Zentraleuropas. Heidelberg: Quelle and Meyer. 295 S.

Winkler M., Hietz P., 2001. Population structure of three epiphytic orchids (*Lycaste aromatica*, *Jacquiniella leucomelana* and *J. teretifolia*) in a Mexican humid montane forest // Selbyana. V. 22. P. 27–33.

Winkler M., Hülber K., Hietz P., 2007. Population dynamics of epiphytic bromeliads: life strategies and the role of host branches // Basic Appl. Ecol. V. 8. P. 183–196.

Winkler M., Hülber K., Hietz P., 2009. Population dynamics of epiphytic orchids in a metapopulation context // Ann. Bot. V. 104. P. 995–1004.

Winter K., Holtum J.A., 2017. Facultative crassulacean acid metabolism (CAM) in four small C_3 and C_4 leaf-succulents // Aust. J. Bot. V. 65. № 2. P. 103–108.

Winter K., Wallace B.J., Stocker G.C., Roksandic Z., 1983. Crassulacean acid metabolism in Australian vascular epiphytes and some related species // Oecologia. V. 57. № 1. P. 129–141.

Winter K., Medina E., Garcia V., Mayoral M.A., Muniz R., 1985. Crassulacean acid metabolism in roots of a leafless orchid *Camplocentrum tyrridion* Garay & Dunsterv. // J. Plant Physiol. V. 118. P. 73–78.

Wolf J.H.D., Flamenco-S A., 2003. Patterns in species richness and distribution of vascular epiphytes in Chiapas, Mexico // J. Biogeogr. V. 30. P. 1689–1707.

Yang X., Warren M., Zou X., 2007. Fertilization responses of soil litter fauna and litter quantity, quality, and turnover in low and high elevation forests of Puerto Rico // Appl. Soil Ecol. V. 37. P. 63–71.

Zotz G., 1998. Demography of the epiphytic orchid, *Dimerandra emarginata* // J. Trop. Ecol. V. 14. № 6. P. 725–741.

Zotz G., 2002. Gefässepiphyten in temperaten Wäldern // Bauhinia. V. 16. P. 13–22.

Zotz G., 2004. How prevalent is crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes? // Oecologia. V. 138. P. 184–192.

Zotz G., 2005. Vascular epiphytes in the temperate zones – a review // Plant Ecol. V. 176. P. 173–183.

Zotz G., 2013a. The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update // Bot. J. Linn. Soc. V. 171. P. 453–481.

Zotz G., 2013b. 'Hemiepiphyte': a confusing term and its history // Ann. Bot. V. 111. № 6. P. 1015–1020.

Zotz G., 2016. Plants on Plants: The Biology of Vascular Epiphytes. Heidelberg; Berlin: Springer. 281 p.

Zotz G., Asshoff R., 2010. Growth in epiphytic bromeliads: Response to the relative supply of phosphorus and nitrogen // Plant Biol. (Stuttg). V. 12. P. 108–113.

Zotz G., List C., 2003. Zufallsepiphyten – Pflanzen auf dem Weg nach oben? // Bauhinia. V. 17. P. 25–37.

Zotz G., Richter A., 2006. Changes in carbohydrate and nutrient contents throughout a reproductive cycle indicate that phosphorus is a limiting nutrient in the epiphytic bromeliad, *Werauhia sanguinolenta* // Ann. Bot. V. 97. P. 745–754.

Zotz G., Thomas V., 1999. How much water is in the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads // Ann. Bot. V. 83. P. 183–192.

Zotz G., Vollrath B., 2003. The epiphyte vegetation of the palm *Socratea exorrhiza* – correlations with tree size, tree age and bryophyte cover // J. Trop. Ecol. V. 19. P. 81–90.

Zotz G., Ziegler H., 1997. The occurrence of crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes from Central Panama // New Phytol. V. 137. P. 223–229.

Zotz G., Hietz P., Schmidt G., 2001. Small plants, large plants: The importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes // J. Exp. Bot. V. 52. № 363. P. 2051–2056.

Zotz G., Bogusch W., Hietz P., Ketteler N., 2010. Growth of epiphytic bromeliads in a changing world: the effect of elevated CO_2 and varying water and nutrient supply // Acta Oecol. V. 36. P. 659–665.

Zotz G., Weigelt P., Kessler M., Kreft H., Taylor A., 2021a. EpiList 1.0: a global checklist of vascular epiphytes // Ecology. V. 102. № 6. Art. e03326.

Zotz G., Almeda F., Bautista-Bello A.P., Eskov A.K., Giraldo-Cañas D. et al., 2021b. Hemiepiphytes revisited // Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. V. 51. Art. 125620. https://doi.org/10.1016/j.ppees.2021.125620

Zytynska S.E., Fay M.F., Penney D., Preziosi R.F., 2011. Genetic variation in a tropical tree species influences the associated epiphytic plant and invertebrate communities in a complex forest ecosystem // Phil. Trans. Roy. Soc. B. Biol. Sci. V. 366. P. 1329–1336.

Vascular epiphytes are plants that have broken ties with the ground

A. K. Eskov[a, b, *], G. L. Kolomeitseva[b]

[a] *Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology*
Leninskie Gory, 1-12, Moscow, 119234 Russia
[b] *Tzitzin Main Botanical Garden, RAS*
Botanicheskaya, 4, Moscow, 127276 Russia
**e-mail: A.K.Eskov@yandex.ru*

The article is the first review written in Russian which touches upon the issues of the ecological and botanical phenomenon of vascular plant epiphytism. The problem of the origin of epiphytism, its ecological boundaries and modern understanding of its ecomorphological features and classification are discussed. Various approaches to the classification of epiphytes, including the author's ones, are considered, the relationship between modern English-language terminology and traditional Russian-language literature is discussed. The most controversial issues in understanding the phenomenon of epiphytism in world literature are discussed. The phenomenology of the existence of plants that have broken ties with ground sources of mineral nutrition and water is considered. The problematics and the degree of study of the CAM (crassulacean acid metabolism) in epiphytes in the context of their xeromorphosis are stated. The mechanism and the functional role of the formation of suspended soils are considered. The existing theories and controversial problems of the mineral nutrition of epiphytes, in particular, nitrogen nutrition, are reflected. Finally, data on various biological aspects of crown development are summarized: diasporology, the structure of epiphytic communities and the role of epiphytes in the ecosystem.

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2021, том 82, № 5, с. 368–381

УДК 581.4

БИОМОРФОЛОГИЯ В ТАКСОНОМИИ РАСТЕНИЙ, НА ПРИМЕРЕ КАВКАЗСКИХ *MINUARTIA* S.L. (CARYOPHYLLACEAE)

© 2021 г. С. Г. Зайченко[1, *], А. С. Зернов[1, **]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*
Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, 119991 Россия
**E-mail: zaychenko_so@mail.ru*
***E-mail: zernov72@yandex.ru*

Поступила в редакцию 18.02.2021 г.
После доработки 20.04.2021 г.
Принята к публикации 26.04.2021 г.

Систематика растений требует комплексного подхода к выполнению поставленных задач. Преобладание молекулярно-генетических методов в систематике в настоящее время не отменяет необходимости поиска новых таксономически значимых признаков. Источником принципиально новых признаков у растений может служить биоморфология. Исследование посвящено изучению возможностей применения биоморфологических подходов в систематике и филогении растений. На примере рода *Minuartia* s.l. (Caryophyllaceae), который является полифилетической группой, рассмотрены основные особенности структурной организации высокогорных растений применительно к определению их таксономического статуса и возможных способов возникновения биоморф в процессе эволюции. Для анализа побегообразования растений выбран один из современных подходов – модульная организация. Понятие “универсальный модуль” использовано для сравнения участков побеговых систем у разных видов. Материал для исследования собран на Северном Кавказе в 2016–2019 гг. Модельные виды для исследования отбирались по принципу систематического положения внутри рода, а также наличию существенных экологических различий представителей и, как следствие, отличающимся габитусом. Часть видов являются высокогорными растениями и распределены по скалам от среднелесного до альпийского пояса. Выбранные для исследования представители рода обладают разной степенью выраженности розеточности: полурозеточные моноподиальные оси с боковыми генеративными структурами (*M. imbricata*), полурозеточные оси с вегетативно-генеративными побегами (*M. aizoides*) и розеточные оси с дициклическими вегетативно-генеративными побегами (*M. circassica*); универсальным модулем у вышеперечисленных видов является полициклические поликарпические оси. Еще два вида – травы с симподиальным нарастанием, но уже полурозеточные (*M. hirsuta* subsp. *oreina*) и длиннопобеговые (*M. setacea*) с универсальными модулями – типичными монокарпическими побегами. Особое место занимает однолетник *M. glomerata* со скал среднелесного пояса. По результатам проведенного исследования выявлены три различные стратегии роста у модельных видов, а также описаны разные тенденции моноподиально и симподиально нарастающих трав. Благодаря выявлению универсальных модулей и других биоморфологических характеристик модельных видов, появляется возможность использовать в дальнейшем полученные данные в таксономических целях.

DOI: 10.31857/S0044459621040060

Главное, на что обращает внимание человек при взгляде на живой объект, – это его внешний облик. Самые первые таксономические системы основывались именно на чертах внешнего сходства объектов. Позже системы усложнялись и дополнялись другими признаками, присущими организмам, однако морфологические характеристики всегда оставались в лидирующей роли на пути становления таксономии до последнего времени. С возникновением молекулярно-генетических методов в научном сообществе произошел некоторый “переворот” в понимании таксономии. Морфологические признаки стали менее значимыми в филогенетических системах, элементарным признаком в которых служит нуклеотид (Schuh, Brower, 2009). Несмотря на ряд противоречий между морфологическим и филогенетическим подходами в систематике, о чем написано немало работ (Judd et al., 1999; Soltis et al., 2005; Лухтанов, Кузнецова, 2009), хотелось бы отметить, что систематика как наука является лишь упрощенной и неполной моделью, неким частичным отражением, созданным человеком, реально существующего биологического разнообразия (Павлинов, 2001). Так или иначе, таксономия в ее современном понимании строится на эволюционном учении и непременно должна отражать суть эволюционных преобразований (Hennig, 1966). Если принять во внимание, что реально существующие живые системы, скорее всего, имеют значительно более сложные взаимосвязи внутри себя, нежели мы себе их представляем, то отвер-

гать какие-либо методы в пути познания живых систем нельзя. Систематика едина, и использование разных подходов для ее усовершенствования крайне эффективно (Лухтанов, Кузнецова, 2009). Одним из таких подходов может служить биоморфологический анализ. В настоящее время выделяется несколько направлений биоморфологических исследований: структурное, онтогенетическое, экологическое, географическое, эволюционное (Савиных, Черемушкина, 2015). К сожалению, биоморфологические характеристики растений не обрели должной популярности среди большинства зарубежных исследователей и не используются в качестве таксономически значимых. Чаще всего биоморфологические характеристики растений рассматриваются в экологическом или эволюционном ключе (Серебрякова, 1977; Барыкина, 1999; Цвелев, 2005; Савиных, 2019) и редко с точки зрения "помощницы" систематики. Однако анализ биоморфологических данных может служить мощным комплементарным методом к филогенетической системе. Филогенетика в настоящее время позволяет успешно выявлять родственные связи между организмами и реконструировать пути эволюционного развития (Лухтанов, 2013), но не указывает непосредственно на приспособления, которые организмы получили в результате адаптации к условиям внешней среды. Иными словами, филогенетика не дает прямого ответа на вопрос о том, какие структуры вырабатывают организмы в процессе эволюции. При этом современная филогенетика строится на кладистических принципах, которые диктуют непременное требование – включение в монофилетическую группу, выделяемую на основе апоморфных признаков, всех потомков одного общего предка. Зачастую подобное требование к вновь образованным таксонам трудноисполнимо применительно к морфологическим признакам тех групп организмов, которые ранее относились к одному таксону. Примером подобной ситуации служит р. *Minuartia* L. из сем. Caryophyllaceae Juss. После публикации в 2014 г. филогенетического исследования рода (Dillenberger, Kadereit, 2014) было установлено, что *Minuartia* s.l. является полифилетической (в рамках кладистического подхода) группой. Отсюда возникает вопрос о поиске морфологических признаков для разделения этой полифилетической группы.

Выбор объектов для исследования был сделан в пользу кавказских представителей р. *Minuartia*. Интерес к этим растениям вызван существенными экологическими различиями представителей и, как следствие, отличающимся габитусом, а также их систематическим положением внутри рода.

На сегодняшний день существует несколько монографических работ, посвященных систематике и географии рода (Mattfeld, 1922; McNeill, 1962, 1963), несколько работ было посвящено описанию кариотипов (Çelebioğlu, Favarger, 1982; Çelebioğlu et al., 1983; Favarger, Recoder, 1987; Galland, 1988), а также карпологии рода, в частности исследованию структуры семян (Кожанчиков, 1975; Yildiz, 2002; Minuto et al., 2006, 2011; Amini et al., 2011; Zaychenko, Zernov, 2017). Из перечисленных наиболее важных опубликованных ранее работ, касающихся р. *Minuartia*, нет ни одной работы, посвященной биоморфологии его представителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Род *Minuartia* s.l. включает в себя около 175 видов (McNeill, 1962; Rechinger, 1988; Halliday, 1993; Kamari, 1997; Rabeler et al., 2005). Ареал представителей в основном приурочен к аркто-альпийской зоне Северного полушария: в Европе, прежде всего в Средиземноморье, и в Кавказско-Малоазиатском (ирано-турецком) регионе. На территории Кавказа род представлен 22 видами (Лазьков, 2012).

Модельные виды для изучения биоморфологических характеристик и моделей побегообразования были отобраны по следующим критериям: 1) положение вида в системе рода, 2) экологические особенности представителей, 3) доступность репрезентативного материала. На основании этих критериев в качестве модельных были выбраны шесть видов, обитающих на Кавказе, представленные в табл. 1 (Лазьков, 2012).

Для анализа биоморфологии модельных видов проводили натурные наблюдения, использовали гербарные образцы собственных сборов, а также проанализировали несколько сотен гербарных листов из фондов Московского государственного университета (MW), Гербария Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина (MHA). Полевой материал был собран на территории Тебердинского государственного природного биосферного заповедника в августе 2015 и 2016 гг. и в ущельях Цей и Фиагдон Северо-Осетинской Республики в августе 2017 и 2019 гг.

При описании биоморфологии модельных видов в основном использовали сравнительно-морфологический и структурно-функциональный методы. Для описания жизненных форм взрослых растений использовали принятую в отечественной биоморфологии терминологию (Современные подходы..., 2008; Актуальные проблемы..., 2012). Растения анализировали с позиции моделей побегообразования (Серебрякова, 1977, 1981, 1987), модульной организации (Шафранова, 1980, 1981, 1993; Бигон и др., 1989; Шафранова, Гатцук, 1994; Гатцук, 1994, 1995; Савиных, 2008). Для удобства сравнения модельных видов использовали терминологию Л.Е. Гатцук и Н.П. Савиных (Гатцук, 1994, 1995; Савиных, 2008), в частности понятие об универсальном модуле как об одноосном побеге, образованном в результате деятельности одной апикальной меристемы. Изучали ритм сезонного развития по методике И.Г. Серебрякова (1954, 1964). Соцветия были охарактеризованы по Паркину (Parkin, 1914) и Троллю (Troll, 1964).

Таблица 1. Модельные виды *Minuartia* s.l. и их характеристика

Номенклатура по системе McNeil, 1962	Принадлежность к секциям по системе McNeil, 1962	Номенклатура по системе Dillenberger & Kadereit, 2014	Условия обитания на Кавказе
M. imbricata (Bieb.) Woronow	Spectabiles (Fezl) Hayek	*Pseudocherleria imbricata* (Bieb.) Dillenb. & Kadereit	Скалы, ледниковые морены, мелкокаменистые осыпи и россыпи альпийского пояса, 2500 м над ур. м. и более
M. aizoides (Boiss.) Borm.	Spectabiles (Fezl) Hayek	*Pseudocherleria aizoides* (Boiss.) Dillenb. & Kadereit	Скалы, мелкокаменистые осыпи и россыпи субальпийского и альпийского поясов, 2000 м над ур. м. и более
M. circassica (Albov) Woronow	Spectabiles (Fezl) Hayek	*Cherleria circassica* (Albov) A.J. Moore & Dillenb.	Скалы, мелкокаменистые осыпи и россыпи субальпийского и альпийского поясов, 2000 м над ур. м. и более
M. oreina (Mattf.) Schischk.	Plurinerviae McNeill	*Minuartia hirsuta* Hand.-Mazz. subsp. *oreina* Mattf.	Скалы субальпийского, верхне- и среднелесного поясов, высоты 1500–2500 м над ур. м.
M. setacea (Thuill.) Hayek	Minuartia	*Minuartia setacea* (Thuill.) Hayek	Скалы среднелесного пояса, высоты не более 1500 м над ур. м.
M. glomerata (Bieb.) Degen.	Minuartia	*Minuartia glomerata* (Bieb.) Degen.	Скалы среднелесного пояса, высоты не более 1500 м над ур. м.

Растения схематично зарисовывали, данные по строению побегов фиксировали на схемах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Модель побегообразования ***Pseudocherleria imbricata*** (*M. imbricata*) – моноподиальная полурозеточная (подобная модель побегообразования у высокогорных трав была описана в работе Н.П. Савиных (2006)). Растение заселяет территорию при помощи моноподиального нарастания (рис. 1). Разрастание осуществляется благодаря развитию пазушных побегов из почек без состояния покоя (силлепсис). Растение образует густую дерновинку, которая закреплена в почве за счет хорошо развитого главного корня, достигающего в длину у крупных особей нескольких десятков сантиметров. Придаточных корней на надземной системе анизотропных побегов практически не образуется. Цветки обычно одиночные. Используя подходы к описанию строения побегов Тролля (Troll, 1964), с дополнениями Н.П. Савиных (2006), у побегов *P. imbricata* можно выделить следующие зоны: 1) вегетативную (вегетативный участок побега); 2) вегетативно-генеративную (от метамера с первым до метамера с последним пазушным цветком или соцветием); 3) зону вторичного вегетативного нарастания – вегетативный участок побега, сформированный после заложения последнего пазушного цветка или соцветия.

Развитие генеративных органов происходит одновременно с ростом побегов. Это возможно за счет того, что поликарпические побеги начинают свое развитие и растут вертикально до тех пор, пока не произойдет заложение одиночного цветка, затем побег продолжает вертикальный рост, однако формирует до начала плодоношения только короткие междоузлия. Тем временем цветоножка удлиняется, вынося цветок над поверхностью всей дерновинки, и, таким образом, пазушный цветок занимает псевдотерминальное положение на оси побега. После формирования коробочки побег снова начинает рост с длинными междоузлиями до образования нового цветка. Таким образом, можно говорить о том, что универсальным модулем (Савиных, 2008), т.е. тем, что формируется в течение моноподиального нарастания побега *P. imbricata*, являются полициклические поликарпические моноподиальные оси с редуцированными до одного цветка боковыми генеративными структурами (рис. 2).

У взрослого растения можно наблюдать очень активное ветвление за счет развития пазушных побегов, которые со временем входят в состав многолетней части дерновинки (рис. 1). В конце вегетационного периода многочисленные побеги, которые входили в вегетативно-генеративную зону, полегают. После зимовки, весной следующего года, входят в состав вегетативной зоны растения, а из почек возобновления на этих побегах начинают свое развитие побеги возобновления. Таким образом, каждый побег прошлого года входит в многолетнюю часть всего растения. Это позволяет максимально эффективно осваивать пространство.

P. aizoides (*M. aizoides*) имеет моноподиальную полурозеточную модель побегообразования. Захват пространства осуществляется путем роста

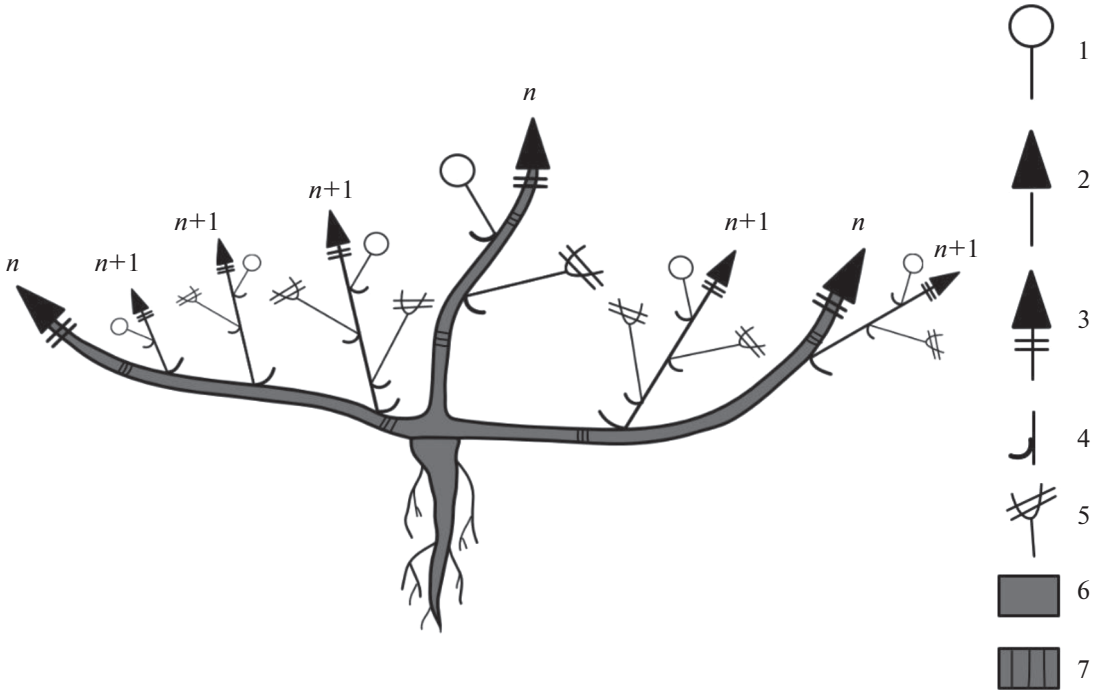

Рис. 1. Схема строения побегов *P. imbricata*. 1 – цветок; 2 – вегетативный облиственный побег; 3 – укороченный побег; 4 – лист; 5 – плод; 6 – многолетняя часть побега; 7 – граница годового прироста; *n*, *n* + 1 – порядки ветвления осей.

многолетних горизонтально растущих побегов с развивающимися на них многочисленными розеточными побегами. Розеточные побеги многолетние, на протяжении нескольких лет сохраняющие отмершие прошлогодние листья. В начале вегетационного периода из прошлогодних почек на многолетних побегах начинают развиваться плагиотропные побеги разрастания с относительно длинными междоузлиями (рис. 3). Получившиеся побеги продолжают моноподиально нарастать, и одновременно в пазухах листьев закладываются почки, которые без периода покоя дают начало розеточным побегам (рис. 4). Такие побеги имеют короткие междоузлия и в фазе вегетативного ассимилирующего побега могут провести от одного года до нескольких лет, но в любом случае такие побеги никогда не переходят к цветению в первый вегетационный период после начала развития, что характеризует их как полициклические. Следует отметить, что оси *P. aizoides* по функциональному назначению производных апикальной и пазушной меристем соответствуют моноподиальной розеточной модели Т.И. Серебряковой, однако по длине междоузлий такие оси следует относить к моноподиальной полурозеточной модели побегообразования, описанной Н.П. Савиных (2006). В большинстве случаев генеративный пазушный побег закладывается на второй или последующие года развития. Таким образом, универсальным модулем *P. aizoides* можно считать полициклические поликарпические моноподиальные оси со специализированными вегетативно-генеративными побегами.

Генеративные побеги обладают анизотропным ростом и в базальной части имеют короткие междоузлия, в средней части – длинные. В апикальной зоне развивается терминальный цветок или малоцветковый дихазий из двух, максимум четырех цветков. После цветения и плодоношения генеративный пазушный побег полностью отмирает.

За счет активного ветвления, благодаря развитию моноподиальных плагиотропных побегов, со временем растение образует густую радиально-плоскую подушку. Пространство между многолетними осями плагиотропных моноподиев и развивающихся на них розеточных побегах плотно заполнено отмершими остатками листьев.

Модель побегообразования ***Cherleria circassica*** (*M. circassica*) моноподиальная розеточная. Укороченные многолетние побеги нарастают моноподиально в течение многих лет. В результате развития пазушных побегов образуется очень плотная радиально-шаровидная подушка, заполненная внутри остатками листьев. Растение имеет хорошо развитую систему главного корня, благодаря которому крепко закреплено в почве. Придаточных корней на побегах не образуется.

На многолетних розеточных побегах за один вегетационный период могут развиваться несколько вегетативно-генеративных облиственных побегов. Таким образом, розеточные побеги являются поликарпическими. Вегетативно-генеративные побеги всегда развиваются из почек,

переживших состояние покоя. Такие вегетативно-генеративные почки могут развиваться на втором и последующих годах развития розеточного побега, из этого следует, что такие побеги дициклические. Универсальным модулем *C. circassica* можно считать полициклические поликарпические моноподиальные оси с дициклическими вегетативно-генеративными побегами (рис. 5).

В строении вегетативно-генеративного облиственного побега выделяют несколько структурно-функциональных зон: нижнюю зону торможения, представленную участком побега с короткими междоузлиями; среднюю зону торможения – участок побега с длинными междоузлиями; зону обогащения и зону соцветия (рис. 6). Зона обогащения, если она имеется, обычно включает в себя от одного до трех паракладиев. Зона терминального соцветия представлена дихазием, степень разветвления которого может быть различна.

Биоморфология *C. circassica* в целом очень схожа с таковой *P. aizoides*, однако важной отличительной чертой является то, что *C. circassica* не образует плагиотропных побегов разрастания, выполняющих функцию захвата близлежащего к особи пространства. Вегетативные побеги *C. circassica* нарастают скорее вертикально вверх, образуя не более 4–5 порядков ветвления. Вся многолетняя часть подушки представлена безлистными стеблями с короткими междоузлиями (рис. 7).

Модель побегообразования ***Minuartia hirsuta* subsp. *oreina*** симподиальная полурозеточная. В побеговой системе *M. hirsuta* subsp. *oreina* четко выделяются монокарпические побеги возобновления, обладающие анизотропным ростом и берущие свое начало из почек, переживших состояние покоя, при этом проводя один вегетационный сезон в стадии вегетативного ассимилирующего побега, и лишь на следующий год начинают свое развитие генеративные облиственные побеги с длинными междоузлиями. Такие побеги носят название дициклических. Монокарпический дициклический побег (рис. 8) обладает типичными структурно-функциональными зонами. Зона возобновления представлена базальным участком монокарпического побега с короткими междоузлиями и отмершими прошлогодними листьями, а также почками возобновления и уже сформированными на момент цветения вегетативными побегами замещения, которые на будущий год перейдут в фазу цветения и плодоношения, а на данный момент находятся в состоянии вегетативного ассимилирующего побега. Средняя зона торможения представлена верхним участком розеточного побега с вышерасположенными участками стебля с длинными междоузлиями. В зоне обогащения, как и в зоне соцветия, можно наблюдать широкую морфологическую поливариантность. В зоне обогащения, в случае ее наличия, могут располагаться от одного до пяти паракладиев. В зоне

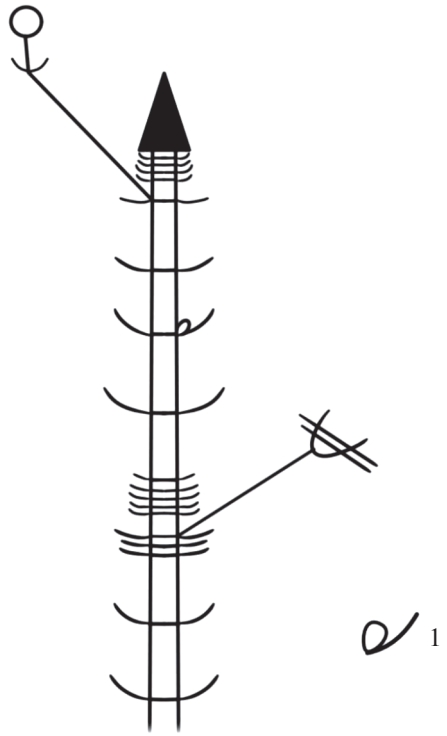

Рис. 2. Схема строения полициклического поликарпического побега *P. imbricata*. 1 – почка.

соцветия можно наблюдать от одного терминального цветка до дихазия с 15 и более цветками.

После окончания фазы цветения и плодоношения монокарпический дициклический побег переходит к фазе вторичной деятельности, в процессе которой все части побега выше зоны возобновления отмирают, и остается только нижняя плагиотропная часть, которая входит в состав многолетних осей подушковидной дерновинки.

Активное ветвление в процессе побегообразования связано с наличием большого количества почек и побегов возобновления. В среднем на каждом цветущем монокарпическом побеге развивается от одного до четырех побегов возобновления (рис. 9). Универсальным модулем для *M. hirsuta* subsp. *oreina* можно считать дициклический монокарпический побег.

Побеговые системы ***M. setacea*** нарастают по симподиальной длиннопобеговой модели. Вертикально растущие монокарпические побеги имеют типичное разделение на структурно-функциональные зоны (рис. 10). Самая нижняя часть монокарпического побега представлена зоной возобновления, в которой сосредоточено большое количество почек возобновления. Зоны торможения нет, и зона возобновления сразу переходит в зону обогащения, в нижней части которой можно наблюдать большое количество вегетативных ассимилирующих побегов, а в верхней – паракладиев. Паракладии имеют сходное строение с монокарпическим побегом, только в разной

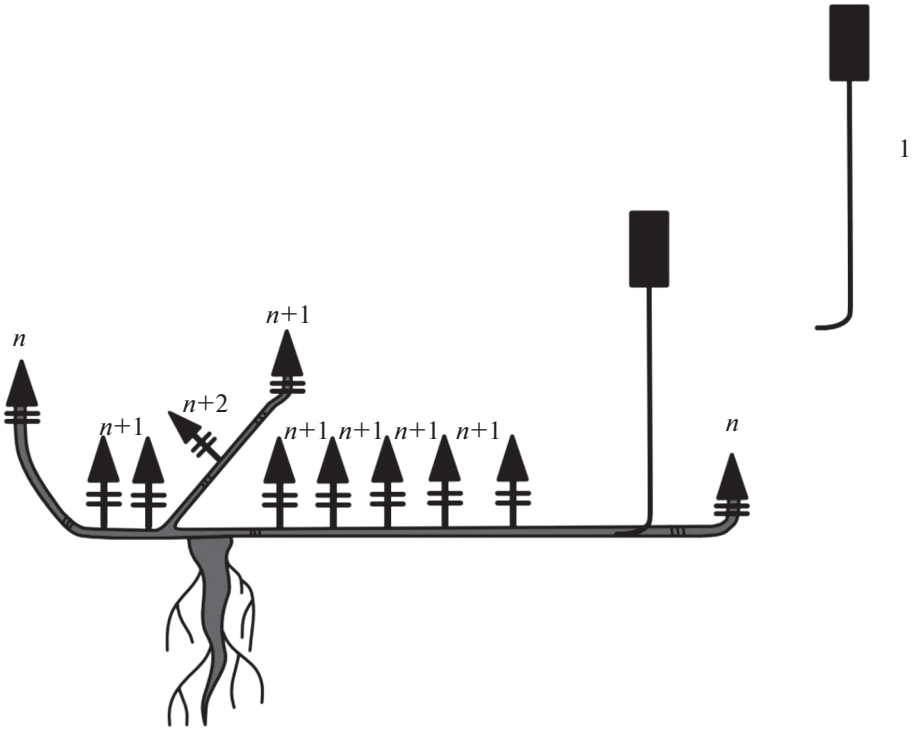

Рис. 3. Схема строения побегов *P. aizoides*. 1 – генеративный облиственный побег.

степени сложности повторяют его структуры: от нескольких междоузлий с пазушными вегетативными побегами и терминальным соцветием в верхней части до большого количества паракладиев, расположенных на исходном паракладии. Зона соцветия в редких случаях представлена либо одним терминальным цветком, либо дихазием, степень разветвления которого может быть различна.

Монокарпические побеги каждый год развиваются из почек возобновления в прикорневой зоне растения. После вегетационного периода монокарпический побег выше зоны возобновления полностью отмирает. Зона возобновления после окончания жизнедеятельности монокарпического побега входит в состав многолетних скелетных осей. Таким образом, можно наблюдать активное базитонное ветвление, в результате которого формируется рыхлая подушковидная дерновинка (рис. 11). Универсальный модуль *M. setacea* – моноциклический монокарпический побег.

Модель побегообразования однолетнего растения ***M. glomerata*** длиннопобеговая с ортотропными побегами. В целом побеги *M. glomerata* имеют схожее с *M. setacea* строение. На начальных этапах онтогенеза формируется хорошо развитый главный корень, который сохраняется в течение всей жизни растения. Универсальным модулем *M. glomerata* является синфлоресценция (рис. 12), которая формируется в течение моноподиального нарастания оси, в данном случае – первичного побега. Синфлоресценция представлена большим количеством хорошо развитых паракладиев, в верхней своей части представлена терминальным соцветием – дихазием из 5–15 цветков с очень короткими цветоножками. При нарастании дерновинки можно наблюдать мезотонное ветвление, благодаря активному развитию паракладиев (рис. 13).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Соотношение жизненных форм и моделей побегообразования с условиями обитания. Все изученные модельные виды, представленные в данной работе, являются обитателями гор. Так или иначе, их развитие сопряжено с определенными условиями среды и влиянием на них различных абиотических факторов. В горных местах обитания, особенно на больших высотах, наблюдаются крайне неблагоприятные условия для роста надземных органов растений. Ограничивающими факторами роста можно считать низкую температуру воздуха и почвы, воздействие сильных холодных ветров в безлесной альпийской зоне, различные эдафические и солярные факторы. Для выживания в подобных условиях, безусловно, растениям необходимо обладать определенными адаптациями. Одним из таких приспособлений является подушковидная жизненная форма. Однако следует отметить, что изученные подушковидные представители р. *Minuartia* s.l. имеют разные стратегии максимально эффективного для

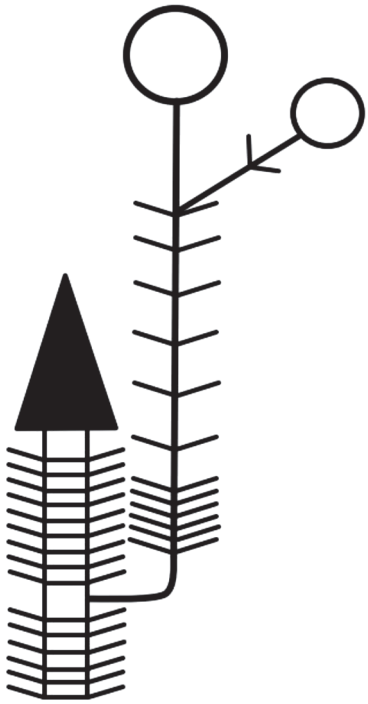

Рис. 4. Схема строения полициклического поликарпического побега *P. aizoides.*

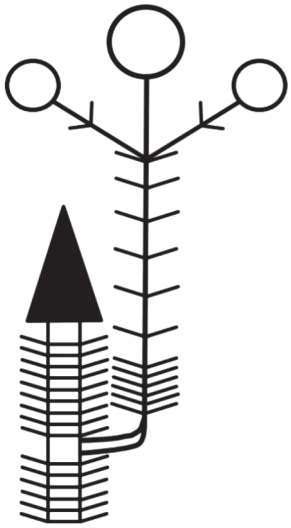

Рис. 5. Схема строения полициклического поликарпического побега *C. circassica.*

подобных условий побегообразования. Этим объясняются их биоморфологические различия.

P. imbricata является самым высокогорным из рассмотренных видов, его можно обнаружить исключительно в альпийском поясе, на ледниковых моренах, мелкокаменистых осыпях и россыпях. Стратегия этого подушковидного растения напрямую связана с очень коротким вегетационным периодом, свойственным высокогорью. Только *P. imbricata* из всех изученных видов обладает полициклическими поликарпическими моноподиальными осями с редуцированными до одного цветка боковыми генеративными структурами. Такие побеги после окончания вегетационного периода не отмирают, а входят в состав многолетних частей побеговой системы. К тому же *P. imbricata* не обладает сложными, продолжительное время развивающимися генеративными побегами, а вместо этого формирует силлептические, очень просто устроенные генеративные побеги, как правило, представленные одним цветком. Такой цветок, в силу полурозеточной модели побегообразования, занимает псевдотерминальное положение и лишь после формирования семян переходит в боковое. Таким образом, цветение и плодоношение может продолжаться в течение всего вегетационного периода, при этом одновременно происходит разрастание особи сразу во многих направлениях вследствие развития множества силлептических побегов. К тому же время формирования каждого флорального элемента существенно сокращается в силу простоты его строения. Другими словами, *P. imbricata* активно наращивает биомассу, при этом захватывая пространство вокруг себя, проявляя стратегию стресс-толерант-рудерала (Онипченко и др., 2020), одновременно выполняя функцию генеративного размножения. Отсутствие сложных многоцветковых дихазиев, а также паракладиев на генеративных побегах полностью компенсируется большим количеством силлептических побегов, непрерывно формирующихся в процессе вегетации.

Другие высокогорные обитатели – *P. aizoides*, *C. circassica* и *M. hirsuta* subsp. *oreina* – также представляют собой подушковидные растения, однако, в отличие от *P. imbricata*, формируют специализированные вегетативно-генеративные облиственные побеги, которые после завершения плодоношения отмирают и не входят в состав многолетней части побеговой системы. Эти три вида имеют принципиально отличную от *P. imbricata* стратегию роста, при которой наращивание многолетних осей происходит отдельно от функционирования генеративных побегов. При этом развитие генеративных и вегетативных структур также происходит параллельно, но дезинтегрировано в пространстве. Необходимость существования вегетативных побегов в розеточной форме, возможно, продиктована суровыми условиями обитания. Розеточные побеги позволяют иметь большое количество ассимилирующих листьев, при этом не сильно возвышаться над поверхностью почвы, что в условиях открытых высокогорий представляется жизненно важным. Однако все так же остро существует проблема короткого вегетационного сезона, и, как следствие, в высокогорье, впрочем, как и в других сообществах, возникает конкуренция за опылителей среди растений. Для более удачного экспонирования своих цветков

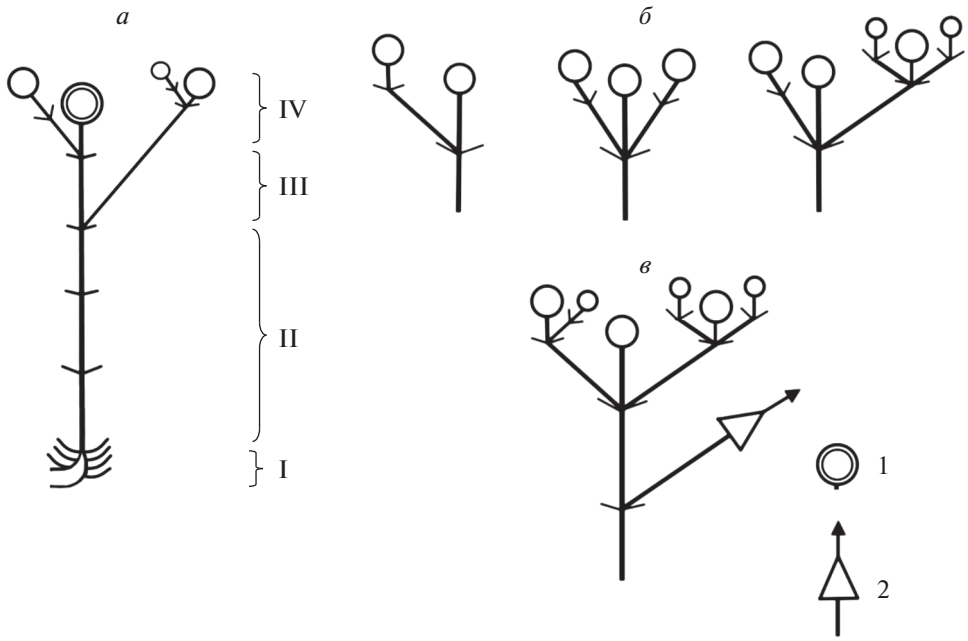

Рис. 6. Схема строения: *а* – генеративного побега *C. circassica*, *б* – вариантов терминального соцветия генеративного побега, *в* – терминального соцветия с паракладием в зоне обогащения. I – нижняя зона торможения, II – средняя зона торможения, III – зона обогащения, IV – зона соцветия. 1 – терминальное соцветие, 2 – паракладий.

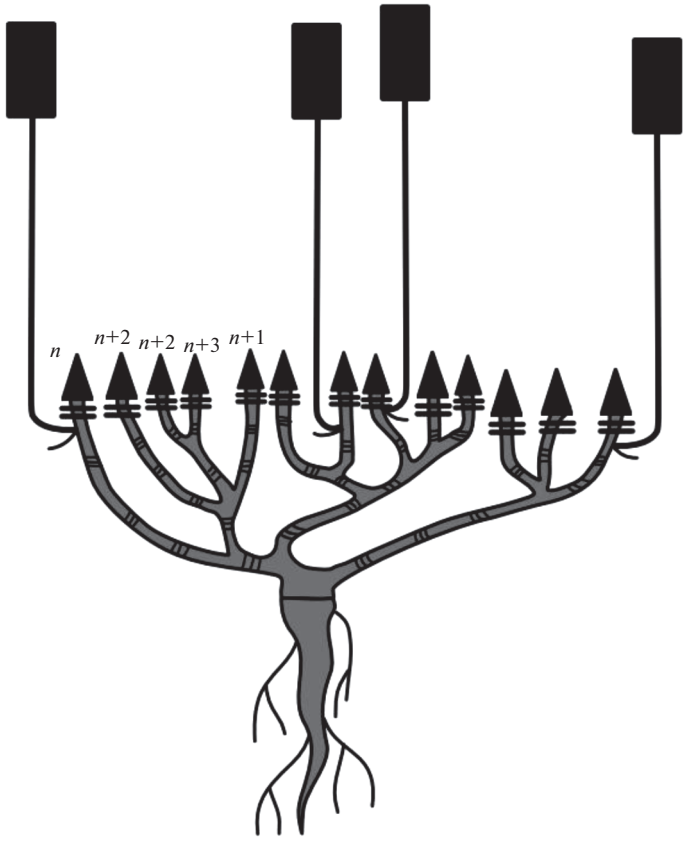

Рис. 7. Схема строения дерновинки *C. circassica*. Порядки ветвления осей указаны только на левой части схемы.

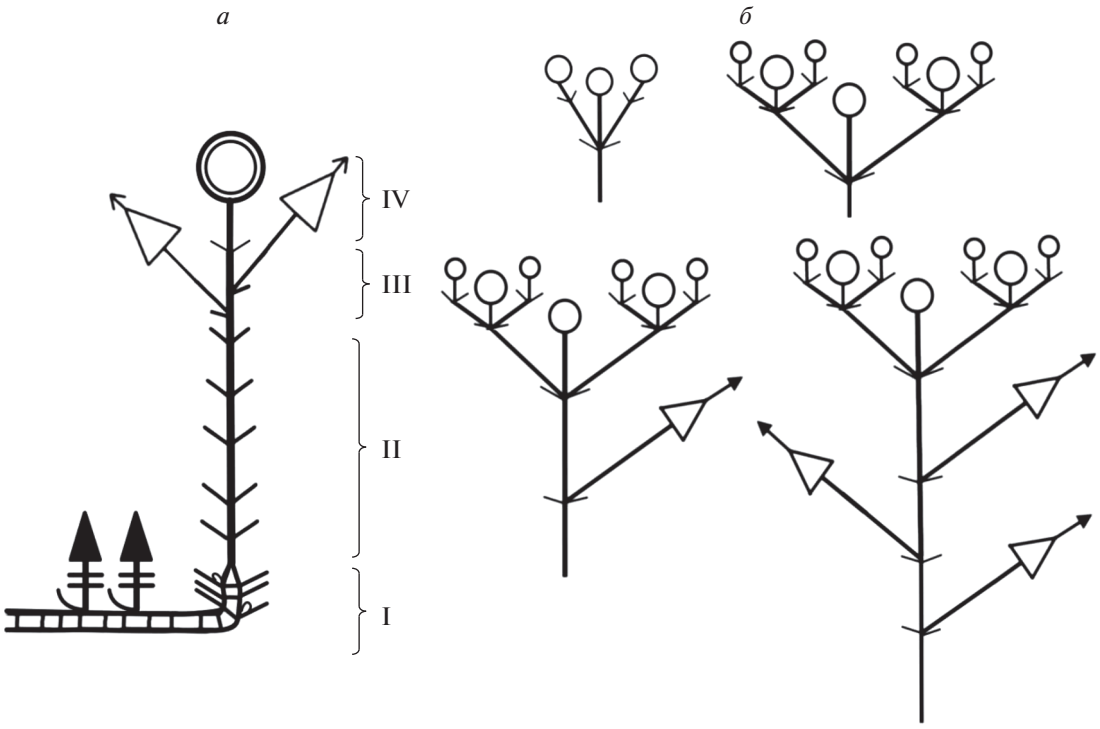

Рис. 8. Схема строения: *а* – дициклического монокарпического побега *M. hirsuta* subsp. *oreina*, *б* – вариантов дихазиев и расположения паракладиев на монокарпическом побеге. I – зона возобновления, II – средняя зона торможения, III – зона обогащения, IV – зона соцветия.

для опылителей *P. aizoides*, *C. circassica* и *M. hirsuta* subsp. *oreina* формируют генеративные побеги с длинными междоузлиями, выносящие цветки над поверхностью подушек. Подобное разнесение в пространстве функционально различных структур является примером адаптивного компромисса, в котором многолетнее тело растения существует в розеточной форме, что позволяет наиболее “комфортно” развиваться в высокогорных условия, а генеративные структуры развиваются иначе, по типу побега с длинными междоузлиями, что решает проблему с экспонированием цветка для опылителя. Помимо этого, генеративный побег с длинными междоузлиями позволяет создать несколько структурно-функциональных зон, включая зону обогащения с паракладиями. Именно так зачастую решается проблема немногочисленности развивающихся побегов. За счет создания большого количества паракладиев, как у *M. hirsuta* subsp. *oreina*, общее количество цветков существенно увеличивается.

Принципиально иная стратегия роста наблюдается у *M. glomerata* и *M. setacea*. Эти два вида обитают в более благоприятных условиях. Вегетационный период существенно длиннее, а также отсутствуют такие неблагоприятные факторы, как холодные штормовые ветра и критически низкие для роста температуры. Вследствие этого наличие розеточных побегов и подушковидной жизненной формы перестает быть столь актуальным, как в случае с высокогорными представителями р. *Minuartia* s.l. Хотя эти растения различаются по сроку жизни (*M. glomerata* – однолетник, *M. setacea* – многолетник), модель побегообразования и стратегия роста у них сходные. Развитие моноциклических монокарпических побегов в начале вегетационного периода позволяет за короткий срок сформировать генеративные побеги, которые, в свою очередь, обладая хорошо развитой зоной обогащения и очень короткой зоной торможения, несут на себе многочисленные паракладии. Развитие паракладиев базипетальное, что позволяет пролонгировать цветение каждой особи. Во время плодоношения монокарпического побега паракладий, расположенный ближе к терминальному соцветию монокарпического побега, начинает зацветать, на смену ему после завершения цветения доходит до завершающей стадии развития паракладий, расположенный ниже него, и так продолжается до конца вегетационного периода. Таким образом, цветение каждого растения существенно пролонгировано во времени.

Основываясь на вышесказанном, можно говорить о трех стратегиях побегообразования для изученных видов р. *Minuartia* s.l.: 1) по типу *M. imbricata* с формированием полициклических поликарпических моноподиальных осей с редуцированными до одного цветка боковыми генеративными структурами; 2) по типу *M. circassica* с развитием розеточных вегетативных побегов и

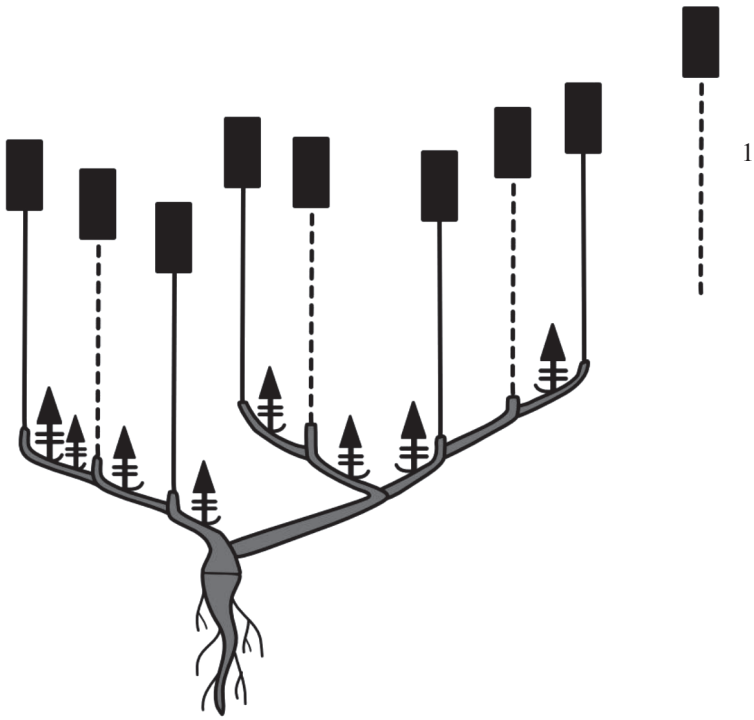

Рис. 9. Схема строения дерновинки *M. hirsuta* subsp. *oreina*. 1 – прошлогодний отмерший побег.

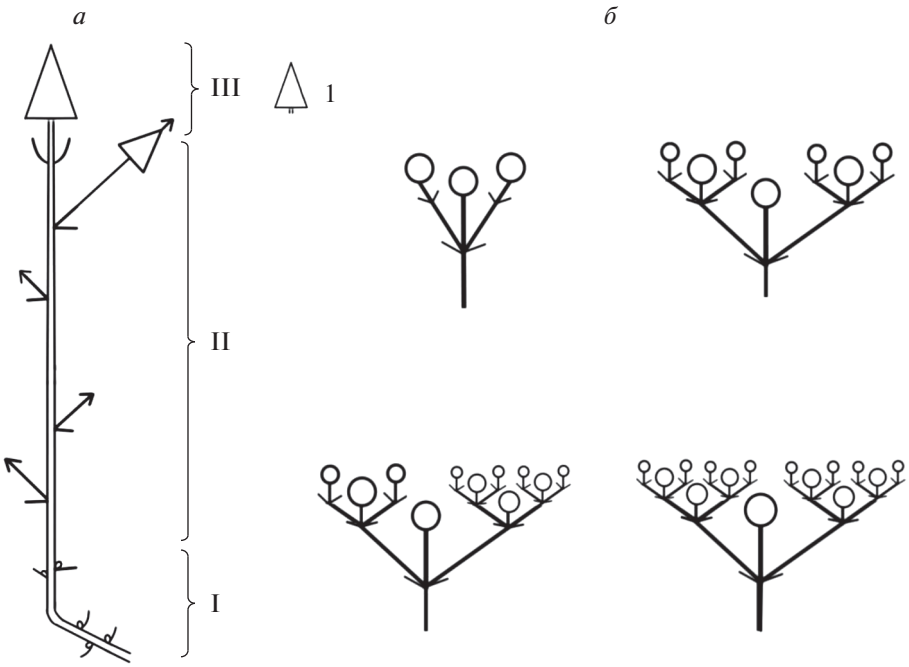

Рис. 10. Схема строения: *а* – монокарпического побега *M. setacea*, *б* – вариантов терминального соцветия. I – зона возобновления, II – зона обогащения, III – зона соцветия. 1 – соцветие.

пазушных вегетативно-генеративных побегов с длинными междоузлиями; 3) по типу *M. setacea* с образованием моноциклических монокарпических побегов.

Биоморфологические характеристики в таксономии рода *Minuartia* s.l. и возможные пути эволюции жизненных форм. В результате биоморфологического анализа модельных видов стало очевидно, что

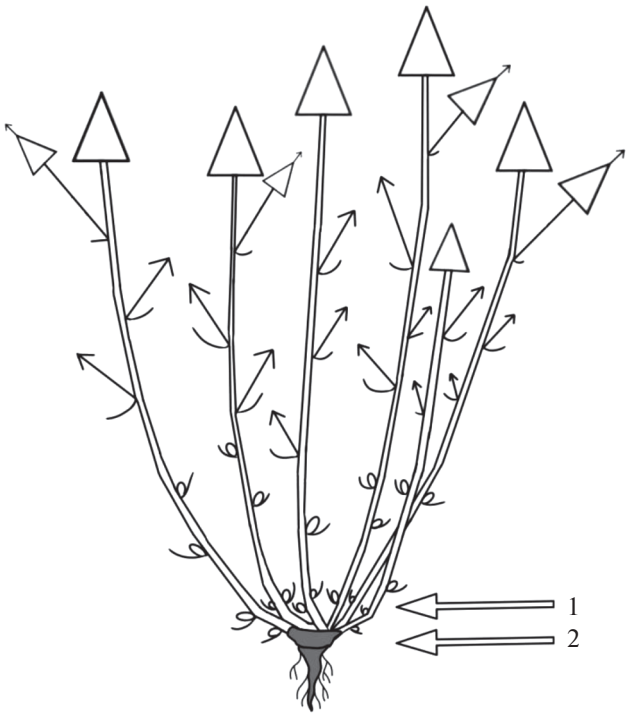

Рис. 11. Схема строения дерновинки *M. setacea.* 1 – зона возобновления, 2 – многолетняя часть растения.

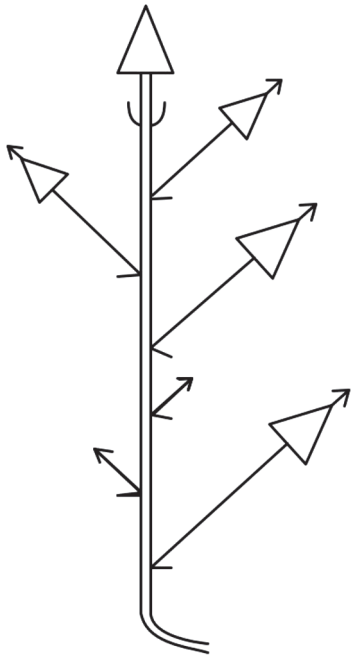

Рис. 12. Схема строения синфлоресценции *M. glomerata* с паракладиями и верхушечным соцветием.

существует несколько моделей побегообразования (табл. 2), характерных для р. *Minuartia* s.l. По молекулярно-генетическим данным (Dillenberger, Kadereit, 2014), *P. imbricata* и *P. aizoides* являются близкородственными видами, расположенными в одной кладе, что послужило основанием для обособления этих видов в отдельный род. Можно отметить, что для этих представителей характерна одинаковая модель побегообразования – моноподиальная полурозеточная. Для *C. circassica*, которая по филогенетическим данным имеет обособленное положение на филогенетическом древе, но ранее принадлежала к той же секции, что и представители р. *Pseudocherleria*, свойственна моноподиальная розеточная модель побегообразования. Модельные виды, которые относятся непосредственно к р. *Minuartia* s. str.: *M. hirsuta* subsp. *oreina*, *M. setacea* – обладают симподиальными моделями побегообразования и монокарпическими побегами с типичным разделением на структурно-функциональные зоны. Таким образом, можно говорить о том, что новые сепаратные группы, описанные в ранге родов, обладают иными способами нарастания и моделями побегообразования.

Появление в побеговой системе монокарпического побега в р. *Minuartia* s.l. можно ассоциировать с переходом растений к симподиальному способу нарастания, что является более эволюционно продвинутой чертой (Недолужко, 1997). Нарастание за счет боковых почек сопровождается омоложением вновь возникающей оси по сравнению с осью предыдущего порядка, и чем ниже на побеге располагается замещающая боковая почка, тем сильнее омоложение побеговой системы, а это, в свою очередь, приводит к усилению вегетативного размножения, увеличению общей продолжительности жизни растения, а также ускорению его развития (Серебряков, 1954; Хохряков, 1975). Таким образом, можно предполагать, что существует эволюционная тенденция от более примитивной моноподиальной модели побегообразования с поликарпическими побегами к симподиальной и формированию эволюционно продвинутых монокарпических побегов.

ВЫВОДЫ

По результатам проведенного исследования описаны три модели побегообразования для модельных видов:

1) Для *P. imbricata*, *P. aizoides* характерна моноподиальная полурозеточная модель;

2) Представители вида *C. circassica* имеют моноподиальную розеточную модель побегообразования;

3) Представители видов *M. hirsuta* subsp. *oreina*, *M. setacea* обладают симподиальными моделями побегообразования с монокарпическими побегами.

Выявлены три стратегии побегообразования у модельных видов:

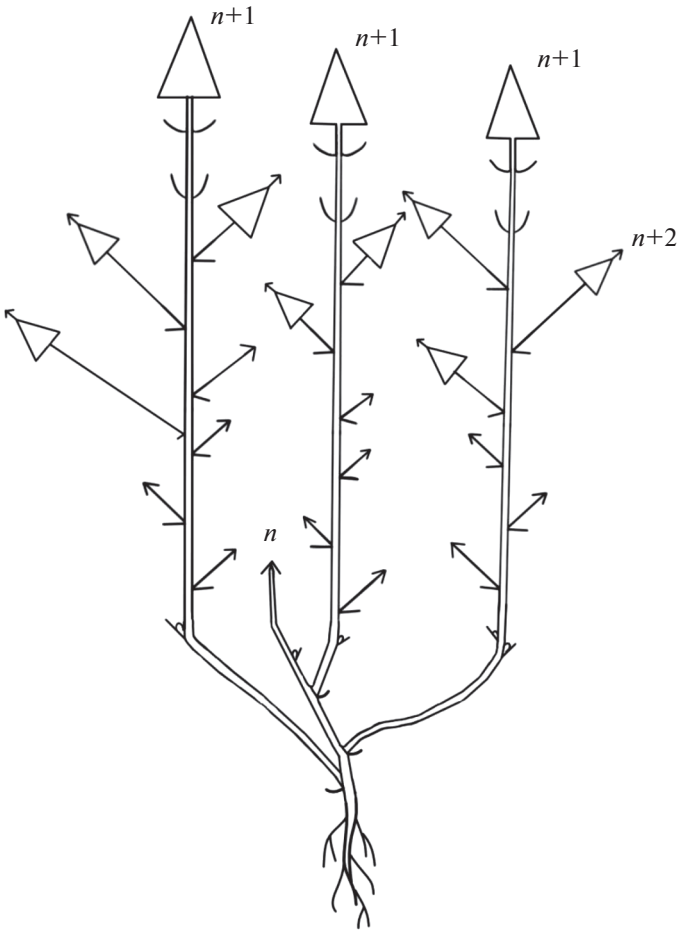

Рис. 13. Схема строения дерновинки *M. glomerata*.

1) по типу *M. imbricata* с формированием полициклических поликарпических моноподиальных осей с редуцированными до одного цветка боковыми генеративными структурами;

2) по типу *M. circassica* с развитием розеточных вегетативных побегов и пазушных вегетативно-генеративных побегов с длинными междоузлиями;

Таблица 2. Биоморфология модельных видов

Вид	Модель побегообразования	Универсальный модуль
Pseudocherleria imbricata	Моноподиальная полурозеточная	Полициклические поликарпические моноподиальные оси с редуцированными до одного цветка боковыми генеративными структурами
P. aizoides	Моноподиальная полурозеточная	Полициклические поликарпические моноподиальные оси со специализированными вегетативно-генеративными побегами
Cherleria circassica	Моноподиальная розеточная	Полициклические поликарпические моноподиальные оси с дициклическими вегетативно-генеративными побегами
Minuartia hirsuta subsp. *oreina*	Симподиальная полурозеточная	Дициклический монокарпический побег
M. setacea	Симподиальная длиннопобеговая	Моноциклический монокарпический побег
M. glomerata	Длиннопобеговая с ортотропными побегами	Синфлоресценция

3) по типу *M. setacea* с образованием моноциклических монокарпических побегов.

В р. *Minuartia* s.l. отмечен эволюционный тренд к переходу от более примитивной моноподиальной модели побегообразования к симподиальной, а также формированию монокарпических побегов.

Использование биоморфологии в классификации *Minuartia* s.l. позволит сделать более репрезентативные заключения о систематике рода в целом.

Работа выполнена в рамках темы “Анализ структурного и хорологического разнообразия высших растений в связи с проблемами их филогении и таксономии; проблемы экологии города и устойчивого развития” (№12-2-21, Номер ЦИТИС: 121032500084-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Актуальные проблемы современной биоморфологии, 2012 / Под ред. Савиных Н.П. Киров: Радуга-ПРЕСС. 610 с.

Барыкина Р.П., 1999. О некоторых модусах преобразований онто-, органо- и гистогенеза в соматической эволюции сем. Ranunculaceae // Бюлл. МОИП. Отд. биол. Т. 104. № 1. С. 49–52.

Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К., 1989. Экология: Особи, популяции и сообщества. Т. 1. М.: МИР. 667 с.

Гатцук Л.Е., 1994. Иерархическая система структурно-биологических единиц растительного организма, выделенных на макроморфологическом уровне // Успехи экологической морфологии растений и ее влияние на смежные науки. М.: Прометей. С. 18–19.

Гатцук Л.Е., 1995. Комплементарные модели побега и их синтез // Бот. журн. Т. 80. № 6. С. 1–4.

Кожанчиков В.И., 1975. Морфологические признаки семян Caryophyllaceae и возможные пути их эволюции // Бот. журн. Т. 52. № 7. С. 1277–1286.

Лазьков Г.А., 2012. Конспект флоры Кавказа. Т. 3(2). М.; СПб. Т-во науч. изд. КМК. С. 165–170.

Лухтанов В.А., 2013. Принципы реконструкции филогенезов: признаки, модели эволюции и методы филогенетического анализа // Тр. Зоол. ин-та РАН. № 2. С. 39–52.

Лухтанов В.А., Кузнецова В.Г., 2009. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики // Журн. общ. биологии. Т. 70. № 5. С. 415–437.

Недолужко В.А., 1997. Древесные растения: проблема эволюции жизненных форм. Владивосток: Дальнаука. 120 с.

Онипченко В.Г., Дудова К.В., Ахметжанова А.А. и др., 2020. Какие стратегии растений способствуют их доминированию в альпийских сообществах? // Журн. общ. биологии. Т. 81. № 1. С. 37–46.

Павлинов И.Я., 2001. Концепции систематики и концепции биоразнообразия: проблема взаимодействия // Журн. общ. биологии. Т. 62. № 4. С. 362–366.

Савиных Н.П., 2006. Род вероника: морфология и эволюция жизненных форм. Киров: Изд-во ВятГГУ. 324 с.

Савиных Н.П., 2008. Применение концепции модульной организации к описанию структуры растения // Современные подходы к описанию структуры растений. Киров: ООО “Лобань”. С. 47–69.

Савиных Н.П., 2019. Эволюция жизненных форм цветковых растений в формировании биологического разнообразия // Изв. РАН. Сер. биол. № 1. С. 72–80.

Савиных Н.П., Черемушкина В.А., 2015. Биоморфология: современное состояние и перспективы // Сиб. экол. журн. Т. 22. № 5. С. 659–670.

Серебряков И.Г., 1954. О методах изучения ритмики сезонного развития растений в геоботанических стационарах // Доклады совещания по стационарным геоботаническим исследованиям. Л.: Изд-во АН СССР. С. 145–159.

Серебряков И.Г., 1964. Жизненные формы высших растений и их изучение // Полевая геоботаника. Т. 3. М.; Л.: Наука. С. 146–208.

Серебрякова Т.И., 1977. Об основных “архитектурных моделях” травянистых многолетников и модусах их преобразования // Бюлл. МОИП. Отд. биол. Т. 82. № 5. С. 112–128.

Серебрякова Т.И., 1981. Жизненные формы и модели побегообразования наземно-ползучих многолетних трав // Жизненные формы: Структура, спектры и эволюция. М.: Наука. С. 161–179.

Серебрякова Т.И., 1987. О вариантах моделей побегообразования у многолетних трав // Морфогенез и ритмы развития высших растений: Межвуз. сб. науч. тр. М.: МГПИ им. В.И. Ленина. С. 3–19.

Современные подходы к описанию структуры растений, 2008 / Под ред. Савиных Н.П., Бобровова Ю.А. Киров: ООО “Лобань”. 355 с.

Хохряков А.П., 1975. Закономерности эволюции растений. Новосибирск: Наука. 202 с.

Цвелев Н.Н., 2005. Проблемы теоретической морфологии и эволюции высших растений. Сб. избр. тр. М.; СПб.: Т-во науч. изд. КМК. 407 с.

Шафранова Л.М., 1980. О метамерности и метамерах у растений // Журн. общ. биологии. Т. 41. № 3. С. 437–447.

Шафранова Л.М., 1981. Ветвление растений: процесс и результат // Жизненные формы: структура, спектры и эволюция. М.: Наука. С. 179–212.

Шафранова Л.М., 1993. Растение как объект гомологизации // Жизненные формы: онтогенез и архитектура. М.: Прометей. С. 219–222.

Шафранова Л.М., Гатцук Л.Е., 1994. Растение как пространственно- временная метамерная (модульная) система // Успехи экологической морфологии растений и ее влияние на смежные науки: Межвуз. сб. науч. тр. М.: Прометей. С. 6–7.

Amini E., Zarre S.H., Assadi M., 2011. Seed micromorphology and its systematic significance in *Gypsophila* (Caryophyllaceae) and allied genera // Nord. J. Bot. V. 29. P. 660–669.

Çelebioğlu T., Favarger C., 1982. Contribution à la cytotaxonomie du genre *Minuartia* L. (Caryophyllacées) en Turquie et dans quelques régions voisines // Biol. Ecol. Medit. V. 9. P. 139–160.

Çelebioğlu T., Favarger C., Huynh K.L., 1983. Contribution a la micromorphologie de la testa des graines du genre *Minuartia* L. (Caryophyllaceae) sect. *Minuartia* // Adansonia. V. 4. P. 415–435.

Dillenberger M.S., Kadereit J.W., 2014. Maximum polyphyly: Multiple origins and delimitation with plesiomorphic

characters require a new circumscription of *Minuartia* (Caryophyllaceae) // Taxon. V. 63. № 1. P. 64–88.

Favarger C., Recoder P.M., 1987. Commentaires sur la caryologie des espèces de *Minuartia* L. de la Péninsule Ibérique // Anales Jard. Bot. Madrid. V. 44. P. 558–564.

Galland N., 1988. Recherche sur l'origine de la flore orophile du Maroc étude caryologique et cytogéographique / Trav. Inst. Sci. Sér. Bot. V. 35. Rabat: Univ. Mohammed V, Institut scientifique. 168 p.

Halliday G., 1993. Minuartia // Flora Europaea. V. 1. 2nd ed. / Eds Tutin T.G., Burges N.A., Chater A.O., Edmondson J.R., Heywood V.H., et al. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P. 152–160.

Hennig W., 1966. Phylogenetic Systematics. Urbana: Univ. Illinois Press. 263 p.

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.F., 1999. Plant Systematics: A Phylogenetic Approach. Sunderland: Sinauer. 464 p.

Kamari G., 1997. *Minuartia* L. // Flora Hellenica. V. 1 / Eds Strid A., Tan K. Konigstein: Koeltz Scientific Books. P. 170–191.

Mattfeld J., 1922. Geographisch-genetische Untersuchungeil iiber die Gattung *Minuartia* (L.) Hiern // Feddes Repert. Beih. V. 15. P. 1–228.

McNeill J., 1962. Taxonomic studies in the Alsinoideae I: Genetic and infrageneric groups // Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh. V. 24. P. 79–155.

McNeill J., 1963. Taxonomic studies in the Alsinoideae II: A revision of the species in the Orient // Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh. V. 24. P. 241–404.

Minuto L., Roccotiello E., Casazza G., 2011. New seed morphological features in *Moehringia* L. (Caryophyllaceae) and their taxonomic and ecological significance // Plant Syst. Evol. V. 145. P. 60–67.

Minuto L., Fior S., Roccotiello E., Casazza G., 2006. Seed morphology in *Moehringia* L. and its taxonomic significance in comparative studies within the Caryophyllaceae // Plant Syst. Evol. V. 262. P. 189–208.

Parkin I., 1914. The evolution of the inflorescence // J. Linn. Soc. V. 42. № 287. P. 511–563.

Rabeler R.K., Hartman R.L., Utech F.H., 2005. Minuartia // Flora of North America. V. 5 / Ed. Flora of North America Editorial Committee. Oxford: Oxford Univ. Press. P. 16–136.

Rechinger K.H., 1988. *Minuartia* L. // Flora Iranica. V. 163 / Ed. Rechinger K.H. Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt. P. 28–53.

Schuh R.T., Brower A.V.Z., 2009. Biological Systematics: Principles and Applications. 2nd ed. Ithaca, NY: Cornell Univ. Press. 328 p.

Soltis D.E., Soltis P.S., Endress P.K., Chase M.W., 2005. Phylogeny and Evolution of Angiosperms. Sunderland: Sinauer. 370 p.

Troll W., 1964. Die Infloreszenzen. Bd. 1. Jena: Fischer Verlag. 615 s.

Yıldız K., 2002. Seed morphology of Caryophyllaceae species from Turkey (North Anatolia) // Pak. J. Bot. V. 34. P. 161–171.

Zaychenko S.G., Zernov A.S., 2017. Structural features of the seed coat in Caucasian representatives of *Minuartia* L. (Caryophyllaceae) // Wulfenia. V. 24. P. 205–220.

Bio-morphology in plant taxonomy, with Caucasian *Minuartia* s.l. (Caryophyllaceae) as a case study

S. G. Zaychenko[a], *, A. S. Zernov[a], **

[a]*Lomonosov Moscow State University*
Leninskiye Gory, 1, bld. 12, Moscow, 119991 Russia
**e-mail: zaychenko_so@mail.ru*
***e-mail: zernov72@yandex.ru*

The taxonomy of plants requires a comprehensive approach to implement and fulfill its tasks. The current prevalence of molecular genetic methods in taxonomy does not negate the need to search for new taxonomically significant characteristics. Bio-morphology can serve as a source of fundamentally new traits in plants. This study is devoted to researching the possibilities of using bio-morphological approaches in the taxonomy and phylogeny of plants. The main features of alpine plant structural organization in relation to the determination of their taxonomic status and possible ways of biomorph appearance during the process of evolution were reviewed based on the *Minuartia* s.l. (Caryophyllaceae) genus, which is a polyphyletic group. Modular organization, which is a more modern approach, was used for the analysis of plant shoot formation. The term "universal module" was used to compare sections of shoot systems in different species. Research materials were collected in the North Caucasus in 2016–2019. Model species were selected according to their systematic position within the genus, as well as the presence of significant ecological differences, and, as a result, different habitus. Some of the species are alpine plants and are distributed on cliffs from the mid-forest to the alpine belts. The selected genus representatives have varying degrees of rosette formation: semi-rosette monopodial axes with lateral generative structures (*M. imbricata*), semi-rosette axes with vegetative-generative shoots (*M. aizoides*), and rosette axes with dicyclic vegetative-generative shoots (*M. circassica*). The universal modules for the above species are the polycyclic polycarpic axes. Two more species are grasses with sympodial growth, but are semi-rosette (*M. hirsuta* subsp. *oreina*) and long-shooted (*M. setacea*) with typical monocarpic shoots as the universal modules. Special attention was given to the annual *M. glomerata* from the cliffs of the mid-forest belt. According to the results of the study, three different growth strategies were identified in the model species, and different trends of monopodial and sympodial growing grasses were described. Due to the identification of universal modules and other bio-morphological characteristics of these model species, it becomes possible to use the obtained data for taxonomic purposes.

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2021, том 82, № 5, с. 382–388

УДК 577.352.348+575.853+51-76

ФРАКТАЛЬНЫЙ ХАРАКТЕР ФОРМИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ТИЛАКОИДОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

© 2021 г. В. В. Галицкий*

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения,
Пущинский научный центр биологических исследований РАН
Институтская ул., 2, Пущино, Московская обл., 142290 Россия
**E-mail: galvv@rambler.ru*

Поступила в редакцию 08.12.2020 г.
После доработки 17.04.2021 г.
Принята к публикации 10.06.2021 г.

Особенности зависимости фрактального параметра $\mu(N_g, n_g)$ множества точек от числа групп (N_g) и точек в группе (n_g) могли стимулировать образование тилакоидов, несущих фотосистемы PSI и PSII, в процессе эволюции цианобактерий. Если количества групп N_g увеличивалось при фиксированном количестве точек n_g (2–3, димеры, тримеры) на группу, то виртуальный общий размер $H \sim (N_g n_g)^{1/\mu}$ фотосинтетического аппарата цианобактерий мог стать во много раз больше, чем ограниченный размер самой бактерии. Обсуждаются опубликованные экспериментальные данные, подтверждающие справедливость этого вывода.

DOI: 10.31857/S0044459621050055

В работах В.В. Галицкого (Галицкий, 2016; Galitskii, 2016) показано, что распространение модели динамики зеленой биомассы B дерева по фрактальному параметру μ, связывающему биомассу и размер H кроны дерева

$$B \sim H^{\mu} \quad (1)$$

в диапазоне μ (0, 1) демонстрирует наличие ветвей первых трех порядков в этом диапазоне, соответствующем фотосинтезирующей биомассе в виде точечного множества (рис. 1). Этот удивительный на первый взгляд вывод может, однако, рассматриваться как очередное подтверждение эндосимбиотической теории появления и эволюции организмов (Маргелис, 1983) и, в частности, растений. Такое заключение следует из того факта, что размеры хозяина эндосимбиоза и его симбионтов различаются не менее чем на три порядка, т.е. симбионты могут рассматриваться как математические точки, а такая система, вообще говоря, соответствующая фрактальному диапазону μ (0, 1), и может являться объектом исследования методами фрактальной геометрии (Федер, 1991).

О ФРАКТАЛЬНЫХ СВОЙСТВАХ РАСТУЩЕГО МНОЖЕСТВА ТОЧЕК

Рассмотрение геометрических свойств таких точечных множеств (Галицкий, 2016; Galitskii, 2016) показало, что они могут определять характер морфологической эволюции биологических организмов. Из ряда свойств точечных множеств наиболее важное для дальнейшего – радикально различное поведение функции $\mu(\log_2 N_p)$ в зависимости от того, как устроено растущее *групповое* множество (рис. 2).

Если при увеличении суммарного количества точек N_p число точек в группе не меняется и рост $N_p = N_g n_g$ происходит за счет роста числа групп N_g, то μ уменьшается, стремясь к некоторому значению $\mu(n_{g,\,\mathrm{fix}})$. При $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$ это значение равно $\mu(n_{g,\,\mathrm{fix}}) \approx$ ≈ 0.25 и с увеличением $n_{g,\,\mathrm{fix}}$ соответствующее пре-

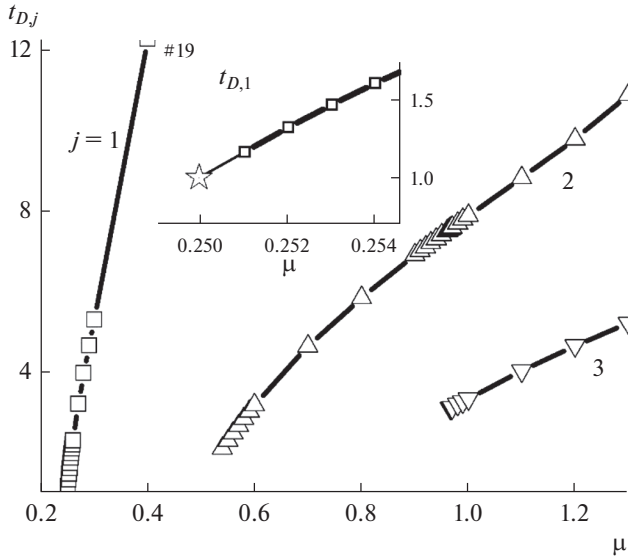

Рис. 1. Зависимость времен $t_{D,j}(\mu)$ жизни j-ветвей "протоели" в диапазоне μ (0, 1). На врезке в увеличенном масштабе для 1-ветви штриховая линия указывает на значение μ в этом диапазоне, при котором появляется "ветвь" 1-го порядка (по: Галицкий, 2016).

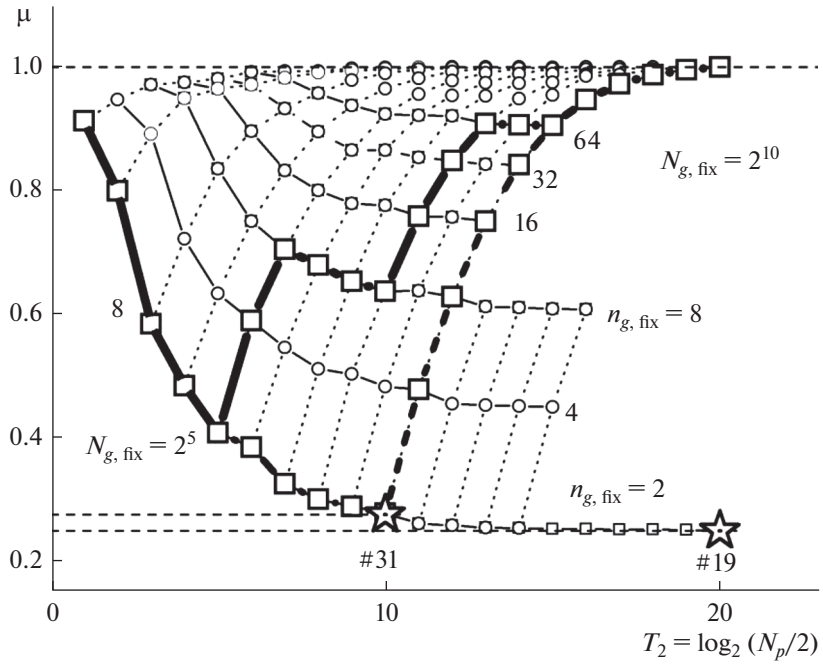

Рис. 2. Двумерные изображения трехмерных зависимостей $\mu(N_g, n_g)$ для групповых размещений математических точек (по: Галицкий, 2018). Два типа траекторий: спадающие траектории μ для фиксированных значений $n_{g,\,\mathrm{fix}}$ (тонкие сплошные линии, маленькие пустые кружки) и растущие траектории для фиксированных величин $N_{g,\,\mathrm{fix}}$ (тонкие пунктирные линии), – которые соответственно проходят через те же точки с ординатами $\mu(N_g, n_g)$ и целыми абциссами $\log_2(N_g\, n_g/2)$. Два примера эволюции фрактального параметра для размещений фотосинтезирующих точек в ходе эволюции от цианобактерий до проторастения, состоящие из элементов двух типов траекторий (толстая сплошная линия и тонкая штриховая линия с большими пустыми квадратами). Обе начинаются в различных местах траектории $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$ и идут различными путями к $\mu = 1$. Значения μ при ☆ ($\mu_{\#19} = 0.24966$ и $\mu_{\#31} = 0.27281$, см. ☆ на рис. 1 для #19 как пример получения этих значений) соответствуют двум группам натурных данных о продолжительностях жизни ветвей всех порядков ели (Цельникер, 1994) и их модельной интерпретации (Галицкий, 2012). $T_2 = \log_2(N_p/2)$, где $N_p = N_g\, n_{g,\,\mathrm{fix}}$ или $N_{g,\,\mathrm{fix}}\, n_g$ есть эволюционное эрзац-“время”, измеряемое числом удвоений N_p вдоль траектории. T_2 не является временем эволюции.

дельное значение тоже увеличивается. Если же при увеличении суммарного количества точек N_p число групп N_g не меняется и рост N_p происходит за счет роста числа n_g точек в группе, то μ растет от величины, достигнутой вдоль предыдущей траектории первого типа, стремясь к 1. Эти два типа траекторий могут сменять друг друга в ходе морфологической эволюции соответственно имеющимся интенсивности и качеству освещения. На рис. 2 представлены два примера возможных траекторий фрактального параметра в ходе эволюции от цианобактерий до прото-растения, состоящие из элементов двух типов траекторий – толстая сплошная линия и тонкая штриховая линия с большими пустыми квадратами. Обе начинаются в различных местах траектории $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$ и идут различными путями к $\mu = 1$. Одна из них может быть интерпретирована как вариант с несколькими переменами в режиме освещенности в ходе эволюции и демонстрирует возможность регрессионных этапов эволюции (уменьшения μ), если, например, спектр света сместился в диапазон более коротких волн, а хозяин эндосимбиоза не смог при этом обеспечить транспорт растущего количества углеводов.

Далее мы рассмотрим следствие этого модельного представления о причине и фрактальных особенностях эволюции аппарата фотосинтеза протораститeльного организма на стадии фиксированного числа фотосинтезирующих “точек” в группах, которая могла играть важную роль, по крайней мере, в изменении его внутренней морфологии соответственно интенсивности и спектральным особенностям освещения.

Уместно сделать два замечания общего характера. Во-первых, приведенное выше формальное обсуждение фрактальных свойств растущего множества групп точек, размещенных в пространстве, исходит только из соотношения размеров ($\geq 10^3$) всего множества и отдельной реальной “точки” и того, что, согласно фрактальной геометрии, пространственный размер H множества элементов, аддитивно вкладывающих некие результаты своего функционирования в соответствующую функцию всего множества, связан с количеством N_p элементов множества степенным соотношением

$$N_p \sim H^{\mu}, \qquad (2)$$

где μ – фрактальный параметр (Федер, 1991). Формальный характер этого соотношения при

указанных условиях позволяет применять его к объектам разной природы и происхождения. Во-вторых, согласно Б. Мандельброту (1988), “фрактал – структура, состоящая из частей, в каком-то смысле подобных целому” (Федер, 1991, с. 19), и это существенно для исследований фотосинтеза на всех уровнях его организации. В частности, этому определению удовлетворяет ряд множеств: листья растений, хлоропласты в листьях, фотосистемы PSI и PSII в тилакоидах цианобактерий и гранах хлоропластов.

ОБ ОГРАНИЧЕНИИ РОСТА РАЗМЕРА АППАРАТА ФОТОСИНТЕЗА

В связи с предельной простотой фрактальной модели эндосимбиоза, представленной выше, очевидное наличие двух вариантов поведения модели требует обсуждения с точки зрения возможных причин и вариантов поведения реального биологического объекта – фотосинтезирующего эндосимбиоза. Для разграничения этих двух вариантов в случае эндосимбиоза, по-видимому, достаточно предположить, что первый (с фиксацией числа n_g фотосинтезирующих “точек” в группе) реализуется, пока для увеличения n_g хозяин эндосимбиоза не имеет необходимых условий, например, не создаст необходимой инфраструктуры (Галицкий, 2016). Очевидно, что исходно хозяин не имеет всего необходимого для увеличения $n_{g,\,\mathrm{fix}}$, и поскольку он заинтересован в дополнительной энергии от симбионтов, происходит по мере возможности экстенсивный рост числа N_p за счет увеличения числа групп N_g. Однако, как видно из рис. 2, такое увеличение не происходит даром – оно сопровождается ростом размера фотосинтезирующего аппарата пропорционально $N_p^{1/\mu}$, где μ можно определить по соответствующей $n_{g,\,\mathrm{fix}}$-кривой (рис. 2). Так, при $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$ (толстая линия) и не слишком малом числе групп, например $N_g \approx 1000$, параметр $\mu \approx 0.25$, и это значит, что при удвоении числа точек размер аппарата фотосинтеза должен увеличиться в 16 раз. Если хозяин, размеры которого неизменны, не может вместить такой аппарат, то возникает необходимость эволюционных изменений хозяина и симбионтов. Как будет показано ниже, такие изменения могли, по-видимому, начаться еще до морфологического и функционального оформления гран в хлоропластах из бывших цианобактерий путем появления, увеличения числа и объединения в прообразы стеков уже имевшихся к тому времени в цианобактериях тилакоидов, несущих собственно “точки” – фотосистемы PSI и PSII. Граны уже могли появиться после включения предков нынешних цианобактерий в эндосимбиозы, получив форму трехмерного стека тилакоидов, обвитого объединяющей их спиральной ламеллярной мембраной, функции и конкретная форма которой являются предметом продолжительной дискуссии (Mustárdy, Garab, 2003; Bussi et al., 2019).

ТИЛАКОИДЫ ВОЗНИКЛИ ИЗ-ЗА ОГРАНИЧЕННОСТИ РАЗМЕРА ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Вышесказанное представляет собой минимальную модель эндосимбиотического появления проторастения (Галицкий, 2016), описывающую морфологический аспект процесса, в котором участвовали две стороны – предки цианобактерий и хозяина-амебы (Nozaki, 2005) – уже прошедшие, вообще говоря, определенные этапы эволюции. Для цианобактерий, уже ставших симбионтами, эти этапы располагаются в диапазоне (0, 1) параметра μ (рис. 2; Galitskii, 2018) и, как видно из дальнейшего, по-видимому, соответствуют величинам $n_{g,\,\mathrm{fix}}$ существенно бóльшим, чем 2, и значениям μ, близким к 1.

Можно предположить, что ограничение размера было важным и для предка цианобактерий, когда в начале кислородной эры при слабом и, видимо, более длинноволновом свете биосинтез переходил на кислородную траекторию, бактерии тем или иным способом обзаводились фотосинтезирующими компартментами (прототип фотосистемы PSI) и размещали их на внутренней стороне цитоплазматической мембраны (например, редкий современный вид цианобактерий *Gloeobacter violaceus* sp. PCC 7421, не имеющих тилакоидов) (Bernat et al., 2012; Montejano et al., 2018; Mechela et al., 2019). С ростом числа фотосинтезирующих элементов увеличивалось поступление энергии. Когда согласно (2) для растущего аппарата фотосинтеза не стало хватать места на внутренней стороне цитоплазматической мембраны, решение этой проблемы, по-видимому, было морфологическим: внутренняя сторона мембраны – слой, содержащий фотосистемы, – был преобразован путем “впячивания” (*инвагинации*; Mullineaux, 1999; Mechela et al., 2019) (рис. 3*а*) растущего участка, несущего избыточные для плазматической мембраны фотосинтезирующие элементы, в специальный компартмент – прототилакоид, ныне контактирующий (соединяющийся) с исходной мембраной в *центре биогенеза* (Stengel et al., 2012; Heinz et al., 2016) или *зоне конвергенции* мембран (Rast et al., 2019). Компартмент-тилакоид был расположен и располагается у современных цианобактерий на периферии клетки вблизи плазматической мембраны (Mareš et al., 2019), используя таким образом максимально возможную площадь для размещения фотосинтетического аппарата.

Механизм, который может приводить к такому “впячиванию”, не известен в целом, но некоторые его детали можно достаточно обоснованно предположить. Так, фрактальный рост аппарата фотосинтеза, исходно состоящего из небольшого числа, например, димеров, представляющих собой группу из двух мономеров, с ростом числа групп в ходе работы центра биогенеза должен идти по траектории уменьшения параметра μ (рис. 2, $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$). При достаточно малом его значении и ограниченном размере бактерии внутренняя поверхность мембраны будет полностью заполнена. Если центр биогенеза продолжает работу, то должен возникнуть кон-

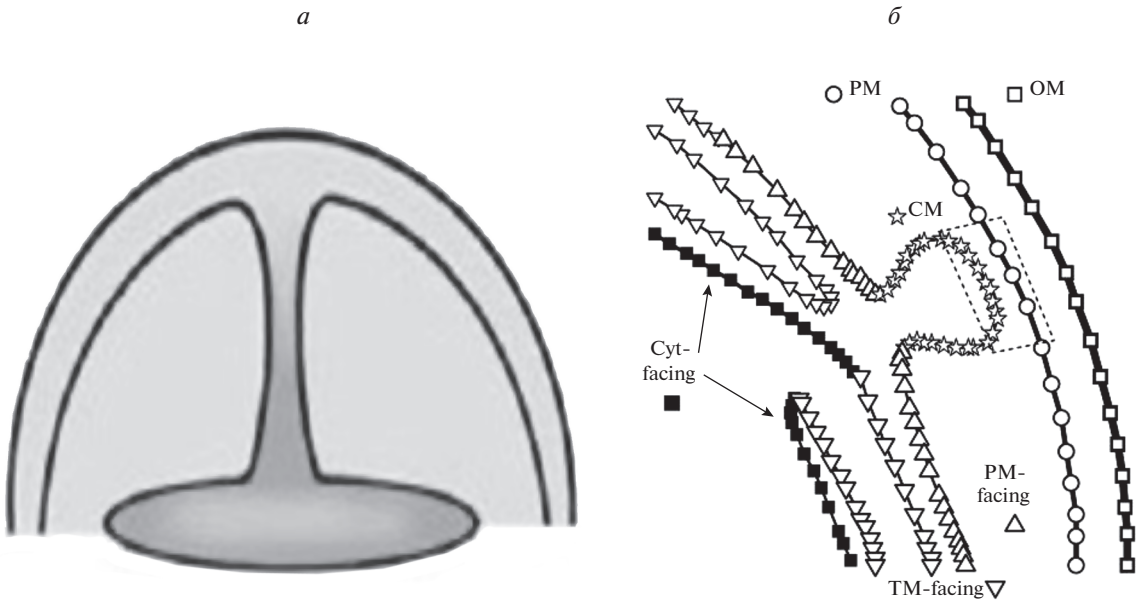

Рис. 3. *а* – двумерная схема начала появления тилакоида путем выделения через некий мостик части внутреннего слоя плазматической мембраны цианобактерии, содержащего фотосинтезирующие элементы предка современных цианобактерий, не имеющего (или потерявшего в ходе эволюции) тилакоидов, подобно современной цианобактерии *Gloeobacter violaceus* sp. PCC 7421 (по: Mechela et al., 2019, Fig. 2(*d*)(i)). *б* – схема участков мембраны в *зоне конвергенции* тилакоидов (по: Rast et al., 2019, Fig. 6a). OM – наружная мембрана; PM – плазматическая мембрана; PM-facing – тилакоидные мембраны, обращенные к PM; TM-facing – тилакоидные мембраны, обращенные к другим тилакоидам; Cyt-facing – тилакоидные мембраны, обращенные к цитозолю; CM – конвергентные мембраны и область *тиланса* (прямоугольник со штрих-контуром).

фликт из-за попытки размещения фотосистемы на уже занятой территории. Конфликт, как видно, разрешился эволюционным путем – появлением тилакоида. Можно предположить, что “впячивание” произошло в результате деформации внутренней границы цитоплазматической мембраны, исходно имеющей локальную форму, близкую к шарообразной (схема математического описания такой ситуации представлена Л.Д. Ландау и Е.М. Лифшицем (1965)). При этом существенно, что в ходе деформации граница мембраны должна локально круто изгибаться, что наблюдается в реальности.

В работе Раста с соавторами (Rast et al., 2019) методом криоэлектронной томографии получена 3D-модель пространственного расположения тилакоидной и цитоплазматической мембран бактерии *Synechocystis*. Модель показывает наличие слияния кончиков нескольких тилакоидов с образованием субструктуры, названной “конвергентной мембраной”. Эта мембрана имеет высокую кривизну и на отдельных участках входит в тесный контакт с плазматической мембраной, в связи с чем авторы, желая подчеркнуть определенное соответствие с синапсом, назвали этот контакт “*thylapse*”. Как можно видеть из рис. 3, высокая локальная кривизна имеет существенное значение для образования тилакоидов. В процессе образования тилакоидов для изгибания тилакоидных мембран используется семейство белков CURT1 (A–D), обнаруженных недавно в некоторых современных цианобактериях и в хлоропластах *Arabidopsis thaliana* (Armbruster et al., 2013; Heinz et al., 2016). Эти белки локализуются на границах граны, вызывая изгиб мембраны и определяя тем самым архитектуру тилакоидной сети. Предполагается, что они могли участвовать в изгибании стромальной стороны цитоплазматической мембраны при появлении первого тилакоида и используются и теперь в цианобактериях и хлоропластах. Это косвенно подтверждает предположение о роли ограниченности размера цианобактерий в начале процесса формирования системы их тилакоидов.

О ГРУППОВЫХ РАЗМЕЩЕНИЯХ ФОТОСИСТЕМ НА ТИЛАКОИДАХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Фотосинтезирующими компартментами цианобактерий, как и их потомков – растений – являются фотосистемы PSI и PSII, а их движущую фотосинтезирующую силу составляют тримеры, димеры и мономеры со светособирающими комплексами-антеннами, которые собирают фотоны и преобразуют их энергию в энергию углеводов. Сравнение размеров цианобактерий (≈1 мкм) и мономера (≈10 нм) показывает, что “точечное” приближение возможно. В отличие от цианобактериального эндосимбиоза, для которого можно предполагать свободное размещение в группе, мультимеры имеют не только фиксированное число “точек” в минимальных группах димера и тримера, но, по-видимому, и достаточно жесткое их взаимное размещение в группе.

Первые цианобактерии, участвовавшие в кислородном фотосинтезе и свободно жившие, подобно *Gloeobacter*, не имели тилакоидов и разме-

щали фотосистемы на внутренней поверхности плазматической мембраны, т.е. формально для них мы можем использовать ту же фрактальную модель растущей фотосинтезирующей системы и, следовательно, ожидать размещения фотосинтезирующих элементов по две-три точки на группу.

В работе Касселла с соавторами (Casella et al., 2017, Fig. 1E, F) приведены удивительные по детальности визуализации нативного размещения фотосистем PSI и PSII в тилакоидных мембранах цианобактерии *Synechococcus elongatus* PCC 7942, полученные с применением атомно-силовой микроскопии высокого разрешения (AFM). Эти изображения, по крайней мере рис. 4*а*, по-видимому, показывают, что этот результат моделирования (парное, димерное размещение "точек" в группах по $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2$) может по крайней мере для PSII соответствовать реальности – каждый овал (димер PSII) везде находится рядом в паре со вторым овалом и многие пары соседствуют со второй парой. Поэтому параметр $n_{g,\,\mathrm{fix}}$ спадающих зависимостей $\mu(N_p, n_{g,\,\mathrm{fix}})$ для этого изображения можно считать равным $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2^2$, если считать "точкой" мономер, а значение $n_{g,\,\mathrm{fix}} = 2^1$ соотносить с димером. Тогда из рис. 4*а*, согласно модели (рис. 2; Galitskii, 2018), следует, что предки бактерии *S. elongatus* по меньшей мере однажды могли испытывать изменение эволюционной траектории $\mu(N_p)$ и вполне возможно, что это было связано с применением белка CURT1.

В статье Макгрегора-Чатвина с соавторами (MacGregor-Chatwin et al., 2017) подобная техника AFM микроскопии была использована для исследования особенностей размещения фотосистем PSI (и PSII) на тилакоидах трех видов цианобактерий – *Thermosynechococcus elongatus*, *Synechococcus* sp. PCC 7002 и *Synechocystis* sp. PCC 6803. Показано наличие больших плотно упакованных доменов, состоящих только из фотосистем PSI (в шестиугольной схеме упаковки тримеров) и демонстрирующих наличие дальнего порядка (рис. 4*б*), а также PSI-доменов с примесью фотосистем PSII. Было выполнено структурное моделирование мембранного моно-PSI-ландшафта и переноса возбуждения через соседние мономеры PSI; вывод: основная роль схемы упаковки тримеров, по-видимому, заключается в максимизации эффективности упаковки комплексов PSI на мембране, а не в содействии передаче энергии между тримерами. Последнее можно трактовать как возможное свидетельство того, что при появлении тримерной PSI площадь мембраны была дефицитной и ее форма была близка к шарообразной. Тримерная система точек более эффективно использует площадь мембраны ($\mu \approx 0.37$) и, соответственно, энергию света, что было важно в условиях архейской Земли с атмосферой, обогащенной углеводородными компонентами и со слабым молодым Солнцем (Arney et al., 2016).

Димерная PSII, видимо, морфологически более эффективная для "палочковой" формы бактерий, использует излучение с меньшими длинами волн, более чувствительна к недостатку площади мембраны ($\mu \approx 0.25$). По данным Макгрегора-Чатвина с соавторами (MacGregor-Chatwin et al., 2017) для исследованных трех видов цианобактерий наблюдаемое соотношение тримеры/димеры равно $N_{g,\,3}/N_{g,\,2} = 4$. Оценка для приведенной в этой работе численности тримеров $N_{g,\,3} = 96$ с использованием для димера значения $\mu_2 \approx 0.24966$ (рис. 2) и вычисленного для тримера с использованием ньютоновской интерполяции значения $\mu_3 \approx 0.36539$ дает

$$N_{g,\,2} = 0.5(3N_{g,\,3})^{\mu 2/\mu 3} \qquad (3)$$

и, соответственно, $N_{g,\,3}/N_{g,\,2} \approx 4.008$. Эта оценка сделана в предположении, что фотосинтезирующие димеры и тримеры независимо занимают одну и ту же площадь внутренней мембраны цианобактерии (величины μ_2 и μ_3 вычислялись по отдельности). Такое предположение достаточно реально, поскольку димеры и тримеры эффективно располагаются на разных поверхностях плазматической мембраны цианобактерии *S. elongatus* PCC 7942: PSII примерно на 4 нм выступает на просветной стороне (Casella et al., 2017), а PSI – примерно на 3.2 нм на стромальной (MacGregor-Chatwin et al., 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ряд опубликованных в 2013–2019 гг. экспериментальных работ по морфологии и геномике цианобактерий, выполненных с использованием новейших достижений научной техники и технологии, подтверждают некоторые из представленных ранее модельных результатов или, по крайней мере, не противоречат им. Начальные этапы возникновения и эволюции аппарата фотосинтеза проходили в плоских групповых размещениях на внутренней стороне плазматической мембраны по 2–3 мономера на группу (димеры, тримеры) путем увеличения числа N_g групп и соответствующих уменьшения фрактального параметра μ до ≈ 0.25–0.37 и увеличения продукции фотосинтеза. Это давало бактериям возможность, хотя и не вполне эффективно, использовать фотосинтез, пока создавалась трехмерная тилакоидная структура с растущим μ. Начальные минимальные группы и фрактальные свойства точечных множеств согласованно вынуждали цианобактерии, размеры которых ограничены, искать конструктивные способы размещения растущего числа групп. В результате этих поисков предки цианобактерий нашли способ преодолеть ограниченность собственных размеров и, искривляя внутреннюю поверхность цитоплазматической мембраны, начали создавать дополнительные поверхности для размещения фотосинтезирующих элементов – тилакоиды. Для достижения нужной при этом высокой кривизны требовались специальные белки. Такие белки CURT1 недавно были найдены у современных растений и цианобактерий (Armbruster et al., 2013) и в тилакоидах современных цианобактерий уже имеются группы из двух димеров (рис. 4*а*) и упорядоченные массивы ($N_g\, n_g = 96 \times 3$ "точек") тримеров (рис. 4*б*), т.е. вместе с появлением тилакоидов происходит укрупнение групп и увеличение $\mu \to 1$.

С другой стороны, экспериментальные данные позволили уточнить наши представления (Галиц-

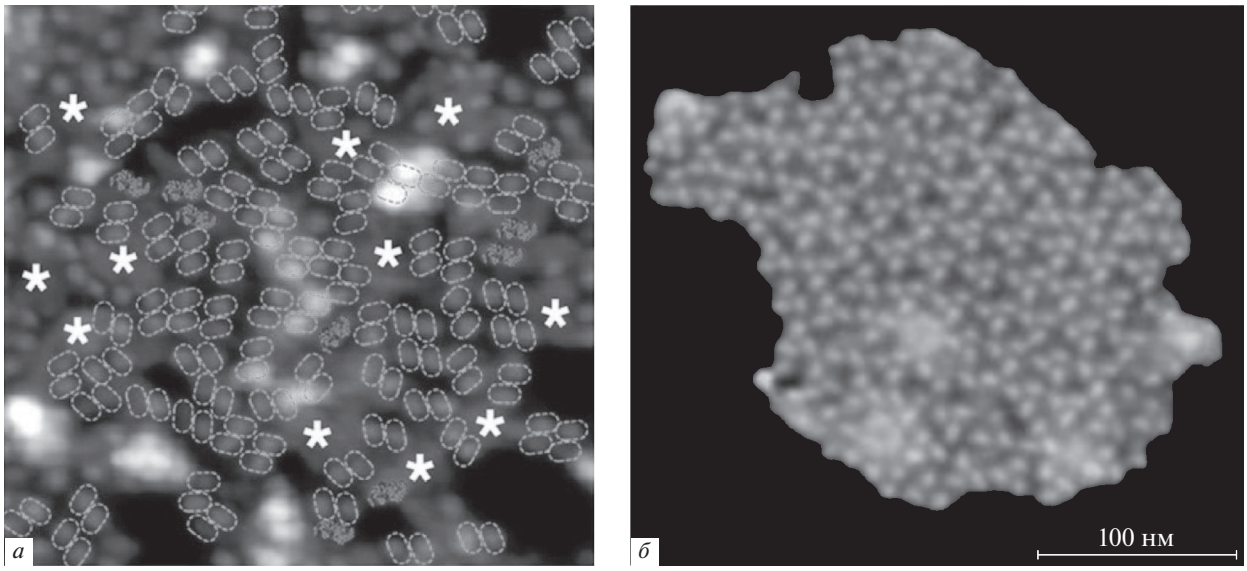

Рис. 4. *а* – AFM топография высокого разрешения просветной поверхности тилакоидных мембран цианобактерии *Synechococcus elongatus* PCC 7942 в жидком растворе (по: Casella et al., 2017, Fig. 1F). Отдельные димеры представляют собой комплексы PSII (штрих-овалы) на основании выступов комплексов на просветной поверхности мембраны. Белые звездочки указывают на возможное расположение тримеров PSI – выступы на стромальной стороне мембраны. *б* – AFM топография домена тилакоидной мембраны, содержащая массивы тримерных комплексов тилакоидной мембраны из *Thermosynechococcus elongates* (по: MacGregor-Chatwin et al., 2017, Fig. 1A). Это изображение нативной мембранной организации показывает упорядоченные массивы макромолекул, состоящие исключительно из PSI, идентифицированные по их характерной тримерной форме. Другие четыре участка мембраны показали, что PSI перемежается с белковыми комплексами, идентифицированными как PSII.

кий, 2016) о соответствии некоторых модельных результатов реальному ходу начальных этапов эволюции фотосинтезирующих организмов. Так, по-видимому, эндосимбиотическое возникновение собственно протерастения шло по траекториям эволюции μ, проходящим вблизи μ = 1.0 (рис. 2), с участием симбионтов-цианобактерий, уже прошедших заметный путь эволюции и имевших некоторое количество тилакоидов в качестве исходных элементов для образования гран (стеков из тилакоидов) в современных хлоропластах. Соответственно, траектории, проходящие вблизи μ ≈ 0.25, должны быть оставлены для начала эволюции цианобактерий с небольшим количеством групп мультимеров (димеры, тримеры и т.п.).

В данной работе использовано весьма упрощенное представление фотосинтетического аппарата: мономеры фотосистем PSI и PSII считаются морфологически одинаковыми и принимаются равноценными “фотосинтезирующими элементами”, поскольку в оксигенном фотосинтезе превращение световой энергии в химическую происходит с непосредственным участием последовательно функционирующих фотосистемы I и фотосистемы II, которые, располагаясь на разных сторонах одной мембраны тилакоида цианобактерии (см. (3)) и выполняя разные функции, совместно решают общую задачу (Карапетян, 2001; Caffarri et al., 2014; Goldschmidt-Clermont, Bassi, 2015; Ризниченко, Рубин, 2020). В процессе фотосинтеза на разных его этапах участвуют и другие белки тилакоида (интегральный цитохром-b6f-комплекс, подвижные переносчики пластохинон и пластоцианин, а также и АТФ-синтаза). Интегральные белки имеют определенное пространственное распределение, соответствующее их роли в физиологических процессах, электростатическим свойствам и т.д.

Как видно из предыдущего рассмотрения возможной причины образования тилакоидов в ходе эволюции аппарата фотосинтеза цианобактерий, фрактальный параметр μ в выражении (2), который связывает количество N_p “точек”, участвующих в процессе фотосинтеза, с размером H системы точек, не зависит (по крайней мере непосредственно) от физических и биологических характеристик аппарата фотосинтеза или его элементов, которые определяют его функционирование в онтогенетическом масштабе времени. Иными словами, в данном случае учет фрактальности объекта дает возможность естественным образом несколько редуцировать весьма громоздкую полную модель объекта (Устинин и др., 2013), получив при этом довольно хорошее согласие с экспериментальными данными о внутренней морфологии цианобактерий. С подобной особенностью, в частности, связано широкое применение методов фрактальной геометрии в исследованиях систем весьма различной природы, состоящих из множества размещенных в пространстве однотипных элементов, аддитивно вкладывающих в общую функцию системы, что собственно и характерно для фотосинтеза цианобактерии.

Автор признателен анонимному рецензенту и научному редактору Д.О. Логофету за тщательное прочтение текста и полезные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Галицкий В.В., 2012. Динамика биомассы ветвей высших порядков дерева. Модельный анализ // Журн. общ. биологии. Т. 73. № 6. С. 442–452.

Галицкий В.В., 2016. Траектории эволюции в пространстве параметров секционной модели кроны ели. Появление "проторастения" // Журн. общ. биологии. Т. 77. № 6. С. 409–422.

Карапетян Н.В., 2001. Фотосистема 1 цианобактерий: организация и функции // Успехи биол. химии. Т. 41. С. 39–76.

Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М., 1965. Теория упругости. М.: Наука. 202 с.

Мандельброт Б., 1988. Самоаффинные фрактальные множества // Фракталы в физике / Под ред. Пьетронеро Л., Тозатти Э. М.: Мир. 672 с.

Маргелис Л., 1983. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.: Мир. 352 с.

Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б., 2020. Вопросы математического моделирования в биологии. Ч. 1. Динамические модели первичных процессов фотосинтеза // Успехи соврем. биологии. Т. 140. № 4. С. 315–332.

Устинин Д.М., Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б., 2013. Сопряжение различных методов компьютерного моделирования в комплексной модели фотосинтетической мембраны // Компьютерные исследования и моделирование. Т. 5. № 1. С. 65–81.

Федер Е., 1991. Фракталы. М.: Мир. 260 с.

Цельникер Ю.Л., 1994. Структура кроны ели // Лесоведение. № 4. С. 35–44.

Armbruster U., Labs M., Pribil M., Viola S., Xu W. et al., 2013. *Arabidopsis* CURVATURE THYLAKOID1 proteins modify thylakoid architecture by inducing membrane curvature // Plant Cell. V. 25. № 7. P. 2661–2678.

Arney G., Domagal-Goldman S.D., Meadows V.S., Wolf E.T., Schwieterman E. et al., 2016. The pale orange dot: the spectrum and habitability of hazy Archean Earth // Astrobiology. V. 16. № 11. P. 873–899.

Bernat G., Schreiber U., Sendtko E., Stadnichuk I.N., Rexroth S. et al., 2012. Unique properties vs. common themes: The atypical cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 is capable of state transitions and blue-light-induced fluorescence quenching // Plant Cell Physiol. V. 53. № 3. P. 528–542.

Bussi Y., Shimoni E., Weiner A., Kapon R., Charuvi D. et al., 2019. Fundamental helical geometry consolidates the plant photosynthetic membrane // PNAS. V. 116. № 44. P. 22366–22375.

Caffarri S., Tibiletti T., Jennings R.C., Santabarbara S., 2014. A comparison between plant photosystem I and photosystem II architecture and functioning // Curr. Protein Pept. Sci. V. 15. P. 296–331.

Casella S., Huang F., Mason D., Zhao G., Johnson G.N. et al., 2017. Dissecting the native architecture and dynamics of cyanobacterial photosynthetic machinery // Mol. Plant. V. 10. P. 1434–1448.

Galitskii V.V., 2016. Initial growth deceleration as an immanent property of plants // Paleontol. J. V. 50. № 13. P. 77–87.

Galitskii V.V., 2018. Fractal features of proto-plant's origin and their possible consequences // bioRxiv. https://doi.org/10.1101/083543

Goldschmidt-Clermont M.P., Bassi R., 2015. Sharing light between two photosystems: mechanism of state transitions // Curr. Opin. Plant Biol. V. 25. P. 71–78.

Heinz S., Rast A., Shao L., Gutu A., Gügel I.L. et al., 2016. Thylakoid membrane architecture in *Synechocystis* depends on CurT, a homolog of the granal CURVATURE THYLAKOID1 proteins // Plant Cell. V. 28. P. 2238–2260.

MacGregor-Chatwin C., Sener M., Barnett S.F.H., Hitchcock A., Barnhart-Dailey M.C. et al., 2017. Lateral segregation of photosystem I in cyanobacterial thylakoids // Plant Cell. V. 29. P. 1119–1136.

Mareš J., Strunecký O., Bucinská L., Wiedermannová J., 2019. Evolutionary patterns of thylakoid architecture in cyanobacteria // Front. Microbiol. V. 10. Art. 277. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00277

Mechela A., Schwenkert S., Soll J., 2019. A brief history of thylakoid biogenesis // Open Biol. V. 9. P. 180–237.

Montejano G., Becerra-Absalon I., Gold-Morgan M., Osorio-Santos K., 2018. *Gloeobacter violaceus*: primitive reproductive scheme and its significance // Plant Syst. Evol. V. 304. P. 1221–1229.

Mullineaux C.W., 1999. The thylakoid membranes of cyanobacteria: structure, dynamics and function // Aust. J. Plant Physiol. V. 26. P. 671–677.

Mustárdy L., Garab G., 2003. Granum revisited. A three-dimensional model – where things fall into place // Trends Plant Sci. V. 8. P. 117–122.

Nozaki H., 2005. A new scenario of plastid evolution: Plastid primary endosymbiosis before the divergence of the "Plantae," emended // J. Plant Res. V. 118. P. 247–255.

Rast A., Schaffer M., Albert A., Wan W., Pfeffer S. et al., 2019. Biogenic regions of cyanobacterial thylakoids form contact sites with the plasma membrane // Nat. Plants. V. 5. P. 436–446.

Stengel A., Gugel I.L., Hilger D., Rengstl B., Jung H., Nickelsen J., 2012. Initial steps of photosystem II de novo assembly and preloading with manganese take place in biogenesis centers in *Synechocystis* // Plant Cell. V. 24. P. 660–675.

Fractal character of the formation of the cyanobacteria's thylakoid system

V. V. Galitskii*

Institute of Physical-Chemical and Biological Problems of Soil Science, RAS
Institutskaya str., 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia
**e-mail: galvv@rambler.ru*

The peculiarities of the fractal parameter $\mu(N_g, n_g)$ of the set of points dependence on the number of groups N_g and n_g points per group could stimulate the formation of thylakoids carrying PSI and PSII photosystems during the evolution of cyanobacteria. With an increase in the number of N_g groups at a fixed number of points n_g (2–3, dimers, trimers) per group, the virtual total size $H \sim (N_g n_g)^{1/\mu}$ of the photosynthetic apparatus of cyanobacteria could become many times larger than the limited size of the bacterium itself. The published experimental data confirming the validity of this conclusion are discussed.

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2021, том 82, № 5, с. 389–400

УДК 57.08

3D-БИОПРИНТИНГ МИКРООКРУЖЕНИЯ ОПУХОЛИ: ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ

© 2021 г. С. В. Тимофеева[1, *], Т. В. Шамова[1], А. О. Ситковская[1]

[1]Национальный медицинский исследовательский центр онкологии МЗ РФ
Ул. 14-я линия, 63, Ростов-на-Дону, 344037 Россия

*E-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

Поступила в редакцию 27.04.2021 г.
После доработки 03.06.2021 г.
Принята к публикации 21.06.2021 г.

Достижения в области клеточной и молекулярной биологии привели к развитию персонализированной медицины, направленной на адаптацию методов диагностики и лечения для каждого конкретного пациента. Одним из таких достижений считается 3D-биопринтинг. Методы 3D-биопринтинга позволяют воссоздать микроокружение опухоли (tumor microenvironment, TME) пациента, максимально точно отражая ключевые этапы распространения рака, такие как инвазия, интравазация и ангиогенез. В качестве биочернил для 3D-печати используют разные типы клеток в зависимости от опухоли. В основном исследования в данной области концентрируются на нескольких направлениях: оптимизация биочернил и конструкций, выбор между использованием иммортализованных или первичных клеточных линий для печати и тестирование противоопухолевых агентов в 2D- и 3D-моделях различных злокачественных опухолей. Таким образом, разработка 3D-моделей TME создает условия для оптимизации стратегии лечения опухоли *in vitro*. В настоящем обзоре описаны уже существующие 3D-модели TME различных нозологий и перспективы их использования в онкологии.

DOI: 10.31857/S0044459621050067

На фоне растущего интереса к использованию иммунотерапии для лечения онкологических больных становится крайне важно оценить возможность формирования идентичной пациенту модели опухоли с имитацией иммунного профиля и ее микроокружения (tumor microenvironment, TME) (Олейник и др., 2020).

Опухоль включает несколько типов клеток, каждый из которых играет определенную роль в развитии и скорости прогрессирования заболевания, а также в прогнозе и исходе лечения. Опухоль каждого конкретного пациента уникальна за счет гетерогенности клеток, набора молекулярно-генетических маркеров, а также собственного спектра продуцируемых биологических веществ и состава рецепторов (Скворцова и др., 2014).

Недавние исследования показали, что различные типы клеток, обнаруженные в TME, важны для модуляции биологии опухоли, а также для реакции на лекарственные соединения (Jeffries et al., 2020). Основной проблемой при разработке потенциальных противоопухолевых препаратов и методов лечения является несоответствие эффективности кандидатов *in vitro* и *in vivo* (Vanderburgh et al., 2017). В отличие от монослойных культур клеток на плоских поверхностях, которые не способны воспроизвести характеристики естественного TME, сфероиды имитируют нативные ткани, повторяя их архитектонику, спектр растворимых веществ, экспрессию ряда рецепторов, сложные взаимодействия клеток между собой, а также внеклеточный матрикс (ВКМ) (Просекина и др., 2019; Межевова и др., 2020а). Таким образом, создание опухолевых 3D-моделей позволяет решить проблему пространственного расположения гетерогенных клеток в культуре, а также имитировать естественное поведение TME *in vivo* как на фенотипическом, так и на генетическом уровнях (Meng et al., 2019).

В настоящем обзоре рассмотрены последние достижения в области 3D-биопринтинга TME и перспективы их использования в онкологии.

TME

Микроокружение опухоли характеризуется двунаправленной связью между множеством клеточных и неклеточных компонентов, оказывая влияние на развитие и прогрессирование рака (Jin M., Jin W., 2020). TME представляет собой строму с клетками различного типа: ангиогенные сосудистые, инфильтрирующие иммунные, эндотелиальные, стромальные клетки, сопутствующие белки внеклеточного матрикса и внеклеточные сигнальные молекулы (хемокины, цитокины, факторы роста, метаболические регуляторы) (Altorki et al., 2019; Олейник и др., 2020).

Ангиогенез является одним из основных факторов прогрессирования и метастазирования опухоли (Hanahan, Weinberg, 2011) (рис. 1). Вслед-

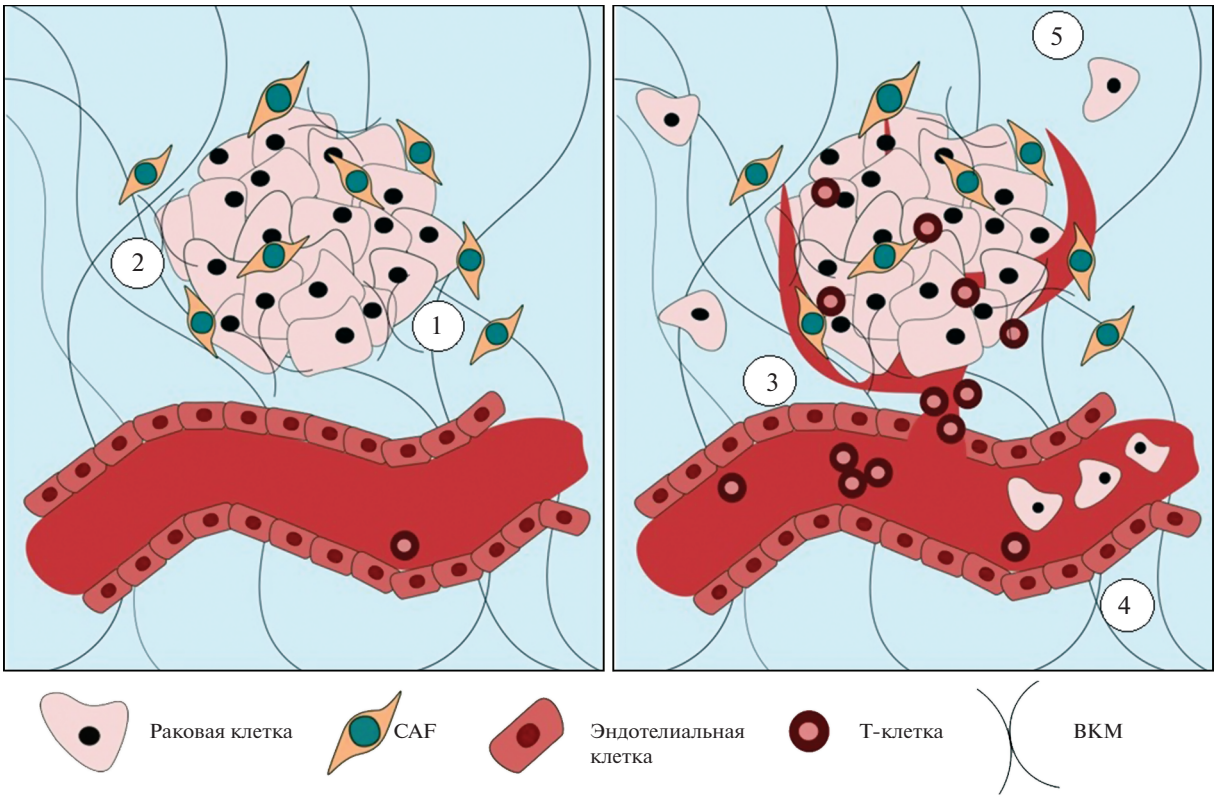

Рис. 1. Схема взаимодействия TME и стромальных клеток опухоли, а также распространение опухолевых клеток и интравазация в кровеносные сосуды. 1 – секреция ВКМ; 2 – рекрутирование провоспалительных клеток; 3 – ангиогенез; 4 – циркулирующие опухолевые клетки; 5 – диссеминирование опухолевых клеток. CAF – опухоль-ассоциированные фибробласты.

ствие структурных и функциональных изменений свойств сосудистой сети внутри опухоли появляются участки гипоксии. Гипоксия в опухоли может повлиять на экспрессию генов опухолевых клеток, тем самым увеличивая выживаемость клеток и их устойчивость к апоптозу (Trédan et al., 2007). Процесс ангиогенеза регулируется рядом факторов роста, таких как фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), трансформирующий фактор роста α (TGF-α) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) (Fukumura et al., 1998).

Известно, что состав и функции иммунных клеток в TME значительно различаются между разными типами злокачественных опухолей. Метаболические изменения и недостаток питательных веществ меняют фенотип и функции Т-лимфоцитов в пределах TME (Zhang et al., 2017). Исследователи сходятся во мнении, что Т-клетки в TME находятся в состоянии анергии, т.е. гипореактивности с нарушенной пролиферацией и секрецией интерлейкина-2 (IL-2) (Jiang et al., 2015). Недостаток глюкозы в TME может стать одной из причин подобного состояния. Поскольку основной метаболической программой опухолевых клеток является гликолиз, опухолевые клетки захватывают больший процент глюкозы из TME, вследствие чего Т-клетки лишаются энергетического субстрата. Таким образом, Т-клетки полностью не активируются, и поэтому уменьшается их экспансия и дифференцировка, что приводит к снижению эффекторных функций Т-клеток в TME (Chang et al., 2013). Выделяют еще несколько основных причин нарушения функций Т-клеток в TME: отсутствие распознавания Т-клеточными рецепторами, потеря способности к клональной экспансии антигенспецифических Т-клеток (Töpfer et al., 2011), подавление иммунной активации опухолевыми ингибиторами костимуляции (Pardoll, 2012) и др. (Gajewski, 2007).

В свою очередь, иммунные клетки тесно взаимодействуют со стромальными, включая опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ) (Lakins et al., 2018). Фибробласты составляют значительную часть стромальных элементов злокачественных опухолей. В покоящемся состоянии фибробласты не обладают активированным фенотипом и продуцируют компоненты ВКМ (коллаген, гликозаминогликаны и гликопротеины), которые необходимы в случае ремоделирования тканей, например, при формировании фиброза. Активация ОАФ происходит за счет факторов микроокружения, таких как трансформирующий фактор роста β (TGF-β), bFGF. ОАФ продуциру-

ют сигнальные белки (фактор роста гепатоцитов (HGF), а также гормоны и цитокины), способствуя усилению пролиферации опухолевых клеток (Avnet et al., 2019). Кроме того, ОАФ экспрессируют факторы ангиогенеза, такие как VEGF и PDGF. Потенциальными источниками ОАФ могут быть активированные факторами роста мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга или эпителиальные/эндотелиальные клетки, которые приобретают свойства мезенхимальных клеток через эпителиально-мезенхимальный переход/эндотелиально-мезенхимальный переход (ЭМП/ЭндМП) (Anderberg et al., 2009). ОАФ продуцируют матриксные металлопротеиназы (ММП), которые оказывают влияние на ангиогенез и метастазирование клеток, способствуя инвазии опухолевых клеток (Kalluri, Zeisberg, 2006). ОАФ не подвержены апоптозу, и их активация необратима.

Подвидом активированных фибробластов являются миофибробласты. Миофибробласты обладают комбинированными свойствами фибробластов и гладкомышечных клеток (Arneth, 2019). Миофибробласты, в отличие от фибробластов, характеризуются экспрессией гладкомышечного актина-α (α-SMA) в ответ на стимуляцию TGF-β и PDGF и при онкогенезе (Choi et al., 2018). Миофибробласты продуцируют стромальный фактор роста-1 (SDF-1), который усиливает рост опухоли и метастазирование через рецептор CXCR4. Помимо этого, миофибробласты секретируют компоненты, которые стимулируют инвазию опухолевых клеток – инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), HGF, VEGF, IL-6 (Affo et al., 2017).

Эндотелиальные клетки локализуются в лимфатических и кровеносных сосудах и формируют сосудистую сеть опухоли. Пролиферация эндотелиальных клеток может быть инициирована VEGF или bFGF (Hanahan, Weinberg, 2011).

Одной из субпопуляций опухолевых клеток являются опухолевые стволовые клетки (ОСК), которые взаимодействуют с TME посредством активации сигнальных каскадов Notch-1 и PI3K (Mao et al., 2013; McAndrews et al., 2015). ОСК способствуют выработке фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1α), VEGF и проангиогенных факторов и могут оставаться жизнеспособными в условиях гипоксии благодаря ОАФ и ЭМП (Chang et al., 2008; Lam, 2013). Кроме того, данный тип опухолевых клеток способен проникать в базальные мембраны и мигрировать в отдаленные органы и ткани, где образуют метастатические очаги. В то же время одной из основных функций ОАФ являются секреции экзосом, которые стимулируют миграцию клеток. Экзосомы представляют собой везикулы, просвет которых заполнен различными клеточными белками (HRAS, KRAS, BCR-ABL, miR125b, miR130b, miR155), а также цитокинами и хемокинами (Boyiadzis, Whiteside, 2017), а на мембране присутствуют рецепторы, выполняющие различные функции.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой негематопоэтические мультипотентные стволовые клетки, которые дифференцируются в мезодермальные линии, такие как остеоциты, адипоциты, хондроциты, а также эктодермальные (нейроциты) и энтодермальные линии (гепатоциты). МСК экспрессируют поверхностные маркеры CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 и обладают иммуномодулирующими свойствами. МСК взаимодействуют с опухолевыми клетками посредством иммунных рецепторов и секреции цитокинов (Ullah et al., 2015).

Немаловажным аспектом в формировании специфичного иммунного профиля TME является мутационная нагрузка опухоли. Особенности мутационной нагрузки индуцируют фенотипические, функциональные и эпигенетические изменения в клетках. Известно, что эпигенетические изменения генов, связанных с клеточным циклом, инактивацией p53 и нарушениями в системе репарации ДНК, приводят к гиперметилированию иммунных клеток. При исследовании рака легкого среди лимфоцитов у больных были обнаружены клетки с аномальным метилированием генов, в том числе p53. Вероятно, что внутри опухолевых участков происходит сложное сигнальное взаимодействие между опухолевыми, иммунными и стромальными клетками, которое влияет на возникновение аберрантных эпигенетических событий.

В настоящее время становится все более очевидным, что фактический состав TME, а также то, какое влияние он оказывает на развитие и прогрессирование рака, может варьировать в зависимости от пациента и типа рака. Поэтому целесообразно использовать первичные клеточные линии для создания опухолевых 3D-моделей (Межевова и др., 2020б; Шамова и др., 2020).

МЕТОДЫ 3D-БИОПРИНТИНГА

Существует три базовых метода биопринтинга: струйный, лазерный и печать на основе экструзии; для каждого из них используют специальные биочернила (рис. 2).

Независимо от источника, биочернила должны обеспечивать жизнеспособность клеток в заданной структуре, а также обладать подходящими механическими свойствами для биопечати и сохранения формы объекта (Masaeli, Marquette, 2020). Наиболее распространенным способом построения трехмерных тканей является использование гидрогелей в качестве материалов для каркасов. Гидрогели обеспечивают опорную структуру для клеток во время 3D-культивирования.

Преимуществами **струйных** биопринтеров являются невысокая стоимость приборов и способность одновременно печатать несколькими типами клеток. Однако данный метод ограничен выбором материала, для него подходят лишь гидрогели с низкой вязкостью. Дополнительными минусами метода являются неоднородность струи, а также

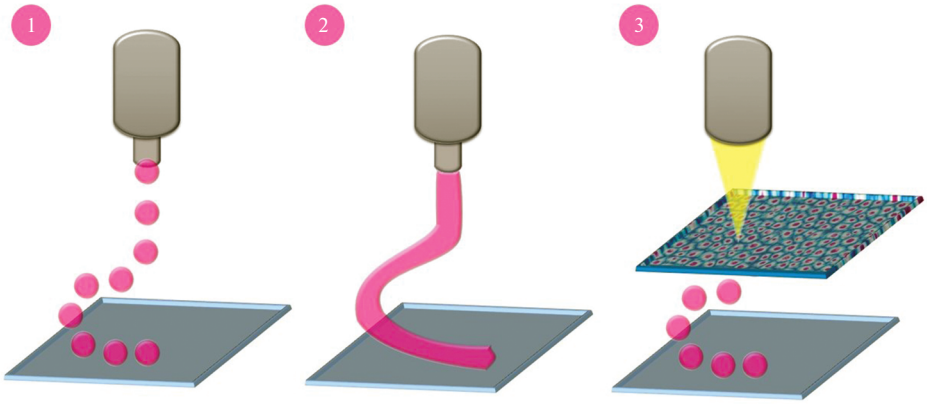

Рис. 2. Основные методы 3D-биопринтинга: 1 – струйный, 2 – экструзионный, 3 – лазерный.

непостоянная концентрация клеток в струе (Zeming et al., 2020). Электрогидродинамическая струйная (E-jet) печать – это новый метод печати с высоким разрешением, позволяющий точно контролировать геометрические характеристики изготовляемых каркасов с использованием широкого диапазона материалов (Ahn et al., 2011; Visser et al., 2015). E-jet печать позволяет создавать детали размером от микро- до нанометров за счет индукции тонкой струи печатного материала с помощью электрического поля. Диаметр такой струи намного меньше диаметра сопла (Visser et al., 2015). Таким образом, электрогидродинамическая струйная печать подходит для создания структур очень мелкого масштаба (Liu et al., 2017).

Лазерный биопринтинг позволяет печатать с высоким разрешением разные типы клеток без загрязнения дозатора биочернилами за счет бесконтактного нанесения. Тем не менее жизнеспособность клеток при использовании данного метода печати снижена из-за возможных повреждений клеток лазерным лучом или контаминации металлом во время печати (Zhang et al., 2017).

Биопринтинг на основе **экструзии** позволяет создавать трехмерные структуры слой за слоем путем непрерывного распыления гидрогелей посредством механического или воздушного давления в место нанесения отдельных капель. Этот метод используют для разных типов клеток и материалов, поэтому область его применения шире по сравнению с другими методами. Для данного метода используют либо химически сшиваемые биочернила, либо биочернила, способные к термическому гелеобразованию при комнатной температуре. Чаще всего используют гидрогели высокой вязкости из биосовместимых полимеров с высокой плотностью клеток, которые позволяют сохранять их жизнеспособность на 90% (Munaz et al., 2016).

Благодаря стремительному развитию технологии 3D-биопринтинга за последнее десятилетие был разработан ряд новых методов. Метод стереолитографической 3D-печати создает трехмерные тканевые конструкции послойно. 3D-модель преобразуется в стопку нарезанных 2D-изображений. Каждое 2D-изображение в стопке представляет собой поперечное сечение 3D-модели в указанной плоскости сверху. Преимущество данного метода заключается в возможности масштабирования и быстрой печати очень сложных каркасов. В отличие от печати на основе экструзии, где биоматериал подвергается термическому воздействию, при стереолитографической 3D-печати используют фотосшиваемые биочернила, таким образом, раствор биочернил полимеризуется под действием света (Gu et al., 2020).

В Университете Сага в Японии был разработан метод Кензана, суть которого заключается в создании микроокружения без каркасов на основе матрицы микроигл “Кензан” и вставки клеточных сфероидов. Метод Кензана обеспечивает пространственную организацию сфероидов с использованием микроигл в качестве временной опоры. Сфероиды сливаются в клеточные агрегаты и секретируют внеклеточный матрикс, иглы втягиваются, что приводит к образованию тканевой структуры без каркасов (Murata et al., 2020).

Новый подход к моделированию гетерогенной микросреды опухоли объединяет принципы микрофлюидики и 3D-биопринтинга с методами совместного культивирования. Такой подход повышает эффективность использования 3D-моделей опухолей *in vitro* для изучения механизмов патогенеза и скрининга препаратов. Поток жидкости вводят через микрофлюидные системы, которые воспроизводят динамическое микроокружение опухоли. Интерстициальный поток в опухолевой ткани и вокруг нее влияет на механическое микроокружение, моделируя рост опухолевых клеток и метастазирование (Mazzocchi et al., 2019).

Также существует метод 3D-печати, основанный на точном позиционировании клеточных сфероидов с помощью аспирации. Метод позволяет без каркасов создавать многослойные конструкции, которые имитируют структуру нативной ткани (Ayan et al., 2020).

ПРИМЕНЕНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ 3D-МОДЕЛЕЙ

Интеграция сосудистых сетей в состав опухолевых 3D-моделей является одним из основных преимуществ 3D-биопринтинга по сравнению с применением 2D-культур опухолевых клеток. Сосудистые сети играют ключевую роль в транспортировке питательных веществ и кислорода к клеткам опухоли *in vivo*, тем самым способствуя прогрессированию рака (Jabłońska-Trypuć et al., 2016). В данном разделе подробно описывается прогресс, достигнутый на моделях *in vitro* различных типов опухолей, созданных с помощью биопечати.

Рак молочной железы

Рак молочной железы (РМЖ) является одним из самых распространенных видов инвазивного рака. По причине гетерогенности РМЖ наличие даже небольшой популяции ОСК с высокой вероятностью приводит к рецидиву заболевания (Thorat, Balasubramanian, 2020). Поэтому для оптимальной тактики лечения пациентов с РМЖ следует также определять состав ТМЕ (Dias et al., 2019).

В 2016 г. при помощи стереолитографической 3D-печати был создан биомиметический костный матрикс, состоящий из остеобластов или МСК, инкапсулированных в гидрогель на основе метакрилат-желатина с нанокристаллическим гидроксиапатитом (Zhou et al., 2016). Данная 3D-модель была направлена на изучение взаимодействия между клетками РМЖ и МСК. В результате совместного культивирования клеток РМЖ и МСК усиливалась пролиферация клеток РМЖ, подавляя пролиферацию МСК. Кроме того, клетки РМЖ только в присутствии МСК демонстрировали повышенную секрецию VEGF. Таким образом, в данной работе был изучен метастатический потенциал клеток РМЖ в присутствии МСК.

Лангер с соавторами (Langer et al., 2019) использовали биопринтер Novogen MMX Bioprinter (Organovo Inc., США) для создания модели, включающей опухолевый и стромальный компартменты. 3D-модель РМЖ состояла из нескольких типов клеток, включая эстроген-положительную (ER+) линию клеток MCF-7, первичные фибробласты молочной железы человека (HMF) и эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVEC). Клетки для каждого компартмента смешивали и ресуспендировали в гидрогеле при 37°C до конечной концентрации 1.5–2.0 × 10^8 клеток/мл. Биочернила состояли из альгинатсодержащего гидрогеля (1% альгината натрия Pronova UP LVG NovaMatrix (Норвегия) и 6% желатина Millipore Sigma) в натрий-фосфатном буфере (PBS). Важно отметить, что на основе полученной 3D-модели РМЖ были смоделированы процессы инвазии и миграции опухолевых клеток в ТМЕ. В стромальный компартмент ткани вместе с HMF и HUVEC добавляли первичные подкожные преадипоциты человека, так как известно, что взаимодействие опухолевых клеток РМЖ с адипоцитами усиливает инвазию и устойчивость к лекарственной терапии (Dirat et al., 2011). Помимо этого, аналогично в стромальный компартмент были добавлены предшественники МСК, зрелые клетки которых, по данным литературных источников, секретируют хемокины, цитокины, факторы роста и белки ВКМ, что приводит к усилению пролиферации и миграции опухолевых клеток (Zhu et al., 2006; Djouad et al., 2007; Karnoub et al., 2007; Shi et al., 2017). Данная модель гетероцеллюлярной опухоли позволила воспроизвести различные характеристики неопластических тканей, а также исследовать клеточные ответы во время манипуляций с ТМЕ.

Недавно была разработана 3D-модель с использованием культуры клеток РМЖ (21PT) и стволовых клеток, полученных из жировой ткани (adipose-derived stem cells, ADSC) (Wang et al., 2018c). В качестве противоопухолевого агента применяли доксорубицин. Для печати использовали 3D-биопринтер (Bioplotter, Envision TEC) и два типа фото-сшиваемых биочернил на основе функционализированной метакрилатом гиалуроновой кислоты и метакрилат-желатина (все Sigma). 3D-модель представляла собой диск, в центре которого располагались клетки 21PT, а по краям – ADSC. Для имитации разной степени ожирения увеличивали или уменьшали слой ADSC. Данная модель позволила установить прямую зависимость между толщиной слоя ADSC и устойчивостью клеток РМЖ к доксорубицину.

Стоит отметить, что опухолевые клетки РМЖ в 3D-моделях показали более высокую устойчивость к химиотерапевтическим препаратам по сравнению с клетками в 2D-культурах (Zhu et al., 2016). Также эти исследования подтверждают возможность создания достоверной 3D-модели РМЖ с помощью трехмерной биопечати.

Рак кожи

По данным Всемирной организации здравоохранения, меланома составляет <5% всех случаев рака кожи, но представляет собой наиболее агрессивный подтип, на который приходится порядка 80% летальных исходов, и число случаев быстро растет (Siegel et al., 2020). Меланома возникает в результате злокачественной трансформации меланоцитов, которые представляют собой естественные пигментированные клетки эпидермиса для защиты митотически активных кератиноцитов от повреждений, вызванных УФ-лучами.

Для 3D-биопечати опухолевой модели меланомы в 2019 г. Шмидт с соавторами (Schmidt et al., 2019) использовали биопринтер на основе пневматической экструзии Cellink (Cellink, Швеция) и две клеточные линии меланомы, меченные флюорофорами – Mel Im GFP и MV3dc. Перед печатью суспензии клеток смешивали в соотношении 1 : 11 с разными гидрогелями на основе альгината

(Cellink Bioink, Cellink RGD, GelXA или GelXA Laminink+ – все от Cellink) до конечной концентрации 10^5 клеток/мл и вносили в картриджи (Cellink). Трехслойные решетки размером 1 × 2 см печатали на покровных стеклах в соответствии с протоколами производителя и сшивали с помощью полимеризующего агента (Cellink), содержащего 50 мМ CaCl. Для печати с матригелем клетки смешивали в соотношении 1 : 11 с охлажденным раствором Matrigel (Corning) до конечной концентрации 10^5 клеток/мл и переносили в картридж. После полимеризации все конструкции покрывали соответствующей культуральной средой и инкубировали при 37°C во влажной среде с содержанием 8% CO_2. В результате была продемонстрирована пригодность всех протестированных биоматериалов для биопечати клеток меланомы. Жизнеспособность напечатанных клеток оценивалась в течение 14 суток культивирования. В матригеле клетки были способны пролиферировать, мигрировать внутри геля и образовывать плотные сети по всей конструкции. При этом в гидрогелях на основе альгината клетки оставались жизнеспособными, но не пролиферировали (Schmidt et al., 2019).

Рак легкого

Рак легкого – это глобальная проблема общемирового здравоохранения, ежегодно регистрируется около 1.3 млн новых случаев. Основное внимание в исследованиях рака легкого было уделено внутренним свойствам опухолевых клеток (Владимирова и др., 2012), однако недавно Ламбрехтс с соавторами (Lambrechts et al., 2018) идентифицировали 52 подтипа стромальных клеток, включая новые субпопуляции в типах клеток, которые до сих пор считались однородными, а также факторы транскрипции, лежащие в основе их гетерогенности. Моделирование межклеточных взаимодействий между стромой и опухолевыми клетками способствовало определению прогностической и патофизиологической роли ТМЕ при раке легкого.

Исследование Вана и соавторов (Wang et al., 2018d) было направлено на разработку трехмерной модели рака легкого и оценку возможности ее применения в биомедицинских целях с использованием культур клеток A549 и 95-D в качестве таргетных. Клетки равномерно распределялись в напечатанном гидрогеле на основе альгината и желатина, сохраняя свою жизнеспособность. Вместе с тем была проведена предварительная оценка биологических свойств напечатанных клеток, в основном на способность к инвазии и миграции клеток, с использованием скретч-теста и анализа экспрессии генов ММП2 и ММП9. Результаты показали, что экспрессия генов ММП2 и ММП9 в клетках A549 была выше, чем в 95-D. Это подтверждает, что на генетическом уровне ТМЕ неравномерно оказывает влияние на разные типы клеток в пределах одной нозологии (Wang et al., 2018d).

Таким образом, способность моделировать взаимодействия между клетками и внеклеточным матриксом в ТМЕ *in vitro* может помочь в прогнозировании прогрессирования опухоли и оценке эффективности ее лечения.

Колоректальный рак

Колоректальный рак (КРР) характеризуется дезорганизацией и хаотичным образованием тканей. ТМЕ этой опухоли представляет собой сложный промежуточный ВКМ, содержащий множество стромальных клеток, включая фибробласты и эндотелиальные клетки (Kuipers et al., 2013; Lorenzon et al., 2016). Традиционным 2D-культурам не хватает разнообразия внутренней пространственной организации, типов клеток и ТМЕ для исследований межклеточных взаимодействий между компонентами стромы и опухолевыми клетками КРР (Lee et al., 2017; Филиппова и др., 2020). Поэтому была разработана 3D-модель КРР на основе каркасов из поликапролактона (PCL) при помощи системы 3D E-jet печати (Liu et al., 2017; Tan et al., 2017). В данной работе использовали клеточные линии: колоректальный рак (HCT116), HUVEC, фибробласты легкого человека (HELF). Для получения ТМЕ-ассоциированных клеток нормальные стромальные клетки HELF и HUVEC были активированы и трансформированы в ОАФ и эпителиальные клетки тимуса (TEC). Для образования ВКМ HCT116, ОАФ и TEC сокультивировали в течение 7 суток в пропорции 5 : 1 : 1 на стерильных каркасах (1 × 10^6 клеток/мл) в чашках Петри в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной бычей сыворотки (FBS), после чего анализировали путем секвенирования РНК. В качестве контроля использовали клетки, культивированные в коллаген-альгинатном гидрогеле. В результате экспрессия ММП2 в ОАФ и Ki67 в HCT116 в 3D-модели была выше, чем в 2D-модели, что позволяет предположить, что опухолевые клетки, выращенные в трехмерной среде, имеют более высокую скорость пролиферации.

Таким образом, каркасы коллаген-PCL, напечатанные на 3D-принтере, обеспечивали многофункциональную поддержку клеток, способствуя их физиологическим функциям, таким как рост, адгезия, стволовость, преваскуляризация и ремоделирование матрикса. Благодаря использованию активированных стромальных клеток стало возможным генерировать ТМЕ, которое имитировало ТМЕ *in vivo*, при правильном восстановлении физиологической передачи сигналов опухоли (Chen et al., 2020).

Рак печени

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – одна из наиболее распространенных злокачественных форм рака (Sabaila et al., 2015). 3D-модель гепато-

карциномы была изготовлена Ма с соавторами (Ma et al., 2016) с помощью двухэтапного метода стереолитографической биопечати. В этой 3D-модели был создан паттерн децеллюляризованного внеклеточного матрикса (дВКМ) печени в виде гексагональной дольчатой структуры из клеток-предшественников печени (HPC) и эндотелиальных клеток человека из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). Производные HPC в трехмерной культуре демонстрировали дифференциальную экспрессию генов, связанную с секрецией специфичных для печени белков, таких как транстиретин, ядерный фактор гепатоцитов 4α, альбумин, соответствующих различным стадиям созревания клеток внутри конструкций. Клетки в 3D-конструкциях также демонстрировали повышенный уровень базального цитохрома P450, что указывало на созревание взрослых гепатоцитов и индукцию рифампицином определенных подтипов этой ферментной системы. Таким образом, результаты свидетельствовали о разработке физиологически релевантной конструкции.

В исследовании Колески с соавторами (Kolesky et al., 2014) использовали устройство для печати с несколькими соплами: Pluronic F127 (трехблочный сополимер поли(этиленоксид)–поли(пропиленоксид)–поли(этиленоксид)) печатался с использованием одного сопла, второе сопло использовалось для биопечати клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2), а третье – для HUVEC в гидрогеле. Таким образом, была разработана масштабируемая платформа для создания инженерных тканевых конструкций, содержащих сосудистые каналы и несколько типов клеток внутри ВКМ из биочернил на основе метакрилат-желатина (Kolesky et al., 2014).

Рак яичников и шейки матки

Рак яичников и шейки матки – наиболее злокачественные опухоли репродуктивной системы. Рак яичников обычно не выявляется на ранних стадиях и чаще всего диагностируется после распространения опухоли на другие органы (Watters et al., 2018). Рак яичников представляет собой гетерогенную систему, поэтому в 2D-модели невозможно точно воссоздать микроокружение данной опухоли. В связи с этим была разработана модель опухоли на субстрате Matrigel путем совместного биопринтинга клеток рака яичников (OVCAR-5) и фибробластов легких человека (MRC-5) (Xu et al., 2011). Авторы наблюдали изменение образования клеточных конгломератов OVCAR-5 в модели сокультивирования, а также в модели, в которой сохранялось определенное расстояние между OVCAR-5 и MRC-5. Эти 3D-модели продемонстрировали разную чувствительность к совместной фотодинамической терапии с бензорфирином и введением карбоплатина (Datta et al., 2020).

В другой работе (Zhao et al., 2014) исследовали влияние паклитаксела на клетки карциномы шейки матки (HeLa), инкапсулированные в смеси фибриногена, альгината и желатина и напечатанные методом последовательной экструзии. По сравнению с 2D, в 3D-модели наблюдали различия в показателях пролиферации, экспрессии ММП и маркеров химиорезистентности к паклитакселу. Помимо этого, наблюдалось формирование 3D-сфероидов, вероятно, из-за усиленных межклеточных взаимодействий.

Глиобластома

Среди нейроэпителиальных опухолей глиобластома (ГБМ) является наиболее агрессивной опухолью, с медианой выживаемости не более 15 месяцев (Omuro, DeAngelis, 2013). На сегодняшний день результат лечения глиобластомы остается неудовлетворительным, устойчивость раковых клеток к лекарственным препаратам является основной причиной рецидива ГБМ. В связи с этим существует необходимость разработки 3D-модели *in vitro*, подходящей для исследования лекарственной устойчивости клеток ГБМ.

В работе Дая с соавторами (Dai et al., 2016) при помощи биопечати была создана трехмерная модель стволовых клеток глиомы с использованием пористого гидрогеля, имитирующего внеклеточный матрикс. В результате были получены скаффолды, представляющие собой пористые сетки круглой или квадратной формы. Для печати скаффолдов использовали биочернила на основе желатина, альгината натрия и фибриногена в соотношении 2 : 1 : 1 и линию стволовых клеток глиомы (SU3) (Wan et al., 2012; Dai et al., 2015). Выживаемость SU3 составила 86.92%, сразу после биопринтинга наблюдалась активная пролиферация клеток. В течение периода культивирования SU3 в составе скаффолдов не только сохранили присущие им характеристики опухолевых стволовых клеток, но также продемонстрировали потенциал к дальнейшей клеточной дифференцировке. Результаты определения чувствительности к лекарственной терапии показали, что 3D-модель глиобластомы более устойчива к темозоломиду (TMZ), по сравнению с 2D-моделями, при концентрациях TMZ 400–1600 мкг/мл. Темозоломид – новый тип алкилирующего агента и наиболее часто используемый химиотерапевтический препарат для лечения ГБМ (Karachi et al., 2018).

В недавнем исследовании Вана с соавторами (Wang et al., 2018a) с целью изучения опухолевого ангиогенеза была разработана 3D-модель методом экструзионного биопринтинга в виде гидрогелевых каркасов, засеянных стволовыми клетками глиомы линии GSC23. В данном эксперименте смешивали фибриноген с желатином и альгинатом, что обеспечило хорошую биоактивность и механическую прочность напечатанных каркасов. Взаимосвязанные микропоры внутри каркасов имитировали сосудистую сеть, что усиливало обмен питательных веществ, кислорода и метаболических отходов в модели. Примечательно, что в 3D-модели увеличилось количество межклеточ-

ных взаимодействий и улучшились паракринные и аутокринные функции клеток.

В другом эксперименте Вана с соавторами (Wang et al., 2018b) методом коаксиальной экструзионной биопечати были сконструированы гидрогелевые микроволокна. Гидрогелевые микроволокна состояли из оболочки и сердцевины. Для печати оболочки использовали биочернила из альгината натрия без клеток (вариант U) или смешанные со стволовыми клетками глиомы GSC23 (вариант G/U). Сердцевина микроволокон в обоих вариантах состояла из клеток глиомы линии U118. В этом исследовании с увеличением времени культивирования клетки как в G/U, так и в U-микроволокнах сохраняли высокую скорость пролиферации (Murphy, Atala, 2014). Клетки U118 росли в виде сфероидов, которые впоследствии соединялись друг с другом до тех пор, пока не образовывали волокнообразные клеточные агрегаты. Уникальное микроокружение на стыке оболочки и сердцевины усиливало взаимодействие между клетками, а также между клетками и ВКМ (Zhao et al., 2014). Результаты показали, что экспрессия ММП9 и О6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT) была увеличена в микроволокнах G/U по сравнению с микроволокнами U, что указывало на повышенную лекарственную устойчивость клеток U118, культивируемых в микроволокнах G/U по сравнению с микроволокнами U. Кроме того, G/U-микроволокна показали более высокую устойчивость к TMZ. Это еще раз продемонстрировало, что микроволокна G/U, созданные при помощи коаксиальной экструзионной биопечати, являются предпочтительной платформой для имитации ТМЕ глиомы, а также для разработки и скрининга противоопухолевых препаратов.

В 2019 г. группой ученых из Канады (Lee et al., 2019) была создана модель ГБМ на основе фибрина с целью определения характеристик клеток и скрининга химиотерапевтических препаратов. Для печати использовали 3D-биопринтер Aspect Biosystems RX1, работающий на основе микрофлюидной технологии (Bsoul et al., 2016), и биочернила из альгината, генипина фибрина и клеток глиобластомы (U87MG). В результате в течение 12 суток после печати был отмечен высокий уровень жизнеспособности клеток линии U87MG в составе напечатанных структур. Кроме того, клетки спонтанно образовывали сфероиды и экспрессировали маркеры стволовых клеток (CD133 и DCX). Для перепрограммирования клеток ГБМ в ранние нейроны напечатанные каркасы с клетками обрабатывали смесью, состоящей из 10 мкМ форсколина, 10 мкМ ISX9, 3 мкМ CHIR99021, 2 мкМ I-BET 151 и 5 мкМ DAPT (FICBD). Клетки в составе 3D-модели показали значительную устойчивость к воздействию FICBD по сравнению с клетками 2D-модели, что свидетельствует о большей релевантности 3D-модели для скрининга лекарственных препаратов.

Недавно был разработан метод децеллюляризации для реконструкции внеклеточного матрикса *in vitro*, который получил название “децеллюляризованный внеклеточный матрикс” (дВКМ) (Kuznetsova et al., 2018). дВКМ имитирует естественный ВКМ, позволяя изучать поведение клеток при их взаимодействии с молекулами ВКМ. Фактически дВКМ использовался в исследованиях глиобластомы с целью определения новых перспектив в исследованиях рака (Yi et al., 2019).

Таким образом, трехмерные модели глиомы представляют собой новый альтернативный инструмент для изучения глиомагенеза, биологии стволовых клеток глиомы, лекарственной устойчивости, чувствительности к противоопухолевым препаратам *in vitro* и васкуляризации опухоли.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ

Опухолевые клетки часто создают иммуносупрессивное микроокружение, которое подавляет эффекторные функции противоопухолевых иммунных клеток. Однако многие ключевые особенности взаимодействия между опухолью и иммунными клетками и то, как эти взаимодействия влияют на рост опухоли, плохо изучены (Fridman et al., 2013). Использование 3D-моделей опухоли обеспечивает многообещающую платформу для скрининга противоопухолевых терапевтических агентов. Успех в разработке противоопухолевых соединений на протяжении десятилетий был низким, так, более 95% лекарств-кандидатов не выходили на рынок (May, 2018).

Несколько лет назад командой ученых из Китая и США (Wang et al., 2018c) была разработана 3D-модель HER2-позитивного РМЖ из клеток первичной линии 21PT. 3D-модель была встроена в матрицу МСК, полученных из жировой ткани (ADMSC), ее использовали для изучения реакции клеток HER2-позитивного РМЖ на доксорубицин и лекарственную устойчивость. В то же время коллективом ученых из Университета Иллинойса (Grolman et al., 2015) была разработана 3D-модель методом совместной экструзии биопечати. 3D-модель использовали для изучения взаимодействий между клетками РМЖ, инкапсулированными в пептид-конъюгированные альгинатные волокна, и макрофагами внутри каналов. Кроме того, исследовали эффект после воздействия противоопухолевых препаратов.

ПЕРСПЕКТИВЫ

Несмотря на то, что технология трехмерного биопринтинга в области воссоздания архитектоники и микроокружения опухолей развивается быстрыми темпами, на данный момент актуальной остается проблема подбора биочернил. Выбор подходящих биочернил является одним из наиболее важных этапов в имитации микроокружения опухоли. Отсутствие универсальных биочернил и разница в плотности посева клеток затрудняют оценку корреляции результатов (Hos-

podiuk et al., 2017). Другой проблемой в воссоздании TME является использование иммортализованных клеточных линий, которые подвергаются многочисленным пассажам. Первичные клетки, полученные от пациентов, сохраняют гетерогенную среду опухоли и являются более подходящим инструментом в разработке трехмерных моделей для скрининга персонализированных терапевтических агентов (Langer et al., 2019). Тем не менее биочернила для первичных клеточных линий еще не стандартизированы.

Другой не менее важной проблемой считается создание развитой сосудистой сети, так как опухоли *in vivo* включают большое количество сильно разветвленных капиллярных сетей, способствующих их росту (Augustine et al., 2021). Создание конструкций с хорошо развитой сосудистой сетью особенно важно при биопечати моделей глиобластомы – опухоли, характеризующейся выраженным ангиогенезом. Сообщалось, что субпопуляция глиальных стволовых клеток в опухоли способна трансдифференцироваться в эндотелиальные клетки, тем самым вызывая ангиогенез (Wang et al., 2010). Поэтому использование полученных от пациентов опухолевых клеток может создать идентичную пациенту сосудистую сеть в напечатанной модели при наличии адекватного микроокружения опухоли. Тем не менее методы васкуляризации опухолевых моделей все еще нуждаются в дальнейшем исследовании и оптимизации для конкретных типов опухолей. С другой стороны, в среде опухоли человека *in vivo* клеточная секреция ферментов, гормонов, цитокинов или других агентов может влиять на микросреду растущей опухоли. Следовательно, все эти клеточные и молекулярные факторы необходимо учитывать при создании и биопринтинге опухолевых конструкций (Augustine et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В многочисленных исследованиях подчеркнута исключительная важность взаимодействия клеток опухоли и ее стромы в прогрессировании, метастазировании опухоли и ее устойчивости к противоопухолевой терапии. Следовательно, понимание этого взаимодействия необходимо для разработки более эффективных методов лечения.

Внедрение технологии 3D-биопринтинга произвело революцию в персонализированной медицине за счет моделирования TME опухолей *in vitro* с использованием первичных опухолевых клеток пациентов. Кроме того, 3D-модели TME позволили глубже понять ключевые молекулярные и клеточные пути канцерогенеза.

Таким образом, 3D-модели TME представляют собой новый альтернативный инструмент для скрининга противоопухолевых препаратов и оптимизации стратегии лечения онкологических больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Владимирова Л.Ю., Кит О.И., Шолохова Е.А., 2012. Роль гистологического и молекулярного анализа в выборе метода лечения немелкоклеточного рака легкого поздних стадий // Фарматека. № 8(241). С. 9–22.

Межевова И.В., Ситковская А.О., Кит О.И., 2020а. Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания *in vitro* // Южно-Рос. онкол. журн. Т. 1. № 3. С. 36–49.

Межевова И.В., Шамова Т.В., Ситковская А.О., Шевченко А.Н., Швырев Д.А. и др., 2020б. Опыт создания первичной культуры рака предстательной железы *in vitro* // Соврем. проблемы науки и образования. № 5. С. 91.

Олейник Е.К., Шибаев М.И., Игнатьев К.С., Олейник В.М., Жулай Г.А., 2020. Микроокружение опухоли: формирование иммунного профиля // Мед. иммунология. Т. 22. № 2. С. 207–220. https://doi.org/10.15789/1563-0625-TMT-1909

Просекина Е.А., Данилова А.Б., Нехаева Т.Л., Балдуева И.А., 2019. Создание трёхмерных клеточных моделей для решения практических и теоретических проблем современной онкологии // Вопр. онкологии. Т. 65. № 5. С. 629–637.

Скворцова В.В., Полуконова Н.В., Бучарская А.Б., 2014. Выращивание культур опухолей в 3D-формате для исследования их ответа на лекарственное воздействие // Бюл. мед. интернет-конф. Т. 4. № 1. С. 18–20.

Филиппова С.Ю., Ситковская А.О., Бондаренко Е.С., Новикова И.А., Харагезов Д.А. и др., 2021. Опыт применения инкапсуляции в альгинат для исследования влияния EGF и FGF2 на пролиферацию клеток колоректального рака в условиях пониженной адгезии *in vitro* // Цитология. Т. 63. № 2. С. 184–192.

Шамова Т.В., Ситковская А.О., Росторгуев Э.Е., Кузнецова Н.С., Кавицкий С.Э., 2020. Получение первичных клеточных линий глиальных опухолей // Пермский мед. журн. Т. 37. № 5. С. 79–89.

Affo S., Yu L.X., Schwabe R.F., 2017. The role of cancer-associated fibroblasts and fibrosis in liver cancer // Annu. Rev. Pathol. V. 12. P. 153–186. https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-052016-100322

Ahn B.Y., Walker S.B., Slimmer S.C., Russo A., Gupta A. et al., 2011. Planar and three-dimensional printing of conductive inks // J. Vis. Exp. V. 58. Art. e3189. https://doi.org/10.3791/3189

Altorki N.K., Markowitz G.J., Gao D., Port J.L., Saxena A. et al., 2019. The lung microenvironment: An important regulator of tumour growth and metastasis // Nat. Rev. Cancer. V. 19. № 1. P. 9–31. https://doi.org/10.1038/s41568-018-0081-9

Anderberg C., Li H., Fredriksson L., Andrae J., Betsholtz C. et al., 2009. Paracrine signaling by platelet-derived growth factor-CC promotes tumor growth by recruitment of cancer-associated fibroblasts // Cancer Res. V. 69. № 1. P. 369–378. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2724

Arneth B., 2019. Tumor microenvironment // Medicina (Kaunas). V. 56. № 1. Art. 15. https://doi.org/10.3390/medicina56010015

Augustine R., Kalva S.N., Ahmad R., Zahid A.A., Hasan S. et al., 2021. 3D Bioprinted cancer models: Revolutionizing personalized cancer therapy // Transl. Oncol. V. 14. № 4. Art. 101015. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101015

Avnet S., Lemma S., Cortini M., Di Pompo G., Perut F., Baldini N., 2019. Pre-clinical models for studying the interaction between mesenchymal stromal cells and cancer cells and the induction of stemness // Front. Oncol. V. 9. Art. 305. https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00305

Ayan B., Wu Y., Karuppagounder V., Kamal F., Ozbolat I.T., 2020. Aspiration-assisted bioprinting of the osteochondral interface // Sci. Rep. V. 10. № 4. Art. 13148. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69960-6

Boyiadzis M., Whiteside T.L., 2017. The emerging roles of tumor-derived exosomes in hematological malignancies // Leukemia. V. 31. № 6. P. 1259–1268. https://doi.org/10.1038/leu.2017.91

Bsoul A., Pan S., Cretu E., Stoeberac B., Walusa K., 2016. Design, microfabrication, and characterization of a moulded PDMS/SU-8 inkjet dispenser for a Lab-on-a-Printer platform technology with disposable microfluidic chip // Lab Chip. V. 16. P. 3351–3361. https://doi.org/10.1039/C6LC00636A

Chang S.F., Chang C.A., Lee D.Y., Lee P.L., Yeh Y.M. et al., 2008. Tumor cell cycle arrest induced by shear stress: Roles of integrins and Smad // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 105. № 10. P. 3927–3932. https://doi.org/10.1073/pnas.0712353105

Chang C.H., Curtis J.D., Maggi L.B., Jr., Faubert B., Villarino A.V. et al., 2013. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis // Cell. V. 153. № 6. P. 1239–1251. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.016

Chen H., Cheng Y., Wang X., Wang J., Shi X. et al., 2020. 3D printed *in vitro* tumor tissue model of colorectal cancer // Theranostics. V. 10. № 26. P. 12127–12143. https://doi.org/10.7150/thno.52450

Choi J., Gyamfi J., Jang H., Koo J.S., 2018. The role of tumor-associated macrophage in breast cancer biology // Histol. Histopathol. V. 33. № 2. P. 133–145. https://doi.org/10.14670/HH-11-916

Dai X., Ma C., Lan Q., Xu T., 2016. 3D bioprinted glioma stem cells for brain tumor model and applications of drug susceptibility // Biofabrication. V. 8. № 4. Art. 045005. https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/4/045005

Dai X., Chen H., Chen Y., Wu J., Wang H. et al., 2015. Malignant transformation of host stromal fibroblasts derived from the bone marrow traced in a dual-color fluorescence xenograft tumor model // Oncol. Rep. V. 34. № 6. P. 2997–3006. https://doi.org/10.3892/or.2015.4281

Datta P., Dey M., Ataie Z., Unutmaz D., Ozbolat I.T., 2020. 3D bioprinting for reconstituting the cancer microenvironment // NPJ Precis. Oncol. V. 4. Art. 18. https://doi.org/10.1038/s41698-020-0121-2

Dias A.S., Almeida C.R., Helguero L.A., Duarte I.F., 2019. Metabolic crosstalk in the breast cancer microenvironment // Eur. J. Cancer. V. 121. P. 154–171. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.09.002

Dirat B., Bochet L., Dabek M., Daviaud D., Dauvillier S. et al., 2011. Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion // Cancer Res. V. 71. № 7. P. 2455–2465. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3323

Djouad F., Charbonnier L.M., Bouffi C., Louis-Plence P., Bony C. et al., 2007. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism // Stem Cells. V. 25. № 8. P. 2025–2032. https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0548

Fridman W.-H., Dieu-Nosjean M.-C., Pagès F., Cremer I., Damotte D. et al., 2013. The immune microenvironment of human tumors: General significance and clinical impact // Cancer Microenviron. V. 6. P. 117–122. https://doi.org/10.1007/s12307-012-0124-9

Fukumura D., Xavier R., Sugiura T., Chen Y., Park E.C. et al., 1998. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells // Cell. V. 94. № 6. P. 715–725. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81731-6

Gajewski T.F., 2007. On the TRAIL toward death receptor-based cancer therapeutics // J. Clin. Oncol. V. 25. № 11. P. 1305–1307. https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.9804

Grolman J.M., Zhang D., Smith A.M., Moore J.S., Kilian K.A., 2015. Rapid 3D extrusion of synthetic tumor microenvironments // Adv. Mater. V. 27. № 37. P. 5512–5517. https://doi.org/10.1002/adma.201501729

Gu Z., Fu J., Lin H., He Y., 2020. Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications // Asian J. Pharm. Sci. V. 15. № 5. P. 529–557. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.003

Hanahan D., Weinberg R.A., 2011. Hallmarks of cancer: the next generation // Cell. V. 144. № 5. P. 646–674. https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013

Hospodiuk M., Dey M., Sosnoski D., Ozbolat I.T., 2017. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials // Biotechnol. Adv. V. 35. № 2. P. 217–239. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006

Jabłońska-Trypuć A., Matejczyk M., Rosochacki S., 2016. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. V. 31. P. 177–183. https://doi.org/10.3109/14756366.2016.1161620

Jeffries G.D.M., Xu S., Lobovkina T., Kirejev V., Tusseau F. et al., 2020. 3D micro-organisation printing of mammalian cells to generate biological tissues // Sci. Rep. V. 10. Art. 19529. https://doi.org/10.1038/s41598-020-74191-w

Jiang Y., Li Y., Zhu B., 2015. T-cell exhaustion in the tumor microenvironment // Cell Death Dis. V. 6. Art. e1792. https://doi.org/10.1038/cddis.2015.162

Jin M.Z., Jin W.L., 2020. The updated landscape of tumor microenvironment and drug repurposing // Signal Transduct. Target. Ther. V. 5. Art. 166.

Kalluri R., Zeisberg M., 2006. Fibroblasts in cancer // Nat. Rev. Cancer. V. 6. № 5. P. 392–401. https://doi.org/10.1038/nrc1877

Karachi A., Dastmalchi F., Mitchell D., Rahman M., 2018. Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma // Neuro Oncol. V. 20. № 12. P. 1566–1572. https://doi.org/10.1093/neuonc/noy072

Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P., Sullivan A., Brooks M.W. et al., 2007. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis // Nature. V. 449. № 7162. P. 557–563. https://doi.org/10.1038/nature06188

Kolesky D.B., Truby R.L., Gladman A.S., Busbee T.A., Homan K.A., Lewis J.A., 2014. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs // Adv. Mater. V. 26. № 19. P. 3124–3130. https://doi.org/10.1002/adma.201305506

Kuipers E.J., Rösch T., Bretthauer M., 2013. Colorectal cancer screening–optimizing current strategies and new directions // Nat. Rev. Clin. Oncol. V. 10. № 3. P. 130–142. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.12

Kuznetsova E., Nimiritsky P., Grigorieva O., Sagaradze G., Rodionov S. et al., 2018. Decellularized extracellular matrix of human mesenchymal stromal cells as a novel biomaterial for regenerative medicine // Hum. Gene Ther. V. 29. № 12. P. A75.
https://doi.org/10.1089/hum.2018.29077.abstracts

Lakins M.A., Ghorani E., Munir H., Martins C.P., Shields J.D., 2018. Cancer-associated fibroblasts induce antigen-specific deletion of CD8+ T Cells to protect tumour cells // Nat. Commun. V. 9. Art. 948.
https://doi.org/10.1038/s41467-018-03347-0

Lam P.Y.P., 2013. Biological effects of cancer-secreted factors on human mesenchymal stem cells // Stem Cell Res. Ther. V. 4. № 6. Art. 138.
https://doi.org/10.1186/scrt349

Lambrechts D., Wauters E., Boeckx B., Aibar S., Nittner D. et al., 2018. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment // Nat. Med. V. 24. P. 1277–1289.
https://doi.org/10.1038/s41591-018-0096-5

Langer E.M., Allen-Petersen B.L., King S., Kendsersky N.D., Turnidge M.A. et al., 2019. Modeling tumor phenotypes *in vitro* with three-dimensional bioprinting // Cell Rep. V. 26. № 3. P. 608–623.
https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.090

Lee S.I., Ko Y., Park J.B., 2017. Evaluation of the osteogenic differentiation of gingiva-derived stem cells grown on culture plates or in stem cell spheroids: Comparison of two- and three-dimensional cultures // Exp. Ther. Med. V. 14. № 3. P. 2434–2438.

Lee C., Abelseth E., Vega L., de la, Willerth S.M., 2019. Bioprinting a novel glioblastoma tumor model using a fibrin-based bioink for drug screening // Mater. Today Chem. V. 12. P. 78–84.
https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2018.12.005

Liu T., Huang R., Zhong J., Yang Y., Tan Z., Tan W., 2017. Control of cell proliferation in E-jet 3D-printed scaffolds for tissue engineering applications: the influence of the cell alignment angle // J. Mater. Chem. B. V. 5. № 20. P. 3728–3738.

Lorenzon L., Bini F., Balducci G., Ferri M., Salvi P.F., Marinozzi F., 2016. Laparoscopic versus robotic-assisted colectomy and rectal resection: A systematic review and meta-analysis // Int. J. Colorectal Dis. V. 31. № 2. P. 161–173.
https://doi.org/10.1007/s00384-015-2394-4

Ma X., Qu X., Zhu W., Li Y.-S., Yuan S. et al., 2016. Deterministically patterned biomimetic human iPSC-derived hepatic model via rapid 3D bioprinting // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 113. № 8. P. 2206–2211.
https://doi.org/10.1073/pnas.1524510113

Mao P., Joshi K., Li J., Kim S.H., Li P. et al., 2013. Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 110. № 21. P. 8644–8649.
https://doi.org/10.1073/pnas.1221478110

May M., 2018. Cancer research with a human touch // Nature. V. 556. № 7700. P. 259–261.
https://doi.org/10.1038/d41586-018-04161-w

Masaeli E., Marquette C., 2020. Direct-write bioprinting approach to construct multilayer cellular tissues // Front. Bioeng. Biotechnol. V. 7. Art. 478.
https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00478

Mazzocchi A., Soker S., Skardal A., 2019. 3D bioprinting for high-throughput screening: drug screening, disease modeling, and precision medicine applications // Appl. Phys. Rev. V. 6. Art. 011302.

McAndrews K.M., Yi J., McGrail D.J., Dawson M.R., 2015. Enhanced adhesion of stromal cells to invasive cancer cells regulated by cadherin 11 // ACS Chem. Biol. V. 10. № 8. P. 1932–1938.
https://doi.org/10.1021/acschembio.5b00353

Meng F., Meyer C.M., Joung D., Vallera D.A., McAlpine M.C., Panoskaltsis-Mortari A., 2019. 3D bioprinted *in vitro* metastatic models via reconstruction of tumor microenvironments // Adv. Mater. V. 31. № 10. Art. e1806899.
https://doi.org/10.1002/adma.201806899

Munaz A., Vadivelu R.K., John J.St., Barton M., Kamble H., Nguyen N.-T., 2016. Three-dimensional printing of biological matters // J. Sci. Adv. Mater. Dev. V. 1. № 1. P. 1–17.
https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2016.04.001

Murata D., Arai K., Nakayama K., 2020. Scaffold-free bio-3D printing using spheroids as "bio-inks" for tissue (re-) construction and drug response tests // Adv. Healthc. Mater. V. 9. Art. 1901831.
https://doi.org/10.1002/adhm.201901831

Murphy S., Atala A., 2014. 3D bioprinting of tissues and organs // Nat. Biotechnol. V. 32. P. 773–785.
https://doi.org/10.1038/nbt.2958

Omuro A., DeAngelis L.M., 2013. Glioblastoma and other malignant gliomas: A clinical review // JAMA. V. 17. P. 1842–1850.
https://doi.org/10.1001/jama.2013.280319

Pardoll D.M., 2012. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy // Rev. Cancer. № 12. P. 252–264.
https://doi.org/10.1038/nrc3239

Sabaila A., Fauconnier A., Huchon C., 2015. Chimiothérapie intrapéritonéale pressurisée en aérosol (CIPPA): une nouvelle voie d'administration dans les carcinoses péritonéales d'origine ovarienne [Pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC): A new way of administration in peritoneal carcinomatosis of ovarian cancer] // Gynecol. Obstet. Fertil. V. 43. № 1. P. 66–67.
https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2014.11.012

Schmidt S.K., Schmid R., Arkudas A., Kengelbach-Weigand A., Bosserhoff A.K., 2019. Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks // Cells. V. 8. № 10. Art. 1295.
https://doi.org/10.3390/cells8101295

Shi Y., Inoue H., Wu J.C., Yamanaka S., 2017. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress // Nat. Rev. Drug Discov. V. 16. № 2. P. 115–130.
https://doi.org/10.1038/nrd.2016.245

Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A., 2020. Cancer statistics, 2020 // CA Cancer J. Clin. V. 70. № 1. P. 7–30.
https://doi.org/10.3322/caac.21590

Tan Z.K., Liu T., Zhong J.C., Yang Y.K., Tan W.H., 2017. Control of cell growth on 3D-printed cell culture platforms for tissue engineering // J. Biomed. Mater. Res. A. V. 105. № 12. P. 3281–3292.

Thorat M.A., Balasubramanian R., 2020. Breast cancer prevention in high-risk women // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. V. 65. P. 18–31.
https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.11.006

Töpfer K., Kempe S., Müller N., Schmitz M., Bachmann M. et al., 2011. Tumor evasion from T cell surveillance // J. Biomed. Biotechnol. V. 2011. Art. 918471.
https://doi.org/10.1155/2011/918471

Trédan O., Galmarini C.M., Patel K., Tannock I.F., 2007. Drug resistance and the solid tumor microenvironment // J. Natl. Cancer Inst. V. 99. № 19. P. 1441–1454.
https://doi.org/10.1093/jnci/djm135

Ullah I., Subbarao R.B., Rho G.J., 2015. Human mesenchymal stem cells – current trends and future prospective // Biosci. Rep. V. 35. № 2. Art. e00191. https://doi.org/10.1042/BSR20150025

Vanderburgh J., Sterling J.A., Guelcher S.A., 2017. 3D printing of tissue engineered constructs for in vitro modeling of disease progression and drug screening // Ann. Biomed. Eng. V. 45. № 1. P. 164–179.

Visser C.W., Pohl R., Sun C., Römer G.W., Huis in 't Veld B., Lohse D., 2015. Toward 3D printing of pure metals by laser-induced forward transfer // Adv. Mater. V. 27. № 27. P. 4087–4092. https://doi.org/10.1002/adma.201501058

Wan Y., Fei X.F., Wang Z.M., Jiang D.Y., Chen H.C. et al., 2012. Expression of miR-125b in the new, highly invasive glioma stem cell and progenitor cell line SU3 // Chin. J. Cancer. V. 31. № 4. P. 207–214. https://doi.org/10.5732/cjc.011.10336

Wang R., Chadalavada K., Wilshire J., Kowalik U., Hovinga K.E. et al., 2010. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium // Nature. V. 468. № 73. P. 829–833. https://doi.org/10.1038/nature09624

Wang X., Li X., Dai X., Zhang X., Zhang J. et al., 2018a. Bioprinting of glioma stem cells improves their endotheliogenic potential // Colloids Surf. B. Biointerfaces. V. 171. P. 629–637. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.006

Wang X., Li X., Dai X., Zhang X., Zhang J., et al., 2018b. Coaxial extrusion bioprinted shell-core hydrogel microfibers mimic glioma microenvironment and enhance the drug resistance of cancer cells // Colloids Surf. B. Biointerfaces. V. 171. P. 291–299. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.042

Wang Y., Shi W., Kuss M., Mirza S., Qi D. et al., 2018c. 3D bioprinting of breast cancer models for drug resistance study // ACS Biomater. Sci. Eng. V. 4. № 12. P. 4401–4411. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b01277

Wang H., Zhang X., Vidaurre I., Cai R., Sha W., Schally A.V., 2018d. Inhibition of experimental small-cell and non-small-cell lung cancers by novel antagonists of growth hormone-releasing hormone // Int. J. Cancer. V. 142. № 11. P. 2394–2404. https://doi.org/10.1002/ijc.31308

Watters K.M., Bajwa P., Kenny H.A., 2018. Organotypic 3D models of the ovarian cancer tumor microenvironment // Cancers (Basel). V. 10. № 8. Art. 265. https://doi.org/10.3390/cancers10080265

Xu F., Celli J., Rizvi I., Moon S., Hasan T., Demirci U., 2011. A three-dimensional in vitro ovarian cancer coculture model using a high-throughput cell patterning platform // Biotechnol. J. V. 6. № 2. P. 204–212. https://doi.org/10.1002/biot.201000340

Yi H.G., Jeong Y.H., Kim Y., Choi Y.J., Moon H.E. et al., 2019. A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy // Nat. Biomed. Eng. V. 3. № 7. P. 509–519. https://doi.org/10.1038/s41551-019-0363-x

Zeming K.K., Sato Y., Yin L., Huang N.J., Wong L.H. et al., 2020. Microfluidic label-free bioprocessing of human reticulocytes from erythroid culture // Lab Chip. V. 20. № 18. P. 3445–3460. https://doi.org/10.1039/c9lc01128e

Zhang Z., Wang B., Hui D., Qiu J., Wang S., 2017. 3D bioprinting of soft materials-based regenerative vascular structures and tissues // Compos. B. Eng. V. 123. P. 279–291. https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2017.05.011

Zhao Y., Yao R., Ouyang L., Ding H., Zhang T. et al., 2014. Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro // Biofabrication. V. 6. № 3. Art. 035001. https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035001

Zhou X., Zhu W., Nowicki M., Miao S., Cui H. et al., 2016. 3D bioprinting a cell-laden bone matrix for breast cancer metastasis study // ACS Appl. Mater. Interfaces. V. 8. № 44. P. 30017–30026. https://doi.org/10.1021/acsami.6b10673

Zhu H., Mitsuhashi N., Klein A., Barsky L.W., Weinberg K. et al., 2006. The role of the hyaluronan receptor CD44 in mesenchymal stem cell migration in the extracellular matrix // Stem Cells. V. 24. № 4. P. 928–935. https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0186

Zhu W., Holmes B., Glazer R.I., Zhang L.G., 2016. 3D printed nanocomposite matrix for the study of breast cancer bone metastasis // Nanomedicine. V. 12. № 1. P. 69–79. https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.09.010

3D bioprinting of tumor microenvironment: Recent achievements

S. V. Timofeeva[a], *, T. V. Shamova[a], A. O. Sitkovskaya[a]

[a] *National Medical Research Centre for Oncology*
14 Line str., 63, Rostov-on-Don, 344037 Russia

**e-mail: timofeeva.sophia@gmail.com*

Advances in cell and molecular biology have led to the development of personalized medicine, aimed at adapting diagnostic and treatment methods for each individual patient. One of these advances is considered to be 3D bioprinting. 3D bioprinting methods allow to recreate the tumor microenvironment (TME) of the patient, most accurately reflecting the key stages of cancer spread, such as invasion, intravasation and angiogenesis. Different types of cells are used as bio-ink for 3D printing, depending on the tumor. Research in this area is mainly focused on several areas: optimization of bio-ink and constructs, the choice between applying of immortalized or primary cell lines for printing, and testing of anticancer agents in 2D and 3D models of various malignant tumors. Thus, the development of 3D TME models creates conditions for optimizing the *in vitro* tumor treatment strategy. The review describes the existing 3D TME models of various types of cancer and the prospects for their adoption in oncology.